Libro de Resúmenes

XXXVIII Reunión Científica Anual

Complejo Vaquerías, Valle Hermoso.

Córdoba, Argentina

5 al 7 de diciembre de 2018

Sociedad Argentina de Virología.

División de la Asociación Argentina de Microbiología

Sociedad Argentina de Virología

División de la
Asociación Argentina de Microbiología

Dean Funes 472 (C1214ADD) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. TEL (5411) 4932-8858/894

Libro de resúmenes: XXXVIII Reunión Científica Anual de la SAV; compilado por Lucía Cavallaro.
- 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2018. Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-46701-3-7

1. Virología. I. Cavallaro, Lucía, comp.
CDD 616.01

Contenido

Comisión Directiva Sociedad Argentina de Virología **1**
Comisión Directiva Asociación Argentina de Microbiología **1**
Comisión Organizadora **2**
Auspiciantes **3**
Programa Corto **4**
Programa **5**
Resúmenes **14**

Comisión Directiva Sociedad Argentina de Virología

Presidente
Lucía V. Cavallaro

Vicepresidente
Víctor Romanowski

Secretaria
Inés Zapiola

Secretaria de actas
María de los Angeles Pando

Prosecretaria
Andrea Mangano

Tesorera
Nora López

Protesorero
Mariano Pérez Filgueira

Vocal Titular 1º
Daniela Gardiol

Vocal Titular 2º
Elsa Baumeister

Vocal Titular 3º
Viviana Ré

Vocal Titular 4º
Silvana Levis

Vocal Suplente 1º
Diego Álvarez

Vocal Suplente 2º
Pamela Valva

Vocal Suplente 3º
Nadia Fuentealba

Vocal Suplente 4º
Sandra Cordo

Comisión Directiva Asociación Argentina de Microbiología

Presidente
Gustavo Giusiano

Vicepresidente
Adriana Sucari

Secretaria
Estefanía Benedeti

Secretaria de actas
Sandra Pampuro

Prosecretario
Juan Stupka

Tesorero
Roberto Suárez Álvarez

Protesorero
María Cecilia Freire

Vocal Titular 1º
Manuel Gómez Carrillo

Vocal Titular 2º
Oscar Alberto Taboga

Vocal Titular 3º
Lucía Cavallaro

Vocal Titular 4º
Paula Gagetti

Vocal Suplente 1º
Ricardo Rodríguez

Vocal Suplente 2º
Marina Bottiglieri

Vocal Suplente 3º
Inés García de Salamone

Vocal Suplente 4º
Marcelo Berretta

Comisión revisora de cuentas
María I. G. Fernandez
María Mercedes Ávila

La **Comisión Directiva** de la Sociedad Argentina de Virología agradece la importante colaboración de los Jóvenes Virólogos, quienes han conformado la **Comisión Organizadora** de esta Reunión Científica.

Comisión Organizadora

Pamela Valva

Nadia Fuentealba

María Belén Pisano

Carolina Andrea Berini

Danilo Bucafusco

Eliana Florencia Castro

Erina Petrera

Marcelo Golemba

Cesar Trifone

Brenda Konigheim

Gisela Masachessi

Adrián Díaz

Ana Laura Cavatorta

Gonzalo Castro

Maribel Graciela Martinez Wassaf

Ximena Kiguen

Auspiciantes

Programa Corto

miércoles 5 de diciembre

15:00 h Acreditación

16:00 h Apertura de la Reunión

16:00-18:00 h **SESIÓN 1**

18:00-18:30 h Intervalo

18:30-20:30 h **SESIÓN 2**

20:30 h Cena

jueves 6 de diciembre

9:00-11:00 h **SESIÓN 3**

11:00-11:30 h Intervalo

11:30-13:00 h **SESIÓN 4**

13:00 h Almuerzo

16:00-18:00 h **SESIÓN 5**

18:00-18:30 h Intervalo

18:30-20:30 h **SESIÓN 6**

20:15-20:30 h: **"Paridad de género en congresos de virología: una mirada local con una perspectiva internacional".** Andrea Gamarnik.

20:30 h Cena

Fiesta de Camaradería. Entrega de Premio al Mejor Trabajo

viernes 7 de diciembre

9:00-11:00 h **SESIÓN 7**

11:00–11:30 h Intervalo

11:30-12:30 h **SESIÓN 8.**

Taller: "La Seguridad Biológica en los laboratorios de Virología". Catalina Romano, Susana Mersich y Sandra Cordo.

Cierre

13:00 h Almuerzo

Fin de la Reunión

XXXVIII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE VIROLOGÍA

División de la Asociación Argentina de Microbiología
5, 6 y 7 de diciembre de 2018, Complejo Vaquerías, Valle Hermoso, Córdoba

PROGRAMA
miércoles 5 de diciembre

ACREDITACIÓN: 15:00 h
Apertura de la Reunión: 16 h

SESIÓN 1
16:00-18:00 h

Moderadores: **Pamela Valva** (Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; **Erina Petrera** (Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Biológica, Universidad de Buenos Aires).

1. **Rotavirus y enterovirus: desde las aguas de riego hasta verduras de hoja** Prez VE(1,2); Giordano MO(1); Masachessi G(1,2); Martínez LC(1); Barril PA(2,3); Nates SV(1). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) CONICET (3) Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria, Neuquén.
2. **Producción de la poliproteína codificada por el gen *gag* del virus de la artritis encefalitis caprina.** Picotto LD(1,2); Fuentealba NA(1,2); Bertoni G(3); Sguazza GH(1); Echeverría MG(1,2); Panei CJ(1,2). (1) Laboratorio de Virología, FCV-UNLP; (2) CONICET; (3) Instituto de Virología e Inmunología (IVI) Facultad de Veterinaria, Universidad de Berna, Suiza.
3. **VHHs específicos para HA de PR8, presentan efecto profiláctico contra la infección con el aislamiento argentino H1N1 A/Argentina/017/2009 adaptado al ratón.** Sosa Holt C(1,2); Baztarrica J(1); Barbieri E(3,6); Asenzo G(4); Ibañez I(4,6); Baumeister E(5); Wigdorovitz A(1,6); Parreño V(1,6); Puntel M(1,6). (1) Instituto de Virología, INTA Castelar; (2) MINCYT; (3) CESIMAR-CENPAT; (4) Instituto Milstein; (5) INEI, ANLIS C. G. Malbrán; (6) CONICET.
4. **Identificación funcional de un dominio de unión a receptor de la proteína de envoltura E2 del virus de la diarrea viral bovina (BVDV).** Pascual MJ; Merwaiss F; Alvarez D. Laboratorio de Virología Molecular - Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB) - UNSAM.
5. **Clonado y expresión del gen NS1 de una cepa 2c de Parvovirus Canino en un sistema Procariota**. Gallo Calderon M(1); Bucci M(2); Romanutti C(1); Keller L(2); La Torre J (1). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN) CONICET-SENASA; (2) Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein (ICT-Milstein); CONICET-Fundación Pablo Cassará (FPC), Buenos Aires.
6. **Análisis de los genes *v-Bcl2* y *v-Flip* de seis aislamientos locales del *Gammaherpesvirus bovino 4* (BoHV-4).** Morán P(1); Manrique J(3, 4); Romeo F(2); Pérez S(1, 4); Odeón A(5); Jones L(3, 4); Verna A(4, 5). (1) Facultad Ciencias Veterinarias, UNCPBA; (2) Agencia Mincyt; (3) Laboratorio de Virología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; (4) CONICET; (5) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce.
7. **Expresión de Interferón Lambda en Tejido Nervioso de Bovinos Infectados con BoHV-1 o BoHV-5.** Rosales JJ(1,4); Burucúa MM(2,3); Odeón A(3); Marin MM(2,3); Pérez SE(1,4). (1) Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); (4) Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)-CONICET.
8. **Infección por Dengue. Brote del 2016 en Misiones.** Baré P(1, 2), Carballo G(3), Aloisi N(2), Chuit R(4); Elizalde de Bracco MM(1, 2). (1) IMEX, CONICET, Academia Nacional de Medicina; (2) IIHEMA, Academia Nacional de Medicina; (3) Laboratorio CEBAC, Posadas, Misiones; (4) IIE, Academia Nacional de Medicina, Bs As.

9. **Carga proviral y haplotipos de HLA-A/B/C: factores asociados al desarrollo de patologías en la infección por el virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1) en Argentina**. Benencio P; Ducasa N; Biglione M; Berini C. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS); Buenos Aires
10. **Diseño y producción de vectores lentivirales para modular la expresión de genes involucrados en la inmunosupresión**. Salcedo M; González Hermida P; Abrey Recalde J; Oliver J; Frecha, C. Instituto de Medicina Traslacional e Ingenieria Biomédica (IMTIB) CONICET- Instituto Universitario Hospital Italiano- Hospital Italiano, Buenos Aires.
11. **Diseño, expresión y presentación de antígenos recombinantes del virus de la hepatitis E sobre la superficie de partículas semejantes a bacterias para el desarrollo de una vacuna de subunidad**. Müller MF(1,2); Raya MF(1,2); Arce LP(1,2); Padilla Franzotti CL(1,2); Villena J (3); Vizoso Pinto MG(1,2). (1) Laboratorio de Biología de las Infecciones, Instituto de Investigaciones en Medicina Molecular y Celular Aplicada del Bicentenario (IMMCA), CONICET–Universidad Nacional de Tucumán-Sistema Provincial de Salud de Tucumán (SIPROSA); (2) Laboratorio Central de Cs. Básicas, Facultad de Medicina-Universidad Nacional de Tucumán; (3) Laboratorio de Inmunobiotecnología, CERELA (CONICET), Tucumán.
12. **Obtención de anticuerpos de dominio único derivados de camélidos (nanoanticuerpos o VHH) que reconocen especificamente las partículas 146S de la cepa O1/campos del virus de la Fiebre Aftosa.** Bozzo J; Marchese F; Gonzalez M; Seki C; Periolo O; Mattion N; Grippo V. CEVAN-CONICET-SENASA, Buenos Aires.
13. **Diagnóstico de alta sensibilidad de Anemia Infecciosa Equina utilizando proteína p26 recombinante.** Abeyá MM(1,2); Tizzano MA(1); Kehoe P(1); Larsen AE(1); Echeverria MG(1,2); Sguazza GH(1). (1) Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLP; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), La Plata, Buenos Aires.

INTERVALO: 18:00-18:30 h

SESIÓN 2
18:30-20:30 h

Moderadores: **Nadia Fuentealba** (Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata); **Gisela Masachessi** (Instituto de Virología "Dr. JM. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba).

14. **Hepatitis E, un virus emergente: desarrollo de herramienta diagnóstica y análisis del escenario epidemiológico en la zona núcleo maicera de Argentina.** Acosta J(1); Marziali F(1); Bolatti E(2); Costaguta A(5); Mirazo S(6); Skejich P(4); Silva P(3); Gardiol D(1); Cavatorta AL(1). (1) Área Virología, Laboratorio de Virus Oncogénicos, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Santa Fe; (2) Área Virología, Laboratorio de Virología Humana, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Santa Fe; (3) Cátedra de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla, Santa Fe; (4) Cátedra de Intr. a los Sistemas de Producción Agropecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla, Santa Fe; (5) Jefe Servicio de Gastroenterología y Hepatología, Sanatorio de Niños, Rosario, Santa Fe; (6) Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
15. **Virus Like Particle de Virus de Fiebre Aftosa serotipo A/Arg/2001 como candidato para una vacuna de nueva generación, estudio de inmunidad inducida.** Bidart JE(1)(2); Mignaqui A(2); Kornuta C(1)(2); Gammella M(1); Soria I(1)(2); Langellotti C(1)(2); Mongini C(1)(2); Quattrocchi V(1); Wigdorovitz A(3); Zamorano P(1)(2)(4). (1) Instituto de Virología-CICVyA, INTA, Hurlingham; (2) CONICET, CABA; (3) INCUINTA, INTA, Hurlingham; (4) Universidad del Salvador, CABA.
16. **La funcionalidad y el fenotipo de la respuesta T CD8+ se correlaciona con el tamaño del reservorio viral en individuos HIV+.** Czernikier A; Salido J; Trifone C; Ghiglione Y; Turk G. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires.
17. **Estudio de la evolución del 3'UTR del virus chikungunya durante el ciclo de replicación viral.** Bardossy ES(1); Merwaiss F(1); Suzuki Y(2); Saleh MC(2); Alvarez DE(1); Filomatori CV(1). (1) Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, UNSAM, CONICET; (2) Institut Pasteur, Viruses and RNA Interference Unit, CNRS Unité Mixte de Recherche 3569, Paris, France.

18. **Caracterización del efecto *in vitro* del ácido Nordihidroguayarético sobre Dengue virus tipo 1.** Martínez F(1;2); Aguilar J(1); Contigiani M(1); Nuñez Montoya SC(3;4); Konigheim B(1;2). (1) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella"-Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), CONICET; (4) Dpto. Cs. Farmacéuticas, Facultad Ciencias Químicas, Universidad Nacional Córdoba.
19. **Obtención y evaluación de nuevos inmunógenos que expresan la proteína VP2 del virus de la bursitis infecciosa de las aves.** Romanutti C(1); Keller L(2); Gallo Calderón M (1); Zanetti F(2). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN)-CONICET-SENASA; (2) Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein–CONICET-FPC.
20. **Puesta a punto de una PCR en tiempo real para la detección de Adenovirus Equino tipo 1 en Argentina.** Alamos F(1); Tordoya MS(1); Olguin Perglione C(1); Vissani MA(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador.
21. **Desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas para el control de la Fiebre Hemorrágica Argentina.** Nuñez DA; Ziraldo M; Sierra AB; Lopez N; D'Antuono A. Centro de Virología Animal (CEVAN), CONICET-SENASA.
22. **Patologías asociadas al virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1) diagnosticadas en un instituto de Buenos Aires, Argentina.** Ducasa N; Benencio P; Biglione M; Berini C. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires.
23. **Caracterización de macrófagos en amígdalas de pacientes pediátricos infectados por Epstein Barr virus.** Moyano A(1); De Mateo E(2); Preciado MV(1); Chabay P(1). (1)Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas. IMIPP-CONICET, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas. IMIPP-CONICET, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.
24. **Estudio de la expresión de los transcriptos que codifican para las proteinas antigénicas de Herpesvirus Bovino Tipo 4 (BoHV-4).** Romeo F(1); Spetter M(2); Leunda M(3); Pereyra S(3); Odeón A(3); Pérez S(2)(4); Verna A(2)(3). (1) Agencia Mincyt; (2) CONICET; (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce; (4) Facultad Ciencias Veterinarias, UNCPBA.
25. **La expresión de MIF tiene implicancias en la activación de las células T CD4 + y facilita la infección por HIV-1.** Trifone C(1), Salido J(1), Czernikier A(1), Ghiglione Y(1), Turk G(1). Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS), Facultad de Medicina de Buenos Aires, UBA, Buenos Aires.
26. **Caracterización de un nuevo inhibidor del Virus de la Diarrea Viral Bovina: mecanismo de acción y espectro de actividad.** Fabiani M(1).; Quintana ME(2); Castro EF(1); España De Marco MJ(3); Soraires Santacruz MC(4); Finkielsztein LM(4); Moltrasio GY(5); Capozzo AV(2); Cavallaro, LV(3). (1) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología; (2) CONICET-INTA Castelar; (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología; (4) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Química Medicinal; (5) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Química Orgánica.

CENA: 20:30 h

jueves 6 de diciembre

SESIÓN 3
9:00-11:00 h

Moderadores: **Carolina Torres y Eliana Castro** (Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires).

27. **Síndrome convulsivo por virus Herpes humano 6: la importancia del diagnóstico de laboratorio virológico rápido y certero.** Tenaglia MM; Hernández Fregonese G; Berruezo F; Zucotti A; Vercelli B; Patiño L; Bottiglieri M; Isa MB. Laboratorio de Microbiología, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba.
28. **Actividad antiviral *in vitro* de nuevos derivados antraquinónicos sintéticos.** Mugas L(1); Konigheim B(2); Roumana A(3); Aguilar J(2); Contigiani M(2); Fousteris M(3); Núñez Montoya S (1,4). (1) Dpto de Cs. Farmacéuticas, Fac. Cs. Qcas., UNC, Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J M Vanella", Fac. Cs. Médicas,

UNC. Córdoba; (3) Laboratory of Medicinal Chemistry, Department of Pharmacy, University of Patras. Patras, Greece; (4) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), CONICET, Córdoba.

29. **Diversidad genética de virus potencialmente transmisibles por el ambiente en una ciudad de la Patagonia.** Manrique JM(1,2); Berry DAB(3); Jones LR(1,2). (1) Laboratorio de Virología y Genética Molecular (LVGM), Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; Ciudad de Buenos Aires; (3) Laboratorio de Patologías Prevalentes y Epidemiología.
30. **Análisis de expresión de genes del hospedador potencialmente involucrados en el nivel de carga proviral (CP) con el Virus de la leucosis bovina.** Petersen M(2); Carignano H(1); Suarez Archilla G(1); Alvarez I(1,2),Trono K(1,2), Miretti M(2). (1) Instituto de Virología, INTA, Buenos Aires; (2) CONICET.
31. **Modelo general para el mecanismo de síntesis de RNA de los flavivirus.** Marsico FL; Gamarnik AG. Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.
32. **Análisis filogenético del virus de artritis encefalitis caprina detectados en la Argentina.** Olguin Perglione C(1); Raia A(1); Fuentealba N(2,3); Panei CJ(2,3); Rossanigo C(4); Alvarez I(1,3). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP; (3) CONICET; (4) Laboratorio de Sanidad Animal, EEA, San Luis, INTA.
33. **Evaluación de la respuesta inmune inducida por cápsides vacías naturales del virus de la fiebre aftosa en Bovinos.** Bucafusco D(1,2); Miraglia MC(1,2); Turco C(2); Ayude A(1); Perez-Filgueira M(1,2); Capozzo A(1,2). (1) CONICET; (2) Instituto de Virología, CICVyA, INTA, Buenos Aires.
34. **Aparición de SARAMPIÓN en Argentina, un país con estatus de eliminación.** Nabaes Jodar MS(1,3); Acevedo ME(1); Goya S(1,2); Alvarez López C(1); Bárquez R(1); Valenzuela M(4); Viegas M(1,2); Mistchenko A(1). (1) Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET); (3) Ministerio de Salud de la Ciudad de Buenos Aires; (4) Gerencia operativa de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Ciudad de Buenos Aires.
35. **Evaluación del uso de picobirnavirus y enterovirus infectivo como indicadores virales para el seguimiento de la contaminación fecal en aguas superficiales y su potencial para reportar la presencia de rotavirus en Córdoba, Argentina.** Masachessi G; Prez VE; Michelena JF; Martínez LC; Giordano MO; Isa MB; Pavan JV; Nates SV. Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.
36. **Primeros pasos hacia el análisis metagenómico de la comunidad viral presente en muestras de origen aviar en Uruguay**. Fuques E; Marandino A; Techera C; Tomás G; Pérez R; Panzera Y. Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
37. **Extracto etanólico de raíz de "diente de león" afecta la proliferación, supervivencia y migración de líneas celulares infectadas con virus papiloma humano.** Venezuela RF(1); Acland R(2); Mugas ML(3); Kiguen AX(1); Mosmann JP(1); Nuñez Montoya SC(3); Konigheim BS(1); Cuffini CG(1). (1) Instituto de Virología "Dr J. M. Vanella", Fac. Cs Medicas, Univ. Nac. Córdoba. (2) CIBICI-Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología. Fac. Cs. Químicas, Univ. Nac. Córdoba. (3) IMBIV-CONICET, Dpto. Farmacia, Fac. Cs. Químicas, Univ. Nac. Córdoba, Córdoba.
38. **Desarrollo de una nueva metodología de PCR en tiempo real anidada multiplex de un sólo paso para el diagnóstico precoz de niños expuestos al HIV.** Moragas M; Golemba MD; Mangano A. Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"-CONICET, Buenos Aires.
39. **Elevada prevalencia de infección por el virus de la hepatitis E (HEV) en pacientes con cirrosis de Argentina.** Fantilli A(1); Trinks J(2,3); Marciano S(4); Zárate F(5); Balderramo D(6); Martínez Wassaf M(7); Venezuela F (1); Haddad L(8) ; Gadano A(5,8); Debes J(9); Pisano MB(1,2); Ré V(1,2). (1)Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano, Bs As (ICBME); (4)Sección de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (5) Hospital Córdoba; (6) Hospital Privado Universitario de Córdoba (IUCBC); (7) LACE Laboratoios, Córdoba; (8) Departamento de Investigación, Hospital Italiano de Buenos Aires; (9) Departmento de Medicina, Universidad de Minesota, Minneapolis, EEUU.

INTERVALO: 11:00-11:30 h

SESIÓN 4
11:30-13:00 h

Moderadores: **Laura Noelia Mojsiejczuk** (Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires); **Diego Alvarez** [Laboratorio de Virología Molecular-Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB)–UNSAM].

40. **Características de la infección por EBV y análisis de poblaciones NK en amígdalas comparados con pacientes sanos**. Ferressini Gerpe NM(1); Vistarop A(1); Caldirola MS(2); Galliard MI(2); De Mateo E(3); Preciado MV(1); Chabay P(1). (1) Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) Servicio de Inmunología, IMIPP-CONICET-GCBA, Hospital de Niños Ricardo Gutierrez; (3) División Patología, IMIPP-CONICET-GCBA, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.
41. **Relación antigénica de la variante GI-16 del Virus de Bronquitis Infecciosa (IBV) con las cepas vacunales de uso en la Argentina.** Gerez R; Marandino A; Craig M; Pérez R; Vagnozzi A. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
42. **Efecto colateral de la replicación activa del HIV en astrocitos.** Sanchez L; Urquiza J; Cevallos C; Quarleri J; Ojeda D. Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS). Facultad de Medicina. Buenos Aires.
43. **Hepatitis B Crónica: Relación entre el infiltrado inflamatorio y la expresión de antígenos virales en el contexto del daño hepático.** Giadans CG(1); Ríos D(1); Ameigeiras B(2,6); Pietrantonio A(3), Lucatelli N(3); Haddad L(4); Mullen E(5); Heinrich F(6); De Matteo E(1); Flichman D(7); Valva P(1); Preciado MV(1). (1) Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA) Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) Unidad de Hepatología, Hospital Ramos Mejía; (3) División Patología, Hospital Ramos Mejía; (4) Unidad de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (5) División Patología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (6) Hospital San Antonio, Gualeguay, Entre Ríos; (7) Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
44. **Evaluación de CD40L y Gel 01 como potenciadores de la respuesta inmune generada por una vacuna génica contra el Herpesvirus Bovino tipo 1 (HVBo1) en bovinos.** Kornuta C(1)(2); Langellotti C(1)(2); Bidart J(1)(2); Soria I(1); Quattrocchi V(1); Gammella M(1); Angeletti P(1); Prando M(2)(4); Hecker Y(2)(4) Cheuquepán F(4); Zamorano P(1)(2)(3). (1) Instituto de Virología-CICVyA, INTA; (2) CONICET; (3) USAL; (4) EEA Balcarce, INTA.
45. **Detección de Virus Papiloma Humano, Virus Herpes Simple y *Chlamydia trachomatis* en lesiones de la cavidad oral.** Mosmann JP(1); Talavera AD(2); Criscuolo MI(2); Venezuela RF(1); Kiguen AX(1); Ferreyra de Prato RS(2); López de Blanc SA(2); Ré VE(1,3); Cuffini CG(1,3). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas–Universidad Nacional de Córdoba; (2) Facultad de Odontología-Cátedra de Estomatología-Universidad Nacional de Córdoba; (3)- CONICET.
46. **Desarrollo y validación de un enzimoinmunoensayo para el serodiagnóstico de hepatitis E-Seroprevalencia en Tucumán.** Arce LP(1,2); Olea C(1,2); Marranzino G(3); AgoteF(3); Vizoso Pinto MG(1,2). (1) Laboratorio de Biología de las Infecciones, Instituto de Investigaciones en Medicina Molecular y Celular Aplicada del Bicentenario (IMMCA), CONICET-Universidad Nacional de Tucumán- Sistema Provincial de Salud de Tucumán (SIPROSA); (2) Laboratorio Central de Cs. Básicas, Facultad de Medicina-Universidad Nacional de Tucumán; (3) Banco Central de Sangre de Tucumán "Dr. César Guerra". PRIS–Si.PRO.SA, Tucumán.
47. **La dinámica del citoesqueleto de actina afecta la replicación de Metapneumovirus humano.** Rodríguez PE(1); Gil PI(1); Cámara JA(1); Cámara A(1); Paglini MG(1,2). (1) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella". Facultad de Ciencias Médicas–Univ. Nacional de Córdoba; (2) Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba.
48. **El virus Junín utiliza la maquinaria autofágica del hospedador para promover su replicación.** Arrías PN; Ure AE; Romanowski V; Gómez RM; Perez Vidakovics MLA. Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), La Plata, Buenos Aires.

ALMUERZO: 13:00 h

SESIÓN 5
16:00-18:00 h

Moderadores: **María Dolores Blanco Fernández** (Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires); **Carolina Berini** (CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires).

49. **Interacción de las proteínas NS5 de los virus de dengue y de Zika con proteínas celulares.** González López Ledesma MM; Gebhard LG; Iglesias NG; De Maio FA; Gamarnik AV. Laboratorio de Virología Molecular. Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.
50. **Inusual aumento de casos de hepatitis A en hombres que tienen sexo con hombres en Córdoba, Argentina (julio 2017-abril 2018): análisis epidemiológico y caracterización molecular.** Mariojouls J(1); Castro G(1); Pisano MB(2); Barbero P(3); Fantilli (2); Borda M(1); Canna F(1); Barbas G(1); Ré V(2). (1) Laboratorio Central -Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J.M.Vanella"-Facultad de Ciencias Médicas–CONICET-Universidad Nacional de Córdoba; (3) Área Epidemiología-Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.
51. **Una nueva forma de calcular el desvío estándar para estimar la incertidumbre de la medición de la carga viral HIV-1.** Pineda M; Golemba M; Juarez S; Guelho R; Mangano A; Moreiro R. Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus-CONICET, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
52. **Diseño y desarrollo de herramientas genéticas para estudios moleculares del virus de Zika.** Pallarés HM; Carballeda JM; Gamarnik AV. Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET.
53. **Efecto de agentes lisosomotrópicos en la replicación del virus Pixuna en cultivo de células Vero.** Ghietto LM(1); Gil PI(1); Olmos P(1); Neira M(1); Kunda P(1); Paglini MG(1)(2). (1) Instituto de Virología "Dr.J.M.Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba; (2) Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba.
54. **Identificación de Bocavirus humano 1 y virus B19 en la pesquisa de enfermedades congénitas aplicada a embarazadas y niños sintomáticos.** Salbetti MB(1); Pedranti M(1); Barbero P(2); Molisani P(1); Lazzari M(1); Olivera N(1); Bertoldi A(3); Isa MB(3); Moreno L(4); Adamo MP(1). (1) Laboratorio de Rubéola y Parvovirus, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Área de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba; (3) Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba. (4) Cátedra de Clínica Pediátrica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
55. **Aseguramiento de la calidad de la técnica de qPCR para la detección de ADN de Parvorirus B19 Humano en pooles de plasma humano.** Rodríguez Lombardi GR. Laboratorio de Hemoderivados Universidad Nacional de Córdoba-Área Desarrollo de Productos y Procesos, Córdoba.
56. **Producción de la proteína recombinante NS1 y su posible uso en el diagnóstico diferencial de encefalitis flavivirales.** Lorch MS(1); Argüelles MH(2); Spinsanti LI(3); Lozano ME(1); Goñi SE(1). (1) Laboratorio de Virus Emergentes (LVE), Dto. CyT, Universidad Nacional de Quilmes; (2) Laboratorio de Inmunología y Virología (LIV), Dto. CyT, Universidad Nacional de Quilmes; (3) Laboratorio de Arbovirus, Instito de Virología "Dr. Carlos Vanella" (InViV), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
57. **Infección simple de Coronavirus (CoVh-OC43) en niños internados del Hospital Infantil Municipal de Córdoba en un bimestre de 2018.** Rodríguez PE(1); Liendo ME(2); Herrera Simó C(1); Frutos MC(1); Cuffini CG(1); Cámara JA(1); García Oro MC(2); Cámara A(1). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M.Vanella", FCM-UNC. (2) Hospital Infantil Municipal Córdoba.
58. ***Nezara viridula*: un nuevo reservorio de virus de abejas?** Bravi ME(1,2); Susevich ML(1,2); Genchi ML(1,4); Reynaldi FJ(1,2); Marti GA(2,3); Echeverría MG(1,2). (1) Laboratorio de Virología (LAVIR), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata; (2) CONICET (CCT-La Plata), Buenos Aires; (3) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CCT-La Plata-CONICET-UNLP), La Plata; (4) CIC (CIC-PBA), Buenos Aires.
59. **Detección de contaminantes virales adventicios en productos biológicos. Muestras analizadas durante 2016-2018.** Franco L(1); Perez Lopez J(1); Politzki R(1); Porta N(1,2); Ruiz V(1,2); Alvarez I(1,2). (1) Instituto de Virología, CICVYA, INTA, Buenos Aires; (2) CONICET.
60. **Mejoramiento del baculovirus de *Anticarsia gemmatalis* como agente de control biológico mediante la incorporación de proteínas heterólogas en los cuerpos de oclusión.** Fabre ML; Masson T; Romanowski V.

Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata; Buenos Aires.

61. **Avances en el uso de la tecnología CRISPR/Cas para la edición de genomas baculovirales.** Nugnes MV; Ghiringhelli PD; Belaich MN. Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular- Área virosis de insectos, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires.

INTERVALO: 18:00-18:30 h

SESIÓN 6
18:30-20:30 h

Moderadores: **Hernán Sguazza** (Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata)**; Marcelo Golemba** (Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus-CONICET, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Ciudad Autónoma de Buenos Aires).

62. **Desarrollo de una qPCR multiplex para la identificación de BLV wild type y cepa atenuada**. Ripoll L (1); Petersen M (2)(4); Ghiringhelli PD(3); Bilen M(3); Trono K(2)(4); Suárez Archilla G(5). (1) Productos Bio-Lógicos SA; (2) INTA. Instituto de Virología. CICVyA; (3) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular–Área de Virosis de Insectos. Universidad Nacional de Quilmes; (4) Instituto de Virología e Innovaciones tecnológicas. CONICET; (5) INTA, Rafaela.
63. **Vacunas contra la fiebre aftosa basadas en vectores adenovirales optimizados.** Ziraldo M(1); Nuñez D(1); Bidart J(2); Zamorano P(2); Delgado F(3); Mattion N(1) y D'Antuono, A(1). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN) – CONICET-SENASA; (2) Instituto de Virología-INTA; (3) Instituto de Patobiología-INTA.
64. **Tecnologías BacMam en células y animales; avances hacia el transporte de ADN en mamíferos.** Simonin JA(1); Giménez CS(2); Nuñez C(2); Olea DF(2); Crottogini A(2); Ghiringhelli, PD(1); Belaich MN(1). (1) Laboratorio de ingeniería genética y biología celular y molecular (LIGBCM-AVI), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes; (2) Instituto de Medicina Traslacional, Trasplante y Bioingeniería (IMETTYB-Universidad Favaloro-Conicet), Buenso Aires.
65. **Detección de subtipos del Virus de alas deformadas en apiarios de la provincia de Buenos Aires.** Gonzalez FN(1); Fondevila N(1); Ferrufino C(1); Rodriguez G(1); Crisanti P(1); Bulacio N(1); Molineri A(2), Miño S(1); Dus Santos MJ(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.
66. **Estrategia integral para el diagnóstico de infecciones persistentes por el virus de la Diarrea Viral Bovina combinando métodos moleculares colorimétricos con serología directa**. Turco CS(1); Bergier JA(2); Ghiringhelli PD(2); Bilen MF(2); Capozzo AV(1). (1) Laboratorio de Inmunología Veterinaria Aplicada, Instituto de Virología, CICVyA-INTA Castelar; (2) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular-Área de virus de insectos, Dpto de CyT, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires.
67. **Actividad del virus St. Louis encefalitis (VSLE) y su asociación a la abundancia específica de aves urbanas.** Peralta GC(1,2); Beranek MD(2,3); Farías AA(2); Peluc SI(1); Díaz A(2,4). (1) Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA, CONICET - UNC), Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", CONICET, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Córdoba; (3) Instituto de Medicina Regional, CONICET, Universidad Nacional del Nordeste; (4) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT, CONICET - UNC), Córdoba.
68. **Desarrollo de un *pipeline* bioinfromático para estudiar los sitios de integración de HTLV-1 en datos de secuenciación masiva.** Distefano M(1); Tan Jek Yang B(2); Pineda M(1); Miyazato P(2); Satou Y(2); Mangano A(1). (1) Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus - CONICET, Hospital de Pediatría "Dr. J.P. Garrahan"; (2) International Research Centre for Medical Science, Kumamoto University, Kumamoto.
69. **Seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul en bovinos en la provincia de Corrientes.** Morel VM(1)(2); Sala JM(1); De Stefano G(1); Jordán M(1); González F(1); Gómez S (1); Bevans W (1); Dus Santos MJ(1)(2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.
70. **Competencia vectorial para el virus West Nile en mosquitos *Culex quinquefasciatus*.** Giayetto O(1,2); Lazarte N(3); Zubaran G(3), Berón C(3); Díaz A(1,2). (1) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT, CONICET, UNC), Córdoba; (2) Instituto de Virología J. M. Vanella. Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba; (3) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología, (INBIOTEC, CONICET).
71. **La susceptibilidad de los macrófagos bovinos al virus de la diarrea viral bovina es dependiente de su fenotipo.** Barone LJ(1,2); Quintana ME(1,3); Capozzo AV(1, 3); Cardoso NP(1,3). (1) Instituto Nacional de

Tecnología Agropecuaria-Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas; (2) Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica; (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

72. **Detección del virus de Arteritis equina en semen entre 2010 y 2018.** Vissani MA(1,2); Olguin Perglione C(1); Álamos F(1); Tordoya MS(1); Zabal O(1,2); Barrandeguy M(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador.
73. **Actividad temporal enzoótica de los virus St. Louis encephalitis y West Nile en aves silvestres del espinal, Córdoba.** Seiler EN(1); Quaglia AI(1); Beranek M(2); Flores FS(1); Tauro LB(1); Contigiani M(1); Spinsanti LI(1); Díaz A(1). (1) Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba; (2) Área Entomología, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Chaco.

20:15-20:30 h: "Paridad de género en congresos de virología: una mirada local con una perspectiva internacional". Dra. Andrea Gamarnik, Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.

CENA: 20:30 h

FIESTA DE CAMARADERIA

Entrega de Premio al mejor trabajo presentado en el marco de la XXXVIII Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Virología

viernes 7 de diciembre

SESIÓN 7
9:00-11:00 h

Moderadores: **María Belén Pisano** (Instituto de Virología "Dr. J.M.Vanella"-Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de Córdoba); **Javier Panei** (Laboratorio de Virología, Facultad de ciencias veterinarias, Universidad Nacional de La Plata).

74. **Evolución del virus de la Fiebre Aftosa a nivel local.** König GA(1,2); Cabanne GS(2,3); Marcos A(4); Perez AM(5). (1) Instituto de Biotecnología, INTA; (2) CONICET; (3) Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia; (4) Dirección de Epidemiología y Análisis de Riesgo, SENASA; (5) Department of Veterinary Population Medicine, UMN, EEUU.
75. **Proteoma de los cuerpos de oclusión del granulovirus de *Epinotia aporema***. Ferrelli ML; Masson T; Fabre ML; Pidre ML; Romanowski V. Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata; Bs As.
76. **Actividad antiviral y antiinflamatoria de análogos esteroidales sintéticos frente a la infección causada por virus Respiratorio Sincicial Humano.** Salinas FM(1,2); Bueno CA(1,2), Vázquez L(3), Michelini FM(1,2), Alché LE(1,2). (1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Biológica, Laboratorio de Virología, Buenos Aires; (2) CONICET- Universidad de Buenos Aires, Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), Buenos Aires; (3) UOCCB (Unidad Operativa Centro de Contención Biológica), Instituto Dr. Carlos G. Malbrán, ANLIS.
77. **Descripción epidemiológica y molecular del brote de Influenza equina ocurrido en Argentina en el año 2018.** Olguin Perglione C(1); Vissani MA(1,2); Alamos F(1); Tordoya MS(1); Barrandeguy M(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires.
78. **Caracterización de la respuesta inmune inducida por cápsides vacías naturales del VFA en el modelo murino.** Miraglia MC(1,2); Bucafusco D(1,2); Di Giacomo S(1); Barrionuevo F(1,2); Schammas J(1); Ayude A(1); Capozzo A(1,2); Pérez Filgueira M(1,2). (1) Instituto de virología CCVyA INTA Castelar, (2) CONICET.
79. **Cinética de inducción del interferón tipo I (IFN-I) en la infección con el virus Saint Louis encephalitis (SLE).** Rivarola ME(1); Schreier S(2); Fiocca F(3); Albrieu-Llinás G(1); Contigiani MS(1); Kröger A(2); Gruppi A(3). (1) Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología ''Dr. J. M. Vanella'', Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Innate Immunity and Infection, Helmholtz Centre for Infection Research,

Braunschweig, Germany; (3) Inmunología, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

80. **Detección de virus de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en abejas nativas de la familia Apidae (Hymenoptera: Apiformes) en Argentina.** Genchi García ML(1,3); Bravi ME(1,2); Álvarez LJ(1,4); Sguazza GH(1); Susevich ML(1,2); Pecoraro M(1,2); Galosi CM(1,2); Ramello PJ(1,4); Almada V(4); Reynaldi FJ(1,2). (1) Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-PBA); (4) División Entomología, Museo de La Plata, UNLP.
81. **Caracterización de la distribución subcelular de la proteína de cápside de Zika durante la infección viral.** Costa Navarro GS(1,2), Byk LA(1,2), Rossi AH(1,2), Pallarés HM(1,2), De Borba L(1,2), Gamarnik AV(1,2). (1) Fundación Instituto Leloir; (2) CONICET, Buenos Aires.
82. **Introducciones de virus sarampión de distinto origen en Argentina durante 2018.** Benedetti E(1); AvaroM(1); Macias E(1); Russo M(1); Pardon F(1); Czech A(1); Elbert G(2); Biscayart C(2); Pontoriero A(1) y Baumeister E(1). (1) Laboratorio Nacional de Referencia de Sarampión y Rubéola, Servicio Virosis Respiratorias, INEI-ANLIS "Dr. C.G. Malbrán"; (2) Dirección de Control de Enfermedades Inmunoprevenibles de la Ministerio de Salud de la Nación.
83. **Epidemiología viral de parvovirus canino.** Grecco S, Calleros L, Marandino A, Francia L, Panzera Y, Pérez R. Grupo de Genética de Microorganismos, Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
84. **Estudio en modelo de infección de herpesvirus caprino: efecto antiviral de extractos naturales de plantas frente a infecciones genitales de alfaherpesvirus.** Ferreccio C(1); Konigheim B(2); Maidana S(2); Grazziotto, N (1); Romera, SA (1). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.
85. **Las isoformas de la Proteína de Unión al tracto de Polipirimidina (PTB) tienen un impacto diferencial en la traducción del ARNm de dengue virus.** Fernández-García L; Angulo J; Vera-Otarola J; Pino K; López-Lastra M. Laboratorio de Virología Molecular, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Centro de Investigaciones Médicas, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
86. **Efecto antiviral de derivados de bases de Tröger contra herpesvirus.** Trupp LJ(1); Alché LE(2, 3); Bruttomesso AC(1); Petrera E (2). (1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Orgánica, UMYMFOR-CONICET. Buenos Aires; (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química Biológica, Laboratorio de Virología. Buenos Aires; (3) CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), Buenos Aires.

INTERVALO: 11:00-11:30 h

SESIÓN 8
11:30-12:30 h

Taller : "La Seguridad Biológica en los laboratorios de Virología".
Catalina Romano, Susana Mersich y Sandra Cordo. Subcomité de Bioseguridad, Servicio de Higiene y Seguridad, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.
En el transcurso del taller analizaremos la encuesta realizada previamente entre los asistentes registrados a la reunión con el fin de reflexionar sobre nuestras prácticas de bioseguridad en el desarrollo diario de las tareas, y revisar nuestra comprensión sobre los riesgos laborales y la responsabilidad de las instituciones en la que trabajamos**.**

PRESENTACIÓN XIII CONGRESO ARGENTINO DE VIROLOGÍA 2020. Palabras de Mariano Pérez Filgueira y Andrea Mangano.

PALABRAS DE CIERRE

ALMUERZO: 13:00 h

Final de la reunión

RESUMENES

SESIÓN 1

1. **Rotavirus y enterovirus: desde las aguas de riego hasta verduras de hoja** Prez VE(1,2); Giordano MO(1); Masachessi G(1,2); Martínez LC(1); Barril PA(2,3); Nates SV(1). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) CONICET (3) Centro de Investigación y Asistencia Técnica a la Industria, Neuquén.

Los virus entéricos, debido a su alta tasa de propagación y persistencia en el ambiente, son reportados como una de las principales causas de infecciones transmitidas por el consumo de verduras crudas. La contaminación de los alimentos podría originarse en la etapa pre cosecha a causa de la calidad microbiológica de las aguas de irrigación. Actualmente en Argentina no hay legislación que estipule normas para calidad virológica de alimentos y aguas de riego ni datos al respecto. El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de detección de rotavirus (RV) y la presencia de enterovirus infeccioso (iEV) en vegetales de hojas verdes y sus correspondientes aguas de irrigación. Entre junio y diciembre de 2014 se recolectaron un total de 15 muestras de agua y 46 verduras de hoja, en una chacra de la localidad de Colonia Caroya, a 50km de la capital de Córdoba. A las muestras vegetales se les realizó un lavado previo con un caldo peptonado para favorecer la elución de las partículas virales y luego, al igual que con las muestras de agua, se llevó a cabo la concentración y precipitación viral con polietilenglicol. Se aplicó RT nested-PCR para la detección y caracterización de RV. Además, para detectar iEV los concentrados fueron inoculados en cultivo de células CaCo-2 y posteriormente revelados por inmunofluorescencia. Se detectó RV en 26% (4/15) de las aguas de irrigación y en 13% (6/46) de las muestras de vegetales. Los genotipos encontrados en aguas fueron G3 60% (3/5) y G9 40% (2/5) y en vegetales G2 22% (2/9), G3 66% (6/9) y G9 12% (1 / 9). iEV se detectó en un 40% de las aguas de irrigación y en un 30% de las verduras estudiadas. Estos resultados indican que las verduras de hoja verde están contaminadas con RV y iEV. Se identificaron los mismos G-tipos de RV en las dos matrices analizada, a su vez estos genotipos son de circulación frecuente en Argentina. La presencia de genomas virales y partículas infecciosas en alimentos que, en general, sufren un tratamiento mínimo antes del consumo, subraya que estos cultivos podrían actuar como posibles fuentes de transmisión de virus entéricos.

2. **Producción de la poliproteína codificada por el gen *gag* del virus de la artritis encefalitis caprina.** Picotto LD(1,2); Fuentealba NA(1,2); Bertoni G(3); Sguazza GH(1); Echeverría MG(1,2); Panei CJ(1,2). (1) Laboratorio de Virología, FCV-UNLP; (2) CONICET; (3) Instituto de Virología e Inmunología (IVI) Facultad de Veterinaria, Universidad de Berna, Suiza.

Los lentivirus de pequeños rumiantes (SRLV), como el virus de Maedi-Visna (VMV) y el virus de la Artritis-Encefalitis Caprina (CAEV), pertenecen a la familia *Retroviridae* y causan enfermedades multisistémicas en pequeños rumiantes. Debido a su importancia sanitaria, estas enfermedades se encuentran incorporadas en la resolución de SENASA N° 422 del 20 de agosto de 2003 como enfermedades de denuncia obligatoria en la Argentina. El genoma de estos virus presenta dos cadenas de ARN idénticas que se transcriben a ADN complementario (ADNc), el cual se inserta en el genoma de la célula huésped como provirus. Estos provirus poseen genes estructurales denominados *gag*, *pol* y *env*. El gen *gag* codifica para una poli-proteína que se cliva en tres proteínas: de la cápside (CA), de la nucleocápside (NC) y de matriz (MA). Los epítopes inmunodominantes de las CA y de la MA de ambos virus inducen una fuerte respuesta inmunológica por lo que se las utiliza en la elaboración de equipos de diagnóstico contra los SRLV. Sin embargo, las variaciones que se producen en estas regiones representan un inconveniente para la sensibilidad diagnóstica, por lo que el desarrollo de equipos utilizando las cepas que circulan en cada región o país es de crucial importancia para un diagnostico confiable. Debido que hasta el momento no existen equipos comerciales de diagnóstico elaborados en Argentina, y que el equipo autorizado por SENASA para el diagnóstico oficial de los SRLV es de alto valor económico, el objetivo de este trabajo fue expresar y purificar la poli-proteína del CAEV para un

posibleusodiagnóstico. Utilizando como molde el ADNc obtenido de la cepa CAEV-Arg-Ara aislada en nuestro laboratorio (GenBank: KX687990), se realizó una PCR para amplificar el gen *gag* completo. El producto de PCR fue ligado al vector pMAL-p5X y fusionado al gen *mal*E, que codifica para la proteína de unión a la maltosa (MBP). El plásmido obtenido (pMAL-p5X-gag) fue utilizado para transformar bacterias *E. coli* ER2523 por electroporación. Se chequearon las colonias obtenidas mediante digestión enzimática y por PCR. Se realizaron cultivos en pequeña escala de los clones recombinantes obtenidos y luego de la inducción con IPTG en una concentración final de 1mM durante 4 horas, se evaluó la expresión de la poli-proteína fusionada a la MBP (MBP-gag) mediante SDS-PAGE, observándose una banda del tamaño esperado. Además, se evaluó por Western Blot utilizando sueros de animales positivos a CAEV y se observó la banda esperada para MBP-gag, determinando que la proteína es antigénica. La purificación se llevó a cabo por cromatografía de afinidad, utilizando una resina de amilosa, y fue confirmada mediante SDS-PAGE y Western Blot. En conclusión, los resultados obtenidos indican que se logró expresar y purificar la poli-proteína MBP-gag, la cual podría ser utilizada en el desarrollo de una prueba diagnóstica.

3. **VHHs específicos para HA de PR8, presentan efecto profiláctico contra la infección con el aislamiento argentino H1N1 A/Argentina/017/2009 adaptado al ratón.** Sosa Holt C(1,2); Baztarrica J(1); Barbieri E(3,6); Asenzo G(4); Ibañez I(4,6); Baumeister E(5); Wigdorovitz A(1,6); Parreño V(1,6); Puntel M(1,6). (1) Instituto de Virología, INTA Castelar; (2) MINCYT; (3) CESIMAR-CENPAT; (4) Instituto Milstein; (5) INEI, ANLIS C. G. Malbrán; (6) CONICET.

El virus Influenza tipo A pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*, posee un genoma ARN de 8 segmentos y una alta capacidad de mutagénesis debida a los conocidos fenómenos de cambios genéticos y reasociación génica que generan la necesidad de complementar la formulación de las vacunas con terapias neutralizantes. Los nano-anticuerpos (VHHs) son moléculas derivadas de anticuerpos presentes en llamas, que se presentan como herramientas atractivas para su administración en tratamientos de inmunidad pasiva dado su bajo peso molecular (15kDa) y alta afinidad, especificidad, estabilidad y solubilidad. Previamente hemos descripto 13 clones de VHHs específicos contra la proteína recombinante HA0 de la cepa viral H1N1 A/Puerto Rico/8/1934 (PR8) que reconocen *in vitro*, en forma específica tanto a un aislamiento argentino de la cepa pandémica (H1N1 A/Argentina/017/2009) (Pdm09) como a la cepa PR8 adaptado al ratón (PR8m). En el presente trabajo informamos la adaptación a ratón de H1N1Pdm09 (Pdm09M); la capacidad neutralizante observada *in vitro* para 5 VHHs, y la eficacia profiláctica observada *in vivo* de los VHHs E13 y G41 frente al desafío viral con la cepa Pdm09M en ratones Balb/c hembra de 6 semanas. En cada pasaje se titularon los homogenatos de pulmón por infección sobre células MDCK, tomando para el siguiente pasaje, la muestra de mayor título. La inoculación se realizó vía intranasal (in) con 50µl/animal, bajo anestesia intraperitoneal (ip) con xilacina-ketamina (5-50 mg/kg). En el pasaje 7 el título viral promedio observado fue de $1x10^{9,36}$ $DICT_{50}$/ml en el 4 día post-infección (dpi). Se generó un stock viral de trabajo con una DL_{50}/50µl de $1x10^{-3,5}$ y un descenso del 30% al 7 dpi (6/6 animales). La eficacia profiláctica de los VHHs fue probada post-inoculación in con $4DL_{50}$/50µl de la cepa Pdm09M, 4 horas post-tratamiento. Los tratamientos consistieron en la administración in de E13 o G41 (100µg/animal), como controles negativos un grupo tratado con PBS y un grupo tratado con VHH no relacionado (VHH contra Norovirus, VHH-NR, 100µg/animal), como control positivo un grupo tratado con suero hiperinmune de ratón inmunizado con Pdm09. A los 4 dpi, no se observó título infeccioso en el grupo tratado con E13 lo que muestra su alta eficacia porfiláctica, mientras que el grupo G41 mostraron títulos virales al igual que los grupos PBS, como el VHH-NR. Los títulos virales fueron: $1x10^{7,44}$ $DICT_{50}$/ml en el grupo PBS, $1x10^{6,91}$ $DICT_{50}$/ml en el grupo VHH-NR, y $1x10^{1,25}$ $DICT_{50}$/ml en el grupo tratado con suero policlonal. Se observó un descenso máximo de peso a los 7 dpi tanto en el grupo PBS como el grupo VHH-NR. El grupo G41 presentó un título de $1x10^{4,66}$ $DICT_{50}$/ml, sin embargo, al igual que el grupo E13, no se detectó descenso de peso lo que podría sugerir que podría ser aplicado para la terapéutica. Asimismo, nuestros resultados reforzarían la hipótesis

de un potencial cambio en la secuencia de HA0 ocurrido durante el proceso de adaptación del virus al ratón

4. **Identificación funcional de un dominio de unión a receptor de la proteína de envoltura E2 del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV).** Pascual MJ; Merwaiss F; Alvarez D. Laboratorio de Virología Molecular - Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB) - UNSAM.

El virus de la diarrea viral bovina es un virus con genoma ARN patógeno del ganado vacuno. La partícula viral está compuesta por una membrana lipídica asociada a tres glicoproteínas de envoltura E1, E2 y Erns. La proteína E2 cumple un rol fundamental en la entrada del virus: (i) E2 es la responsable de la interacción del virus con receptores celulares y (ii) E2 forma un complejo con E1 que media la internalización del virus. Con el objetivo de comprender el detalle molecular del proceso de entrada nos propusimos abordar un estudio estructura-función de la glicoproteína de envoltura E2. Mediante el análisis de la estructura cristalográfica de E2, identificamos un motivo estructural tipo ß-hairpin altamente conservado en los pestivirus candidato para la interacción de E2 con receptores. Con el fin de analizar la función de este motivo se introdujeron dos sustituciones en residuos conservados del ß-hairpin y se produjeron las proteínas E2 recombinantes tanto WT como la mutante en dicho motivo (E2 mutß).

En primer lugar se evaluó el pegado de las proteína E2 WT y E2 Δß a células MDBK mediante Western Blot y citometría de flujo. Ambas técnicas revelaron una disminución de entre 2 y 4 veces en el pegado de la proteína E2 mutß a las células MDBK en comparación a la proteína WT.

Para evaluar la funcionalidad de las proteínas recombinantes comparamos su capacidad para bloquear la infección por competencia con los receptores virales. Mediante ensayos de reducción del efecto citopático con ambas proteínas estimamos que se requieren 6 veces más proteína mutante que WT para reducir al 50% la infección. Estos resultados indican que los cambios en E2 mutΔß interfieren con la unión de la proteína a los receptores de entrada del virus.

Para estudiar cómo afectan las mutaciones en el ß hairpin de E2 en la replicación del virus se manipuló el genoma del virus mediante la técnica de genética inversa para obtener el virus recombinante E2 mutß. Luego de la transfección de los genomas de RNA wild type y mutante se comprobó la producción de partículas virales mediante RT-PCR cuantitativa. Las partículas virales recuperadas del sobrenadante de transfección se utilizaron para infectar células susceptibles, observándose que el virus mutante es incapaz de infectar las mismas.

Finalmente, conociendo la rápida adaptación de los virus de RNA, decidimos analizar si era posible recuperar virus con la capacidad infectiva restituida mediante la selección en cultivo. Para ello se realizaron pasajes ciegos en cultivo luego de la transfección de RNA mutante. Se observó que luego de tres pasajes se seleccionaron virus con una infectividad comparable a la de los virus WT y mediante secuenciación se confirmó la reversión de las mutaciones para ambos residuos.

Estos resultados indican que el motivo ß-hairpin de E2 es esencial para la entrada del virus a la célula hospedadora.

5. **Clonado y expresión del gen NS1 de una cepa 2c de Parvovirus Canino en un sistema Procariota**. Gallo Calderon M(1); Bucci M(2); Romanutti C(1); Keller L(2); La Torre J (1). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN) CONICET-SENASA; (2) Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein (ICT-Milstein); CONICET-Fundación Pablo Cassará (FPC), Buenos Aires.

Introducción: El Parvovirus Canino (PVC), miembro de la Familia *Parvoviridae*, Género *Parvovirus*, es un virus altamente contagioso, que provoca gastroenteritis hemorrágicas severas en cachorros, mostrando altas tasas de morbilidad y mortalidad. Es un virus no envuelto, con estructura icosaédrica, y su genoma es un ADN monocatenario, de aproximadamente 5200 nucleótidos, de polaridad negativa, que codifica para 2 proteínas estructurales (VP1 y VP2) y 2 proteínas no estructurales (NS1 y NS2). Se sabe que la proteína NS1 del parvovirus canino tipo 2 (PVC-2) tiene la capacidad de inducir apoptosis, y se ha mostrado que inhibe el crecimiento tumoral “in vivo”; además la NS1 estimula al sistema inmune, dado que se exponen antígenos

tumorales a las células presentadoras de antígeno, lo que produce una respuesta de células T citotóxicas.
En nuestro Instituto, hemos desarrollado el diagnóstico molecular de diferentes enfermedades virales caninas, entre las cuales se encuentra el PVC. De este modo, contamos con una valiosa herramienta como lo son los genes completos de las proteínas No estructurales (NS1) de cepas locales de PVC.
Objetivo: Obtener un suero murino, que reconozca específicamente la proteína NS1 de PVC, para su utilización como herramienta en la detección de dicha proteína, en distintos sistemas heterólogos.
Metodología: A partir de un hisopado rectal obtenido de un perro con diagnóstico positivo de PVC2c, se extrajo el ADN y se amplificó por PCR el gen completo de la NS1. Luego, se clonó en pGEM®-T Easy Vector; se subclonó en el vector pRSET (el cual permite la expresión de la proteína de interés fusionada a 6 His) y se secuenció. Se realizó la transformación de bacterias *E.Coli* BL21 pLys competentes y se realizaron inducciones en distintas condiciones (concentraciones de IPTG, temperatura, tiempos de inducción y medios de cultivo). Los lisados se analizaron en geles de SDS-poliacrilamida al 8% yla detección de la proteína recombinante, se realizó mediante la técnica de WesternBlot, utilizando un anticuerpo comercial anti Histidina.
Resultados: Se pudo demostrar la expresión de la proteína NS1 en *E. Coli* BL21 pLys, obteniéndose mayores niveles de expresión, realizando las inducciones con 1 mM de IPTG, a 28 °C por 16h, en medio LB. Posteriormente, se analizó en que fracción sub-celular se obtenía la expresión mayoritaria de la proteína y se observó que NS1 se expresa solamente en la fracción insoluble. Se purificarán los cuerpos de inclusión a través de una columna de afinidad con Níquel.
Conclusiones: Se logró expresar la proteína NS1 de PVC2c, en un sistema de expresión procariota. Si bien estos resultados son preliminares, permiten pensar que los sueros obtenidos de ratones inmunizados con la proteína purificada, podrán ser utilizados en la detección de NS1 en sistemas de expresión eucariota y vectores virales, que serán construidos para evaluar su efecto antitumoral.

6. **Análisis de los genes *v-Bcl2* y *v-Flip* de seis aislamientos locales del *Gammaherpesvirus bovino 4* (BoHV-4).** Morán P(1); Manrique J(3, 4); Romeo F(2); Pérez S(1, 4); Odeón A(5); Jones L(3, 4); Verna A(4, 5). (1) Facultad Ciencias Veterinarias, UNCPBA; (2) Agencia Mincyt; (3) Laboratorio de Virología y Genética Molecular, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; (4) CONICET; (5) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce.

Los virus, en su proceso evolutivo, han desarrollado mecanismos específicos para eludir las defensas del hospedador. Algunos virus codifican factores inhibitorios de la apoptosis durante la infección. El BoHV-4 posee dos genes (ORF16 y ORF71) que codifican las proteínas v-Bcl2 y v-Flip, respectivamente. Si bien está comprobado que estas proteínas virales no poseen actividad proapoptótica, según los resultados de algunos ensayos experimentales *in vitro*, la infección con BoHV-4 podría inducir apoptosis mediante diferentes procesos. Debido a lo controvertido de estos resultados, es importante estudiar los genes que se asocian con la capacidad de BoHV-4 de inducir o inhibir la apoptosis en células infectadas. El objetivo de este trabajo fue analizar los genes *v-Flip* y *v-Bcl2* de seis aislamientos locales de BoHV-4, clasificados como genotipos 1 (tipo Europeo), 2 (tipo Americano) y 3 (nuevo genotipo), para determinar si existen diferencias en ambos genes con respecto a las distintas cepas. Las cepas de BoHV-4 se propagaron en células MDBK, se extrajo el ADN y se amplificaron ambos genes mediante PCR. Los dos genes fueron amplificados en las cepas 09/508 (genotipo 1), 12/365 (genotipo 2) y las cepas 09/227 y 07/435 (genotipo 3). No fue posible amplificar ninguno de los dos genes en las cepas 08/263 y 08/330 (genotipo 2). El análisis de la secuenciación y alineamiento reveló que el *v-Bcl2* de las cepas del genotipo 3 (09/227 y 07/435) presentó 13 sitios variables, mientras que en las cepas 09/508 y 12/365 se identificaron tres sustituciones. En la proteína *v-Bcl2* de las cepas 09/227 y 07/435 también se detectaron dos sustituciones aminoácidicas. En el alineamiento del gen *v-Flip* se detectaron 15 sustituciones, para las cepas 09/227 y 07/435; en la cepa 09/508 se hallaron 12 sustituciones y la cepa 12/365 presentó ocho

sustituciones. En la proteína *v-Flip* se evidenciaron siete sustituciones aminoacídicas en las cepas del genotipo 3 y cinco en las cepas 09/508 y 12/365. Los resultados de este estudio demostraron que existen variaciones en los genes *v-Flip* y *v-Bcl2* lo cual podría influir en la capacidad para inducir apoptosis y manifestarse en distintas características biológicas de los distintos aislamientos locales de BoHV-4. Esto también podría asociarse con distintos comportamientos de las cepas *in vivo*.

7. **Expresión de Interferón Lambda en Tejido Nervioso de Bovinos Infectados con BoHV-1 o BoHV-5.** Rosales JJ(1,4); Burucúa MM(2,3); Odeón A(3); Marin MM(2,3); Pérez SE(1,4). (1) Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); (4) Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)-CONICET.

Los alfaherpesvirus bovinos (BoHV) tipo 1 y 5 son neuroinvasivos. El BoHV-5 es el agente causal de meningoencefalitis necrotizante en terneros, mientras que el BoHV-1 solo ocasionalmente se lo asocia con cuadros neurológicos. El ciclo de infección de los alfaherpesvirus se caracteriza por etapas de infección aguda, latencia y reactivación. Las neuronas sensoriales del ganglio trigémino (GT) son el principal sitio de latencia y la reactivación del virus latente conduce a la transmisión y diseminación viral. El interferón (IFN) tipo III o IFNλ es un grupo de IFNs recientemente identificados. Los receptores para esta citoquina se localizan en células epiteliales y del sistema inmune, aunque su localización en otros tejidos no ha sido extensamente investigada. Al igual que el IFN tipo I, el IFNλ induce un estado antiviral en las células. Si bien el rol del IFN tipo I en la infección por BoHV ha sido parcialmente estudiado, no existe información respecto al IFN tipo III. El objetivo de este estudio fue determinar y comparar los niveles de expresión del IFNλ3 en sistema nervioso central (SNC) y GT durante la infección aguda de terneros experimentalmente infectados con BoHV-1 o 5. Materiales y Métodos: Se utilizaron terneros de 1 año de edad inoculados intranasalmente con 106.3 DICC50/ml de la cepa Cooper de BoHV-1(n=2) o de la cepa 97/613 de BoHV-5 (n=2). La eutanasia se realizó a los 6 días post-infección (dpi) y se obtuvieron muestras de corteza olfatoria, frontal y posterior, médula oblonga y GT. El ARN se extrajo con Trizol (Invitrogen) y fue cuantificado con un Nanodrop. El ADN genómico se digirió con DNase I (Ambion), se transcribió a cDNA (RT, Applied Biosystems) y la expresión del gen IFNλ3 se cuantificó con la técnica RT-qPCR empleando la MASTER MIX Sybr/ROX(PB-L), siguiendo las indicaciones de cada fabricante. Resultados: Los niveles de expresión de IFNλ3 fueron significativamente superiores ($p \leq 0,05$) en GT de los terneros infectados con BoHV-1 y 5 con respecto a los niveles observados en el control. En este tejido, los niveles de expresión en la infección por BoHV-1 fueron 5,5 veces superiores a los detectados para BoHV-5. Por otro lado, en corteza olfatoria y corteza frontal sólo en la infección por BoHV-5 los niveles de expresión fueron significativamente superiores ($p \leq 0,05$) a los detectados en el control. Conclusión: La corteza olfatoria y frontal son los sitios preferenciales de replicación del BoHV-5 al acceder al SNC, por lo cual los elevados niveles de expresión de IFNλ3 se corresponden con la respuesta esperada a la replicación del virus en estas áreas del cerebro. Del mismo modo, es probable que la respuesta a IFNλ3 en GT de los animales infectados con BoHV-1 refleje los mayores niveles de replicación viral descriptos en este sitio durante la infección aguda. Aunque se requieren estudios más profundos, estos resultados son los primeros reportes de la expresión de IFNλ3 en tejido nervioso de bovinos infectados con alfaherpesvirus.

8. **Infección por Dengue. Brote del 2016 en Misiones.** Baré P(1, 2), Carballo G(3), Aloisi N(2), Chuit R(4); Elizalde de Bracco MM(1, 2). (1) IMEX, CONICET, Academia Nacional de Medicina; (2) IIHEMA, Academia Nacional de Medicina; (3) Laboratorio CEBAC, Posadas, Misiones; (4) IIE, Academia Nacional de Medicina, Bs As.

La infección por Dengue (DENV) puede pasar inadvertida o convertirse en una enfermedad grave llevando a la muerte. La amplificación mediada por anticuerpos es uno de los mecanismos más ampliamente aceptado como responsable de la

severidad clínica por lo que la presencia de anticuerpos preexistentes puede contribuir a la severidad de la enfermedad. Métodos: Se evaluaron 241 de un total de 3000 muestras colectadas por el laboratorio CEBAC, durante el brote del año 2016 en Posadas, Misiones. Se realizaron las siguientes técnicas: método rápido SD Bioline Dengue Duo test para la detección de antígeno NS1 (AgNS1) combinado con anticuerpos IgM/IgG (inmunocromatografía), ELISA Diapro IgM e IgG (ELISA), Euroimmun IgM e IgG (ELISA), PCR- DENV in house y 2 técnicas de PCR en tiempo real (Altona Realstar Dengue PCR y Taqman Zika virus Triplex (ZIKV-DENV- CHIKV)). Se clasificaron los tipos de infección según los siguientes criterios: las muestras con RNA(+) o AgNS1(+) y anticuerpos IgG(+) fueron consideradas infecciones secundarias. Para aquellas muestras con anticuerpos IgM e IgG sin AgNS1 ni RNA, se calculó el IgM/IgG ratio considerando un valor de corte de 1,7. Muestras con índices IgM/IgG > 1,7 fueron consideradas infecciones primarias.

Objetivos: Evaluar la eficiencia de las metodologías combinadas para resolver casos agudos en el diagnóstico de infección por DENV. Explorar la prevalencia de infecciones secundarias en el contexto epidemiológico de la ciudad de Posadas. Analizar el impacto de las infecciones secundarias en la performance de los estudios de diagnóstico. Resultados: 84% de los casos AgNS1(+) fueron confirmados con presencia de RNA viral y 77% de muestras AgNS1(-) mostraron ausencia de DENV RNA. Se confirmó infección aguda en el 76% de las muestras. Usando las 3 metodologías, solo 3 resultados no pudieron confirmarse. Los coeficientes de concordancia entre las distintas marcas comerciales fueron muy buenos para los tests que detectan IgM (k=0,8) y buenos entre Diapro y Euroimmun para anticuerpos IgG (k= 0,7). SD Bioline mostró bajos coeficientes para IgG (k=0,2). Se detectaron 49% de infecciones secundarias, 29% de infecciones primarias, 8% de infecciones pasadas y 14% de individuos sin marcadores para DENV. Las técnicas presentaron un mayor número de casos discordantes en aquellas muestras que mostraban infección secundaria (p=0,0017). El grado de concordancia entre las técnicas de detección de AgNS1 y RNA aumenta si las infecciones secundarias son excluidas del análisis (k= 0,6 a k= 0,79).

Conclusión: La alta frecuencia de infecciones secundarias confirma la alta incidencia de infección por DENV en la región y predice la susceptibilidad de los individuos ante futuros brotes. Los marcadores de infección aguda pierden eficiencia en la detección de casos en aquellas muestras que presentan infecciones secundarias. Esto debe tenerse en cuenta al confeccionar los algoritmos diagnósticos en este entorno epidemiológico.

9. **Carga proviral y haplotipos de HLA-A/B/C: factores asociados al desarrollo de patologías en la infección por el virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1) en Argentina**. Benencio P; Ducasa N; Biglione M; Berini C. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS); Buenos Aires

El HTLV-1 es el agente causal de la Leucemia/Linfoma a Células T del Adulto (ATLL) y la Mielopatía asociada al HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP). Sólo el 5% de los infectados desarrollarán alguna de estas patologías, manteniéndose la mayoría como portadores asintomáticos. El objetivo de éste estudio es identificar los alelos de HLA-A/B/C en individuos HTLV-1 positivos y relacionarlos con niveles de carga proviral (CPV).

Se estudiaron un total de 49 muestras de 18 grupos familiares. 3 provenían de pacientes con ATLL, 6 de pacientes con HAM/TSP y 1 de un paciente coinfectado con Strongyloides stercoralis. Además, se analizaron 21 familiares portadores asintomáticos y 18 familiares no infectados. Se realizó la extracción de ADN; se secuenciaron automáticamente y tipificaron los genes para HLA-A, -B y -C. Para la determinación de CPV, se analizaron 29 muestras de pacientes con patologías (7 con ATLL y 22 con HAM/TSP) mediante qPCR para el gen pol. Se determinó la presencia de 12 polimorfismos para HLA-A, 16 para HLA-B y 11 para HLA-C. Por orden de frecuencia: A*02, A*33, A*31, A*24, A*01, A*68, A*03, A*69, A*26, A*11, A*29 y A*36. En cuanto a HLA-B: B*35, B*39, B*48, B*51, B*15, B*38, B*14, B*40, B*53, B*07, B*27, B*52, B*08, B*44, B*55 y B*60. Para HLA-C fue: C*07, C*03, C*15, C*04, C*12, C*16, C*18, C*01, C*06, C*14 y

C*05. Este orden de frecuencias varía cuando se comparan los grupos con y sin patologías. La comparación estadística de éstas frecuencias arroja un aumento significativo en la distribución de los alelos HLA-B*35 y HLA-C*07 en pacientes con patología en comparación con aquellos asintomáticos (p=0,040 y p=0,001, respectivamente), lo que sugiere que estarían asociados a susceptibilidad a enfermedad. No se ha observado un aumento significativo en la presencia de alelos que pudiera ser asociado con protección frente al desarrollo de patologías. Se observó un aumento estadísticamente significativo en la CPV de los pacientes con el alelo A*31 en comparación con aquellos que poseían el alelo A*02. En Argentina, los alelos más frecuentes para los genes de HLA de clase I son A*02, B*35 y C*07, lo que concuerda con los resultados obtenidos. Dos alelos fueron asociados con susceptibilidad frente al desarrollo de patologías: B*35 y C*07. En Japón y Brasil el alelo HLA-A*02 se asoció con protección frente al desarrollo de patologías; si bien en nuestro estudio no se observa ésta asociación (p=0.052), es probable que si ocurra al aumentar el N poblacional. En este sentido, este alelo se encontró asociado a menores niveles de CPV en comparación con el resto, especialmente en relación al A*31. Sería importante analizar mayor número de casos y además, otros factores del sistema inmune en busca de marcadores para el desarrollo de patologías asociadas al HTLV-1.

10. Diseño y producción de vectores lentivirales para modular la expresión de genes involucrados en la inmunosupresión. Salcedo M; González Hermida P; Abrey Recalde J; Oliver J; Frecha, C. Instituto de Medicina Traslacional e Ingenieria Biomédica (IMTIB) CONICET- Instituto Universitario Hospital Italiano- Hospital Italiano, Buenos Aires.

La proteína STUB1 fue recientemente caracterizada como una enzima de tipo E3 ligasa, capaz de promover la degradación del factor de transcripción FOXP3 de manera específica. Es ampliamente conocido que FOXP3 tiene un rol clave en la diferenciación de células T regulatorias y por lo tanto en procesos de inmunosupresión. Además, se ha visto que STUB1 está sobreexpresada en algunas células tumorales cuya función en ellas es aún desconocida. Nos planteamos investigar si la administración de STUB1 en células T podría tener un efecto en los niveles de inmunosupresión. Entre las herramientas de transferencia genética más adecuadas para la expresión de genes en células hematopoyéticas se encuentran los vectores lentivirales. El objetivo de este trabajo es diseñar un vector lentiviral de expresión de STUB1 humana. En primer lugar, se estudió la expresión de STUB1 en las líneas celulares tumorales HEK293T y HeLa. Por RT-PCR se comprobó la presencia de RNA mensajero de STUB1 en células derivadas de cáncer cérvico-uterino. A partir del diseño de primers específicos con sitios de enzimas de restricción se aisló el cDNA de STUB1 y se clonó en un plásmido lentiviral autoinactivable (SIN), río abajo del promotor ubicuo EF1alfa, seguido por una secuencia IRES y la secuencia del gen reportero GFP (LV-STUB1). Los plásmidos se amplificaron por transformación en bacterias E. Coli competentes (TOP10), seleccionándose los clones positivos por PCR colony. Posteriormente, se comprobó la presencia del inserto mediante corte con enzimas de restricción específicas y se confirmó la correcta secuencia y orientación del cDNA de STUB1 por secuenciación. Los vectores lentivirales se produjeron en células productoras HEK293T. Se realizó una cotransfección de tres plásmidos: plásmido empaquetador portando los genes gag-pol, plasmido que codifica para la envuelta del virus de la stomatitis vesicular (VSVG), y aquél con la secuencia de STUB1IRESGFP. Se optimizó el método de transfección utilizando el sistema PEI, en preferencia a otros sistemas testeados (CaCl2, Lipofectamina). Los vectores lentivirales fueron recolectados al día 2 de la transfección y preservados -80 grados para su posterior utilización en células target. Se testeó la eficiencia de transducción de las partículas lentivirales en células Jurkat E6-1. Los niveles de GFP se midieron por Citometría de Flujo, 72h post transducción. Los resultados obtenidos demuestran que el vector LV-STUB1 es capaz de transducir más del 35% de las células a una multiplicidad de infección de 0.5 vectores/célula (MOI: 0.5), sin afectar la viabilidad celular. Estos resultados sugieren que sería posible obtener una mayor expresión del transgén a MOIs más altas. Los próximos experimentos incluyen la validación funcional del transgén y la optimización del

vector para su utilización en modelos de inmunosupresión.

11. **Diseño, expresión y presentación de antígenos recombinantes del virus de la hepatitis E sobre la superficie de partículas semejantes a bacterias para el desarrollo de una vacuna de subunidad**. Müller MF(1,2); Raya MF(1,2); Arce LP(1,2); Padilla Franzotti CL(1,2); Villena J (3); Vizoso Pinto MG(1,2). (1) Laboratorio de Biología de las Infecciones, Instituto de Investigaciones en Medicina Molecular y Celular Aplicada del Bicentenario (IMMCA), CONICET–Universidad Nacional de Tucumán-Sistema Provincial de Salud de Tucumán (SIPROSA); (2) Laboratorio Central de Cs. Básicas, Facultad de Medicina-Universidad Nacional de Tucumán; (3) Laboratorio de Inmunobiotecnología, CERELA (CONICET), Tucumán.

La hepatitis E es una enfermedad aguda que se transmite por vía fecal-oral y generalmente es autolimitante pero en embarazadas está asociada a una elevada mortalidad (~20-30%). Su agente etiológico es un virus ARN monocatenario positivo (+ssRNA) cuyo genoma es de aprox. 7,2 Kb y pertenece a la familia Hepeviridae. La respuesta inmune contra el virus de la Hepatitis E se dirige principalmente contra la proteína de la cápside viral ORF2. El motivo lisina (LysM) es un motivo ubicuo en bacterias responsable de la unión no covalente de enzimas al peptidoglicano de la pared celular. Esta propiedad puede explotarse para diseñar vacunas que consisten en proteínas recombinantes fusionadas al dominio LysM, ancladas a la superficie de partículas similares a bacterias (BLP). Las BLP son micropartículas que se obtienen por tratamiento ácido/térmico de lactobacilos inmunomoduladores. Este tratamiento produce la muerte celular y expone el peptidoglicano de su pared aumentando la capacidad de unión a los motivos LysM sin afectar sus propiedades adyuvantes. Objetivos: clonar ORF2 del HEV genotipo 3 (genotipo circulante en Argentina) como una proteína de fusión con dominio LysM, generar BLP a partir de *L. rhamnosus* para utilizarlas como plataforma para exponer el antígeno de cápside de HEV. Métodos: se realizó una PCR anidada para amplificar el gen ORF2 y para introducir simultáneamente las secuencias attB en sus extremos. La BP Clonasa (Gateway) catalizó la recombinación de este producto de PCR con un plásmido con sitios attP para generar clones de "Entrada". El siguiente paso consistió en una recombinación catalizada por LR clonasa que reconoce los sitios attL de este plásmido y los sitios attR del vector Destino (pENHAc-[rfB]) para entonces generar el plásmido de expresión pENHAc-ORF2 y transformar en *E. coli* Rosetta por shock térmico. Las BLP se obtuvieron de cultivos en MRS de 16 h de *L. rhamnosus*, concentrados y tratados con 0.1 M HCl durante 30 minutos en baño de agua hirviendo. Luego se lavó con PBS estéril y se concentró a 2,5 x 1010 BLP / ml. Para la unión de la proteína a la superficie de las BLP, el extracto crudo de la expresión se incubó con las BLP con rotación orbital durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se lavó con PBS estéril. Se evaluó la unión de las proteínas a las BLP mediante SDS-PAGE. Resultados: la expresión de ORF2-LysM se logró con una inducción de 3 h a 37° C con IPTG 0.5 mM. Fue posible purificar la proteína de cápside mediante la unión específica del dominio LysM al peptidoglicano expuesto en la superficie de las BLP. La proteína recombinante se une a las BLP como se demostró por SDS PAGE. Conclusión: Fue posible purificar la proteína ORF2-LysM utilizando BLP como matriz de afinidad. El antígeno expuesto sobre la superficie de BLP derivadas de bacterias inmunomoduladoras se utilizará para inmunizar ratones por vía oral para evaluar la capacidad de este complejo de generar inmunidad específica.

12. **Obtención de anticuerpos de dominio único derivados de camélidos (nanoanticuerpos o VHH) que reconocen especificamente las partículas 146S de la cepa O1/campos del virus de la Fiebre Aftosa.** Bozzo J; Marchese F; Gonzalez M; Seki C; Periolo O; Mattion N; Grippo V. CEVAN-CONICET-SENASA, Buenos Aires.

Argentina posee el estatus de libre de Fiebre Aftosa (FA) otorgado por la OIE con zonas diferenciadas por la aplicación o no de la vacuna (zonas libres con vacunación y libres sin vacunación). En cuanto a la calidad de la vacuna, el componente inmunogénico principal es la partícula viral intacta (146S), la cual puede disociarse en productos de degradación específicos (12S) reduciendo la potencia de la vacuna.

El contenido de 146S se mide por la integración del pico viral purificado en gradiente de sacarosa midiendo su absorbancia a 260 nm. Este método es sensible pero es laborioso y requiere de equipos costosos. En el laboratorio, se han desarrollado numerosos anticuerpos (Acs) monoclonales convencionales contra las cepas sudamericanas del virus de FA (VFA) pero ninguno ha reconocido exclusivamente 146S para su aplicación en el desarrollo de un método más simple y adecuado en el control de la producción de la vacuna. A su vez, los Acs de dominio único derivados de camélidos (NanoAcs o VHH) presentan características únicas comparados con los Acs convencionales, en particular reconocen epitopes inaccesibles para estos últimos. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue obtener VHH capaces de reconocer específicamente las partículas 146S de la cepa O1/Campos del VFA. Para lograr tal objetivo, se construyeron bibliotecas inmunes de VHH y seleccionaron NanoAcs específicos contra esta cepa por "Phage display". Los 13 VHH más reactivos fueron expresados en bacteria detectándose una única banda del PM esperado (15kDa) por Western Blot. Para evaluar la reactividad de los VHH contra las distintas partículas, se purificaron las 146S y, a partir de éstas se generaron las 12S por tratamiento térmico. El proceso total de degradación a 12S se verificó por sedimentación en gradiente de sacarosa y ELISA. Se determinó que 3 de los 13 VHH expresados (periplasma) presentaron una alta reactividad contra 146S y baja reactividad contra 12S en ELISA. Posteriormente, se purificaron por IMAC tanto VHH que reconocieron preferencialmente 146S como NanoAcs que reconocieron ambas partículas (controles). La reactividad de los VHH purificados se probó contra ambas partículas en ELISA. Finalmente, se separaron por gradiente de sacarosa partículas 146S purificadas y 12S generadas por tratamiento térmico. La reactividad de los VHH contra todas las diferentes fracciones del gradiente se evaluó por ELISA, corroborando fehacientemente que los VHH reconocieron específicamente las partículas 146S y no así las 12S.

En conclusión, se obtuvieron VHH capaces de reconocer específicamente las partículas 146S y con baja reactividad contra las partículas 12S generada por tratamiento térmico. Estos Acs son de gran interés para desarrollar un ELISA que permita cuantificar la proporción de partículas intactas (146S) en los distintos pasos de producción de la vacuna. Esto representaría una metodología más rápida y sencilla que la utilizada actualmente en el control de calidad de la vacuna.

13. Diagnóstico de alta sensibilidad de Anemia Infecciosa Equina utilizando proteína p26 recombinante. Abeyá MM(1,2); Tizzano MA(1); Kehoe P(1); Larsen AE(1); Echeverria MG(1,2); Sguazza GH(1). (1) Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLP; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), La Plata, Buenos Aires.

El virus de la Anemia Infecciosa Equina (AIE), pertenece a la Familia *Retroviridae*, Subfamilia *Orthoretrovirinae*, Género *Lentivirus*. El virus tiene un genoma ARN de cadena simple con tres genes principales: *gag*, *pol* y *env*. El gen *gag* codifica una proteína de 26KDa denominada p26, que es la proteína mayor de la cápside, constituyendo aproximadamente un 40% del total de la proteína del virión. Este virus ocasiona una infección persistente en equinos, asnos y mulas (Familia *Equidae*), caracterizada por episodios irregulares de fiebre, depresión y anemia, separados por períodos asintomáticos de quiescencia clínica. Debido a que no existe tratamiento contra esta enfermedad, las principales medidas para su prevención son la erradicación de los vectores de contagio (especialmente los tábanos) y el sacrificio de los animales infectados, salvo en las provincias donde la enfermedad es endémica. Es por ello que se requieren pruebas periódicas para realizar la detección temprana de esta enfermedad.

En 1970, al descubrirse que caballos infectados con AIE poseían anticuerpos precipitantes contra la proteína p26, Coggins y Norcross desarrollaron un método para la detección de anticuerpos en sueros de animales infectados denominada prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA) o Test de Coggins. Desde entonces, esta técnica fue aceptada para tránsito internacional e interno de equinos, ya que posee una alta especificidad. Sin embargo, debido a su menor sensibilidad, existen sueros que resultan difíciles de diagnosticar debido a que dan reacciones positivas

muy débiles (borderline), que pueden ser interpretadas como negativas.

Con el objetivo de aumentar la sensibilidad diagnóstica para esta enfermedad, se desarrolló una prueba de Western Blot (WB) utilizando como antígeno una proteína p26 recombinante (p26r). El gen que codifica esta proteína, fue clonado y expresado en la levadura *Pichia pastoris*. Una vez obtenida la p26r, fue utilizada para el desarrollo y puesta a punto de la técnica de WB. Posteriormente, la sensibilidad del WB fue comparada contra el test de Coggins. Para ello, se realizaron distintas diluciones de suero que se analizaron por ambas técnicas utilizando la modalidad de doble ciego. Asimismo también se compararon resultados obtenidos con ambos métodos a partir de muestras del banco de sueros históricos positivos y negativos, sin observar discrepancias. Con la técnica de Coggins se obtuvo una lectura positiva hasta la dilución 1:32. Contrariamente, con la técnica de WB se obtuvieron resultados de mayor sensibilidad, pudiendo definirse el diagnóstico positivo hasta la dilución 1:2000, sin resultados sospechosos ni equívocos. Por lo cual se concluye que la técnica de Western blot constituye una herramienta rápida y eficiente para el diagnóstico serológico de esta enfermedad.

SESIÓN 2

14. Hepatitis E, un virus emergente: desarrollo de herramienta diagnóstica y análisis del escenario epidemiológico en la zona núcleo maicera de Argentina. Acosta J(1); Marziali F(1); Bolatti E(2); Costaguta A(5); Mirazo S(6); Skejich P(4); Silva P(3); Gardiol D(1); Cavatorta AL(1). (1) Área Virología, Laboratorio de Virus Oncogénicos, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Santa Fe; (2) Área Virología, Laboratorio de Virología Humana, Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET), Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, Santa Fe; (3) Cátedra de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla, Santa Fe; (4) Cátedra de Intr. a los Sistemas de Producción Agropecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Zavalla, Santa Fe; (5) Jefe Servicio de Gastroenterología y Hepatología, Sanatorio de Niños, Rosario, Santa Fe; (6) Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

El virus de las hepatitis E (HEV) es el único virus causante de hepatitis con una transmisión zoonótica a partir del cerdo lo que representa un problema en salud pública. En nuestro país se ha demostrado la circulación viral en cerdos y en humanos, y se han reportado casos agudos esporádicos de hepatitis. Sin embargo, se desconoce su incidencia regional, y, desde el Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Nación, se ha señalado la importancia de ampliar el conocimiento epidemiológico para este virus. El desconocimiento de la verdadera magnitud de la infección y la ausencia de herramientas diagnósticas confiables, constituyen un problema concreto para grupos de riesgo como pacientes inmunosuprimidos o hepatópatas crónicos, en los cuáles la infección puede adquirir mayor agresividad. Teniendo en cuenta esto y el desarrollo que alcanzó la ganadería porcina en nuestro país, nos propusimos optimizar una reacción de RT-PCR en tiempo real con control interno para la detección de HEV, con el objetivo de aumentar la *performance* de las metodologías utilizadas actualmente en nuestro medio. Una vez desarrollada esta herramienta, evaluamos la circulación del HEV en materia fecal de cerdos de establecimientos comerciales localizados en distintos lugares de la zona núcleo maicera de nuestra región. Los resultados obtenidos demostraron en primer lugar, que la técnica optimizada presenta una eficiencia de 99.4% con un límite de detección de 11 copias del virus por reacción, habiéndose logrado así el desarrollo de una metodología superadora a la utilizada en la mayoría de los laboratorios de análisis clínicos y reportes académicos de nuestro medio. Asimismo, el análisis de las muestras de heces porcinas arrojó la presencia de ARN viral en 11 de las 135 muestras analizadas (8.1%), lo que realza la importancia de profundizar el análisis epidemiológico acerca de este virus. Este estudio permite demostrar la real circulación de HEV en cerdos de la zona núcleo maicera de nuestro país, lo que pone en evidencia el riesgo de contagio de HEV hacia humanos, sobre todo para las poblaciones de riesgo.

15. **Virus Like Particle de Virus de Fiebre Aftosa serotipo A/Arg/2001 como candidato para una vacuna de nueva generación, estudio de inmunidad inducida.** Bidart JE(1)(2); Mignaqui A(2); Kornuta C(1)(2); Gammella M(1); Soria I(1)(2); Langellotti C(1)(2); Mongini C(1)(2); Quattrocchi V(1); Wigdorovitz A(3); Zamorano P(1)(2)(4). (1) Instituto de Virología-CICVyA, INTA, Hurlingham; (2) CONICET, CABA; (3) INCUINTA, INTA, Hurlingham; (4) Universidad del Salvador, CABA.

La Fiebre Aftosa (FA) es una enfermedad aguda y económicamente importante provocada por el Virus de Fiebre Aftosa (VFA). Las vacunas comerciales formuladas con VFA inactivo (VFAi) y adyuvantes son eficaces. Sin embargo, actualmente muchos esfuerzos se realizan para desarrollar nuevas vacunas que no utilicen VFA infectivo en su proceso y que permitan diferenciar animales vacunados de infectados. Las Virus-like particles (VLPs), mantienen los sitios antigénicos del virión sin ARN infeccioso. Se utilizaron VLPs del serotipo A/Arg/01 obtenidas en células de mamífero 293-6E cultivadas en suspensión mediante transfección transitoria utilizando el plásmido pTT5-P12A3C.

Se realizó una curva dosis-respuesta en modelo murino, desarrollado en nuestro laboratorio, se vacunaron ratones BALB/c (n=5) con 0,2 ml de formulación i.p., con un refuerzo a los 21 dpv con VLPs A/Arg/01: 1; 0,5; 0,3 y 0,15 µg/dosis en PBS o con adyuvante (Montanide ISA206). A los 34 dpv los Acs αVFA inducidos, medidos por Elisa en fase líquida, fueron: 2,38±0,09; 2,3±0,3; 2,00±0,07 y 1,9±0,5 en los grupos 1µg+ISA206, 0,5µg+ISA206, 0,3µg+ISA206 y 0,15µg+ISA206 respectivamente (no encontrándose diferencias significativas entre estos). De los individuos vacunados con formulaciones sin adyuvante se detectaron anticuerpos solo en el grupo 1µg/d (1,03±0,06). Los títulos VLPs+ISA demostraron ser significativamente superiores a VLPs sin adyuvantes ($p<0,01$). Dos días pre-desafío los Ac seroneutralizantes en el grupo 1µg+ISA206 fueron: 1,6±0,1, significativamente mayores que los grupos: 0,5µg+ISA206: 1,41±0,02 ($p<0,05$); 0,3µg+ISA206: 1,34±0,08 ($p<0,01$) y 0,15µg+ISA206: 0,98±0,09 ($p<0,001$). La vacuna 1µg+ISA206 indujo Acs SN similares a los inducidos por la vacuna comercial (1,76±0,08). A los 36 dpv se desafiaron con VFA A2001 infectivo. En el grupo VLPs 1µg el 60% de los individuos estuvo protegido; en los grupos: VLPs 0,5 y 0,3µg el 20 % de los animales estuvieron protegidos y no se observó protección en el grupo VLPs 0,15µg. Se observó una mayor protección frente al desafío en los individuos vacunados con las formulaciones con Adyuvante, llegando al 100% en los grupos VLPs: 1µg; 0,5µg y 0,3µg+ISA 206. La vacuna 0,15µg+ISA 206 indujo una protección en el 60 % de los ratones.

Para evaluar la inmunidad celular, se realizó una linfoproliferación de los esplenocitos 24h pos-desafío y se midió por citometría de flujo. Luego de una estimulación con VFAi, se observó que en el grupo VLPs 0,5µg+ISA206 el 80% de individuos respondieron proliferando frente al virus inactivado, mientras que en el grupo VLPs 0,5µg respondieron el 40%.

En conclusión, las VLPs recombinantes son capaces de inducir protección comparable con la vacuna comercial cuando se formula con adyuvante ISA 206. Estos valores de protección concuerdan con los títulos de anticuerpos obtenidos y con la proliferación de linfocitos T antígeno específica.

16. **La funcionalidad y el fenotipo de la respuesta T CD8+ se correlaciona con el tamaño del reservorio viral en individuos HIV+.** Czernikier A; Salido J; Trifone C; Ghiglione Y; Turk G. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires.

La persistencia de los linfocitos T CD4+ latentemente infectados sigue siendo un obstáculo en la cura de la infección por el HIV. Múltiples mecanismos podrían estar involucrados en el establecimiento y el mantenimiento de estas poblaciones celulares que constituyen el "reservorio viral". En los últimos años se ha puesto especial énfasis en el estudio e identificación de aquellas características de la respuesta de linfocitos T CD8+ (LTCD8+) HIV-específica asociadas al control viral. Objetivo: Evaluar la relación entre la calidad de la respuesta inmune previa al inicio del tratamiento antirretroviral (TARV) y al año post-TARV con el tamaño del reservorio viral.

Métodos: 17 individuos HIV+ fueron reclutados durante la infección aguda/temprana (mediana 2

meses postinfección). Se obtuvo una muestra de sangre periférica previa al inicio del TARV (pre-TARV) y otra a los 18 meses luego del inicio del TARV (post-TARV). Se evaluó la funcionalidad (producción de citoquinas y degranulación) y el fenotipo (subpoblaciones de memoria y expresión de PD-1) de los LTCD8+ totales y HIV-específicos por citometría de flujo en las muestras pre- y post-TARV. Se cuantificó el ADN viral total (ADNt) e integrado (ADNi) asociado a células por PCR en tiempo real en la muestra post-TARV. Los datos fueron analizados por métodos no paramétricos.

Resultados: El análisis mostró una correlación inversa entre los niveles de ADNi, la expresión pre-TARV del marcador de degranulación CD107 y el %LTCD8+ efectores terminales HIV-específicos (r=-0,692; p=0,003 y r=-0,504 y p=0,049, respectivamente). Asimismo, los niveles de ADNt se correlacionaron positivamente con el %LTCD8/PD1+ HIV-específicos; %LTCD8+/PD1+ naïve y %LTCD8+/PD1+ efectores terminales (r=0,523, p= 0,006; r=0,716, p=< 0,0001 y r=0,521 y p=0,009, respectivamente).

Por otro lado, se observó una correlación directa entre el ADNi y el %LTCD8+/PD1+ post-TARV (r=0,842 y p<0,0001) e inversa con %LTCD8+/bi- y tri-funcionales (r=-0,857, p=0,024 y r=-0,786, p=0,048). Además, se observaron correlaciones positivas entre el ADNi y el %LTCD8+ memoria efectora tanto en el compartimiento total (r=0,684, p= 0,005), HIV-específico (r=0,827, p=0,0003) y PD1+ (r=0,687, p=0,004) post-ART. En línea con estos resultados, el ADNi se correlacionó negativamente con %LTCD8+ efectores terminales en los mismos tres compartimentos (r=-0,598, p=0,016; r=-0,819, p=0,0003 y r=-0,651, p=0,007). Finalmente, se observaron correlaciones negativas entre el ADNt y el %LTCD8+ naïve y stem cell (r=-0,561, p=0,002 y r=-0,398, p=0,044).

Conclusión: Se observó una relación entre los parámetros inmunes (pre y post-TARV) y la persistencia viral. En conjunto, esta evidencia apunta a que una respuesta inmune con menor funcionalidad, inclusive antes del inicio del TARV, y con un fenotipo de agotamiento se asocia con un mayor tamaño del reservorio viral al año post-TARV. Estos resultados aportan datos relevantes para el desarrollo de estrategias de una cura funcional.

17. Estudio de la evolución del 3'UTR del virus chikungunya durante el ciclo de replicación viral.

Bardossy ES(1); Merwaiss F(1); Suzuki Y(2); Saleh MC(2); Alvarez DE(1); Filomatori CV(1). (1) Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, UNSAM, CONICET; (2) Institut Pasteur, Viruses and RNA Interference Unit, CNRS Unité Mixte de Recherche 3569, Paris, France.

Los RNA virus tienen genomas plásticos que se adaptan rápidamente a diferentes entornos. El virus chikungunya (CHIKV) es un alfavirus transmitido por mosquitos que reemergió recientemente, diseminándose por todo el mundo. Llamativamente, el genoma de distintos aislamientos virales difiere significativamente en la longitud de la región 3' no codificante (3'UTR), la cual se caracteriza por tener repeticiones cortas de secuencia o direct repeats (DRs). En América apareció un nuevo linaje de CHIKV que contiene un mayor número de copias de las DRs (CHIKV-Cb, del Caribe). En este trabajo, nos propusimos estudiar la evolución del 3'UTR de CHIKV-Cb en cultivo celular y en colonias de mosquitos. Para esto utilizamos un clon infeccioso de CHIKV-Cb, a partir del cual sintetizamos RNA viral que transfectamos en células de mamífero y mosquito crecidas en cultivo. Con los virus obtenidos a partir de los sobrenadantes de cultivo reinfectamos células frescas y realizamos pasajes sucesivos. Para analizar la composición de la progenie viral, secuenciamos el 3'UTR de las variantes virales individuales adaptadas. Sorprendentemente observamos un cambio drástico en la composición de la población viral: emergieron variantes virales con 3'UTR más cortos con una frecuencia de 50-60% en mamífero y 10-20% en mosquito. El análisis de secuencia demostró que los nuevos 3'UTRs tenían deleciones limpias de uno o más DRs. Para estudiar el efecto de las deleciones sobre la replicación viral, diseñamos virus mutantes con el 3'UTR de las nuevas variantes virales y evaluamos la replicación viral por inmunofluoresencia y curvas de crecimiento. Observamos que mutantes con deleciones replicaron eficientemente en células de mamífero, mientras que en células de mosquito estuvieron retrasadas. Este

resultado indica que las DRs son funcionales en mosquito y redundantes en mamífero. Finalmente, evaluamos la dinámica de las poblaciones virales durante el cambio de hospedador. Para esto infectamos colonias de mosquitos con un stock viral proveniente de células de mamífero y seguimos la evolución de la población viral en mosquitos individuales. A los 2 días postinfección un 50% de las variantes contenían deleciones en el 3'UTR, mientras que a 8 días postinfección el 95% de la población viral presente en el cuerpo del mosquito correspondió al virus WT, indicando que las variantes con deleciones se seleccionaron negativamente.

Concluimos que el 3'UTR de CHIKV es muy inestable durante la replicación viral y que el crecimiento en células de mamífero es una fuente importante de variabilidad genética. Además comprobamos que los requerimientos de DR son distintos en mamífero y mosquito, lo cual explica el carácter dinámico de las poblaciones virales durante el cambio de hospedador. En su conjunto, nuestros estudios sugieren que las repeticiones de secuencia le otorgan plasticidad al 3'UTR de CHIKV, el cual jugaría un papel clave sobre la evolución viral.

18. Caracterización del efecto *in vitro* del ácido Nordihidroguayarético sobre Dengue virus tipo 1. Martínez F(1;2); Aguilar J(1); Contigiani M(1); Nuñez Montoya SC(3;4); Konigheim B(1;2). (1) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella"-Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), CONICET; (4) Dpto. Cs. Farmacéuticas, Facultad Ciencias Químicas, Universidad Nacional Córdoba.

Larrea divaricata Cav. (Zygophyllaceae), conocida popularmente como "jarilla" posee reconocida importancia en la medicina tradicional de nuestro país. El ácido nordihidroguayarético (ANDG) es el compuesto mayoritario y biológicamente activo que posee esta especie. Previamente, evaluamos la actividad antiviral y virucida *in vitro* del ANDG sobre diferentes arbovirus. Dado el efecto producido sobre el virus Dengue tipo 1 (DENV-1), con una concentración efectiva 50 de 13,84 µM, se planteó caracterizar el efecto virucida *in vitro* del ANDG y su acción en diferentes momentos de la infección con DENV-1. Se caracterizó la actividad virucida a distintos tiempos y temperaturas. DENV-1 se pre-incubó con ANDG (115 µM) durante 15, 30, 45 y 60 min a 37°C y 60 min a 4°C. Luego, diluciones seriadas 1/10 se sembraron sobre células LLC-MK2. Para valorar la potencia antiviral, las células se infectaron sincronizando la infección con diferentes índices de multiplicidad (MOI): 0,015; 0,075; 0,15; 1,5; y se incubaron con medio semisólido conteniendo 90 µM de ANDG. Por otro lado, se agregó ANDG (90 µM) sobre monocapas de LLC-MK2 en distintos momentos: a) 60 min antes de la adhesión, b) durante la adhesión c) durante la adsorción viral d) durante la adsorción y luego junto con el medio semisólido 7 días, y e) en el medio semisólido pos-infección, 7 días. En todos los casos se incubó durante 7 días (37°C y 5% de CO2) y se incluyeron controles de célula, compuesto y virus (n=3). La evaluación de la inhibición viral (%I) se realizó utilizando la prueba de reducción de UFP. Se demostró que el efecto virucida *in vitro* de ANDG sobre DENV-1 es diferente a las temperaturas ensayadas (4°C y 37°C), siendo inactivo a 4°C y directamente proporcional al tiempo de incubación a 37°C. Así, la mayor actividad (disminución de 3 log de UFP) se logró incubando a 37°C durante 60 min. Este resultado resalta la importancia de estudiar la cinética de inhibición, mostrándonos las condiciones en donde el compuesto es activo. En cuanto a la potencia antiviral del ANDG, se observó que fue capaz de inhibir completamente las partículas virales, independientemente de la MOI. Además, se estableció que el ANDG interviene principalmente cuando se lo adiciona en el medio semisólido y permanece presente durante los 7 días de incubación(83%I). Estos resultados indican que el ANDG actúa también intracelularmente y sugiere que es activo principalmente en las etapas tardías del ciclo de replicación viral, sin afectar los primeros pasos de este ciclo. La bioactividad del ANDG sobre DENV-1 reviste una relevante importancia sanitaria, ya que las infecciones por este virus no poseen un tratamiento terapéutico; y la vacuna no ha sido aprobada en nuestro país. Así, la caracterización de la actividad antiviral del ANDG sobre el DENV-1, justificaría continuar trabajando para evaluar el mecanismo de acción por el cual este compuesto inhibe el DENV-1.

Financiamiento: FONCYT- PICT Nº 1697 Tipo D, Res. ANPCyT n° 285/17. Director: Dra. N.M. S. C.

19. Obtención y evaluación de nuevos inmunógenos que expresan la proteína VP2 del virus de la bursitis infecciosa de las aves. Romanutti C(1); Keller L(2); Gallo Calderón M (1); Zanetti F(2). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN)-CONICET-SENASA; (2) Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein–CONICET-FPC.

La bursitis infecciosa (IBD) es una enfermedad que afecta a pollos jóvenes y que genera importantes pérdidas económicas en la industria avícola. El virus de la bursitis infecciosa (IBDV) produce destrucción de los linfocitos B que maduran en la bolsa de Fabricio de las aves. El control de IBD se realiza principalmente por administración de vacunas basadas en cepas virales atenuadas, que si bien, inducen una respuesta de anticuerpos neutralizantes, generan lesiones en la bolsa interfiriendo en la respuesta a otras vacunas y/o favoreciendo infecciones por otros patógenos. El objetivo de este trabajo fue obtener y evaluar nuevos inmunógenos, seguros y efectivos, para la prevención de IBDV. En este contexto se obtuvo un adenovirus humano recombinante no replicativo, serotipo 5, que expresa la proteína viral 2 (VP2), antígeno inductor de anticuerpos neutralizantes en el hospedador. Para ello, la secuencia nucleotídica codificante de la proteína VP2 se clonó en el vector de entrada pENTR4 *Invitrogen* y se realizó la reacción de recombinación entre éste y el vector de destino pAd-CMV/V5-DEST (*Invitrogen)*. El plásmido obtenido pAd-CMV-VP2, que contiene además de la secuencia de interés todo el genoma de adenovirus excepto la región codificante para las proteínas E1 y E3, se transfectó en células HEK293A que expresan constitutivamente los productos de los genes virales E1 y E2 permitiendo la formación de las partículas virales infectivas. El *stock* de Ad-VP2 se cosechó luego de la aparición de efecto citopático y se caracterizó molecularmente. La capacidad inmunogénica del Ad-VP2 se evaluó en el modelo murino aplicando un esquema de inmunización heterólogo combinado con una vacuna basada en ADN (pXL-VP2, plásmido de expresión eucarionte obtenido previamente). Grupos de cinco ratones (cepa BALB/c, hembra de 7 semanas) se inmunizaron por vía im con 100µg de pXL-VP2 o con el plásmido vacío pXL (grupo control). A los 21 días se les administró una dosis de $5x10^8$ UFP del Ad-VP2 o de un adenovirus que expresa la proteína verde fluorescente como antígeno no relacionado (Ad-GFP). La presencia de anticuerpos con reactividad específica se evaluó por ELISA y seroneutralización. Los sueros preinmunes y los de los ratones vacunados con pXL/Ad-GFP no presentaron reactividad contra la proteína VP2 ni actividad neutralizante específica en los ensayos de ELISA y seroneutralización, respectivamente. En cambio, los sueros de los ratones inmunizados con pXL-VP2/Ad-VP2 presentaron valores de DO significativamente mayores que los del grupo control y títulos neutralizantes de IBDV de 64 y 1024 luego del *prime y boost*, respectivamente. En este trabajo se logró obtener, caracterizar y evaluar en el modelo murino, la capacidad inmunogénica de una vacuna a ADN y de un vector viral no replicativo para la expresión *in vivo* de la proteína VP2 de IBDV. A futuro se evaluará la inmunogenicidad y la eficacia de los candidatos vacunales en el pollo, hospedador natural de IBDV.

20. Puesta a punto de una PCR en tiempo real para la detección de Adenovirus Equino tipo 1 en Argentina. Alamos F(1); Tordoya MS(1); Olguin Perglione C(1); Vissani MA(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador.

El Adenovirus equino 1 (EAdV1) es un virus ADN de doble cadena perteneciente a la familia Adenoviridae, género Mastadenovirus, que infecta las células del tracto respiratorio superior, cursando de forma subclínica, excepto en potrillos en los que se observan signos como fiebre, anorexia, conjuntivitis, tos y descarga nasal mucosa. Se transmite por contacto directo o por aerosoles, a partir de caballos infectados. La detección del virus se realiza mediante aislamiento viral en células o técnicas moleculares como la PCR en tiempo real (qPCR). Esta última, permite la detección rápida del virus a partir de muestras de hisopados nasofaríngeos (HN). En Francia se reportó EAdV1 en animales con y sin signos respiratorios (3%), sin embargo, no hay información de EAdV1 en otros países

incluyendo a Argentina. Nuestro laboratorio, recibe por año aproximadamente 30 muestras de casos respiratorios de potrillos y animales adultos, sobre los cuales se realiza el diagnóstico de Herpes virus equino 1 (EHV1) y 4 (EHV4), Influenza equina (EIV) y de Arteritis equina(EAV). El objetivo de este trabajo es realizar la puesta a punto de una qPCR para detectar EAdV1, con el fin de disponer de un panel de diagnóstico molecular estandarizado para enfermedades respiratorias equinas. Se utilizó como control positivo una cepa de referencia de EAdV1 (gentilmente cedida por Dr. Dubovi, Cornell University, USA) en diluciones seriadas de -1 a -7 en base 10, las cuales fueron previamente evaluadas por DICT50% en monocapas de células VERO. Se analizaron 92 muestras de HN en total: 60 de animales con enfermedad respiratoria, negativos a EHV1, EHV4, EIV y EAV; 19 de animales sin signos clínicos en cuarentena pre-exportación; y 13 aislamientos y cepas de referencia de EHV1 y 4, EIV y AVE. La extracción de ácidos nucleicos se realizó con el Qiamp RNA Mini viral kit (QIAGEN). Las muestras fueron analizadas por qPCR amplificando un fragmento del gen hexón de 163 pb del EAdV1, de acuerdo a lo descripto por Doubli-Bounoua et al., (2016). Se realizaron tres repeticiones de los ensayos. Se realizó una curva de calibración analítica, con las diluciones seriadas del virus y se determinó el valor de corte en el Ct correspondiente a la dilución que presenta 1 partícula viral (Ct: 34± 2). Se determinó una especificidad analítica del 100% analizando las cepas de referencia y aislamientos positivos a otros virus respiratorios relacionados. No se detectó genoma de EAdV1 en las 79 muestras de HN analizadas. Estos resultados muestran una estandarización preliminar de una qPCR para detectar EAdV1 en muestras de HN equinos. Se prevé incluir, en un análisis posterior, un número mayor de muestras de casos respiratorios para realizar la validación diagnóstica de la técnica y poder utilizarla dentro del panel diagnóstico de enfermedades respiratorias. Si bien se analizó un bajo número de muestras provenientes de animales con y sin signos clínicos, no se detectó circulación del virus en los casos analizados.

21. Desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas para el control de la Fiebre Hemorrágica Argentina. Nuñez DA; Ziraldo M; Sierra AB; Lopez N; D'Antuono A. Centro de Virología Animal (CEVAN), CONICET-SENASA.

La Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) es una grave zoonosis endemoepidémica de la región central de nuestro país, con una población en riesgo estimada en más de 5 millones de individuos, y una tasa de mortalidad en ausencia de tratamiento que puede llegar al 30%. El virus Junín (JUNV), agente causal de la FHA, se clasifica dentro del grupo de los mammarenavirus del Nuevo Mundo. La prevención de la FHA consiste en la aplicación de la vacuna a virus atenuado Candid #1, producida en nuestro país. Si bien la vacuna ha demostrado ser efectiva y segura para la prevención de la enfermedad en áreas endémicas, presenta ciertas desventajas al igual que otras vacunas a virus atenuados. En particular, individuos inmunocomprometidos, niños y jóvenes de hasta 15 años y mujeres gestantes no pueden recibir la vacuna. Por otro lado, el riesgo de reversión de la atenuación no puede descartarse. El objetivo del presente trabajo es generar una plataforma vacunal alternativa para la FHA, basada en adenovirus humano tipo 5 (Ad) que exprese simultáneamente las proteínas estructurales Z, NP y GPC de JUNV, que serían relevantes para la inducción de una respuesta inmune efectiva. Para la obtención del candidato vacunal se utilizó el kit comercial ViraPowerTMAdenoviral Expression System. Brevemente, se generó el cassette de expresión Z:NP:GPC, donde los genes de las tres proteínas virales se encuentran fusionadas en fase por medio del péptido autoclivable 2A. Luego, el cassette fue clonado en el vector de entrada pENTR4, generándose el plásmido pENTR4-Z:NP:GPC. Por medio de recombinación *in vitro* entre el vector de entrada y el vector pAd-CMV-DEST se obtuvo el plásmido pAd-Z:NP:GPC, que contiene las secuencias de JUNV bajo regulación del promotor de cytomegalovirus, en el contexto del genoma de un Ad que carece de los genes para las proteínas virales E1 y E3. Para la obtención del adenovirus recombinante Ad-Z:NP:GPC, el vector pAd-Z:NP:GPC fue transfectado en células HEK293A. Esta línea celular suplementa en trans la proteína E1 al vector defectivo, posibilitando la formación de las partículas de adenovirus recombinantes. El Ad-Z:NP:GPC generado fue caracterizado mediante técnicas moleculares. La inserción de las secuencias

foráneas en el genoma recombinante fue confirmada mediante PCR utilizando oligonucleótidos específicos para los transgenes. Para analizar la expresión de las proteínas heterólogas, células HEK293A fueron infectadas con el Ad-Z:NP:GPC y a las 24 horas, la presencia de Z, NP, y GPC en extractos celulares totales fue evaluada mediante Western blot utilizando sueros específicos para las proteínas de JUNV. Estos experimentos revelaron que el polipéptido Z:NP:GPC se expresa y es procesado correctamente por la proteasa 2A. En conclusión, se logró desarrollar un candidato que dirije la expresión de las proteínas estructurales mayoritarias de JUNV.

22. Patologías asociadas al virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV-1) diagnosticadas en un instituto de Buenos Aires, Argentina. Ducasa N; Benencio P; Biglione M; Berini C. CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS), Buenos Aires.

Introducción: El HTLV-1 es un deltaretrovirus que se transmite por vía sexual, parenteral y de madre a hijo que causa una enfermedad hematológica denominada leucemia/linfoma a células T del Adulto (ATLL) y una enfermedad neurológica, la mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). Se estima que alrededor del 5% de las personas infectadas desarrollan alguna de ellas. Además, ha sido asociado a dermatitis infectiva infantil y a estrongiloidiasis diseminada. En Argentina, este retrovirus es endémico en la región del noroeste, particularmente en Salta y Jujuy.

El objetivo fue realizar un estudio retrospectivo de todas las muestras procesadas para diagnóstico de HTLV-1 en un instituto de CABA (INBIRS) para caracterizar epidemiológicamente los casos de patologías asociadas a la infección. Se analizó la base de datos de todas las muestras recibidas para diagnóstico de HTLV-1/2 desde Enero de 1997 hasta Junio de 2018 y se analizaron los datos epidemiológicos de los pacientes que presentaban patologías asociadas a la infección por HTLV-1/2. De 2675 muestras analizadas, se diagnosticaron 415 casos HTLV-1 positivos (15.5%; IC 95%:14.1-16.9). De los individuos infectados con HTLV-1, 18 presentaron ATLL, 35 HAM/TSP, 2 estrongiloidiasis y 1 dermatitis infectiva infantil con promedios de edad de 47, 44, 42 y 11 años respectivamente. De las 18 ATLL, 9 fueron clasificadas como agudas, 5 como linfomas, una leucemia crónica favorable (3 sin datos). Ocho de éstos individuos tenían relación con áreas endémicas del norte de Argentina o países con altas prevalencias de HTLV-1. En cuanto a los 36 casos de HAM/TSP, 14 provenían de áreas endémicas de Sudamérica, al igual que los dos casos con estrongiloidiasis y dermatitis infectiva.

Conclusiones. Desde el 2006, la detección de anticuerpos anti-HTLV-1/2 es obligatoria en donantes de sangre de Argentina. Desde el año 1997, se han observado casos de las patologías asociadas a la infección, tanto en zonas endémicas como no endémicas. Realizar una vigilancia completa e incluir a estos retrovirus en un Programa Nacional con el fin de prevenir la transmisión vertical y sexual, permitiría reducir significativamente la tasa de infección de HTLV-1/2, y en consecuencia también de sus patologías asociadas en nuestro país.

23. Caracterización de macrófagos en amígdalas de pacientes pediátricos infectados por Epstein Barr virus. Moyano A(1); De Mateo E(2); Preciado MV(1); Chabay P(1). (1)Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas. IMIPP-CONICET, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas. IMIPP-CONICET, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.

Introducción: El virus de Epstein Barr (EBV) establece una infección de por vida, en un balance entre el virus y el sistema inmune, que puede alterarse y poner de manifiesto su capacidad oncogénica. Poco se sabe acerca de la participación de los macrófagos frente al control de la infección por el virus.

Objetivo: Caracterizar los macrófagos en el microambiente de amígdalas, sitio de ingreso del virus, de pacientes pediátricos infectados por EBV.

Métodos: Se estudiaron 42 pacientes (1 a 15 años; mediana: 6 años) con amigdalotomía. Se evaluó el status de infección por serología (primoinfectado, portador, reactivado o no infectado) y por

inmunohistoquímica se caracterizó el perfil de polarización de los macrófagos mediante el recuento de CD68+ (M1) y CD163+ (M2) en dos regiones histológicas, el centro germinal y la región interfolicular, expresando el resultado como células/mm2.
Resultados: De los 42 pacientes estudiados, 16 resultaron Primoinfectados, 16 Portadores, 7 Reactivados y 3 No infectados. En cuanto a los perfiles de latencia, el 41,5% de los pacientes expresó Latencia I, el 31,7% Latencia II, el 12,2% Latencia III y el 14,6% Latencia 0. Un 14,6% de los pacientes mostró además expresión de proteínas de ciclo lítico. Se observó un recuento significativamente mayor de células CD68+ vs CD163+ en el total de los pacientes ($p<0.0001$, T-test), y en cada uno de los grupos: Primoinfectados, Portadores y Reactivados ($p<0,05$ T-test y Mann Whitney). No se encontraron diferencias significativas en la comparación de medias para CD68 y CD163 entre los grupos (ANOVA $p=0,5888$ y $p=0,2448$, respectivamente). No se encontró una correlación entre CD68 y CD163 en el total de los pacientes y en cada uno de los grupos entre ellos ($p>0,05$,test de correlación Spearman).Si bien no se encontraron diferencias significativas en las medias de CD68 en centro germinal vs zona interfolicular en los tres grupos de pacientes ($p>0,05$ T test para muestras pareadas y Wilcoxon signed rank test), sí se halló un mayor recuento para CD163 en la región IF (Primoinfectados: $P=0,0001$, Portadores: $P=0,0104$, Reactivados: $P=0,1186$, Global: $P< 0.0001$, T test para muestras pareadas y Wilcoxon signed rank test). Por último, se evaluó el perfil de polarización de los pacientes, definiendo como M1 a la relación M1/M2 >1,5, y como M2 a M2/M1 >1,5, prevaleciendo M1 en el 95,23% de los casos. Al analizarlo por zonas, en centro germinal el 100% de los pacientes presentó perfil M1 mientras que en la zona interfolicular, el 78,57% M1 y 19,05% M2.
Conclusiones: Este es el primer trabajo en caracterizar la respuesta de macrófagos en el sitio de entrada de EBV en niños. La prevalencia de CD68 frente a CD163 indica un predominio del perfil M1, con actividad antimicrobiana e inflamatoria, independiente del estadío de la infección y que estaría participando en el control de la infección. Esta prevalencia de M1 coincide con lo previamente observado en nuestro grupo en el microambiente de pacientes con LH.

24. Estudio de la expresión de los transcriptos que codifican para las proteinas antigénicas de Herpesvirus Bovino Tipo 4 (BoHV-4). Romeo F(1); Spetter M(2); Leunda M(3); Pereyra S(3); Odeón A(3); Pérez S(2)(4); Verna A(2)(3). (1) Agencia Mincyt; (2) CONICET; (3) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Balcarce; (4) Facultad Ciencias Veterinarias, UNCPBA.

Los *gammaherpesvirus* son patógenos importantes en humanos y animales. Durante los primeros eventos de infección estos virus manipulan las vías de señalización de las células hospedadoras para permitir una infección exitosa. En las células infectadas por BoHV-4, el IE2 (Immediate Early Gene) es el primer gen que se transcribe y se lo considera un factor clave para determinar el resultado de la infección. Las diferentes proteínas que componen las partículas virales tienen funciones críticas no solo en la estructura viral y en la entrada a la célula diana, sino también en la evasión de la respuesta antiviral del huésped. En el BoHV4 se encuentran la glicoproteínas (g) gB, gH, gM, gL y gp80, siendo gB, gH y gp80 las más glicosiladas. La glicosilación de las proteínas de la envoltura podría estar involucrada en la protección del virión a la neutralización por anticuerpos. Por otro lado, la gL es necesaria para el ingreso a la célula diana y se encuentra formando un heterodímero con gH, mientras que la gB es responsable de la adhesión a la célula huésped e indispensable para la replicación lítica del BoHV-4. El objetivo de este trabajo fue estudiar la expresión de los transcriptos que codifican las glicoproteínas de la envoltura de dos cepas de campo de BoHV-4 para determinar si la variabilidad en su capacidad seroneutralizante puede atribuirse a diferencias en la expresión de estos genes. Se seleccionaron las cepas 07/435 y 10/154, genéticamente divergentes, genotipo 3 (nuevo genotipo) y genotipo 1 (tipo Americano) respectivamente, las cuales fueron evaluadas previamente en un estudio *in vivo* donde, luego de su inoculación experimental en terneros, se detectaron anticuerpos neutralizantes sólo en los infectados con la cepa 07/435, sin observarse reacción cruzada con la cepa 10/154. El BoHV-4 se propagó en células MDBK,

se extrajo el ARN a diferentes horas post-infección (pi) y se amplificaron los genes mediante RT-PCR. Se observaron diferencias entre las cepas en la expresión de los genes analizados. El gen IE2 se detectó a las 4, 8 y 10 h pi en las células infectadas con la cepa 10/154, mientras que en las infectadas con la 07/435 el transcripto se detectó a partir de las 6 hasta las 24 h pi. Tanto los transcriptos para las glicoproteínas gp80, gL, gH y gM se detectaron a partir de las 2h pi en la células infectadas con 10/154, mientras que en las infectadas con la 07/435 la expresión comenzó luego de 24h pi, excepto el gH que se expresó a partir de 10h pi. El gB se expresó luego de 10h en las células infectadas con 10/154 mientras que con 07/435 luego de 24h. Los resultados de este estudio demostraron que las cepas de BoHV-4 analizadas presentan variaciones en la expresión temporal de los genes que codifican las glicoproteínas de la envoltura del BoHV-4 asociadas a la inducción de anticuerpos neutralizantes, lo cual podría estar asociado a una variación en la respuesta inmune humoral inducida por las distintas cepas en el huésped.

25. La expresión de MIF tiene implicancias en la activación de las células T CD4 + y facilita la infección por HIV-1. Trifone C(1), Salido J(1), Czernikier A(1), Ghiglione Y(1), Turk G(1). Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y SIDA (INBIRS), Facultad de Medicina de Buenos Aires, UBA, Buenos Aires.

Los niveles plasmáticos del factor inhibitorio de la migración de macrófagos (MIF) se encuentran aumentados en individuos HIV+ en comparación con donantes sanos. Nuestro grupo ha descripto que MIF promueve la liberación de factores proinflamatorios específicamente a partir de macrófagos derivados de monocitos (MDMs) primarios infectados. Asimismo la expresión de MIF podría desempeñar un papel relevante en la activación de linfocitos T CD4+ (LTCD4). Objetivo: caracterizar el papel del MIF en la activación de LTCD4 y la subsiguiente infección por HIV.
Se evaluó la activación y permisividad a la infección de LTCD4 primarios de donantes sanos tratados con PHA, en presencia o ausencia de un anticuerpo bloqueante anti-MIF, o con MIF recombinante. La activación de LTCD4 se analizó por citometría de flujo y, mediante ELISA, la secreción de citoquinas. La acción de MIF sobre el promotor viral LTR se evaluó en las líneas reporteras CEM y Ghost. En LTCD4, la neutralización de MIF inhibió la activación mediada por la PHA. Se observó una disminución en la frecuencia de células activadas (16.88%) en comparación con LTCD4 estimuladas con PHA (50.71%) ($p=0.017$). Además, se encontró una expresión significativamente menor de HLA-DR, CD25 y CD28. En las mismas células se observó una disminución en la secreción de citoquinas tales como INF-γ, TNF-α, IL-6. No se observaron cambios en la viabilidad del cultivo entre tratamientos. El número de células infectadas fue significativamente menor al bloquear la actividad de MIF (1.32%), en comparación con el control PHA solo (6.58%, $p=0.0026$) y se asemejaba a los resultados de LTCD4 no activados (0.85%). Los LTCD4 no activados estimulados con MIF mostraron una mayor producción viral después de la infección (95.82 ng/ml) en comparación con las células no estimuladas (11.84 ng/ml; $p=0.022$). No se detectaron diferencias en el porcentaje de infección, la viabilidad celular o la activación entre todas las condiciones. Finalmente, la expresión desde el promotor LTR de GFP en líneas celulares reporteras no se vio afectada por MIF.
Nuestro trabajo describe un papel importante de MIF en la activación de LTCD4. MIF impulsa la activación fenotípica y funcional de LTCD4, lo que en última instancia promueve la permisividad a la infección por HIV. A la inversa, el agregado de MIF exógeno desencadenó una mayor producción viral sin afectar la activación celular, la proliferación o el porcentaje de infección. Estas diferencias podrían estar relacionadas con la vía de señalización. La expresión intracelular podría desencadenar mecanismos no disponibles para MIF exógeno debido a una posible baja incorporación intracelular.En conjunto, MIF tendría un rol importante en la patogénesis de HIV actuando sobre diferentes estirpes celulares.

26. Caracterización de un nuevo inhibidor del Virus de la Diarrea Viral Bovina: mecanismo de acción y espectro de actividad. Fabiani M(1).; Quintana ME(2); Castro EF(1); España De Marco MJ(3); Soraires Santacruz MC(4); Finkielsztein LM(4); Moltrasio GY(5); Capozzo AV(2); Cavallaro, LV(3).

(1) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología; (2) CONICET-INTA Castelar; (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología; (4) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Química Medicinal; (5) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Química Orgánica.

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es un pestivirus de la familia *Flaviviridae*. Se clasifica en varios genotipos y subgenotipos, y puede presentar biotipo citopático (cp) o no citopático (ncp). Se distribuye mundialmente con alta prevalencia, y puede generar infecciones tanto agudas como persistentes, provocando importantes pérdidas económicas en la industria ganadera. Si bien existen vacunas disponibles para este virus, éstas no son obligatorias ni efectivas contra todos los genotipos circulantes y no existe hasta el momento ningún antiviral disponible. Previamente reportamos la actividad anti-BVDV de una tiosemicarbazona derivada de 1-indanona (5,6-TSC), caracterizada como un inhibidor no nucleosídico (INN) de la ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp) de BVDV. A partir de modificaciones estructurales de este compuesto, se sintetizaron y evaluaron tiosemicarbazonas derivadas y se reportó a la *N4*-p-nitroariltiosemicarbazona derivada de la 5,6-dimetoxi-1-indanona (N4-TSC) como el derivado más potente. El objetivo de este trabajo fue caracterizar tanto el mecanismo de acción como el espectro de actividad antiviral de N4-TSC. Se evaluó la actividad del compuesto frente a BVDV de cepas cp (por reducción del efecto citopático viral, mediante MTS/PMS) y ncp (por *in cell*-ELISA) en células MDBK; y frente a otros virus (DENV-2, PV-1, EV-71, AdV) utilizando las líneas celulares adecuadas. Para caracterizar el mecanismo de acción se evaluó la actividad virucida, el efecto del pretratamiento de las células, y el efecto del tiempo de adición de N4-TSC sobre la replicación de BVDV, midiendo número de partículas virales infectivas en sobrenadante y ARN viral intracelular por RT-q-PCR. Para validar el target molecular se seleccionaron variantes de BVDV resistentes a N4-TSC (N4-TSCR) y se realizó la caracterización tanto biológica (susceptibilidad a N4-TSC, 5,6-TSC y Ribavirina –Rib-) como molecular (amplificación y secuenciación de región codificante de la RdRp). N4-TSC resultó activo frente a las cepas de BVDV estudiadas e inactivo frente a los demás virus ensayados, presentando actividad moderada frente a PV-1. Por otra parte, no mostró actividad virucida ni indujo un estado antiviral en las células por pretratamiento. La acción antiviral fue máxima cuando N4-TSC se agregó hasta las 6-8 h post-infección. Pasado este punto la actividad inhibitoria disminuye significativamente. Este tiempo coincide con el comienzo de la síntesis del ARN viral. Los N4-TSCR seleccionados fueron resistentes tanto a N4-TSC como a 5,6-TSC, pero mantuvieron su sensibilidad al compuesto de referencia Rib. Por otra parte, todos presentaron la mutación N264D en la región de la RdRp. Esta mutación ha sido asociada a resistencia para 5,6-TSC y para otros INN de BVDV previamente. En conjunto, estos resultados indicarían que N4-TSC es un nuevo y potente INN de la RdRp de BVDV, activo frente a BVDV de distintos genotipos y biotipos.

SESIÓN 3

27. Síndrome convulsivo por virus Herpes humano 6: la importancia del diagnóstico de laboratorio virológico rápido y certero. Tenaglia MM; Hernández Fregonese G; Berruezo F; Zucotti A; Vercelli B; Patiño L; Bottiglieri M; Isa MB. Laboratorio de Microbiología, Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba.

Introducción: El virus Herpes humano 6 (VHH-6) es ubicuo dentro de la población mundial. El 70–90% de los niños se infectan a los 2 años de edad, con una incidencia máxima de adquisición entre los 9 y los 21 meses. La manifestación más típica de infección primaria es el exantema súbito que se presenta en el 10 a 24 % de los casos con fiebre que puede exceder los 40 ºC. En niños sanos, el VHH-6 se ha asociado con convulsiones febriles y meningoencefalitis. En inmunodeprimidos con encefalitis y otros trastornos mentales durante las reactivaciones.

Objetivo: Demostrar la importancia del diagnóstico de laboratorio virológico rápido y certero en pacientes con sospecha diagnóstica de meningoencefalitis.

Caso clínico: Paciente masculino de 18 meses de vida, sin antecedentes patológicos referidos y desarrollo psicomotor normal. 15 días antes de la consulta a la guardia presentó un cuadro de vías aéreas superiores. Persistió sintomatología y se agregó fiebre de 38ºC por lo que se indicó antibióticos durante una semana. A las 24 horas de finalizado el mismo, presentó fiebre de 38ºC con convulsión de 1-2 min de duración, por lo que acudieron a la guardia, se indicó dipirona y manejo ambulatorio. En el hogar realizó nuevo episodio de convulsión, se decidió su internación con diagnóstico de convulsión febril atípica y diagnóstico presuntivo de meningoencefilitis. Día 1: Paciente hemodinámicamente compensado, febril 39,8ºC, con faringe congestiva, irritable sin signos de focos neurológicos ni meníngeos. Día 2: Se tomó muestra para hemocultivo (resultado negativo) y se realizó TAC de cerebro (normal). Continuó febril y se inició tratamiento con antibióticos. Se indicó punción lumbar. Resultados del LCR: cultivo bacteriológico negativo, fisicoquímico: normal. Se decidió realizar una PCR multiplex (Film Array panel meningoencefalitis) detectándose VHH-6 y se suspendió el tratamiento con antibióticos. Día 3: El paciente continuó con picos febriles, lúcido, activo y continuó sin signos de foco motor ni meníngeo. Día 4: estable y presentó un exantema macular morbiliforme eritematoso. Día 5: continuó el rash y se encuentra afebril, se dió el alta médica con indicaciones de interconsulta con el servicio de neurología.

Discusión: Frente a una sospecha diagnóstica de meningoencefalitis, el médico generalmente solicita PCR para detección de virus herpes simple y enterovirus como los principales implicados en la etiología de estos cuadros, perdiendo la oportunidad de detectar otros agentes causales. La detección del VHH-6 en este paciente permitió la suspensión inmediata de antibióticos. El haber encontrado el virus causal de la patología fue posible debido a que en nuestro laboratorio contamos con la metodología FilmArray ®. Esta técnica es un sistema cerrado de PCR múltiple que integra la preparación, amplificación, detección y análisis de la muestra permitiendo diagnosticar en forma simultánea bacterias, virus y levaduras con resultados disponibles en una hora.

28. Actividad antiviral *in vitro* de nuevos derivados antraquinónicos sintéticos. Mugas L(1); Konigheim B(2); Roumana A(3); Aguilar J(2); Contigiani M(2); Fousteris M(3); Núñez Montoya S (1,4). (1) Dpto de Cs. Farmacéuticas, Fac. Cs. Qcas., UNC, Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J M Vanella", Fac. Cs. Médicas, UNC. Córdoba; (3) Laboratory of Medicinal Chemistry, Department of Pharmacy, University of Patras. Patras, Greece; (4) Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV), CONICET, Córdoba.

Frente a las escasas alternativas terapéuticas para las virosis, nuestro grupo de investigación se enfoca en la búsqueda de potenciales compuestos antivirales a partir de especies vegetales nativas de Argentina; como así también, a la obtención de derivados sintéticos. Las antraquinonas (AQs) son metabolitos secundarios ampliamente encontrados en las plantas y muchas de ellas, incluso sus derivados sintéticos, han mostrado poseer actividad antiviral *in vitro*. Atentos al continuo interés en el desarrollo de nuevas AQs con potencial actividad antiviral, el objetivo del presente trabajo fue obtener derivados de xantopurpurina y evaluar su actividad antiviral *in vitro*. El núcleo antraquinónico se obtuvo mediante una reacción de acilación de Friedel-Crafts siguiendo el procedimiento de Zhang et al (2012). Luego, mediante la reacción de acoplamiento Suzuki–Miyaura se obtuvieron los derivados de xantopurpurina, de acuerdo con lo descripto por Qiao et al. (2007). La identidad de los derivados sintéticos se confirmó por espectroscopia de resonancia magnética nuclear, y la pureza mediante cromatografía líquida de alta presión. Los ensayos biológicos *in vitro* (citotoxicidad y actividad antiviral) se llevaron a cabo sobre células Vero, empleando la metodología de captación de Rojo Neutro. A partir de las curvas de viabilidad celular vs. concentración de cada AQ, se determinó la concentración que afecta al 20 % y al 50 % de las células (Concentración subtóxica y citotóxica 50, respectivamente), y la máxima concentración no citotóxica (MCNC). Para evaluar la actividad antiviral, se eligieron 7 concentraciones ≤ CSubT, las cuales se agregaron sobre monocapas de células, previamente infectadas con 100 unidades formadoras de placa (UFP) de cada virus: Herpes simple tipo 1 (HSV-1), West Nile (WNV), Encefalitis Equina Venezolana (VEEV) y Chikungunya (CHIKV). Los

resultados se expresaron como porcentaje de inhibición viral (%I) vs. concentración, estimándose la concentración efectiva 50 (CE50), para luego obtener el índice de selectividad (IS = CC50/CE50), parámetro necesario para la valoración de un agente antiviral. Se obtuvieron 3 nuevos derivados: 6-bromo-xantopurpurina (BrX), 6-fenil-xantopurpurina (PhX) y 6-(4-metoxifenil)-xantopurpurina (MeOPhX), siendo MeOPhX la única AQ que demostró actividad antiviral. La adición de un grupo 4-metoxifenil en posición 6 del núcleo de xantopurpurina (MeOPhX) otorgó una importante actividad antiviral contra CHIKV (%I=100; CE50=63,13 µM; IS=3,05) y un buen efecto antiherpético (%I=80; CE50=81,12 µM; IS=2,31), pero resultó inactiva para WNV y VEEV. Estos resultados confirman que la síntesis orgánica que utiliza como modelo de partida compuestos naturales, es una importante herramienta para la obtención de derivados activos contra virus ADN y ARN. Un IS>2 sería suficiente para convertirse en un potencial antiviral, por lo que, se propone a MeOPhX como un buen candidato a seguir estudiando para el desarrollo de nuevos de nuevos fármacos antivirales.

29. Diversidad genética de virus potencialmente transmisibles por el ambiente en una ciudad de la Patagonia. Manrique JM(1,2); Berry DAB(3); Jones LR(1,2). (1) Laboratorio de Virología y Genética Molecular (LVGM), Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; Ciudad de Buenos Aires; (3) Laboratorio de Patologías Prevalentes y Epidemiología.

Los virus que se eliminan en grandes cantidades durante la infección tienen una alta probabilidad de transmitirse a traves del ambiente. El estudio de los mismos, por lo tanto, es importante desde el punto de vista sanitario. En este trabajo se presentan datos preliminares sobre virus potencialmente transmisibles por el ambiente detectados en la ciudad de Trelew (Chubut). El estudio se realizó a partir de muestras clínicas (MC) y de aguas residuales (MAR) las cuales fueron analizadas mediante métodos moleculares de alta sensibilidad (nested PCR y RT-PCR) y obtención de secuencias de ácidos nucleicos. Dichas muestras, las cuales son representativas de la excreción viral en la población y eliminación de la misma en el ambiente, fueron colectadas a lo largo de un año. Las MAR se clarificaron mediante filtración por impacto hasta un tamaño de partícula menor que 0.22 µm, luego de lo cual fueron concentradas (2000 X) mediante filtración tangencial (límite nominal: 30 KDa) e inactivadas mediante buffer conteniendo un agente caotrópico (ITG). Las muestras clínicas fueron directamente inactivadas en buffer ITG. En ambos casos la extracción de material genético viral (ADN y ARN) ser realizó mediante procedimientos estándar. Todas las muestras ambientales presentaron adenovirus, mientras que se identificaron Polylomavirus, Rotavirus y Norovirus en forma intermitente. La no detección de virus de la hepatitis A es congruente con la implementación del programa de vacunación implementado desde 2005. Más del 20 % de las muestras clínicas (n=243) resultaron positivas para adenovirus. La secuenciación de los virus detectados reveló que los mismos corresponden a varias especies diferentes. Si bien esto no necesariamente implica un vínculo con las patologías subyacentes, el resultado demuestra la importiancia de los métodos de base genética en el análisis epidemiológico de los virus entéricos ya que los mismos permiten diferenciar entre las numerosas especies virales que pueden producir infecciones en el humano. Nuestros resultados indican que los adenovirus son prevalentes en nuestra zona de estudio, tal como se ha observado en otras regiones del Mundo. Esto puede ser de particular relevancia en zonas frías y templadas ya que se cree que la viabilidad de estos virus en el ambiente es favorecida por las bajas temperaturas.

30. Análisis de expresión de genes del hospedador potencialmente involucrados en el nivel de carga proviral (CP) con el Virus de la leucosis bovina. Petersen M(2); Carignano H(1); Suarez Archilla G(1); Alvarez I(1,2),Trono K(1,2), Miretti M(2). (1) Instituto de Virología, INTA, Buenos Aires; (2) CONICET.

El Virus de la leucosis bovina (BLV) es un δ-retrovirus que infecta de manera persistente a los linfocitos B de bovinos. En la mayoría la infección transcurre de manera asintomática, pero un 5 al 10% de los animales

infectados desarrollan linfosarcoma y mueren, generando así importantes pérdidas económicas en el sistema productivo. Debido a su integración al genoma bovino, el potencial de transmisión es mayor en un animal que desarrolla una alta carga proviral (ACP) que en uno con baja carga proviral (BCP). El nivel de CP en un animal infectado está determinado por múltiples causas, siendo la variabilidad genética del hospedador un factor potencialmente relevante. De acuerdo con esto, en un estudio de asociación de genoma completo (GWAS) realizado por nuestro grupo de trabajo, se observó que ciertos polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) se encuentran significativamente asociados a un fenotipo de ACP en bovinos infectados por BLV. El objetivo de este trabajo es evaluar si genes ligados a SNPs significativamente asociados con el nivel de CP se encuentran diferencialmente expresados en individuos infectados con BLV de BCP y ACP. Para ello se tomaron muestras de sangre entera de 15 vacas naturalmente infectadas del tambo experimental de la EEA INTA Rafaela, previamente caracterizadas, cuyas células blancas se separaron en el día y se conservaron para evitar cambios en la población de ARN mensajeros. Un grupo (n=7) mantuvo siempre un alto porcentaje de reactividad (R) de anticuerpos en sangre; mientras que otro (n=8) presentó consistentemente una baja R. El nivel de carga proviral fue determinado mediante qPCR. Todos los animales de alta R tuvieron ACP, en tanto que los de baja R mostraron una BCP o indetectable. El nivel de expresión génica relativo fue medido en 3 genes candidatos (BoLA-DRB3, PRRC2A y TNF), utilizándose RPLP0 y B2M como genes de referencia. Los cebadores utilizados para la amplificación de los genes candidatos fueron diseñados sobre secuencias depositadas en base de datos públicas. La reacción de qPCR se realizó basada en SYBR Green y los datos crudos de fluorescencia se analizaron en el programa LinRegPCR, que calcula un valor de fluorescencia inicial (N0) a partir de la eficiencia y la línea de base estimada de la curva de amplificación de cada muestra. Los valores N0 fueron normalizados al valor de la media geométrica entre los 2 genes de referencia, y este fue utilizado para calcular el fold change (FC) de cada gen candidato entre los grupos.

El análisis de los resultados arrojo que las diferencias en el nivel de expresión entre animales de ACP vs BCP estaban por debajo de 2 FC para los 3 genes estudiados. Los p-valores (t-Student) al 5% de significancia para BoLA-DRB3, PRRC2A y TNF fueron del 0,163, 0,083 y 0,142, respectivamente. Si bien no se observaron diferencias significativas este es el primer reporte que evalúa funcionalmente a genes potencialmente implicados en la modulación de la CP en bovinos infectados por BLV.

31. Modelo general para el mecanismo de síntesis de RNA de los flavivirus. Marsico FL; Gamarnik AG. Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.

El género *Flavivirus*, perteneciente a la familia *Flaviviridae*, alberga a más de 80 especies de virus, clasificados en diferentes grupos ecológicos en función de sus hospedadores naturales. Los cuatro grupos principales son: los virus transmitidos por mosquitos, los específicos de insectos, los de vector no conocido y los transmitidos por garrapatas. Diversos flavivirus causan importantes enfermedades en humanos, como son el virus del dengue, fiebre amarilla y Zika. Para el virus del dengue ha sido descrito el mecanismo de replicación del genoma, el cual involucra a una región estructurada en el extremo 5' no codificante conocida como SLA (stem loop A), que funciona como promotor para el pegado y activación de la polimerasa viral, y una conformación circular del genoma que permite el inicio de la síntesis en el extremo 3' de la molécula. Dicha circularización está mediada por interacciones RNA-RNA de larga distancia. Si bien este mecanismo de replicación viral ha sido extrapolado a partir del virus del dengue a varios flavivirus, aún no se ha realizado un análisis sistemático de la presencia y función de SLAs y de los determinantes de circularización en el genoma de todos los flavivirus. Empleando algoritmos de predicción estructural, alineamientos basados en secuencia y estructura secundaria, junto a información funcional disponible, demostramos la presencia de una estructura SLA en todos los flavivirus. La topología de esta estructura se describe por una serie de sub-elementos absolutamente conservados y otros de alta variabilidad. Los elementos conservados incluyen: un stem-loop central con una protuberancia de uridina, un top-loop conteniendo una secuencia de 4

nucleótidos altamente restringida en secuencia, un stem-loop o side-loop lateral (variable en secuencia y largo) y una secuencia conservada (GUG) ubicada en la juntura de los stem-loops centrales y laterales. Con respecto a las conformaciones de los genomas virales haciendo uso de secuencias de todos los flavivirus disponibles, buscamos aquellas regiones del genoma que reúnan las siguientes características: se encuentren a una distancia mayor o igual a 500 nucleótidos, posean una complementariedad mínima de 5 nucleótidos y cuya energía libre predicha difiera de forma significativa de apareamientos realizados al azar con distintas partes del genoma. De esta forma logramos identificar apareamientos conservados en todos los flavivirus y apareamientos específicos de grupo. Esto permitió generar modelos para grupos de virus donde se definen por un lado los elementos conservados, y por otro, nuevas interacciones de larga distancia. Este análisis sistemático y exhaustivo nos permite proponer un modelo universal de síntesis de RNA para los distintos flavivirus. Esta información puede contribuir tanto a la identificación de posibles antivirales generalistas como al diseño de una estrategia común para la obtención de virus atenuados.

32. Análisis filogenético del virus de artritis encefalitis caprina detectados en la Argentina.
Olguin Perglione C(1); Raia A(1); Fuentealba N(2,3); Panei CJ(2,3); Rossanigo C(4); Alvarez I(1,3). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP; (3) CONICET; (4) Laboratorio de Sanidad Animal, EEA, San Luis, INTA.

Los lentivirus de pequeños rumiantes (SRLVs) son miembros de la familia *Retroviridae* y comprenden al Virus Maedi-visna (MVV) y al Virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV) que infectan ovejas y cabras. La mayoría de los animales infectados son asintomáticos, solo un porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándulas mamarias. Los animales infectados permanecen como portadores por el resto de su vida, y pueden transmitir la enfermedad a animales sanos. El diagnóstico de la infección es generalmente por pruebas serológicas. La infección por SRLV está presente en la mayoría de los países con producción ovina/caprina de todo el mundo, afectando negativamente en la producción y bienestar animal. Los aislamientos pueden ser clasificados en cinco genotipos/grupos A,B,C,D y E, algunos de los cuales están restringidos a áreas geográficas determinadas. Por esto, es importante mantener actualizada la información referente a los tipos de virus circulantes en cada país y su relación antigénica con las cepas de referencia, con el fin de asegurar la confiabilidad de las pruebas diagnósticas.
El objetivo de este trabajo fue caracterizar molecularmente los CAEV detectados en establecimientos caprinos de Argentina. Se obtuvieron muestras de sangre entera con anticoagulante de 11 cabras de la raza Saanen, con signos clínicos de artritis encefalitis caprina y serología positiva contra el CAEV, provenientes de establecimientos de las provincias de San Luis, Salta y Buenos Aires. Se realizó la caracterización molecular utilizando tres fragmentos diferentes: dos fragmentos del gen *env*, de las regiones variables V1V2 (394 nt) y V4V5 (608 nt), y un fragmento del gen *gag* (623pb). El análisis filogenético se realizó junto a secuencias de referencia obtenidas del GenBank por la metodología de máxima verosimilitud, bajo el mejor modelo de sustitución nucleotídica.
El análisis filogenético realizado con los fragmentos de *env* y *gag*, demostró que las cepas argentinas pertenecen al grupo B, agrupando dentro del subtipo B1, junto a cepas circulantes en Asia, Europa y América. El porcentaje de similitud de la secuencia deducida de aminos ácidos de las cepas argentinas para los 3 fragmentos se ubica entre un 90 y 98%, encontrándose mayor homología en el fragmento *gag* (94%-98%) y mayor diversidad ente los fragmentos de la *env* (89%-98%). Los resultados obtenidos nos permiten concluir que las cepas circulantes en Argentina agrupan dentro del subtipo B1, el cual se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial. Los porcentajes de homología encontrados entre las cepas argentinas coinciden con los previamente reportados. Estos resultados demuestran la necesidad de continuar con el aislamiento y caracterización de

cepas argentinas, para mejorar las medidas de prevención y control de CAEV en nuestro país.

33. Evaluación de la respuesta inmune inducida por cápsides vacías naturales del virus de la fiebre aftosa en Bovinos. Bucafusco D(1,2); Miraglia MC(1,2); Turco C(2); Ayude A(1); Perez-Filgueira M(1,2); Capozzo A(1,2). (1) CONICET; (2) Instituto de Virología, CICVyA, INTA, Buenos Aires.

La vacunación contra el virus de la fiebre aftosa (VFA) es una de las medidas más importantes para el control de la enfermedad. En los países libres, como Argentina, la producción del virus vacunal implica un elevado riesgo biológico. Por este motivo nuevas líneas de investigación están dirigidas a la generación de antígenos vacunales que puedan ser producidos en forma segura y reduciendo los costos aplicados a bioseguridad. Las cápsides vacías se postulan como una potencial fuente de antígeno no infeccioso al presentar todos los epitopes característicos del virus sin el ARN esencial para la replicación. El objetivo de este trabajo es identificar posibles diferencias en el perfil de respuesta inmune generada por una vacuna basada en cápsides vacías del VFA con respecto a las vacunas basadas en virus completo en bovinos. En un primer experimento 2 grupos de 3 bovinos libres de anticuerpos contra el VFA fueron vacunados con 10 ug de VFA A24/Cruzeiro completo purificado (146s) o de cápsides vacías naturales (75s) del mismo virus purificadas por gradiente de sacarosa, formuladas con un adyuvante oleoso comercial. Se tomaron muestras de sangre a los 0, 7, 14, 21, 28 y 63 días post vacunación (DPV) para para determinaciones serológicas y evaluar los niveles de respuesta de Interferón Gamma (IFN-γ) producidos. En un segundo experimento 2 grupos de 4 bovinos libres de anticuerpos fueron vacunados con 3 µg de VFA A24/Cruzeiro 146s o 75s y utilizando el mismo adyuvante. Los animales fueron muestreados a los 0, 7, 14, 21, 28 y 45 y 70 DPV para las mismas determinaciones y, además a los 70 DPV todos recibieron una dosis de una vacuna comercial tetravalente. Los sueros fueron evaluados mediante ELISA para titular los anticuerpos totales y la sangre entera fue estimulada ex vivo con PWM, 146s, 75s y buffer NET siguiendo metodologías previamente publicadas. A las 24 h se midió la producción de IFN-γ en los plasmas estimulados por ELISA (IDVet). En la primera prueba la vacuna de 146s indujo títulos de anticuerpos significativamente mayores a la vacuna 75s a los 21, 28 y 63 DPV. Solo se detectaron niveles significativos de respuesta de IFN-γ cuando la sangre de los animales vacunados fue re-estimulada con 146s independientemente de la vacuna aplicada. Los valores de IFN-γ en animales vacunados con 146s sólo fueron mayores a los 14 DPV. En el segundo experimento la vacuna 146s genero títulos de anticuerpos totales mayores en los 28, 45 y 70 DPV. Ambos grupos lograron títulos similares luego de la revacunación. La respuesta de IFN-γ solo fue evidente cuando se estimuló la sangre con 146s independientemente de la vacuna utilizada sin encontrar, en este caso, diferencias entre ambas vacunas. Estos resultados demuestran que las partículas 75s, aunque no poseen las mismas propiedades inmunogénicas que las 146s, con un adyuvante adecuado, son capaces generar una respuesta inmune de menor magnitud.

34. Aparición de SARAMPIÓN en Argentina, un país con estatus de eliminación. Nabaes Jodar MS(1,3); Acevedo ME(1); Goya S(1,2); Alvarez López C(1); Bárquez R(1); Valenzuela M(4); Viegas M(1,2); Mistchenko A(1). (1) Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET); (3) Ministerio de Salud de la Ciudad de Buenos Aires; (4) Gerencia operativa de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Ciudad de Buenos Aires.

El virus de sarampión produce una enfermedad altamente contagiosa que comienza con fiebre, tos, coriza y conjuntivitis seguidas de exantema morbiliforme. Previo a la incorporación de la vacuna contra sarampión en la década del 60, el virus era una de las principales causas mundiales de morbimortalidad infantil. Nuestro país adhirió al plan de eliminación de sarampión, rubéola y SRC y en el año 2013 certificó la eliminación de los mismos ante la OPS. No se han registrado casos de circulación endémica de sarampión desde el año 2000, con registros de casos salvajes importados y relacionados a la importación en forma esporádica. Desde marzo del 2018 hemos

reportado nuevos casos salvajes con circulación por goteo en la ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Nuestro objetivo fue caracterizar los casos de sarampión remitidos al laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez de CABA durante el año 2018, desde el punto de vista de su diagnóstico, descripción epidemiológica y caracterización molecular. Teniendo en cuenta el algoritmo de referencia para el diagnóstico de casos sospechosos de sarampión, se utilizaron detección de anticuerpos IgM específicos y detección de genoma viral mediante qRT-PCR. La genotipificación se realizó amplificando y secuenciando la región C-terminal del gen de la nucleoproteína N (CDC). Las secuencias obtenidas fueron sometidas a análisis filogenético (iqTree) con las cepas de referencia de los genotipos recomendadas por la OMS. Aquellas cepas de genotipo salvaje que se detectaron fueron sometidas a un análisis filogeográfico discreto obtenido con Beast. Desde marzo a octubre de 2018 se realizó la detección de IgM específica en 636 casos sospechosos de sarampión, resultando 28 muestras con títulos significativos. Asimismo, se realizó la detección molecular en 457 casos, de los cuales 16 resultaron positivos. Se logró la caracterización molecular del virus de sarampión en 12 de ellos. Mediante la genotipificación se encontró que 7 casos presentaban una infección por un virus salvaje de genotipo D8. Todos los pacientes tenían menos de un año de edad excepto un caso de 22 años que correspondía a madre de uno de los pacientes. En los 5 casos restantes se detectó virus de genotipo A, similar a la cepa vacunal Edmonston. Estos casos se correspondían con historia previa de vacunación contra sarampión. El linaje del primer caso detectado en marzo, fue diferente de los detectados en los meses sucesivos, a pesar de tener el mismo genotipo. Desde la incorporación de la vacuna en los niños de 6M-1A en CABA sólo se han detectado casos vacunales excepto en un bebé de 5M, mostrando que el plan de contención habría sido eficaz. Los datos genómicos ayudaron a confirmar la fuente del virus o sugerir una fuente para casos de origen desconocido, así como para establecer enlaces, o falta de ella, entre varios casos y brotes en otras partes del mundo.

35. Evaluación del uso de picobirnavirus y enterovirus infectivo como indicadores virales para el seguimiento de la contaminación fecal en aguas superficiales y su potencial para reportar la presencia de rotavirus en Córdoba, Argentina.

Masachessi G; Prez VE; Michelena JF; Martínez LC; Giordano MO; Isa MB; Pavan JV; Nates SV. Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba.

La contaminación fecal en cuerpos de agua dulce es un problema creciente ya que se ve asociada con la transmisión de microorganismos patógenos entéricos que pueden causar diversas enfermedades. Entre los microorganismos se destacan los virus que se transmiten por vía fecal-oral y que tienen impacto en salud humana. Los parámetros microbiológicos para medir calidad de aguas recreativas incluyen bacterias coliformes. Sin embargo, la ausencia de estos microorganismos puede no excluir virus entéricos ya que generalmente son más resistentes que las bacterias a los tratamientos de aguas residuales. El objetivo del estudio fue evaluar el uso de picobirnavirus (PBV) y enterovirus infeccioso (iEV) como indicadores para el seguimiento de la contaminación fecal en el agua dulce y su potencial para informar la presencia de rotavirus (RV). El estudio se llevó a cabo en el embalse San Roque, Córdoba, Argentina, durante tres años (2013-2015). Las muestras de agua se concentraron por precipitación con PEG6000. La RT-PCR se llevó a cabo para evaluar la presencia del genoma de PBV y RV. iEV se evaluó mediante un ensayo de IFD en cultivo celular. La carga genómica de RV se cuantificó mediante qPCR y se estimaron las partículas infectivas. La frecuencia global fue de 62.9% para PBV y de 70.4% para iEV. No se observaron diferencias significativas en las tasas de iEV y PBV en los años estudiados o un patrón estacional para los virus ensayados. La frecuencia total de RV fue de 45.8%; El 90.9% de las muestras positivas para RV también fueron positivas para el genoma de iEV y/o PBV. Las partículas infecciosas del rotavirus se detectaron en el rango de 33 a 746,6; El 90% de las muestras reveló hasta 100 partículas infecciosas, suficientes para iniciar una infección viral. Por lo tanto, el PBV y el iEV podrían ser indicadores prometedores para el seguimiento de la contaminación fecal en el agua dulce. La detección de estos virus podría informar

sobre la presencia de RV. La evidencia de iEV podría indicar condiciones de matriz adecuadas para mantener la infectividad de RV. Para monitorear la calidad bacteriológica y virológica de las aguas superficiales, se propone el siguiente algoritmo: 1) Detección de carga bacteriana: si la carga excede el nivel guía estándar, podría clasificarse como agua microbiológicamente peligrosa. 2) Aguas con carga bacteriana por debajo del nivel guía estándar: evaluar la detección de iEV. Si el resultado es positivo, indica: a) contaminación fecal de origen humano, b) presencia de virus viables, c) matriz acuosa con riesgo potencial de infección para la población expuesta e c) indirectamente probabilidad de presencia de RV en dosis infecciosas suficientes para iniciar una infección viral en el individuo expuesto. 3) Si el resultado de iEV es negativo: detección del genoma de PBV, si el resultado es positivo para PBV, indica contaminación fecal de origen no identificable e indirectamente la potencial presencia de RV.

36. Primeros pasos hacia el análisis metagenómico de la comunidad viral presente en muestras de origen aviar en Uruguay. Fuques E; Marandino A; Techera C; Tomás G; Pérez R; Panzera Y. Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Los virus son responsables de un gran número de enfermedades infecciosas, constituyendo un grave problema para la salud, humana y animal. Estas enfermedades suelen ser complejas, ya que generalmente implican la co-infección con virus de distintas especies y otros microorganismos. La reciente aplicación de enfoques metagenómicos destinados a la caracterización de la comunidad viral, conocida como viroma, presente en muestras de origen animal representa un avance significativo para la comprensión de la epidemiología de estas enfermedades y su futuro control. En la industria avícola de cría intensiva, los patógenos virales causan pérdidas económicas devastadoras. La productividad de esta industria y la seguridad alimentaria dependen, entre otros factores, del estatus sanitario de las granjas. Los principales patógenos virales que producen pérdidas económicas incluyen los causantes de enfermedades inmunosupresoras y respiratorias. Ejemplos de estos son el virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV) y el virus de la bronquitis infecciosa (IBV). Ambos presentan un genoma de ARN, y son objeto de estudio por parte de nuestro grupo de investigación desde hace más de una década.

El objetivo del presente trabajo es la implementación de un protocolo para la caracterización del viroma presente en muestras de origen aviar provenientes de animales con sintomatología respiratoria y/o inmunodeprimidos. Partimos de una muestra (bursa de Fabricius) previamente diagnosticada como co-infectante para IBV e IBDV mediante qPCR con protocolos ya estandarizados por nuestro grupo, constituyendo un excelente control para la validación de la metodología implementada. El uso de muestras de tejido implica necesariamente protocolos de enriquecimiento de las partículas virales, con el fin de reducir los componentes genómicos provenientes del huésped y de otros microorganismos presentes como bacterias. Para ello, tras la homogenización del tejido realizamos pasos de filtrado, digestión con nucleasas y eliminación del ARN ribosomal. Posteriormente se llevó a cabo una extracción de ADN y ARN, los cuales fueron utilizados para la construcción de librerías Illumina.

Los datos obtenidos tras la secuenciación de alto rendimiento están siendo sometidos a distintos análisis bio-informáticos (ensamblados de novo y utilizando bases de datos virales). Un análisis preliminar de los datos obtenidos de virus con genoma de ARN nos permitió identificar contigs que mapean con los genomas de IBV e IBDV presentes en la muestra de partida. Además, fue posible detectar la presencia de dos especies pertenecientes al género Rotavirus: tipo D y tipo A. Los resultados obtenidos constituyen el primer paso para la caracterización del viroma presente en muestras de origen aviar, significando un avance en la comprensión de la epidemiología de las enfermedades respiratorias e inmunosupresoras. Además de los virus implicados en estas patologías, es posible la detección de nuevos agentes virales.

37. Extracto etanólico de raíz de "diente de león" afecta la proliferación, supervivencia y migración de líneas celulares infectadas con virus papiloma humano. Venezuela RF(1); Acland R(2); Mugas

ML(3); Kiguen AX(1); Mosmann JP(1); Nuñez Montoya SC(3); Konigheim BS(1); Cuffini CG(1). (1) Instituto de Virología "Dr J. M. Vanella", Fac. Cs Medicas, Univ. Nac. Córdoba. (2) CIBICI-Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología. Fac. Cs. Químicas, Univ. Nac. Córdoba. (3) IMBIV-CONICET, Dpto. Farmacia, Fac. Cs. Químicas, Univ. Nac. Córdoba, Córdoba.

La variedad limitada de quimioterapia para las lesiones causadas por el virus del papiloma humano (VPH), desde las verrugas hasta el cáncer de cuello uterino (CaCu) hace necesaria la búsqueda de nuevos compuestos para tratar estas lesiones. En tal sentido Taraxacum officinale G. Weber ex F.H. Wigg ("diente de león") mostró en estudios previos, diversas bioactividades, en líneas celulares de leucemia y melanoma. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos sobre la proliferación, supervivencia y migración de un extracto de raíz de T. officinale, sobre líneas celulares infectadas con virus papiloma humano. Se obtuvo el extracto etanólico (R-EtOH) a partir de raíces de T. Officinale por extracción en Soxhlet. Se utilizaron líneas celulares de CaCu infectadas con HPV 16 y 18 (CaSki y HeLa), células CaCu sin HPV (C33A) y queratinocitos inmortalizados (HaCaT, control). La citotoxicidad se evaluó por medio de la reducción de MTT, incubando las células con 15 concentraciones diferentes de R-EtOH (10-1000 µg/ml), durante 48 h. A partir de este ensayo se obtuvieron las concentraciones efectivas 80 [CE80] y 50 [CE50], las cuales fueron utilizadas para la realización de los ensayos posteriores. Para evaluar la capacidad de las células para crecer y formar una colonia después de la exposición a R-EtOH, se realizó el ensayo clonogénico. La respuesta apoptótica se observó luego de 24 h de exposición a R-EtOH, utilizando el ensayo de TUNEL por microscopia, mientras que la medición de Anexina V y 7-AAD se realizó por citometría de flujo (CF). El efecto sobre la migración celular fue evaluado mediante un ensayo de cicatrización de heridas exponiendo las diferentes líneas celulares a R-EtOH [CE80] durante 24 h El extracto de R-EtOH mostró un efecto citotóxico dependiente de la dosis en todas las líneas celulares, siendo mayor en las células C33A, CaSki y HeLa, en comparación con HaCaT. Diferentes concentraciones de R-EtOH disminuyeron el número y el tamaño de las colonias en todas las líneas celulares, con el siguiente orden de susceptibilidad C33A> HeLa> CaSki> HaCaT. El aumento en la concentración de R-EtOH (CE80 hasta CE50) se tradujo en un mayor porcentaje de células en apoptosis en el ensayo de Tunel y un aumento de las células positivas a Anexina V y 7-AAD en la CF, principalmente en células de CaCu. El ensayo de cicatrización de heridas mostró que R-EtOH [CE80], inhibe eficazmente la migración celular en comparación con las células no tratadas.

Nuestros resultados sugieren que el extracto de R-EtOH contiene componentes bioactivos que afectan la proliferación, supervivencia y migración celular con una mayor selectividad a las células de CaCu. Por lo tanto, consideramos importante continuar explorando los componentes de R-EtOH como una posible fuente de nuevos quimioterapéuticos para tratar las infecciones provocadas por el virus del papiloma humano.

Apoyo económico: PIODO MincyT-Cba. PICT 2016. Fundación Roemmers. SeCyT UNC.

38. Desarrollo de una nueva metodología de PCR en tiempo real anidada multiplex de un sólo paso para el diagnóstico precoz de niños expuestos al HIV. Moragas M; Golemba MD; Mangano A. Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan"-CONICET, Buenos Aires.

Es importante que el diagnóstico de infección por HIV en niños recién nacidos de madres infectadas se realice lo más precozmente posible, ya que su identificación temprana permite el inmediato inicio del tratamiento antirretroviral combinado (TARVc), lo que mejora la morbi-mortalidad de los niños infectados. La mayoría de las metodologías utilizadas para el diagnóstico pediátrico de HIV requieren elevada sensibilidad, por lo que se basan en dos rondas de amplificación por PCR. Esto hace que la técnica sea laboriosa e incrementa las posibilidades de contaminación cruzada debido a la manipulación de productos de PCR. El diseño de la metodología desarrollada se basa en el principio de la PCR anidada, que requiere del uso un de un par de primers externo y otro interno, pero en lugar de dos rondas de amplificación se utiliza una sola. De esta manera, se amplifica mediante PCR en

tiempo real usando SYBR Green® la región ltr/gag del genoma de HIV y en simultaneo, como control interno (CI), una región del gen de albúmina humana. La presencia del HIV se determinó a partir del análisis de la curva de melting. Además, se evaluó el desempeño de la técnica a partir de 102 muestras retrospectivas (34 positivas y 68 negativas para HIV) y 132 prospectivas desde noviembre de 2016 a febrero de 2017, que procedieron de niños menores de 18 meses expuestos al HIV y que concurrieron al laboratorio de Retrovirus del Hospital Garrahan para ser diagnosticados. La PCR en tiempo real desarrollada es capaz de producir 4 productos potenciales debido a la combinación de los diferentes primers específicos para el HIV. Estos productos de PCR presentaron picos de melting en el rango de 80 a 84ºC, mientras que el CI presentó un pico de melting de 76ºC. El ciclado consistió en tres etapas con diferentes temperaturas de pegado/extensión para favorecer el pegado secuencial de cada par de primers. El límite de detección del ensayo fue de 3 copias de HIV/reacción. La sensibilidad general del método fue del 81% y la especificidad fue del 100%. En cuanto a la edad del paciente al momento del diagnóstico, la metodología resultó tener una sensibilidad del 56% (5/9) desde el nacimiento hasta la primera semana de vida, 60% (3/5) desde la semana 2 hasta la 4, y un 96% (22/23) a partir de la semana 4. Sólo un paciente infectado tuvo resultado negativo por la PCR en tiempo real (luego de la cuarta semana de vida), mientras que la carga viral fue de sólo 229 copias HIV/ml. Se desarrolló una metodología altamente sensible y específica para el diagnóstico precoz de niños expuestos al HIV, que resultó ser menos laboriosa, más rápida y que además disminuye las posibilidades de contaminación cruzada en comparación a las técnicas actuales. Asimismo, el principio de esta metodología podría ser potencialmente utilizado para la amplificación y detección de otros virus o blancos de muy baja frecuencia.

39. Elevada prevalencia de infección por el virus de la hepatitis E (HEV) en pacientes con cirrosis de Argentina. Fantilli A(1); Trinks J(2,3); Marciano S(4); Zárate F(5); Balderramo D(6); Martínez Wassaf M(7); Venezuela F (1); Haddad L(8) ; Gadano A(5,8); Debes J(9); Pisano MB(1,2); Ré V(1,2). (1)Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano, Bs As (ICBME); (4)Sección de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (5) Hospital Córdoba; (6) Hospital Privado Universitario de Córdoba (IUCBC); (7) LACE Laboratoios, Córdoba; (8) Departamento de Investigación, Hospital Italiano de Buenos Aires; (9) Departmento de Medicina, Universidad de Minesota, Minneapolis, EEUU.

El virus de la Hepatitis E (HEV) es un virus ARN de simple cadena de trasmisión entérica y zoonótico, frecuentemente asociado a hepatitis agudas autolimitadas. Recientemente, se describió la progresión a cronicidad en pacientes inmunosuprimidos y la cirrosis ha sido postulada como un factor predisponente a la infección por HEV.

En Argentina, se ha reportado la circulación de HEV genotipo 3 en cerdos y matrices acuosas y una seroprevalencia de anticuerpos anti-HEV entre 1,8 y 16% en población general y donantes de sangre. Además, se reportaron seroprevalencias mayores (6-35%) en pacientes hemodializados, trasplantados de órganos sólidos y en individuos HIV+, siendo escasas las evidencias de HEV en pacientes cirróticos. El objetivo del trabajo fue describir la frecuencia de infección por HEV y factores asociados en pacientes con cirrosis de Argentina y compararlo con un grupo control. Se realizó detección de IgM e IgG anti-HEV por ELISA y ARN por RT-nested-PCR en muestras de suero de pacientes con cirrosis obtenidas de 3 centros de salud de Córdoba y Buenos Aires [N=140: 89 hombres, 51 mujeres; edad media de 57,5 años; 10 trasplantados hepáticos. Causas de cirrosis en aquellos casos en los que se disponía de información (n=124): viral=23, alcohólica=42, cirrosis biliar primaria n=9, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)= 24 y cirrosis debido a otras causas=26]. Además, se detectó IgG anti-HEV en muestras de suero provenientes de individuos que asistieron a un control de rutina a 31 centros de salud de la ciudad de Córdoba entre abril y junio de 2018 (n=300), las cuales fueron clasificadas en tres grupos etarios (rango entre 18-78 años): menores de 30 años, entre 31-45 años y mayores de 46 años de

edad. Se analizaron estadísticamente las asociaciones entre la presencia de anticuerpos anti-HEV y variables clínico-epidemiológicas (causa de cirrosis, edad, sexo, valor de bilirrubina y transaminasas). La significancia estadística se definió como p<0,05.
La prevalencia global de IgG anti-HEV en pacientes con cirrosis fue de 24,3% (34/140), mayor al 4% de prevalencia hallada en el grupo control (p<0,05). Se detectó IgM en el 47% (16/34) de los pacientes IgG anti-HEV (+) y ARN HEV en el 2,1% (3/140). La seropositividad de IgG anti-HEV obtenida según la causa de cirrosis fue: alcohólica: 40,5%, viral: 13%, NASH: 8,3%, cirrosis biliar primaria: 22,2%, otras causas: 11,5%. Sólo se observó asociación estadística entre la presencia de IgG anti-HEV y la cirrosis alcohólica (p<0,05). Del total de pacientes con cirrosis, IgG anti-HEV (+), el 50% de los casos (17/34) correspondió a cirrosis alcohólica. Los resultados muestran alta prevalencia de infección por HEV en pacientes adultos con cirrosis de Argentina, especialmente en individuos con cirrosis alcohólica. Los resultados invitan a profundizar el estudio de la cirrosis alcohólica como un factor predisponente para la infección por HEV, así como otros factores de riesgo de infección por HEV en este grupo.

SESIÓN 4

40. Características de la infección por EBV y análisis de poblaciones NK en amígdalas comparados con pacientes sanos. Ferressini Gerpe NM(1); Vistarop A(1); Caldirola MS(2); Galliard MI(2); De Mateo E(3); Preciado MV(1); Chabay P(1). (1) Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA), Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) Servicio de Inmunología, IMIPP-CONICET-GCBA, Hospital de Niños Ricardo Gutierrez; (3) División Patología, IMIPP-CONICET-GCBA, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.

La respuesta de NK juega un rol importante en el control de la infección y la transformación mediada por virus de Epstein Barr (EBV) en niños de países desarrollados. Se desconoce la respuesta de NK en el marco de la infección asintomática en niños de países subdesarrollados. Nuestro objetivo fue caracterizar la infección por virus de Epstein-Barr (EBV) y su relación con las células NK presentes en el sitio de entrada y reactivación viral, las amígdalas.
Analizamos 61 pacientes (rango etario 1-15 años, mediana 5 años), que fueron amigdalectomizados en el servicio de otorrinolaringología del HNRG. El estatus de infección viral fue determinado por serología, identificando pacientes no infectados (NI), primoinfectados (PI), portadores (HC) y cursando reactivación viral (R). La carga viral se determinó por PCR en tiempo real. La expresión de antígenos virales se evaluó por Inmunohistoquímica (IHQ) para LMP1, LMP2A, EBNA2 y BMRF1 y por hibridación in situ (HIS) para EBERS. Para identificar las subpoblaciones de NK presentes en el tejido y su funcionalidad se realizó IHQ para CD56, CD16, IFNg y GrzB. Los resultados se expresaron como células positivas/mm2. Además, en un subgrupo de 34 pacientes se realizó citometría de flujo para CD3, CD56, CD16, CD94 y NKG2D con el objetivo de analizar los subgrupos de NK.
A partir del suero de 61 pacientes se identificaron 21 PI, 28 HC, 8 R y 4 NI. Si bien la CV resultó ser baja en todos los grupos, fue mayor en PI (p=0.0306, Kruskal-Wallis test).
Respecto del perfil de latencia, la latencia III se observó casi exclusivamente en HC (p= 0.0429, test de X2), mientras que los PI sólo presentaron Latencias I y II, no se observaron diferencias en la expresión de BMRF1 entre grupos de pacientes, sin embargo se hallaron diferencias significativas solamente en el recuento de células CD16+ en presencia o ausencia de este antígeno lítico (p=0.0370. test de Mann-Whitney). Las células CD56+ e IFNg+ analizadas por IHC presentaron correlación positiva entre ellas en el conjunto de pacientes (r=0.4012, p=0,0047) y específicamente en PI (r=0.7, p=0.002). El análisis por CF demostró correlación negativa entre CD56+ y la CV en todos los pacientes (r=-0,5469, p=0.039). En PI observamos correlación entre la edad y las células CD94+NKG2D+ (r=0,6685, p=0.0245), mientras que en HC se demostró correlación positiva entre la edad y las células CD94-NKG2D- (r= 0,5903, p= 0,0099)

En PI encontramos baja carga viral, expresión restringida de antígenos virales de latencia y/o de ciclo lítico -que gatilla la respuesta inmune mediada por NK-, factores que pueden estar relacionados a la ausencia de síntomas. La menor carga viral asociada a un mayor recuento de células CD56+ puede estar reflejando un reclutamiento de células NK para controlar la infección por EBV, particularmente en pacientes mayores, en los que predomina la población CD94+NKG2D+. A su vez, el control por parte de las NK podría estar mediado por la producción de IFNg.

41. Relación antigénica de la variante GI-16 del Virus de Bronquitis Infecciosa (IBV) con las cepas vacunales de uso en la Argentina. Gerez R; Marandino A; Craig M; Pérez R; Vagnozzi A. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Bronquitis infecciosa aviar es una enfermedad viral, aguda y altamente contagiosa, responsable de pérdidas económicas significativas en la industria avícola. El virus de la Bronquitis Infecciosa (IBV) posee un genoma RNA simple de polaridad positiva, que codifica cuatro proteínas estructurales. La proteína S, es la de mayor relevancia, ya que participa de la unión con el receptor celular y es el blanco para los anticuerpos neutralizantes. Esta proteína posee elevada variabilidad genética, lo cual se manifiesta en la existencia de muchos serotipos con escaza inmunidad cruzada. Esto es importante ya que el control de la enfermedad se realiza mediante el uso de vacunas atenuadas. En nuestro país están autorizadas vacunas elaboradas con los serotipos Massachusetts, 793/B y Connecticut, sin embargo a la fecha no se han reportado estudios que prueben la relación antigénica entre dichas vacunas y la variante de campo (GI-16). En el presente trabajo se evaluó la relación antigénica de A13 (aislado de campo/GI-16) con la cepa Ma5 (serotipo Massachusetts/GI-1) mediante virus neutralización (VN) cruzada. En primer lugar se realizó la titulación de los virus mencionados en embrión de pollo (EP). Luego se procedió a obtener suero hiperimnune inoculando pollos libres de patógenos específicos (SPF). Se usaron pollos SPF de 4 semanas de edad que se inocularon con 106 Dosis Infecciosa en Embrión (DIE)50/ml, siguiendo el procedimiento estándar (dos inoculaciones separadas por 14 días). Los sueros obtenidos fueron evaluados por ELISA comercial y se seleccionaron los sueros con título más elevado en el test (un suero por cada virus). Para la VN los sueros fueron diluidos en forma seriada (base 4) y se incubaron con un título fijo de virus (método β). De modo que A13 (104DIE50/ml) fue mezclado en partes iguales con distintas diluciones (1/16, 1/64, 1/256, 1/1024 y 1/4096) de suero homólogo (suero A13) y heterólogo (suero Ma5). Luego de una incubación de 60 minutos a 37°C, se procedió a inocular (vía saco alantoides) a EPs SPF de 11 días de desarrollo con 0.1 ml de la mezcla virus/suero (5 EP por cada dilución). Los EPs fueron incubados (37.5°C con saturación de humedad) y evaluados diariamente. A los 7 días post-inoculación se procedió a cuantificar las muertes y lesiones producidas por acción viral para realizar el cálculo de VN. El procedimiento se repitió para el virus Ma5. Mediante el método de Reed & Muench se calculó la dosis neutralizante 50 (DN50) resultando de la siguiente manera: i) virus A13/suero A13 = 104 DN50/ml; ii) virus A13/suero Ma5 = 10 3.09DN50/ml; iii) virus Ma5/suero Ma5 = 102.35 DN50/ml y iv) virus Ma5/suero A13 = 101.3 DN50/ml. Para cuantificar la relación antigénica entre A13 y Ma5 se calculó el valor r obteniéndose un valor de 3,32%. Este resultado indica que no hay relación antigénica entre la variante prevalente en Argentina (GI-16) y la vacuna Ma5 (serotipo Massachusetts).

42. Efecto colateral de la replicación activa del HIV en astrocitos. Sanchez L; Urquiza J; Cevallos C; Quarleri J; Ojeda D. Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBIRS). Facultad de Medicina. Buenos Aires.

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es capaz de infectar el parénquima cerebral, causando desórdenes neurológicos asociados a inflamación en el sistema nervioso central (SNC), que persiste a pesar del tratamiento antirretroviral combinado. Los astrocitos, el tipo celular más abundante en el SNC juegan un rol protagónico en la neuropatogénesis promoviendo el daño neuronal durante las infecciones virales del SNC. Los mecanimos involucrados en la patogénesis astrocitaria permanecen inciertos. Para las infecciones

de los astrocitos humanos (NHA) en cultivo se usó HIV pseudotipado expresando las proteínas del virus salvaje, la proteína fluorescente verde (GFP) y la glicoproteína G del virus de la estomatitis vesicular (pNL43-eGFP-VSV-G). La infección se monitoreó mediante citometría de flujo (FACS) diferenciando en cada cultivo células productivamente infectadas (PI/GFP+) de aquellas que no lo estaban (NPI/GFP-). La evaluación del daño celular bystander implicó ensayos de cocultivo en los que se distinguieron poblaciones por FACS utilizando un colorante vital (VCP). Paralelamente se evaluó el potencial de membrana mitocondrial (ΔΨm) y muerte celular (AnexinaV/7AAD). Para evaluar piroptosis celular, se separaron mediante FACS las poblaciones celulares de cada cultivo según su estado de infección. En cada una se evaluó la expresión de caspasa-1, GSDMD y NLRP3 por WB. Para conocer los estímulos virales asociados a la activación de la piroptosis, se emplearon drogas antivirales (AZT, nevirapina, raltegravir e indinavir) que inhiben enzimas virales involucradas en la replicación. Las células NPI (pero no las PI) exhibieron significativo disipación del ΔΨm asociado y aumento en la muerte celular ($p<0.001$). Ésta implicó la piroptosis con activación del inflamasoma, merced al significativo aumento ($p<0.001$) en la expresión de NLRP3 y el clivaje de caspasa-1 y GSDMD. En ensayos de cocultivo, los astrocitos expuestos al HIV por 3 dias (PI+NPI) en contacto con astrocitos preteñidos con VCP, permitieron observar pérdida significativa ($p<0.001$) del ΔΨm y la integridad de la membrana celular en la población VCP+/NPI. La activación del inflamasoma y consecuente piroptosis fue levemente mayor tras aumentar los niveles de RNA y cadenas cortas de DNA virales, pero ese incremento fue significativo ($p<0.001$) al acumular DNA, proteínas, y partículas virales inmaduras.

En conjunto, estos resultados revelan el contacto interelular entre astrocitos PI y NPI propicia en éstos la muerte celular *bystander* por piroptosis con pérdida de la homeostasis mitocondrial, activación del inflamasoma y caspasas inflamatorias. El aumento de DNA no integrado y proteínas virales serían los principales disparadores de dicho efecto. Estos resultados echan luz sobre los mecanismos patogénicos del HIV en células del SNC.

43. Hepatitis B Crónica: Relación entre el infiltrado inflamatorio y la expresión de antígenos virales en el contexto del daño hepático. Giadans CG(1); Ríos D(1); Ameigeiras B(2,6); Pietrantonio A(3), Lucatelli N(3); Haddad L(4); Mullen E(5); Heinrich F(6); De Matteo E(1); Flichman D(7); Valva P(1); Preciado MV(1). (1) Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP-CONICET-GCBA) Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez; (2) Unidad de Hepatología, Hospital Ramos Mejía; (3) División Patología, Hospital Ramos Mejía; (4) Unidad de Hepatología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (5) División Patología, Hospital Italiano de Buenos Aires; (6) Hospital San Antonio, Gualeguay, Entre Ríos; (7) Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.

La infección crónica por el virus de la hepatitis B (CHB) es aún un importante problema de salud mundial. Si bien se considera que la respuesta inmune es responsable del daño hepático, el impacto, tanto del infiltrado hepático como de los antígenos virales, sobre el proceso de injuria hepática sigue siendo un tema de debate.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la interacción intrahepática entre la respuesta inmune y la actividad viral en el proceso de generación de daño. En biopsias hepáticas fijadas en formol e incluidas en parafina de 29 pacientes adultos con CHB, libres de tratamiento (65% HBeAg-) se evaluó mediante inmunohistoquímica: 1) la frecuencia de las poblaciones linfocitarias presentes en el infiltrado inflamatorio hepático [LTh (CD4+), LTc (CD8+), LTreg (FoxP3+), LTh17 (IL-17A+) y LTh1 (Tbet+)]; cuantificado como: linfocitos +/linfocitos totales en todos los espacios porta y linfocitos lobulillares +/campo (400X)] y 2) la expresión de los antígenos de superficie (HBsAg) y core (HBcAg) del virus de la hepatitis B. Se determinó la severidad del daño hepático mediante la evaluación de la actividad histológica y el estadio de fibrosis. Todas las poblaciones linfocitarias estudiadas se observaron en el infiltrado portal/periportal (P/P) con un predominio de los linfocitos CD4+ a expensas de la población FoxP3+. La presencia linfocitaria a nivel lobulillar fue escasa, solo se observaron CD8+ y FoxP3+. Respecto al daño hepático, ninguna de las

poblaciones presentó asociación con la severidad de la fibrosis, pero se observó mayor frecuencia de linfocitos CD4+ P/P y CD8+ lobulillares en casos con hepatitis más severa (p=0,04; ambos). En la mayoría de los casos el perfil de expresión intrahepático de HBsAg y HBcAg demostró un patrón mutuamente excluyente. El HBsAg fue detectado en el 62% de las biopsias mientras que el HBcAg solo en un 42%. El HBcAg se evidenció principalmente en pacientes HBeAg+ (p=0,0014) y asoció tanto a la severidad de la hepatitis (p=0,015) como a mayores frecuencias de linfocitos FoxP3+ P/P (p=0,02) y CD8+ y FoxP3+ lobulillares (p=0,04; ambos). A su vez, el HBsAg se observó mayoritariamente en pacientes HBeAg- (p=0,0015) y se asoció tanto a una menor severidad de hepatitis (p=0,008) como a menores frecuencias de linfocitos CD4+ P/P (p=0,002) y de FoxP3+ lobulillares (p=0,0003). Finalmente, los pacientes HBeAg+ presentaron mayor frecuencia de la población CD4+ P/P (p=0,002) a expensas de la subpoblación FoxP3+ (p=0,0008). Durante la infección crónica por HBV el patrón de expresión antigénica observado reflejaría diferentes estadíos de replicación viral, los cuales condicionarían tanto el tipo de respuesta inmune como el proceso de patogenia. Mientras que HBcAg y HBeAg presentarían propiedades tolerogénicas, al inducir un microambiente regulador, la población de LTc lobulillares tendría un rol preponderante en el daño hepático observado**.**

44. Evaluación de CD40L y Gel 01 como potenciadores de la respuesta inmune generada por una vacuna génica contra el Herpesvirus Bovino tipo 1 (HVBo1) en bovinos. Kornuta C(1)(2); Langellotti C(1)(2); Bidart J(1)(2); Soria I(1); Quattrocchi V(1); Gammella M(1); Angeletti P(1); Prando M(2)(4); Hecker Y(2)(4) Cheuquepán F(4); Zamorano P(1)(2)(3). (1) Instituto de Virología-CICVyA, INTA; (2) CONICET; (3) USAL; (4) EEA Balcarce, INTA.

Las vacunas a ADN poseen ventajas respecto a las vacunas convencionales, como la producción de antígenos por vía endógena de forma purificada, haciendo económica su elaboración. Son capaces de inducir inmunidad humoral y celular, importante para controlar al Herpesvirus Bovino 1 (HVBo1), agente causal del complejo respiratorio bovino. Previamente evaluamos una vacuna génica que codifica la glicoproteína D secretada del HVBo1 (pCIgD) junto con adyuvantes comerciales a base de Montanide en el modelo murino y en bovinos, incrementando la respuesta humoral y celular, otorgando protección parcial frente al desafío viral en bovinos. Con estos resultados promisorios seguimos evaluando nuevas moléculas que permitan potenciar los efectos de la vacuna.

En este estudio incorporamos un plásmido codificando la molécula co-estimuladora CD40L como adyuvante molecular. Estudios previos en ratón demostraron que CD40L puede modular y aumentar la respuesta inmune celular antígeno específica cuando se administra junto a una vacuna génica. En la formulación de la vacuna pCIgD la incluimos por primera vez junto con el adyuvante Montanide™ Gel 01 (Gel01). Cuatro grupos de bovinos (n=4/5) de 1-2 años de edad fueron inoculados a los días 0, 30 y 60 con 1) 600µg pCIgD; 2) 600µg pCIgD+Gel01; 3) 600µg pCIgD+1mg CD40L+Gel01 y 4) 600µg pCIneo como grupo control. Los títulos de anticuerpos contra HVBo1 obtenidos a los 90 dpv para el grupo pCIgD fue 2,71±0.52; pCIgD-Gel01 2,87±0.47 y para pCIgD-CD40L-Gel01 3.47±0.22 (p<0,01). El porcentaje de HVBo1 neutralizado por el grupo pCIgD fue 7.37%±13,46; pCIgD-Gel01 de 21.67%±5.96 (p<0.01) y para pCIgD-CD40L-Gel01 de 22.75%±3.49 (p<0.01). A los 90 dpv los bovinos fueron desafiados con 1x10 6.81 DICT50/ml de HVBo1 cepa Los Ángeles. En algunos casos hubo retraso en la excreción viral de los animales tratados y todos presentaron disminución respecto al grupo control. La diferencia significativa se observa al 5 dpi en pCIgD-CD40L-Gel01 (p<0,001) y en pCIgD-Gel01 (p<0,01) frente a pCIgD. A los 12 dpi, se observó respuesta T virus-específica (linfoproliferación) de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) en el 80% de los animales vacunados con pCIgD, 50% en el grupo pCIgD-Gel01 y 60% en el grupo pCIgD-CD40L-Gel01. Los porcentajes de animales con niveles de IFNγ en sobrenadante de PBMCs fueron de 0% para pCIgD, pCIgD-Gel01 50% y pCIgD-CD40L-Gel01 80%. Los resultados demuestran que CD40L junto con Gel01 fueron capaz de mejorar la vacuna a ADN, aumentando los niveles de anticuerpos en suero como su capacidad neutralizante y disminuyendo la excreción viral luego

del desafío, dato de suma importancia para evaluar vacunas contra el HVBo1. Además las formulaciones fueron capaces de aumentar la linfoproliferación específica y de producir secreción de IFNγ indicando la inducción de respuesta inmune celular. Seguimos analizando otros parámetros para determinar el rol que ejerció cada vacuna en el sistema inmune de los bovinos tratados.

45. Detección de Virus Papiloma Humano, Virus Herpes Simple y *Chlamydia trachomatis* en lesiones de la cavidad oral. Mosmann JP(1); Talavera AD(2); Criscuolo MI(2); Venezuela RF(1); Kiguen AX(1); Ferreyra de Prato RS(2); López de Blanc SA(2); Ré VE(1,3); Cuffini CG(1,3). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas–Universidad Nacional de Córdoba; (2) Facultad de Odontología-Cátedra de Estomatología-Universidad Nacional de Córdoba; (3)- CONICET.

Las infecciones de transmisión sexual son posibles factores de riesgo para el cáncer oral, no obstante, su rol como agentes etiológicos del cáncer de cabeza y cuello es aún controversial y es necesario profundizar su estudio. Entre los patógenos que pueden infectar la mucosa oral encontramos Virus Papiloma Humano (VPH), Virus Herpes Simple (VHS) y *Chlamydia trachomatis* (Ct); una bacteria intracelular obligada causante de inflamación y displasia cervical, entre otras. El objetivo del trabajo fue evaluar la presencia de VPH, VHS y Ct en lesiones benignas, potencialmente malignas y lesiones cancerosas de la cavidad oral, en la ciudad de Córdoba. Se evaluaron 318 muestras de cepillado de lesiones orales (149 pacientes masculinos y 169 femeninas). Las mismas fueron analizadas mediante PCR para la detección del ADN de cada uno de los patógenos. La genotipificación de VPH y la identificación de VHS fue realizada utilizando la técnica de RFLP. Se estudiaron 137 lesiones benignas (LB), 96 potencialmente malignas (LPM) y 85 carcinomas orales (CA). La prevalencia de VPH fue del 34% (n=109) y la tasa de detección del mismo se vio incrementada a medida que aumentaba la severidad de la lesión (28% LB, 35% LPM and 42% CA). Los genotipos más frecuentemente detectados fueron el 6 de bajo riesgo y el 16 de alto riesgo. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre VPH, grado de lesión, genotipo y género del paciente; sin embargo, los genotipos de alto riesgo fueron en su mayoría detectados en las lesiones cancerosas y los genotipos de bajo riesgo en lesiones benignas. La prevalencia de Ct fue del 16% (n=54) y de VHS 3% (n=10), entre los cuales se identificaron 7 muestras con VHS 1 y 3 muestras con VHS 2. Se detectó un 4% (n=13) de coinfecciones VPH- Ct y un 0,3% (n=1) de coinfecciones HPV-HSV, ambas en su mayoría en lesiones benignas. Dada la semejanza morfológica del epitelio cervical y orofaríngeo, estos resultados preliminares nos permiten inferir que la evolución de las lesiones orales podría estar influenciada no solamente por los factores de riesgo convencionales ya descriptos (tabaco y alcohol), si no también, por el genotipo de VPH detectado, así como por las coinfecciones de varios agentes patógenos. Existe evidencia bibliográfica de que la infección por Ct podría actuar de manera sinérgica, facilitando la infección por VPH, debido a la inflamación que produce. A su vez, la infección por VHS induciría la persistencia clamidial. Estos resultados muestran la importancia de estudiar los tres patógenos mencionados en las lesiones de la cavidad oral, a fin de conocer la epidemiología y poder generar un tratamiento oportuno en el paciente.

Financiamiento: SeCyT-UNC 313/2016, Fundación A. Roemmers 2018, MinCyT-Cba PIODO 2017.

46. Desarrollo y validación de un enzimoinmunoensayo para el serodiagnóstico de hepatitis E-Seroprevalencia en Tucumán. Arce LP(1,2); Olea C(1,2); Marranzino G(3); AgoteF(3); Vizoso Pinto MG(1,2). (1) Laboratorio de Biología de las Infecciones, Instituto de Investigaciones en Medicina Molecular y Celular Aplicada del Bicentenario (IMMCA), CONICET-Universidad Nacional de Tucumán- Sistema Provincial de Salud de Tucumán (SIPROSA); (2) Laboratorio Central de Cs. Básicas, Facultad de Medicina-Universidad Nacional de Tucumán; (3) Banco Central de Sangre de Tucumán "Dr. César Guerra". PRIS–Si.PRO.SA, Tucumán.

El virus de la hepatitis E (VHE) causa infecciones que suelen ser autolimitadas pero a veces son fulminantes. En mujeres embarazadas el riesgo de sufrir hepatitis fulminante es mayor (aprox.25%). Recientemente, también se describieron casos de hepatitis crónicas en

pacientes inmunocomprometidos. De los 4 genotipos (GT) existentes, en Argentina circula el GT3. El diagnóstico se basa principalmente en la detección de anticuerpos específicos. En nuestro país se utiliza un único kit importado (DIAPRO). Objetivo: clonar, expresar, purificar la proteína ORF2 de VHE GT3, desarrollar un enzima inmunoensayo (ELISA) para detectar anticuerpos anti-VHE en suero. Evaluar la sensibilidad y especificidad del nuevo ensayo y estimar la seroprevalencia en donantes de sangre de Tucumán. Métodos: ORF2 es un polipéptido recombinante de 66 kDa correspondiente a los aminoácidos 112-608 de la proteína de la cápside del VHE. Esta secuencia se subclonó en pETG-N-RGS-His-[rfB] mediante clonado recombinatorio Gateway® y se transformó en E. coli Rossetta. Se optimizó la expresión de la proteína. Se la purificó en condiciones nativas y desnaturalizantes usando cromatografía de afinidad (NiNTA). ORF2 purificada se examinó mediante SDS-PAGE al 10% y western blot y se cuantificó por Bradford (Bio-Rad). Para desarrollar el ELISA, se probaron diferentes concentraciones de proteínas (0,1-10 µg/ml), agentes bloqueantes, diluciones de suero, anticuerpo secundario y sustrato. Para la validación del ELISA (cut-off, sensibilidad, especificidad, capacidad y límite de detección) se emplearon 46 sueros negativos y 26 positivos (caracterizados con el kit de DIAPRO). Para el estudio de seroprevalencia se analizaron 813 sueros de donantes de sangre. Resultados: ORF2 GT3 VHE se expresó óptimamente a 37°C con IPTG 1 mM durante 3 h. Se puso a punto el ELISA basado en ORF2 GT3 nativa para detectar anticuerpos anti-VHE de tipo IgG. Mediante análisis ROC (Característica Operativa del Receptor) encontramos una sensibilidad de 100 %, especificidad 97,8 % para un valor de cut off de 0,499 y buena capacidad discriminativa debido a su AUC (área debajo de la curva) de 0,998, sin embargo su límite de detección fue ligeramente menor que el kit comercial DIAPRO basado en péptidos sintéticos. Con el nuevo ELISA in house pudimos determinar que en donantes de sangre de Tucumán, la seroprevalencia es de 8,3 %. Conclusión: desarrollamos un ELISA para detectar anticuerpos anti-VHE utilizando como antígeno la proteína recombinante ORF2 VHE GT3 con una especificidad de 97,8 % y sensibilidad de 100 %. El kit desarrollado en nuestro laboratorio permite hacer ensayos a menor costo que el kit importado. La seroprevalencia encontrada en Tucumán es un llamado de alerta para la vigilancia epidemiológica de este patógeno emergente. Además, indica la necesidad de incluir el diagnóstico de Hepatitis E en los protocolos de rutina para diagnosticar hepatitis infecciosas.

47. La dinámica del citoesqueleto de actina afecta la replicación de Metapneumovirus humano.

Rodríguez PE(1); Gil PI(1); Cámara JA(1); Cámara A(1); Paglini MG(1,2). (1) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella". Facultad de Ciencias Médicas– Univ. Nacional de Córdoba; (2) Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba.

Metapneumovirus humano (MPVh) es un agente causante de infección respiratoria en todos los grupos etarios. Su aislamiento y cultivo *in vitro* es dificultoso y en consecuencia su ciclo de replicación es poco conocido. Se sabe que un citoesqueleto intacto es importante para la replicacion de ciertos virus. En este sentido, el tratamiento con Citochalasina D (CytD) en etapas tempranas del ciclo de replicación del virus Pixuna, favorece la producción viral, ya que afecta la dinámica de los microfilamentos de actina (MFls). Además, existen evidencias que algunos Pneumovirus utilizan el citoesqueleto para su replicación y morfogénesis. Por esto, se propuso describir el ciclo de replicación de MPVh (aislado de una muestra clínica de Córdoba) para luego investigar la posible participación del citoesqueleto de actina en su proceso de replicación. Para ello, mediante RT-qPCR se cuantificó el ARN viral de sobrenadantes de cultivo de monocapas de células Vero infectadas con MPVh y cosechados a distintos tiempos: 24, 48, 72 y 96 horas post infección (hpi). Para analizar la participación del citoesqueleto de actina, las monocapas fueron infectadas y tratadas con CytD [2,5uM] por 24hpi, luego se mantuvo con medio sin droga hasta las 72hpi. A las 24hpi el sobrenadante de cultivo fue cosechado para ser cuantificado por RT-qPCR y las monocapas celulares para ser procesadas por inmunofluorescencia con anticuerpos específicos para MPVh y faloidina para visualizar los MFls. La cuantificación del ARN viral de los sobrenadantes permitió describir el ciclo de replicación de MPVh, obteniendo la máxima

producción viral a las 48hpi, registrándose una disminución progresiva hasta las 96hpi. De manera interesante el tratamiento con CytD provocó un aumento significativo en el porcentaje de células infectadas y en la intensidad de fluorescencia viral respecto al control no tratado, con la consiguiente disminución de producción viral en sobrenadantes. Este aumento a nivel celular se mantuvo hasta las 72h, a pesar de retirar la droga. Nuestros resultados muestran que la fase exponencial de replicación viral culmina a las 48h obteniendo la máxima producción y liberación de progenie, representando las primeras 24h el inicio de los procesos de replicación. Por otro lado la disrupción de los MLFs con CytD, en las primeras 24h del ciclo de MPVh, provocó un aumento de células infectadas y cantidad de proteína viral intracelular, en concordancia con los bajos niveles de progenie viral extracelular. Podemos concluir que la disrupción de los MLFs aumenta no solo la proporcion de celulas infectadas, sino también la acumulación de proteinas virales en el citoplasma y la disminución de la liberación de los viriones al espacio extracelular. Estos resultados sugieren que en las primeras 24h del ciclo de MPVh, los MLFs participarían tanto en la entrada como en la salida de los viriones. Destacamos la importancia al describir por primera vez la biología de infección de MPVh aislado en Córdoba.

48. El virus Junín utiliza la maquinaria autofágica del hospedador para promover su replicación. Arrías PN; Ure AE; Romanowski V; Gómez RM; Perez Vidakovics MLA. Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), La Plata, Buenos Aires**.**

La autofagia es un mecanismo de degradación altamente regulado que cumple un rol fundamental en la homeostasis celular ya que permite la eliminación de organelas defectuosas y agregados citoplasmáticos. Paralelamente, forma parte de la respuesta inmune innata y adaptativa del hospedador ante infecciones por patógenos. El virus Junín (JUNV) es el agente causal de la fiebre hemorrágica argentina, una enfermedad endémica en nuestro país que presenta una tasa de mortalidad del 20%. El objetivo de este proyecto fue estudiar el rol de la autofagia en la replicación de JUNV. Para evaluar si la infección por JUNV induce autofagia, se realizaron experimentos *in vitro* en la linea celular humana A549. Mediante microscopía confocal, se observó un aumento en el número de vesículas LC3 positivas (marcador de autofagosomas) en células infectadas respecto del control sin infectar, así como la colocalización entre LC3 y proteínas clave del proceso de autofagia o la proteína de nucleocápside viral (N). Paralelamente, se analizó por WB el *ratio* LC3-II/LC3-I durante el transcurso de la infección y se observó un aumento respecto al control, lo cual indica que la infección viral induce autofagia. Luego se examinó si el flujo autofágico generado durante la infección era completo, es decir, si ocurre la fusión entre el autofagosoma y el lisosoma. Para esto se realizaron experimentos de transfección con el plásmido mCherry-GFP-LC3 (GFP es sensible al pH ácido en el entorno lisosomal) seguidos de infección con JUNV. Se observó un incremento significativo del numero de *dots* mCherry positivos. Además, se evaluaron por WB los niveles de las proteínas p62 (indicador de la degradación autofágica) y N en células infectadas con JUNV a diferentes tiempos. En conjunto, estos experimentos permitieron establecer que el flujo autofágico inducido por JUNV es completo. Sin embargo, N no sería degradada a través de este proceso, ya que los niveles de N no disminuyen como si lo hace la proteína p62 del hospedador. Paralelamente, la inducción farmacológica de la autofagia resulta benéfica para el virus, dado que en estas condiciones el título viral y la expresión de N aumenta. Así mismo, se observó que tanto la inhibición farmacológica de la autofagia como el silenciamiento de genes clave de la autofagia influyen negativamente sobre la replicación viral. Para comenzar a indagar los mecanismos por los cuales JUNV induce autofagia en células A549, se realizaron experimentos con virus inactivado por UV. Se observó que la inducción de la autofagia es independiente de la replicación viral, dado que tanto el virus inactivo como el virus replicativo son capaces de generar un aumento en el número de vesículas LC3 positivas. En resumen, el virus Junín aprovecha la autofagia que sería en principio un proceso antiviral, para su beneficio. Conocer los mecanismos moleculares requeridos para la replicación viral permitirán desarrollar herramientas para el tratamiento de la FHA.

SESIÓN 5

49. Interacción de las proteínas NS5 de los virus de dengue y de Zika con proteínas celulares.
González López Ledesma MM; Gebhard LG; Iglesias NG; De Maio FA; Gamarnik AV. Laboratorio de Virología Molecular. Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.

El virus de dengue (DENV) es uno de los patógenos humanos más relevantes transmitidos por insectos; es responsable de 390 millones de infecciones anuales a nivel mundial. Es un virus de ARN de simple cadena positiva, perteneciente al género *Flavivirus*. Este virus se encuentra filogenéticamente relacionado con otros flavivirus, incluyendo al virus del Nilo occidental (WNV), de la fiebre amarilla (YFV) y al virus de Zika (ZIKV). A diferencia de otros flavivirus, ZIKV puede ser transmitido por vía sexual y vía vertical. La infección por ZIKV durante el embarazo causa microcefalia y otros defectos cerebrales severos en el feto. Ello sumando a la epidemia de ZIKV en el año 2016 en el continente americano incrementó el interés por el estudio sobre la biología del ZIKV y su patogénesis. La proteína NS5 de los flavivirus juega múltiples funciones durante la infección viral: es responsable de la replicación viral así como de contrarrestar la respuesta antiviral del hospedador. Con el fin de investigar la interacción de NS5 con componentes celulares, se realizaron estudios de proteómica utilizando virus de dengue marcado con un tag en el extremo carboxi terminal de la proteína NS5. Se identificaron 53 proteínas celulares que se unen o forman complejos con la NS5 de DENV. Entre los interactores de NS5 se encontraron componentes de la maquinaria de splicing, en particular proteínas que forman parte del complejo U5 snRNP, así como proteínas relacionadas a la transcripción y traducción celular. Se validaron un número de interacciones y se observó que el silenciamiento de las proteínas CD2BP2 y DDX23, componentes del complejo U5, aumenta la replicación viral de DENV. Ello que sugiere que la unión de la proteína viral NS5 a componentes de la maquinaria de splicing genera un ambiente menos hostil para la replicación viral. Dado el alto grado de identidad entre la NS5 de DENV y de ZIKV se procedió a validar la información del interactoma obtenido con DENV en la infección con ZIKV. Se observó que la ausencia de la proteína CD2BP2 aumenta ligeramente la replicación viral; sin embargo, es necesario realizar estudios adicionales para confirmar dicha observación. Por otro lado, se detectó un incremento en la replicación viral de DENV en ausencia de las proteínas STAT2 y ERC1. STAT2 forma parte de la cascada de señalización del interferón y ha sido previamente publicado que la proteína NS5 de DENV interactúa con STAT2 y de esta forma bloque la vía del interferón, lo que valida los resultados del interactoma de este estudio. ERC1 es una proteína de andamiaje, con múltiples funciones publicadas, pero poco estudiada. Actualmente se están realizando estudios para dilucidar la razón por la cual esta proteína estaría actuando como factor antiviral. En resumen, la información obtenida con el proteoma de DENV nos permite evaluar interacciones proteína-proteína en la infección con dicho virus pero además brinda la posibilidad de validar interacciones en la infección con ZIKV.

50. Inusual aumento de casos de hepatitis A en hombres que tienen sexo con hombres en Córdoba, Argentina (julio 2017-abril 2018): análisis epidemiológico y caracterización molecular.
Mariojouls J(1); Castro G(1); Pisano MB(2); Barbero P(3); Fantilli (2); Borda M(1); Canna F(1); Barbas G(1); Ré V(2). (1) Laboratorio Central -Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J.M.Vanella"-Facultad de Ciencias Médicas–CONICET-Universidad Nacional de Córdoba; (3) Área Epidemiología-Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.

La infección por el virus de la Hepatitis A (HAV) es la causa más común de hepatitis viral aguda en el mundo. Actualmente Argentina, es un país considerado de endemicidad intermedia, siendo las notificaciones de casos cada vez menos frecuentes desde la introducción de la vacuna a niños de 1 año en 2005. Sin embargo, la susceptibilidad al virus aumentó en los adultos jóvenes. Durante mediados 2016/2017 se registraron en Europa, Chile y EEUU brotes de Hepatitis A (HA), genotipo IA, especialmente descriptos en hombres que tienen sexo con hombres (HSH). El presente trabajo tiene como objetivo estudiar epidemiológica y

molecularmente el aumento de casos de HA ocurrido recientemente en Córdoba. Al 30 de abril de 2018 se recopilaron los casos de HA derivados al Laboratorio Central de la Provincia de Córdoba, con IgM anti-HAV (+) en suero (n=34). Se registraron datos clínico-epidemiológicos. Se detectó RNA-HAV en suero y/o materia fecal usando qPCR y se realizó RT-Nested PCR seguida de secuenciación de la región VP1/2 (415bp) para la caracterización genética. Del total de casos, 88,2% (30/34) fueron hombres. La orientación sexual se registró en 27 casos (22 hombres, 4 mujeres); 72,8% (16/22) se identificaron como HSH y el 50% (8/16) de ellos estaban infectados con HIV. La edad media de los casos de HSH fue de 31,9 años (rango: 21-55 años); todos habitantes de Córdoba capital. En términos de gravedad de la enfermedad, en todos los casos en los que se disponía de información clínica (n=23) se registró ictericia en el 90% (n=21), insuficiencia hepática grave en el 26% (n=6) y una defunción. Tres casos reportaron historial de viaje fuera del país (Perú, Chile y Ecuador) durante el período de notificación, pero ninguno de ellos fue HSH. La mayoría de los adultos involucrados en el brote no estaban vacunados. Dos casos reportados en el período de brote fueron niños no vacunados habitantes de una ciudad alejada 86 km de la ciudad de Córdoba. En comparación, en el mismo período en años anteriores (julio 2015 –abril 2016, julio 2016 abril 2017), se reportaron sólo siete y cinco casos, respectivamente. Entre estos, ninguno fue identificado como HSH. Todas las secuencias analizadas fueron genotipo IA: 1) las amplificadas en HSH agruparon estrechamente entre sí, 2) secuencias de pacientes (no HSH) amplificadas en este periodo, agruparon entremezcladas con HAV-IA endémicas no asociadas a los casos en HSH.

Los resultados evidencian que el aumento de casos de HA fue aparentemente propiciado por transmisión sexual entre HSH, tal como se describió previamente en otras regiones del mundo. Considerando que en pacientes inmunosuprimidos y con hepatopatías crónicas aumenta la severidad de la enfermedad por HAV, los resultados de este estudio sugieren la necesidad de reforzar y concientizar al personal médico sobre la indicación/recomendación de la vacuna, promover el screening activo, y educación sexual enfatizando en hábitos de protección en estos grupos vulnerables.

51. Una nueva forma de calcular el desvío estándar para estimar la incertidumbre de la medición de la carga viral HIV-1. Pineda M; Golemba M; Juarez S; Guelho R; Mangano A; Moreiro R. Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus-CONICET, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

INTRODUCCIÓN: La determinación de la carga viral en plasma es el marcador bioquímico utilizado para evaluar la respuesta al tratamiento antirretroviral, esta determinación se realiza con kits comerciales. Por lo tanto, conocer y monitorear la incertidumbre de medición en la fase analítica es fundamental para asegurar la utilidad clínica y el seguimiento de los resultados de los laboratorios. OBJETIVO: Planificar un esquema de control estadístico interno de la calidad y estimar la incertidumbre de medición para monitorear el desempeño analítico de la determinación carga viral HIV-1. MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizaron los resultados de 56 corridas analíticas realizadas a partir de 5 lotes diferentes de controles internos altos y bajos con concentración cercana a los niveles de decisión médica y conmutables con la matriz de la muestra (kit de cuantificación Cobas TaqMan-High Pure System, Roche®) se calculó la media y se establecieron los límites de control (+/-2DS - IC95%). Con esos resultados también se estimó el componente aleatorio u (Rw), que representa la precisión intermedia expresado como desvío estándar acumulado (DS). Por otra parte se calculó el componente sistemático u (Bias) obtenido de la participación anual en el CCE (control de calidad externo de Roche®) para conocer la incertidumbre de medida. El DS se calculó según la fórmula utilizada para datos transformados en logaritmo10 (√Var(x)/ (ln(10).E(x)); según lo reportado recientemente por Canchola,J. et.al,2017 y los cálculos de incertidumbre de medida se realizaron según el modelo de estimación Nordtest TR 537 "top down" u(Rw)= DE lab. acumulado en unidades de concentración u(Bias) =√RMS bias2 media cuadrática del sesgo de una encuesta uc= u(Rw) + (Bias) U= K. uc K: 2 (IC95%). RESULTADOS: La media obtenida para el control bajo fue 2,70 log10 y el desvío estándar fue de

0,11. Para el control alto la media fue 5,66 log10 y el desvío estándar 0,12. Con estos datos de media y dos desvíos estándar se construyó el gráfico de Levey - Jenning para monitoreo de desempeño. La incertidumbre de medición estándar combinada y expandida para los controles bajos son: uc =0,12 y U=0,24 [u(Rw)=0,11; u(Bias)= 0,01] y para los controles altos son: uc =0,14 y U= 0,28 [u(Rw)=0,13; u(Bias)= 0,01]. En ambos casos uc y U presentaron valores menores a 0,5 log que representa el valor de nuestra incertidumbre objetivo.

CONCLUSIÓN: Se logró diseñar un control estadístico interno de la calidad y estimar la incertidumbre de medición para monitorear el desempeño de la carga viral HIV-1; lo cual nos permite asegurar la calidad clínica de los resultados de los pacientes, detectar errores y disminuir costos relacionados con la calidad. Este estudio preliminar nos permitirá no solo un correcto calculo de la incertidumbre en técnicas comerciales si no también para métodos cuantitativos de desarrollo artesanal.

52. Diseño y desarrollo de herramientas genéticas para estudios moleculares del virus de Zika. Pallarés HM; Carballeda JM; Gamarnik AV. Fundación Instituto Leloir, IIBBA-CONICET.

El género Flavivirus comprende cerca de 70 virus incluyendo patógenos humanos de elevada relevancia como el virus de Zika (ZIKV), Fiebre amarilla y Dengue. Los flavivirus son virus envueltos con un genoma de RNA de simple cadena y polaridad positiva que poseen un único marco de lectura abierto que codifica para una poliproteína. Las regiones flanqueantes 5' y 3' no codificantes (UTR) son altamente estructuradas. En particular el 3'UTR presenta estructuras terciarias predichas bioinformáticamente y confirmadas experimentalmente para algunos miembros del taxón, con funciones relacionadas a la replicación viral.

El Zika es un virus emergente que a partir de su introducción en Brasil en el 2015 se ha extendido causando brotes y epidemias en más de 60 países, confirmándose en abril del 2016 el primer brote de transmisión vectorial de nuestro país. El fenómeno de expansión global del ZIKV junto a la falta de conocimiento sobre éste, dio lugar a la urgente necesidad de estudiar su biología molecular. La herramienta de mayor utilidad para este propósito es la disponibilidad de copias en DNA de los genomas virales completos, conocidos como clones infecciosos. Teniendo en cuenta las ventajas de esta herramienta, el primer objetivo de este trabajo consistió en la obtención de clones infecciosos de ZIKV representativos de una variante no epidémica (aislamiento africano) y una epidémica (aislamiento americano). Con este fin se ensambló un cDNA completo del genoma de un virus epidémico proveniente de un aislamiento realizado en nuestro país en el año 2016 de un paciente con antecedente de viaje, y un clon infeccioso no epidémico que proviene de un aislamiento de mosquito del año 1953 en Senegal. Ambos se clonaron exitosamente en plásmidos de bajo número de copias, a partir de los cuales se pudieron realizar transcripciones *in vitro* para la obtención de RNA viral. Las transfecciones de estos RNA dieron lugar a infecciones productivas en células de mosquito y humano.

Por otro lado, con el fin de obtener una herramienta adicional que permita estudiar cada paso del ciclo de replicación viral, se construyeron virus reporteros que incluyen una copia del gen de la luciferasa de Renilla en marco de lectura con la poliproteína viral. Los virus reporteros generados fueron capaces de infectar células de mosquito y mamífero, constituyendo una poderosa herramienta para el estudio de la cinética de infección, traducción y replicación de ambos virus. Estas herramientas se emplearán tanto para el estudio de la biología molecular del ZIKV como para el diseño de virus atenuados como potenciales candidatos vacunales.

53. Efecto de agentes lisosomotrópicos en la replicación del virus Pixuna en cultivo de células Vero. Ghietto LM(1); Gil PI(1); Olmos P(1); Neira M(1); Kunda P(1); Paglini MG(1)(2). (1) Instituto de Virología "Dr.J.M.Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba; (2) Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC, Córdoba.

Introducción: Durante las últimas décadas se ha registrado un resurgimiento a nivel mundial de patógenos virales trasmitidos por artrópodos (Arbovirus), particularmente por mosquitos. Desde

fines del Siglo XX, en nuestro país se conoce la circulación de subtipos enzoóticos de complejo de Encefalitis Equina Venezolana (VEE), todos ellos miembros de la familia *Togaviridae*, género *Alphavirus*. Se conoce que estos virus utilizan el tráfico intracelular endocítico para desnudarse y continuar con su ciclo replicativo. Experimentos previos del laboratorio, utilizando como modelo al virus Pixuna (PIXV), miembro no patógeno de este complejo, demostraron que el uso de algunos agentes lisosomotropos disminuye los títulos virales extracelulares. Objetivo: Obtener evidencias sobre la participación de los endosomas en el proceso de liberación del genoma del PIXV dentro del compartimiento citoplasmático mediante el uso de agentes lisosomotropos. Materiales y métodos: Cultivos de células Vero Clon 76 fueron preincubados durante 30 min con 15 mM de Glucosamina y 50 mM de NH4Cl a 4ºC e infectados con PIXV de forma sincronizada con MOI 0,1 durante una hora. Se suplementó el medio con las respectivas drogas según cada tratamiento. Los sobrenadantes fueron recolectados a las 4, 8 y 24 horas postinfección (hpi) para titulación del PIXV mediante la cuantificación de placas de lisis. Por otro lado, las monocapas infectadas con MOI 10 fueron fijadas a las 4 hpi para determinar la presencia del virus mediante inmunofluorescencia. Resultados: Los resultados muestran una disminución en el título viral extracelular en aquellos cultivos tratados con ambos agentes, tanto a las 4 como a las 8 hpi en comparación con cultivos no tratados. En el tratamiento con Glucosamina la disminución fue aún mayor. A las 24 hpi, a diferencia de la Glucosamina, en el cultivo con NH4Cl se recuperan los títulos virales. Las imágenes de inmunofluorescencia obtenidas se correlacionan con los resultados obtenidos. Conclusión: La disminución en el número de unidades formadoras de placa en los cultivos tratados con los agentes lisosomotros y las imágenes de microscopia ponen de manifiesto que el PIXV podría utilizar la vía endosomal para desnudarse, liberar su contenido al citoplasma y continuar con el ciclo replicativo.

54. Identificación de Bocavirus humano 1 y virus B19 en la pesquisa de enfermedades congénitas aplicada a embarazadas y niños sintomáticos.

Salbetti MB(1); Pedranti M(1); Barbero P(2); Molisani P(1); Lazzari M(1); Olivera N(1); Bertoldi A(3); Isa MB(3); Moreno L(4); Adamo MP(1). (1) Laboratorio de Rubéola y Parvovirus, Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Área de Epidemiología, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba; (3) Clínica Universitaria Reina Fabiola, Córdoba. (4) Cátedra de Clínica Pediátrica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Bocavirus humano 1 (HBoV1) y virus B19 (B19V) son parvovirus humanos con amplia prevalencia en todo el mundo, responsables de un espectro diverso de enfermedades. Aún no se ha establecido la participación de HBoV1 en patologías en embarazadas y sobre B19V se conoce que puede comprometer al producto de la gestación durante la etapa prenatal con consecuencias en la vida pre y posnatal.
Objetivos. Identificar la presencia de HBoV1 y B19V en muestras de embarazadas y/o niños de hasta 12 meses de edad, con sintomatología compatible con infección congénita por parvovirus. Genotipificar al virus identificado.
Población, muestra y métodos. Estudio retrospectivo, observacional. Se incluyeron muestras de sangre de pacientes embarazadas, neonatos y lactantes <12 meses, con manifestaciones clínicas compatibles con infección parvoviral, derivadas para su diagnóstico al Instituto de Virología, UNC, luego de la consulta a servicios de Obstetricia y Neonatoloía de diferentes centros de Córdoba, o bien en el marco del programa de vigilancia epidemiológica de síndrome de rubéola congénita (SRC), período 2014-2017 inclusive. Protocolo aprobado por comité de ética institucional. A partir de 200 uL de suero de cada una se extrajeron ácidos nucleicos mediante columnas comerciales y luego se determinó la presencia del ADN viral mediante PCR (fragmento NP1 para detección de HBoV1 y NS1 para B19V) seguida de electroforesis en gel de poliacrilamida teñido con nitrato de plata. Se secuenciaron muestras positivas mediante la amplificación de un segmento de 1994 nucleótidos ubicados en el marco de lectura de NS1 (nt 667-2660). Resultados. Analizamos 49 muestras; 22 fueron de mujeres embarazadas y 27 de pacientes neonatales y pediátricos. Ninguna resultó positiva para HBoV1. En contraste, se detectó B19V en 20/49 (40,8%) muestras

analizadas. En el grupo de embarazadas sintomáticas, 14/22 (63,6%) resultaron positivas; las manifestaciones clínicas asociadas fueron: hidrops fetal, 3/14 (21,4%); aborto, 1/14 (7,1%); ascitis fetal, 2/14 (14,3%); exantema febril, 2/14 (14,3%); polihidramnios, 1/14 (7,1%); oligohidramnios, 1/14 (7,1%); hidrocefalia fetal, 1/14 (7,1%); síndrome TORCH, 1/14 (7,1%); cuadro de anemia, hidrops fetal y aborto, 2/14 (14,3%). Por otra parte, en el grupo de neonatos y niños se detectaron 6/27 (22,2%) muestras positivas para B19V. Entre estos, 5/6 (83,3%) referían diagnóstico presuntivo de SRC y 1/6 (16,7%) TORCH. Las secuencias nucleotídicas analizadas confirmaron la identidad de B19V, habiendo agrupado todas en el cluster denominado genotipo 1.

Conclusiones. En relación a HBoV1, nuestros resultados no permiten sugerir una relación con las situaciones clínicas estudiadas. En tanto, se identificó la presencia de B19V en 40,8% de las muestra analizadas, tanto suero de embarazadas como de niños sintomáticos. La sintomatología posnatal del producto de la gestación puede aparecer agrupada junto a la de otros cuadros infecciosos bajo la terminología TORCH.

55. Aseguramiento de la calidad de la técnica de qPCR para la detección de ADN de Parvorirus B19 Humano en pooles de plasma humano.

Rodríguez Lombardi GR. Laboratorio de Hemoderivados Universidad Nacional de Córdoba-Área Desarrollo de Productos y Procesos, Córdoba.

Introducción: El Parvovirus B19 Humano (VB19) ha sido identificado como el agente causal de enfermedades como eritema infeccioso, crisis aplásica transiente y ha sido asociado a hidropesía y muerte fetal, anemia crónica y artritis. Es un virus ADN (ADN-B19) no envuelto que se transmite por vía aérea y ya que puede circular en sangre con altos títulos (10e14 partículas/mL) existe riesgo de transmisión del mismo por transfusiones y productos derivados del plasma si no se toman ciertas medidas de seguridad biológica.

La Farmacopea Europea (FE) ha establecido que la concentración de ADN-B19 en Pool de Plasma Humano (PPH) utilizado para la producción de la GAMMAGLOBULINA ANTI-Rho debe ser menor a 1e4 UI/mL. Acorde a esta normativa, fue desarrollada una técnica no comercial basada en PCR en Tiempo Real (qPCR) para la detección cuantitativa del ADN-B19. Para asegurar la calidad de una qPCR resulta indispensable la participación en programas de control de calidad externo (CCE) mediante los cuales es posible evaluar y monitorear la perfomance de la técnica y detectar desviaciones que permitan realizar mejoras.

Objetivo: Evaluar la perfomance de la qPCR para la detección cuantitativa del ADN-B19, mediante la participación en el programa de CCE internacional (Proficiency Testing Scheme PTS170), organizado por European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM), con el fin de verificar el cumplimiento de los requisitos y normativas vigentes.

Metodología: Panel PTS 170: 4 muestras negativas para AND-B19; 6 muestras positivas para ADN-B19: genotipo 1a2 con 5e4 UI/mL (2 muestras) y 2e3 UI/mL (2 muestras); genotipo 2 con 1e5 UI/mL (una muestra) y genotipo 3a con 1e6 UI/mL (una muestra). Purificación AND-B19: QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen)®.

qPCR: iTaqManTM Universal Probes Supermix Biorad, Applied Biosystems® 7500. Región NS VB19 (primers y probe). Material Calibrador: 3rd WHO International Standard DNA-B19 (código NIBSC: 12/208). Reporte EDQM: Cuando en el panel analizado todas las muestras positivas son cuantificadas correctamente y todas las negativas resultan no reactivas el reporte final es “SATISFACTORIO”

Resultados: La técnica fue capaz de cuantificar correctamente todas las muestras positivas pertenecientes a los 3 genotipos virales y clasificar correctamente todas las negativas:

- Genotipo 1a2 (conc. nominal de 5e4 UI/mL): 2e4 UI/mL en ambas muestras.
- Genotipo 1a2 (conc. nominal de 2e3 UI/mL): 1e3 UI/mL en ambas muestras.
- Genotipo 2 (conc. nominal de 1e5 UI/mL): 6e4 UI/mL.
- Genotipo 3a (conc. nominal de 1e6 UI/mL): 6e6 UI/mL.
- Muestras negativas: no reactivas las 4 muestras.

Conclusiones: El informe final emitido por el EDQM resultó ser “SATISFACTORIO”. La participación en el estudio de CCE permitió verificar la perfomance de la qPCR para la detección cuantitativa del ADN-B19 en

PPH destinados a la producción de Gammaglobulina anti-Rh, acorde a los requerimientos regulatorios.

56. Producción de la proteína recombinante NS1 y su posible uso en el diagnóstico diferencial de encefalitis flavivirales. Lorch MS(1); Argüelles MH(2); Spinsanti LI(3); Lozano ME(1); Goñi SE(1). (1) Laboratorio de Virus Emergentes (LVE), Dto. CyT, Universidad Nacional de Quilmes; (2) Laboratorio de Inmunología y Virología (LIV), Dto. CyT, Universidad Nacional de Quilmes; (3) Laboratorio de Arbovirus, Instito de Virología "Dr. Carlos Vanella" (InViV), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

El virus de la encefalitis de Saint Louis (SLEV) y el virus del Nilo occidental (WNV) son dos de las principales causas de encefalitis por arbovirus en las Américas. La co-circulación de flavivirus relacionados en la región y la vacunación previa contra flavivirus plantean problemas para la especificidad de los ensayos serológicos de diagnóstico, debido al desarrollo de anticuerpos de reactividad cruzada. Esta situación plantea la necesidad de desarrollar métodos de diagnóstico sencillos que permitan diferenciar una infección producida por estos agentes virales. NS1 es una proteína no estructural glicosilada de aproximadamente 46 kDa que tiene una estructura altamente conservada. Los anticuerpos anti-NS1 pueden detectarse entre 4 y 8 días después de la exposición inicial y NS1 posee la menor reactividad cruzada entre los antígenos flavivirales. El objetivo de este trabajo se centra en la expresión de la proteína recombinante NS1 de SLEV y WNV con el fin de generar antígenos que permitan establecer un ensayo serológico para determinar la identidad del agente etiológico en un cuadro de infección flaviviral. Para este trabajo se utilizaron cepas regionales de los virus SLE y WN como fuente de amplificación, expresión y purificación del gen de NS1. En este trabajo, los genes NS1 se clonaron con éxito en el vector pET22-b. Las proteínas recombinantes se sobreexpresaron en el sistema de *E. coli* con un *tag* de histidinas en el extremo carboxilo. Las proteínas expresadas se encontraron formado cuerpos de inclusión, por lo que fueron purificadas en condiciones desnaturalizantes utilizando cromatografía de afinidad (IMAC). Las proteínas NS1 generadas demostraron mantener su inmunogenicidad al reaccionar, mediante la técnica de *Western blotting*, con sueros humanos de casos positivos de SLEV y WNV y suero de conejo anti-His *tag*. Por otro lado, las proteínas producidas se utilizaron como inmunógenos en un protocolo de inmunización de ratones BALB/c. Las muestras de suero mostraron la presencia de anticuerpos anti-NS1, demostrando que los antígenos poseen actividad inmunogénica. Los anticuerpos policlonales inducidos fueron analizados mediante ELISA indirecto y *Western blotting*, dando como resultado que las dos proteínas recombinantes son reconocidas con reactividad diferencial, mostrando la capacidad de distinguir entre los dos antígenos. Estos antígenos podrían ser usados en el formato de ELISA indirecto, para detectar anticuerpos séricos, o para la generación de anticuerpos monoclonales que podrían reconocer el antígeno NS1 presente en los sueros de pacientes infectados con SLEV o WNV permitiendo el desarrollo de un ensayo de captura de NS1 específico para la detección temprana de infecciones agudas de flavivirus.

57. Infección simple de Coronavirus (CoVh-OC43) en niños internados del Hospital Infantil Municipal de Córdoba en un bimestre de 2018. Rodríguez PE(1); Liendo ME(2); Herrera Simó C(1); Frutos MC(1); Cuffini CG(1); Cámara JA(1); García Oro MC(2); Cámara A(1). (1) Instituto de Virología "Dr. J.M.Vanella", FCM-UNC. (2) Hospital Infantil Municipal Córdoba.

Las enfermedades respiratorias son un grave problema de salud a nivel mundial. Los virus son los principales agentes etiológicos responsables de las infecciones respiratorias, que causan alta morbi-mortalidad en la población. Los más vulnerables son neonatos y/o niños menores a 5 años, adultos mayores y/o personas que presentan comorbilidades. Diferentes agentes virales son capaces de causar infecciones respiratorias agudas (IRA), entre ellos, los Coronavirus humanos (CoVh) que posee 6 especies, siendo más prevalente la OC43. Su rol como patógeno respiratorio único es discutido debido a los altos porcentajes de co-detecciones con otros agentes etiológicos de IRA. En este estudio se investigó el comportamiento de CoVh-OC43 en población pediátrica internada por IRA en el Hospital Infantil Municipal (HIM) de Córdoba.

Se analizaron muestras de aspirados nasofaríngeos de pacientes entre 1 mes y 15 años de edad en el período del 2/7/18 al 3/9/18. Se realizó la detección del panel de 8 virus respiratorios (Virus Respiratorio Sincicial, Adenovirus, Parainfluenza I, II y III, Influenza A y B, y Metapneumovirus) por Inmunofluorescencia con el kit de Diagnostics Hibrid, QUIDEL en la sección de Virología del laboratorio del HIM. En el laboratorio de Virus Respiratorios del Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", FCM UNC, se llevó a cabo la extracción de RNA viral (Kit de QIAGEN®) según instrucciones del fabricante y se detectó CoVh-OC43 a través de RT-PCR de un solo paso según protocolo de Vabret et al (2005). De un total de 302 muestras, 175 (58%) resultaron positivas para algún virus y 127 (42%) fueron negativas para todos. Se detectaron RSV (35%), Adv (5,2%), VPI I (7,2%), II (1,1%), III (6,2%), VI A (18,6%) y B (1%), MPVh (15,5%) y CoV-OC43 (5%) 16/302 muestras. De las 16 muestras positivas para OC43, 7 resultaron co-infecciones (1 S. pneumonia, 4 Micoplasma spp y 3 RSV) y 9 de ellas fueron infecciones simples. En estas últimas, se observó que 5 eran lactantes con diagnóstico de bronquiolitis y las restantes fueron niños que padecían una exacerbación de crisis asmática. El estudio de CoVh es relevante ya que amplía el diagnóstico diferencial de IRA siendo escasos en nuestro país y los únicos en Córdoba. Se observó un porcentaje de detección de CoVh-OC43 (5%) más elevado que la prevalencia anual reportada (2-3%), debido que se analizó un bimestre que coincide con la época invernal donde se espera un aumento de las detecciones de este virus. Uno de los aspectos más notables fue obtener mayor prevalencia de infecciones simples. Otro aspecto importante es la posible relación de la infección por este agente con cuadros clínicos de crisis asmáticas en niños mayores y/o con la progresión al asma de los lactantes.

Es por lo expuesto, que se hace necesario continuar y ampliar estos estudios con equipos multidisciplinarios para brindar herramientas diagnósticas que mejoren tratamientos y seguimientos, desde las investigaciones a los actores sanitarios.

58. *Nezara viridula*: un nuevo reservorio de virus de abejas? Bravi ME(1,2); Susevich ML(1,2); Genchi ML(1,4); Reynaldi FJ(1,2); Marti GA(2,3); Echeverría MG(1,2). (1) Laboratorio de Virología (LAVIR), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata; (2) CONICET (CCT-La Plata), Buenos Aires; (3) Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CCT-La Plata-CONICET-UNLP), La Plata; (4) CIC (CIC-PBA), Buenos Aires.

En la región del Cinturón Hortícola Platense (CHP), que comprende los partidos de Berazategui, Magdalena y La Plata (Provincia de Buenos Aires - Argentina), se encuentran presentes las chinches verdes, *Nezara viridula* (Hemíptera: Pentatomidae) que podrían causar daños a varios cultivos regionales. Este es un nicho ecológico muy particular en el que conviven muchos insectos; entre ellos los agentes polinizadores, como las abejas melíferas quienes juegan un rol fundamental. Son varios los agentes patógenos que afectan la salud de las abejas, a la fecha se han identificado al menos 24 virus diferentes y en general tienen distribución mundial. Entre ellos, el *Virus de la parálisis aguda israelí* (IAPV), se lo ubica dentro de la familia *Dicistroviridae*, estrechamente relacionado con el *virus de la abeja de Cachemira* (KBV) y el *Virus de la parálisis aguda de las abejas* (ABPV) pero genética y serológicamente son diferentes. Las abejas infectadas con IAPV presentan alas temblorosas, parálisis y finalmente mueren fuera de la colmena. Se planteó como objetivo del presente trabajo, investigar si las chinches verdes podrían actuar como reservorios de virus patógenos de abejas. Se utilizaron para este estudio 60 individuos de *N. viridula* obtenidos de colectas realizadas entre marzo de 2016 y marzo 2017. Todas las muestras se tomaron de invernáculos tanto a cielo abierto como cerrado. Se agruparon en 4 pooles de 15 chinches adultas cada uno y se trituraron en un mortero con 2ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS). Luego fueron sometidos a geles de poliacrilamida para evaluar la presencia proteínas de peso específico; las muestras que mostraron las bandas esperadas para la familia *Dicistroviridae* fueron seleccionadas para realizar su posterior extracción de ARN. Se utilizaron 5ul del ARN total para la síntesis de ADN complementario (ADNc). La reacción se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descripta por Sguazza et al., (2013) utilizando una PCR multiplex (mPCR).

De los 4 pooles analizados, 3 muestras resultaron ser positivas. Los resultados arrojados muestran la presencia de uno de los virus detectados en abejas: IAPV. Además de la mPCR positiva; se confirmó la presencia de IAPV con primers específicos para el virus, evidenciando el producto de PCR obtenido de 185pb.
Estos resultados indican que el conocimiento de las infecciones virales en los insectos son de gran importancia porque pueden servir como posibles reservorios virales, resultando en el derrame de patógenos hacia las abejas melíferas y resto de los polinizadores. Nuestro trabajo permitió ampliar el rango de hospedadores al detectar por primera vez IAPV en *N. viridula*. Futuros estudios son necesarios para entender la ecología de estos virus en las comunidades de artrópodos del CHP y determinar el rol que cumplen las chinches como reservorios de estos virus en el ambiente que comparten con los agentes polinizadores.

59. Detección de contaminantes virales adventicios en productos biológicos. Muestras analizadas durante 2016-2018. Franco L(1); Perez Lopez J(1); Politzki R(1); Porta N(1,2); Ruiz V(1,2); Alvarez I(1,2). (1) Instituto de Virología, CICVYA, INTA, Buenos Aires; (2) CONICET.

El desarrollo de productos biofarmacéuticos, como hemoderivados, derivados de tejidos, anticuerpos monoclonales, proteínas recombinantes y vacunas, requiere un control estricto de los procesos de manufactura a fin de obtener un producto seguro para humanos y animales. En este contexto, la contaminación viral es una de las mayores preocupaciones concernientes a los materiales biológicos. Para esto en fundamental realizar el control de contaminantes virales adventicios sobre los productos biológicos y sobre los reactivos o ingredientes de origen animal utilizados para producirlos. Existen diferentes normativas y reglamentaciones nacionales e internacionales que se deben cumplir. El esquema estándar de control de contaminantes virales adventicios incluye la inoculación de la muestra en líneas celulares susceptibles para detectar una amplia gama de virus, y también la inoculación en animales (ratones) y en huevos embrionados para revelar virus que no crecen en cultivos celulares. El propósito de este trabajo es mostrar la labor realizada en el laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología del INTA durante los años 2016-2018 en la detección de virus adventicios contaminantes en productos y sub-productos biológicos de uso humano o veterinario producidos por empresas biotecnológicas nacionales y de la región. En los ensayos de control de Virus Adventicios, cada muestra a evaluar fue inoculada en al menos dos líneas celulares diferentes dependiendo del origen y destino de la muestra, fue observa diariamente durante 21 días, con al menos dos pasajes, para detectar efecto citopático en el cultivo, y luego los cultivos fueron revelados por hemadsorción para detectar virus hemadsorbentes y por Inmunofluorescencia directa para detectar específicamente virus porcinos y/o bovinos según corresponda. Cuando la normativa lo exige, las muestras fueron inoculadas también en ratones por diferentes vías y en huevos embrionados. Se analizaron muestras: suero fetal bovino (SFB), hormona gonadotrofina coriónica equina (PMSG), bancos de células, semillas virales, solución de inmunoglubulina humana, suero de animales, entre otras muestras. Durante el período 2016-2018 se analizaron 527 protocolos, 171 en 2016, 180 en 2017 y 176 hasta septiembre de 2018. De todas las muestras analizadas, 77 corresponden a SFB, 91 a PMSG y 137 a bancos de células, 40 virus vacunales inactivados y 182 a otras muestras de distintos tipos. Las muestras pertenecen en un 69.5% a empresas nacionales, y un 30.5% a instituciones y organismos de ciencia y técnica (INTA-CONICET- UNIVESIDAD). El servicio técnico especializado de Control de Virus Adventicios que ofrece el INTA, da valor agregado a la industria biofarmaceútica nacional y regional, que elaboran sus productos a partir de ingredientes de origen animal, y que necesitan validar la calidad y la seguridad de sus productos y/o de sus procesos de manufactura, para su comercialización nacional e internacional.

60. Mejoramiento del baculovirus de *Anticarsia gemmatalis* como agente de control biológico mediante la incorporación de proteínas heterólogas en los cuerpos de oclusión. Fabre ML; Masson T; Romanowski V. Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Biotecnología y

Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata; Buenos Aires.

El virus de la poliedrosis nuclear múltiple de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV) ha sido utilizado con éxito en países con climas cálidos para el control biológico de la oruga de las leguminosas, una plaga que ocasiona daños importantes en el cultivo de soja. Sin embargo, su velocidad de acción lenta en climas templados limita su aplicación en países como Argentina. En este trabajo se propone una estrategia novedosa basada en la producción de cuerpos de oclusión (OB: *occlusion body*) de baculovirus en líneas celulares transgénicas que expresan proteínas heterólogas candidatas dirigidas a incorporarse en *trans* en el cuerpo de oclusión de AgMNPV. Esta estrategia evita la modificación genética del baculovirus, y presenta la ventaja de incorporar las proteínas de forma activa en el OB, pudiendo ejercer su acción de un modo inmediato al momento de su disolución en el intestino del insecto. Para ello, se incorporarán proteínas insecticidas direccionadas al OB mediante la fusión a la proteína de la envoltura del poliedro del virus (PEP) de AgMNPV. De esta manera, los OB actúan como portadores de proteínas que colaboran con la degradación de la membrana peritrófica en el intestino del insecto (proteasas, quitinasas), y/o afectan al sistema nervioso de la larva (toxinas específicas). Para ello, se utilizó el vector pIP/V5His derivado del vector comercial pIB/V5His (Invitrogen), el cual permite la expresión de un gen heterólogo bajo el control del promotor viral temprano constitutivo, POie2. Este vector contiene el gen que confiere resistencia a puromicina (pac), para la generación de líneas celulares transgénicas. El ORF de *pep* de AgMNPV fue amplificado por PCR y clonado en el pGEM-T Easy y luego, subclonado en el vector pIP. Los cebadores utilizados incorporaron sitios de restricción que permiten la fusión de polipéptidos en fase en el extremo N-terminal de PEP. Estos sitios, se utilizaron para el clonado del gen indicador *gfp*, el cual fue amplificado por PCR y clonado en el pGEM-T Easy. La línea celular de insecto policlonal UFLAg-eGFPPEP se seleccionó con puromicina por 15 días y se procedió al aislamiento clonal por dilución terminal. Finalmente, la línea monoclonal se infectó con el virus AgMNPV y AcMNPV-dsRED en dos experimentos independientes. La expresión del polipéptido GFP:PEP en las células monoclonales y en los OB purificados se verificaron por microscopía de fluorescencia confocal y por SDS-PAGE (10%), transferidas a membranas de PVDF e incubadas con el anticuerpo primario (anti-GFP) y secundario (anti-rat-HRP). Aún resta avanzar en la generación de las fusiones quiméricas con diferentes proteínas insecticidas y sus respectivos bioensayos.

61. Avances en el uso de la tecnología CRISPR/Cas para la edición de genomas baculovirales.

Nugnes MV; Ghiringhelli PD; Belaich MN. Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular- Área virosis de insectos, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires.

Los baculovirus son patógenos de invertebrados de los órdenes lepidóptera, himenóptera y díptera. Estos virus portan grandes genomas de ADN de doble cadena y, según su carga genética y su hospedador, se clasifican en cuatro géneros: *Alphabaculovirus*; *Betabaculovirus*; *Gammabaculovirus*; y *Deltabaculovirus*. La importancia biotecnológica de estos virus se debe a sus aplicaciones, las cuales incluyen el control biológico de plagas, tecnologías de expresión de proteínas recombinantes y terapia génica. En este sentido es de importancia aumentar el conocimiento sobre ellos y optimizar sus genomas de acuerdo a sus usos. En los últimos años, surgió una nueva herramienta a partir de sistemas bacterianos, conocida como CRISPR / Cas para facilitar la edición de genomas. CRISPR / Cas hace posible llevar a cabo quiebres en la doble hebra del ADN o DSB (por sus siglas en inglés *Double Strand Breaks*) en cualquier secuencia nucleotídica, que sumada a los procesos de recombinación homóloga celular y no homóloga hacen posible facilitar la mutagénesis de genomas. Con el objetivo de convertir genomas baculovírales en bácmidos modificables que se multiplican en *Escherichia coli*, y luego editarlos para eliminar o agregar información genética, evaluamos procedimientos *in vivo* empleando construcciones genéticas generadas *ad hoc* que expresan la tecnología CRISPR / Cas y diferentes cepas bacterianas y células de insecto Sf9. También, ensayamos una aproximación *in vitro* empleando enzimas recombinantes y RNAs

sintetizados con la RNA polimerasa del fago T7. En ambos enfoques empleamos genoma de AcMNPV y plásmidos recombinantes que contienen fragmentos del mismo. Los resultados obtenidos mostraron la funcionalidad y especificidad de la nucleasa Cas direccionada por los RNAs guías y la factibilidad de realizar recombinaciones homologas para la edición de estos ácidos nucleicos.

SESIÓN 6

62. Desarrollo de una qPCR multiplex para la identificación de BLV wild type y cepa atenuada. Ripoll L (1); Petersen M (2)(4); Ghiringhelli PD(3); Bilen M(3); Trono K(2)(4); Suárez Archilla G(5). (1) Productos Bio-Lógicos SA; (2) INTA. Instituto de Virología. CICVyA; (3) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular–Área de Virosis de Insectos. Universidad Nacional de Quilmes; (4) Instituto de Virología e Innovaciones tecnológicas. CONICET; (5) INTA, Rafaela.

INTRODUCCIÓN: El virus de la leucosis bovina (BLV) tiene un importante impacto en la sanidad de los rodeos asociados a la producción de leche de Argentina y el mundo. En Argentina la prevalencia individual en vacas lecheras de zonas de alta producción supera el 80%. Este virus provoca mayormente infecciones persistentes asintomáticas, generando un reservorio del virus para su posterior diseminación. Alrededor del 5% de los bovinos infectados desarrolla linfosarcomas que causan la muerte del animal. Este virus pertenece a la familia Retroviridae. Tiene la capacidad de integrarse al genoma de linfocitos B y también de permanecer extracromosomalmente. La detección del BLV se realiza mediante presencia de anticuerpos específicos circulantes ó mediante PCR. Su detección no es mandatoria para el comercio interno de animales o producto. Sin embargo, muchos países exigen el control sanitario de en los protocolos de ingreso. Actualmente se está desarrollando una vacuna basada en una variante del virus BLV atenuado que permite la protección del animal. La evaluación de la vacuna conlleva el desarrollo de metodologías accesibles que permitan confirmar molecularmente la presencia de la variante atenuada y wild type (wt), indistinguibles por su respuesta serológica.
OBJETIVO: Desarrollar un sistema de qPCR multiplex utilizando componentes producidos localmente, que permita la detección de BLV, tanto el fenotipo wild type como el atenuado.
METODOLOGÍA: Se construyó una base de datos de genomas secuenciados de BLV. A partir de la misma se realizó un análisis bioinformático que permitió determinar regiones óptimas para el diseño de primers y sondas específicas. Posteriormente se optimizó un sistema enzimático conteniendo todos los componentes necesarios para la reacción. Se acopló la enzima uracil-DNA glicosilasa para disminuir contaminaciones generadas por arrastre de productos de amplificación. Se realizó la validación analítica del sistema utilizando los parámetros y juegos de primers previamente seleccionados. Luego se determinó la eficiencia del sistema utilizando muestras reales.
RESULTADOS: Mediante la validación analítica se determinaron los parámetros de especificidad, límite de detección, y rango dinámico del sistema. Se obtuvo un límite de detección de 20 moléculas con un R2= 0,99 y 0,98 para la cepa wt y atenuada respectivamente. Por otro lado, el sistema mostró ser 100% específico sobre las muestras evaluadas. Por último, se logró detectar tanto el virus wt como su variante atenuada a partir de un lote pequeño de muestras de animales infectados y vacunados.
CONCLUSIÓN: Se desarrolló un sistema qPCR multiplex basado en sondas de hidrólisis, capaz de detectar e identificar BLV wt y una variante atenuada. Los resultados obtenidos sobre muestras de animales infectados mostraron correlación con los obtenidos mediante nested PCR. Actualmente se está trabajando sobre un lote mayor de muestras de animales para determinar la eficiencia global del método.

63. Vacunas contra la fiebre aftosa basadas en vectores adenovirales optimizados. Ziraldo M(1); Nuñez D(1); Bidart J(2); Zamorano P(2); Delgado F(3); Mattion N(1) y D'Antuono, A(1). (1) Centro de Virología Animal (CEVAN) – CONICET-SENASA; (2) Instituto de Virología-INTA; (3) Instituto de Patobiología-INTA.

La fiebre aftosa (FA) es una enfermedad causada por el virus de la Fiebre Aftosa (VFA), que afecta a especies de interés pecuario. Dada las graves implicaciones comerciales para el país afectado, la FA es considerada por la Organización Mundial de Sanidad Animal como la principal enfermedad animal de declaración obligatoria. Brotes en países previamente libres de la enfermedad, evidenciaron la necesidad de desarrollar candidatos vacunales que no estén basados en el cultivo del VFA infectivo y que induzcan una respuesta inmune eficaz y duradera contra los diferentes serotipos del VFA. Una estrategia que ha demostrado ser exitosa es el empleo de plataformas basadas en el adenovirus recombinante humano tipo 5 (Ad). Anteriormente, en nuestro laboratorio generó el Ad-P12A3C que dirige la expresión de las proteínas estructurales y la proteasa viral 3C del VFA serotipo O1 Campos. La inmunización con este candidato, en modelo murino, no protegió a los animales frente al desafío viral. El objetivo de este trabajo es desarrollar candidatos vacunales optimizados basados en Ad que expresen subunidades del VFA, que induzcan inmunidad protectora contra el desafío homólogo, de forma similar a la lograda con la vacuna inactivada de uso actual. Con este fin se generó el Ad-P12A3C(OP) capaz de expresar mayores niveles de subunidades del VFA O1 Campos. El nuevo candidato contiene la unidad transcripcional heteróloga en sentido negativo respecto al genoma adenoviral y, además, la secuencia del cassette P12A3C se encuentra bajo el control del promotor CMV optimizado. Por medio de experimentos de western blot y ELISA se determinó que los niveles de acumulación de proteínas del VFA, en extractos citoplasmáticos totales de células HEK293A infectadas con Ad-P12A3C(OP), fue 5 veces mayor respecto a aquellas infectadas con el Ad-P12A3C. El análisis en gradientes de sacarosa y ELISA reveló que las proteínas del VFA se asocian formando un complejo macromolecular que posee un coeficiente de sedimentación menor al de las cápsides vacías del VFA. Sin embargo las subunidades generadas fueron reconocidas por un panel de anticuerpos monoclonales y sueros de bovinos vacunados, sugiriendo que los determinantes antigénicos se expondrían en una conformación similar a la del VFA nativo. El Ad-P12A3C(OP) se evaluó en pruebas de inmunogenicidad y desafío en modelo murino. Los resultados obtenidos demostraron que ratones inoculados con dos dosis de Ad-P12A3C(OP) desarrollaron una respuesta de anticuerpos significativamente superior a la del grupo inoculado con Ad-P12A3C. Más aún, el 70% de los ratones inoculados con el Ad-P12A3C(OP) fueron protegidos ante el desafío viral homólogo. Finalmente, se observó *in vivo* la expresión de antígeno del VFA en cortes histológicos de ganglio de ratones inoculados con Ad-P12A3C(OP). En conclusión, se logró desarrollar un candidato vacunal más inmunogénico y eficaz para proteger frente al desafío con VFA O1 Campos, en modelo murino.

64. Tecnologías BacMam en células y animales; avances hacia el transporte de ADN en mamíferos. Simonin JA(1); Giménez CS(2); Nuñez C(2); Olea DF(2); Crottogini A(2); Ghiringhelli, PD(1); Belaich MN(1). (1) Laboratorio de ingeniería genética y biología celular y molecular (LIGBCM-AVI), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes; (2) Instituto de Medicina Traslacional, Trasplante y Bioingeniería (IMETTYB-Universidad Favaloro-Conicet), Buenso Aires.

Los baculovirus se caracterizan por poseer genomas grandes de ADN circular doble cadena y por infectar lepidópteros, himenópteros y dípteros. En los últimos tiempos se ha observado que además son capaces de transducir de manera eficiente células de mamíferos, manteniéndose como episomas no replicativos dentro del núcleo celular, lo que ha dado lugar a las tecnologías BacMam (baculovirus empleados en mamíferos). En tal sentido, por tolerar grandes cantidades de ADN exógeno, y por no ser virus infectivos en humanos, han adquirido gran interés para su uso como vectores de terapia génica. En este contexto, nos propusimos desarrollar y evaluar baculovirus AcMNPV recombinantes (basados en el sistema comercial *Bac to Bac*), tanto en células cultivadas *in vitro* como en modelos animales. Así, se desarrollaron 3 virus que expresan cada uno una proteína fluorescente diferente (eGFP, mCherry y BFP) bajo el promotor viral CMV. Utilizando estos virus, se midió la eficiencia de transducción empleando distintas multiplicidades de infección (MOI) sobre

cultivos primarios de células de conejo y humanas, las cuales fueron analizadas mediante microscopia de fluorescencia y conteo de células por citometría de flujo. Empleando los resultados anteriores, se realizaron luego ensayos *in vivo* en conejos con isquemia de la arteria periférica (PAD). A estos se les inyectó en el músculo isquémico suspensiones de un baculovirus reportero concentrado por ultracentrifugación, midiéndose a distintos días post inyección (una vez sacrificados los animales) la expresión de eGFP por RT-qPCR y la presencia de ADN viral mediante qPCR, incluyendo en el análisis órganos remotos. Estos ensayos revelaron un correcto comportamiento del vehículo en tiempos cortos (menos de 7 días). Por otro lado, se generó un virus recombinante que expresa una versión mutante del gen terapéutico HIF (*Hypoxia inducible factor*) bajo el promotor CMV, con el propósito de probar su utilidad en una terapia de regeneración de tejido infartado en el mismo modelo de conejos con PAD. En paralelo, y con el fin de elongar la duración de la expresión de los genes recombinantes *in vivo*, también se comenzó a desarrollar un virus recombinante conteniendo un circuito génico que permite, de manera inducible, la liberación de un minicírculo gracias a la tecnología Cre/LoxP. Esta herramienta permitirá la expresión más controlable y duradera del gen de interés utilizando el sistema TetON/TetOFF. Hasta el momento, contamos con resultados preliminares *in vitro*, que han mostrado un correcto funcionamiento. En síntesis, las evaluaciones realizadas *in vitro* e *in vivo* sobre mamíferos empleando los baculovirus recombinantes generados en este trabajo mostraron resultados satisfactorios, los cuales son necesarios para proseguir con las evaluaciones preclínicas de ingredientes activos de terapia génica.

65. Detección de subtipos del Virus de alas deformadas en apiarios de la provincia de Buenos Aires. Gonzalez FN(1); Fondevila N(1); Ferrufino C(1); Rodriguez G(1); Crisanti P(1); Bulacio N(1); Molineri A(2), Miño S(1); Dus Santos MJ(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.

La abeja melífera (Apis mellifera) comparte una relación histórica con los seres humanos y están entre los principales insectos que benefician la economía agrícola mundial debido a sus servicios de polinización. Entre los patógenos que afectan la sanidad de las abejas, el virus de las alas deformadas (DWV) es unos de los más importantes debido a su alta prevalencia mundial y por estar asociado, junto con el ectoparásito Varroa destructor, al colapso de la colmena. El DWV pertenece a la familia Iflaviridae y existe como un grupo de virus altamente relacionados, a menudo considerados como variantes de la misma especie. Se los clasifica en subtipos A y B. El DWV subtipo A incluye a DWV full y el virus Kakugo, mientras que el DWV subtipo B incluye al virus de Varroa destructor 1 (VDV-1). Los virus DWVfull y VDV-1 tienen la capacidad de replicar en la abeja y en el ácaro. Dentro del grupo DWV, pueden ocurrir recombinaciones entre virus subtipo A y subtipo B, dando origen a variantes nuevas denominadas subtipo C. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de los subtipos del DWV circulantes en apiarios ubicados en una región templada del país y en una de las dos provincias con mayor producción apícola. Para ello, durante los meses de marzo-abril del 2015 se realizó un muestreo de 223 colmenas pertenecientes a 38 apiarios en la provincia de Buenos Aires. De cada colmena se procesó un pool de 30-50 abejas nodrizas de cuadros de cría. Se realizó una RT-PCR de punto final utilizando tres sets de primers específicos para diferentes regiones dentro del genoma viral. Uno de ellos reconoce una zona altamente conservada que permite identificar los virus del grupo DWV (Pan-DWV). Los otros dos sets están dirigidos a zonas específicas de los subtipos A y B. Del total de las muestras procesadas el 73,5% (164/223) quedaron incluidas en el grupo de DWV; el 85% (141/164) de las muestras fueron positivas para el subtipo DWV-A y el 91% (149/164) para el subtipo DWV-B. Así mismo se observó confección de ambos subtipos en el 83%(136/164) de las muestras.

Nuestros resultados constituyen el primer reporte de la circulación de las variantes del virus de alas deformadas en nuestro país, así como la elevada frecuencia de infecciones mixtas. Es importante destacar que la variante DWV-B (VDV-1) presenta mayor prevalencia frente a la variante DWV-A. La detección de co-infecciones en la misma colmena hace probable la aparición de recombinantes naturales

entre el DWV-A y el DWV-B. Futuros estudios intentarán describir la presencia de recombianantes en apiarios de nuestro país y el impacto que DWV ocasiona en las colmenas.

66. Estrategia integral para el diagnóstico de infecciones persistentes por el virus de la Diarrea Viral Bovina combinando métodos moleculares colorimétricos con serología directa. Turco CS(1); Bergier JA(2); Ghiringhelli PD(2); Bilen MF(2); Capozzo AV(1). (1) Laboratorio de Inmunología Veterinaria Aplicada, Instituto de Virología, CICVyA-INTA Castelar; (2) Laboratorio de Ingeniería Genética y Biología Celular y Molecular-Área de virus de insectos, Dpto de CyT, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires.

La infección con el virus de diarrea viral bovina (VDVB) impacta negativamente en la economía de la industria ganadera. La principal causa de la circulación viral en rebaños está dada por animales persistentemente infectados (PI), resultantes de la infección congénita en el primer trimestre de gestación. Los animales PI son inmunotolerantes a la infección y excretan virus continuamente. Por tal motivo, son la clave en la dispersión viral en los rebaños, resultando indispensable su detección. El diagnóstico debe detectar tanto virus como anticuerpos específicos, para discernir entre animales no infectados, con infección aguda, vacunados y PI. Las metodologías disponibles incluyen técnicas que requieren de infraestructura adecuada e insumen mucho tiempo, como el aislamiento viral; incluso algunas son específicas para un determinado genotipo, como la seroneutralización viral. Hay disponibles kits comerciales de ELISA y RT-PCR, plataformas más prácticas pero sumamente costosas porque no son producidas localmente. Por estos motivos, nuestro objetivo es obtener metodologías diagnósticas de producción local, que permitan la detección tanto de anticuerpos como de genoma viral, que sean específicas, sensibles, de bajo costo y fácil uso. Para la detección serológica, nos focalizamos en la proteína NS3 (P80), proteína no estructural altamente conservada entre cepas. Para ello, seleccionamos un sistema de expresión en *E. coli*, y logramos expresar la proteína recombinante fusionada a un péptido para su purificación por cromatografía de afinidad. Se realizaron ensayos de SDS-PAGE y *western blot* que demostraron la presencia de la proteína recombinante y su reactividad con antisueros específicos. Finalmente, se diseñó un ELISA de captura con la proteína recombinante para el diagnóstico de anticuerpos séricos anti-NS3 utilizando muestras de campo.

Por otro lado, la detección molecular se llevó a cabo mediante amplificación isotérmica de ácidos nucleicos. Para ello, se realizó un análisis bioinformático a partir de una base de datos conteniendo secuencias genómicas de VDVB para la búsqueda de regiones blanco y el diseño de oligonucléotidos específicos. Luego, se estudió la performance de nuestra metodología, utilizando como molde regiones genómicas de cepas de referencia clonadas. La validación analítica de nuestro sistema mostró un límite de detección de 100 moléculas y una especificidad mayor al 90%. Para realizar la validación clínica, se comenzaron ensayos utilizando ADNc de muestras de ARN extraído de sueros, caracterizados previamente por RT-nested PCR.

Con este trabajo sentamos las bases para el desarrollo de una plataforma de diagnóstico del VDVB que permita la detección de genoma viral, por medio de un sistema basado en amplificación isotérmica y determinar la presencia de anticuerpos específicos contra la proteína no estructural NS3, conservada entre todos los genotipos del VDVB, a través de un ELISA indirecto.

67. Actividad del virus St. Louis encefalitis (VSLE) y su asociación a la abundancia específica de aves urbanas. Peralta GC(1,2); Beranek MD(2,3); Farías AA(2); Peluc SI(1); Díaz A(2,4). (1) Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA, CONICET - UNC), Córdoba; (2) Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", CONICET, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Córdoba; (3) Instituto de Medicina Regional, CONICET, Universidad Nacional del Nordeste; (4) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT, CONICET - UNC), Córdoba.

El virus SLE (*Flavivirus*) es un arbovirus causante de encefalitis en humanos con amplia actividad en nuestro país. Los estudios de caracterización eco-epidemiológica del VSLE señalan a los mosquitos *Culex*

quinquefasciatus, *Culex interfor* y *Culex saltanensis* como vectores asociados y aves Columbiformes y Passeriformes como hospedadores de la red de mantenimiento y transmisión. Este trabajo se propone asociar la actividad viral detectada en mosquitos con la abundancia específica de aves potenciales hospedadoras en la Ciudad de Córdoba. Durante 5 jornadas, cada 15 días se colocaron trampas de luz tipo CDC suplementadas con hielo seco, entre enero y marzo de 2017. Las trampas permanecieron activas durante una noche (20 a 8hs). Los mosquitos capturados se determinaron taxonómicamente a través de claves taxonómicas y se dispusieron formando *pools* según: sitio de captura, fecha, especie, sexo y estado fisiológico de la hembra. Cada *pool* (1 a 30 hembras no alimentadas) se sometió a un proceso de homogenización, dilución en MEM, extracción de ARN y la detección molecular específica de VSLE mediante la aplicación de técnicas de amplificación genómica RT- Nested PCR. En un radio de 500 m a la trampa de mosquitos se registraron por especie y abundancia las aves posadas y escuchadas. En total se emplearon 34 trampas en 23 viviendas particulares de la ciudad de Córdoba. Los 785 mosquitos colectados se organizaron en 100 *pools*. Los mosquitos correspondieron a 8 especies, de las cuales las más abundantes resultaron ser *Cx. quinquefasciatus* (61.51%) y *Ae. aegypti* (18.37%), representando el 37% y 26% de los *pools* analizados, respectivamente. El VSLE fue detectado en 24/100 de los *pools*. Se construyeron Modelos Lineales Generalizados y Mixtos (GLMM) para estimar el efecto de la abundancia de aves sobre la actividad de VSLE, contemplando la identidad de los sitios de muestreo (f. aleatorio). Entre los predictores se incluyeron las abundancias de *Passer domesticus*, *Patagioenas maculosa* y *Zenaida auriculata*, (y la suma entre ellas y sus combinaciones), correspondiendo en promedio al 70% de la avifauna registrada en cada sitio. Los seis modelos fueron comparados por la Teoría de la Información a través de las métricas AICc. El modelo nulo se diferenció en cerca de 5 unidades de AICc de los restantes modelos, por lo que no se pudo asociar la actividad del VSLE a las abundancias de ninguna de las aves analizadas. En base a estudios previos nuestra predicción era que la actividad viral iba a estar asociada con la abundancia de *Zenaida auriculata* por ser un amplificador importante del virus. En un futuro estudio se debería incluir las abundancias de mosquitos del género Culex, como así también estimadores de los patrones de alimentación de los mosquitos por las aves urbanas y así mejorar el modelado de la actividad viral.

68. Desarrollo de un *pipeline* bioinfromático para estudiar los sitios de integración de HTLV-1 en datos de secuenciación masiva. Distefano M(1); Tan Jek Yang B(2); Pineda M(1); Miyazato P(2); Satou Y(2); Mangano A(1). (1) Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus - CONICET, Hospital de Pediatría “Dr. J.P. Garrahan”; (2) International Research Centre for Medical Science, Kumamoto University, Kumamoto.

La mayoría de los pacientes infectados con HTLV-1 permanecen como portadores asintomáticos toda su vida, pero alrededor del 2-5% desarrollan leucemia/linfoma de células T del adulto o Paraparesia espástica tropical. Los determinantes del desarrollo de una enfermedad oncológica o nerodegenerativa no han sido aún establecidas. Se postula que la integración del HTLV en el genoma humano (hg) es al azar, sin embargo, el sitio de integración del provirus (SI) en el hg y cómo se expande clonalmente puede ser de importancia para el desarrollo de una enfermedad sobre la otra. Para este propósito, desarrollamos un *pipeline* de análisis para determinar el SI y medir el tamaño de cada clon utilizando un identificador molecular único (UMI) para datos obtenidos a través de Next Generation Sequencing (NGS).

Se utilizó una estrategia de NGS para la secuenciación del genoma completo de HTLV-1 en 10 muestras, utilizando un primer universal que contiene un UMI de 8 nucleotidos aleatorios, el cual permite identificar hasta 65536 moléculas. Luego de la secuenciación y el mapeo utilizando el software *bwa mem* con una referencia que combina el genoma humano y un genoma de HTLV-1 (hg19+HTLV-1), se seleccionaron las lecturas quimeras (lecturas compuestas por parte de hg y parte del genoma de HTLV-1) y se anotaron con una tag correspondiente a su UMI. Después de filtrar las lecturas de baja calidad y de etiquetarlas con tag especial que contiene las coordenadas de su SI en el hg, se estimó el tamaño de cada clon utilizando ambos

tags: el tag UMI permitió no confundir duplicados de PCR con clones reales y el tag especial permitió identificar cada clon de acuerdo a su SI. Los resultados obtenidos con este *pipeline* (UMI-pipeline) se compararon con el algoritmo de *shear site* (shear-pipeline) que determina el SI utilizando sólo las lecturas pareadas y estima la abundancia de cada clon utilizando el tamaño de cada lectura. Los clones mayoritarios fueron detectados por ambos algoritmos, pero con recuentos más altos al utilizar el shear-pipeline que al usar el UMI-pipeline (con un rango de 1-219 y 1-12 respectivamente). El algoritmo propuesto en este trabajo mejoró la estimación del tamaño clonal descartando los duplicados de PCR basados en la etiqueta UMI. Además, dió como resultado una menor cantidad de potenciales falsos positivos ya que detectó menos clones con bajos conteos. El UMI-pipeline demostró una mejor precisión al determinar las coordenadas exactas de los SI en el hg, mientras que el shear-pipeline define un rango donde el provirus podría estar inserto.

El UMI-pipeline propuesto mejora la estimación de los SI y su abundancia, lo cual es muy importante para poder estudiar su implicancia en el desarrollo de enfermedades relacionadas con el HTLV-1.

69. Seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul en bovinos en la provincia de Corrientes. Morel VM(1)(2); Sala JM(1); De Stefano G(1); Jordán M(1); González F(1); Gómez S (1); Bevans W (1); Dus Santos MJ(1)(2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.

La Lengua Azul (LA) es una enfermedad viral, no contagiosa que afecta a rumiantes y camélidos domésticos y salvajes. Es transmitida por insectos hematófagos del género Culicoides sp. Su agente causal, el Virus de la Lengua Azul (VLA), pertenece al género Orbivirus de la familia Reoviridae. El VLA existe en una amplia franja que incluye regiones entre las latitudes 40°N y 35°S (quedando la Argentina incluida desde la frontera norte hasta la mitad de la provincia de Buenos Aires, norte de La Pampa y sur de Mendoza). Sin embargo, estos límites han sufrido cambios drásticos probablemente como consecuencia del cambio climático global y el movimiento de animales. Todas las especies de rumiantes pueden infectarse con el VLA, pero solo ciertas razas de ovejas y ciervos desarrollan signos clínicos de la enfermedad, dependiendo de la cepa. Los bovinos actúan como reservorios del virus ya que son infectados subclínicamente y pueden desarrollar una viremia que dura hasta 100 días. En Argentina no se han reportado casos con sinología clínica, pero se ha detectado serología positiva desde 1996. Durante los años 2004 y 2008 se reportaron prevalencias para la provincia de Corrientes de 0.7-2.7% en bovinos y 3.13% en ovinos, el cual fue el último relevamiento realizado en la provincia para determinar el alcance de la infección del VLA. El objetivo de este trabajo es actualizar y determinar la prevalencia del virus de la lengua azul en la provincia de Corrientes. Para el presente estudio se extrajo sangre de 548 bovinos de 10 establecimientos pertenecientes al departamento de Santo Tomé, Corrientes, durante los meses de marzo a mayo. Las técnicas utilizadas fueron cELISA para detección de anticuerpos específicos y RT-PCR en tiempo real para detección del agente. En bovinos, se observó una seroprevalencia global de 75,82% y una seroprevalencia por establecimiento que varió entre un 22,7 y 100%. Es importante mencionar que en todos los establecimientos muestreados se detectaron animales seropositivos. A partir de buffy coat obtenido de un submuestreo de las muestras positivas para el cELISA, fue posible detectar material genético del virus.

Los resultados obtenidos demuestran la circulación del virus y un significativo aumento en la seroprevalencia en los rodeos de la provincia de corrientes en los últimos 10 años, generando una alerta en el crecimiento de enfermedades de denuncia obligatoria como la Lengua Azul.

70. Competencia vectorial para el virus West Nile en mosquitos *Culex quinquefasciatus*. Giayetto O(1,2); Lazarte N(3); Zubaran G(3), Berón C(3); Díaz A(1,2). (1) Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIByT, CONICET, UNC), Córdoba; (2) Instituto de Virología J. M. Vanella. Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba; (3) Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología, (INBIOTEC, CONICET).

El virus West Nile (VWN) (*Flavivirus; Flaviviridae*) es un arbovirus de importancia medico/veterinaria

ampliamente distribuido en el mundo y mantenido de manera enzoótica principalmente por mosquitos del género *Culex* y aves paseriformes. Para nuestro país, los primeros antecedentes de actividad se remontan al año 2004 con la detección de aves silvestres infectadas por este virus en las provincias de Córdoba, Chaco y Tucumán. Debido a su reciente introducción en nuestro país, su ecología es prácticamente desconocida sin existir antecedente sobre que especies de mosquitos podrían estar involucrados en la transmisión y mantenimiento de este virus. Este estudio evaluó la competencia vectorialpara el VWNde una población de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* colectada en la provincia de San Juan. Se utilizaron 31 ejemplares hembra provenientes de lacolonia establecida enel instituto de Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de Mar del Plata. Los individuos fueron infectadospor vía oral mediante alimentación sobrepollitos virémicos inoculados previamente con la cepa Eq7229, aislada a partir de cerebro de caballo en Provincia de Buenos Aires durante el 2006. Luego de la inoculación, los mosquitos fueron mantenidos por 10 días en cámara de cría a 23°C con fotoperíodo 12 Luz: 12 Oscuridad. Pasado el Período de Incubación Extrínseco, muestras de abdomen, patas y saliva fueron colectadas y suspendidas en una solución de buffer fosfato salino y suero fetal bovino al 10%. Para la detección viral se empleó la técnica de plaqueo en células VERO Cl.76. Las muestras colectadas se utilizaron para evaluar porcentajes de infección, diseminación y transmisión, respectivamente. El 50% de los mosquitos inoculados se infectaron, mientras que el 30% diseminó el virus y el 23% presentó virus en saliva. Estos resultados demuestran la competencia de esta población de *Cx. quinquefasciatus* en la transmisión del virus West Nile. La disminución entre la tasa de diseminación e infección podría estar indicando una potencial barrera de diseminación en el intestino del mosquito para el VWN. Hasta el momento no se cuenta con evidencia sobre especies de mosquitos infectadas naturalmente con el VWN en nuestro país. Estos resultados aportan evidencia sobre la ecología del VWN para nuestro país.

71. La susceptibilidad de los macrófagos bovinos al virus de la diarrea viral bovina es dependiente de su fenotipo. Barone LJ(1,2); Quintana ME(1,3); Capozzo AV(1, 3); Cardoso NP(1,3). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas; (2) Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica; (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

El papel de los macrófagos (MΦ) en la infección por el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es complejo, ya que si bien son críticos para la resolución de la infección por este virus, podrían estar implicados en la morbilidad y la apoptosis entre las subpoblaciones de células T. Además, los MΦ pueden ser infectados por el VDVB lo que puede impactar en la respuesta inmune del huésped. Nuestro objetivo fue evaluar la susceptibilidad de los macrófagos bovinos de diferentes perfiles por una cepa argentina del genotipo 2 biotipo no-citopático y evaluar como la infección afecta la viabilidad y activación de estas células. La infección de CMSP con diferentes multiplicidades de infección mostró un tropismo preferencial de este virus por células del linaje monocítico. El VDVB fue capaz de replicar en cultivo primario de macrófagos derivados de monocitos bovinos CD14+, con un pico de replicación a las 24 hpi sin afectar la viabilidad de estas células. Los macrófagos muestran una amplia gama de fenotipos funcionales, desde la célula activada de forma clásica proinflamatoria (M1) hasta los macrófagos anti-inflamatorios, o activados alternativamente (M2), que participan en la regulación inmune y la cicatrización de heridas. Estudiamos como los macrófagos de diferentes fenotipos responden a la infección por el VDVB, sumando además MΦ tratados con IFN-α bovino recombinante (Mα). Nuestros resultados muestran que los macrófagos M2 soportan mayores niveles de replicación que los M1 y que el tratamiento con IFN-α evita la infección. La infección de los macrófagos M2, aumenta la expresión de CD16, MHC-II y CD86, disminuyendo la expresión de CD40; mientras que en los M1 aumenta la expresión de todas estas moléculas. La infección regula negativamente la producción de IL-10 y TNF-α, tanto en CMSP como en M2 y Mα, en M1 la producción de IL-10 no se modifica respecto al control de células no infectadas. Este fenómeno estaría relacionado con la infección ya que

no se verifica en presencia del virus inactivado. Los resultados muestran que el VDVB posee un tropismo preferencial por los macrófagos con perfil anti-inflamatorio y que la infección disminuye el estado pro-inflamatorio de estas células. La permisividad de los M2 al VDVB podría explicar al menos en parte la mayor susceptibilidad a las infecciones por este virus durante la preñez y el primer año de vida, etapas en las que predomina el perfil anti-inflamatorio. Nuestros resultados demuestran que la modulación del fenotipo de macrófagos puede proporcionar una ruta para desarrollar nuevas estrategias para prevenir y tratar la infección por el VDVB.

72. Detección del virus de Arteritis equina en semen entre 2010 y 2018. Vissani MA(1,2); Olguin Perglione C(1); Álamos F(1); Tordoya MS(1); Zabal O(1,2); Barrandeguy M(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador.

La Arteritis viral equina (AVE) es una enfermedad respiratoria y reproductiva de los equinos, producida por el virus de arteritis equina (EAV), género *Equartevirus*, familia *Arteriviridae*. La transmisión es por vía respiratoria, durante el período agudo, y venérea, a través del semen de padrillos persistentemente infectados, durante el servicio natural o la inseminación artificial con semen fresco o congelado. La enfermedad es considerada "notificable" para la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). En Argentina, el último brote ocurrió en 2010 debido a la utilización de una partida de semen contaminado procedente de Holanda. Las consecuencias directas incluyeron abortos, muerte de potrillos jóvenes, enfermedad respiratoria en animales en entrenamiento e infección persistente en padrillos; y las indirectas se debieron a la interrupción del movimiento de equinos (exportación y cancelación temporaria de eventos ecuestres) así como al incremento de gastos por monitoreo y la necesidad de incorporar la vacunación inmediata de padrillos de alto valor genético. A partir de este evento se modificó el protocolo para la importación de semen equino, siendo requisito para su uso en el país el resultado negativo por aislamiento viral en cultivo celular y RT-PCR.

El objetivo de este trabajo es comunicar los resultados obtenidos del diagnóstico de AVE en muestras de semen equino analizados entre 2010 y 2018.

Se analizaron 389 muestras de semen equino, 164 de padrillos dadores de semen nacionales vacunados luego del brote del 2010; 9 de padrillos que se infectaron durante dicho brote y 226 partidas de semen importado. Las muestras fueron analizadas por aislamiento viral en células RK13 y RT-PCR siguiendo las recomendaciones de la OIE. En las muestras positivas, se amplificó y secuenció el segmento genómico del ORF 5, que fue posteriormente analizado filogeneticamente. Se detectó EAV en 7 de 389 (1,8%) muestras analizadas. Las muestras positivas correspondían a: 3 sémenes importados (uno dio origen al brote del 2010 y los otros fueron detectados durante la cuarentena pre-importación) y a 4 padrillos que permanecieron como portadores luego del brote de 2010. Tres de estos animales fueron castrados bajo supervisión del SENASA, mientras que uno permaneció entero por interposición de un amparo judicial imposibilitado su uso como reproductor.

El análisis filogenético de los EAV demuestra que el semen que inició el brote en el año 2010 y los 4 sémenes de padrillos portadores asociados al brote 2010, agrupan dentro del subgrupo Europeo I, evidenciando la relación entre estos virus, los aislados en fetos abortados durante dicho brote y los EAV circulantes en Europa. Los otros EAV detectados en 2 partidas de semen importado de Europa agrupan dentro del linaje Americano. La implementación de un protocolo sanitario ha permitido evitar el re-ingreso del EAV al país evitando las grandes pérdidas económicas que esta infección tiene para la industria hípica en su conjunto.

73. Actividad temporal enzoótica de los virus St. Louis encephalitis y West Nile en aves silvestres del espinal, Córdoba. Seiler EN(1); Quaglia AI(1); Beranek M(2); Flores FS(1); Tauro LB(1); Contigiani M(1); Spinsanti LI(1); Díaz A(1). (1) Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba; (2) Área Entomología, Instituto de Medicina Regional, Universidad Nacional del Nordeste, Chaco.

Los virus Saint Louis encephalitis (SLEV) y West Nile (WNV) son Flavivirus productores de encefalitis en humanos y equinos, con actividad autóctona en nuestro país. La red de transmisión y mantenimiento es prácticamente desconocida para el WNV mientras que para SLEV estaría integrada por mosquitos *Culex quinquefasciatus*, *Culex interfor* y *Culex saltanensis* como vectores y *Zenaida auriculata* (paloma torcaza), *Columbina picui* (torcacita) y *Passer domesticus* (gorrión) como hospedadores. Estudios previos demuestran que un amplio número de especies de aves silvestres se encuentran expuestas a estos virus en las provincias de Chaco, Tucumán y Córdoba. Sin embargo son escasos los estudios enfocados en la temporalidad de estos virus. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad temporal de los virus SLE y WN en comunidades de aves residentes y migratorias en un foco de transmisión enzoótico de la región fitogeográfica del espinal, ubicado en la localidad de La Para, al sudoeste de la Laguna Mar Chiquita, en el departamento Río Primero de la Provincia de Córdoba. Las aves fueron capturadas mediante la utilización de redes de niebla, se las determinó taxonómicamente y se obtuvo una muestra de sangre para la detección de anticuerpos neutralizantes (Ac NT) para SLEV y WNV. Se analizaron un total de 860 muestras durante dos períodos de actividad (primavera-verano-otoño) correspondientes a los años 2013 y 2014. Las seroprevalencias para el SLEV fueron similares para ambos períodos (período 1: 5,72% vs. período 2: 5,86%) mientras que para WNV se observó un aumento de dos veces en la seroprevalencia entre los dos períodos (período 1: 1,34% vs. período 2: 2,66%). La mayor actividad para SLEV fue detectada en otoño del 2014 y para WNV en la primavera del mismo año. Las dos especies más expuestas al SLEV fueron *Columbina picui* (torcacita) [11,83% - 22/186] y *Phytotoma rutila* (cortarrama) [7,4% - 4/54]. Para el WNV las especies más expuestas fueron *Sicalis flaveola* (jilguero) [14,28% - 3/21] y *Agelaioides badius* (tordo músico) [11,11% - 2/18]. Las evidencias serológicas presentadas confirman la endemicidad para estos virus en la ecorregión del espinal. A pesar de su reciente introducción, el WNV se ha establecido con éxito en la región templada de nuestro país. Las diferencias observadas en el grado de exposición de las especies aviares a estos virus podría estar indicando la utilización de distintos mosquitos vectores por parte de los mismos. La alta y constante seroprevalencia para el SLEV en *Columbina picui* sumado a los estudios de competencia de hospedador, confirman el rol de esta especie como amplificador de este virus en este ecosistema.

"Paridad de género en congresos de virología: una mirada local con una perspectiva internacional".
Dra. Andrea Gamarnik, Fundación Instituto Leloir-CONICET, Buenos Aires.

SESIÓN 7

74. Evolución del virus de la Fiebre Aftosa a nivel local. König GA(1,2); Cabanne GS(2,3); Marcos A(4); Perez AM(5). (1) Instituto de Biotecnología, INTA; (2) CONICET; (3) Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia; (4) Dirección de Epidemiología y Análisis de Riesgo, SENASA; (5) Department of Veterinary Population Medicine, UMN, EEUU.

Numerosas enfermedades que afectan el ganado de nuestro país son producidas por virus cuyo genoma está compuesto por ARN. Estos virus replican a través de una ARN polimerasa viral que presenta una alta tasa de error y permiten una rápida evolución de los mismos. El virus de la Fiebre Aftosa (VFA) es uno de ellos y el objetivo de este trabajo es explorar la aplicación de herramientas de análisis molecular para el análisis de la transmisión de virus a través de la impronta evolutiva dejada por el mismo. Este estudio se centró en la transmisión del VFA en un partido (Mar Chiquita) de la Provincia de Buenos Aires. Se analizó la secuencia de genoma completo (aproximadamente 8000 bases) de 21 aislamientos virales y se realizó la comparación con los genomas de otros virus caracterizados a nivel nacional. Se analizó el set de datos con el fin de identificar señales temporales (usando el programa TempEst) y de recombinación (usando el programa RDP4). Luego se obtuvo información adicional de referencia, como la localización y otros datos epidemiológicos asociados al

aislamiento. Finalmente se analizó el set de datos con un programa para estimar genealogías en forma de redes utilizando parsimonia estadística (TCS) y otros para el análisis de la dinámica evolutiva del virus (BEAST) basado en estadística bayesiana, poniendo especial interés en la datación y localización de los ancestros comunes. Los resultados muestran un índice de variabilidad superior en la región terminal 5' no codificante de los virus aislados en la localidad de Mar Chiquita en comparación con otras regiones del genoma y otros aislamientos a nivel nacional. Como se esperaba, no se encontró señal de recombinación debido a la similitud de las secuencias entre sí. Por otro lado, se recobró una señal temporal en el análisis con una tasa evolutiva viral similar a la de otros trabajos en que se analizan tiempos cortos (9 x10-4 cambios por sitio por año). El análisis filogenético determinó la existencia de un grupo monofilético para los aislamientos de Mar Chiquita y un ancestro común presente aproximadamente 3 meses antes del reporte del primer brote en la localidad. A su vez el árbol presenta similitudes estructurales con la genealogía de redes. En conclusión, afirmamos que la utilización de estas herramientas bioinformáticas pueden ser muy útiles para el estudio de la evolución del virus y presentan un escenario probable de la transmisión del virus a nivel local.

75. Proteoma de los cuerpos de oclusión del granulovirus de *Epinotia aporema*. Ferrelli ML; Masson T; Fabre ML; Pidre ML; Romanowski V. Laboratorio de Virología Molecular, Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM-CONICET-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata; La Plata, Buenos Aires.

La familia *Baculoviridae* comprende virus infectivos para invertebrados con un genoma DNA doble cadena circular cuyo tamaño es del orden de los 80-180 kpb y presentan una envoltura lipídica. Su tropismo de infección altamente específico ha impulsado su desarrollo como agentes de control biológico de insectos compatibles con el esquema del manejo integrado de plagas. Presentan dos morfologías diferenciadas aunque contienen el mismo genoma. En el ambiente se encuentran cuerpos de oclusión (OB: *occlusion body*), que contienen partículas virales envueltas e incluidas en una matriz proteica cuasicristalina; al ser ingeridos por el hospedador liberan los viriones derivados de los cuerpos de oclusión (ODV: *occlusion derived virus*) que infectan las células del epitelio intestinal. Esta infección produce en forma temprana los viriones brotantes (BV: *budded virus*), responsables de diseminar la infección hacia otros tejidos. El barrenador del brote (*Epinotia aporema*) es una plaga oligófaga que ataca los cultivos de soja. Un baculovirus altamente patógeno para esta especie, E. aporema granulovirus (EpapGV), ha sido descubierto y descrito por nuestro grupo. La interacción de los ODV con el epitelio intestinal determina el ingreso del virus al hospedador y el comienzo del proceso infectivo. En este trabajo, examinamos el contenido proteico de los OBs de EpapGV utilizando proteómica shotgun basada en espectrometría de masas (MS) Esta información nos ayudará a describir mejor la composición del virión e identificar componentes específicos de este virus. Los OB de EpapGV se obtuvieron a partir de larvas infectadas y se purificaron por ultracentrifugación en gradiente de sacarosa. Las partículas virales purificadas se redujeron con ditiotreitol, se alquiló con iodoacetamida y se digirió con tripsina. El equipo de MS empleado fue un Q-Exactive con Orbitrap y electrospray acoplado a un sistema de cromatografía líquida. El proteoma estructural de los OB de EpapGV está constituido por al menos 56 proteínas. Resulta interesante la presencia de dos péptidos localizados en la región intergénica de los genes *epap48* y *epap49*, lo que sugiere la posible existencia de una proteína de fusión entre estos dos productos génicos. A través de una búsqueda proteogenómica pudimos detectar una región codificante no anotada que presenta ortología con ac110. Un análisis comparativo de los proteomas estructurales dentro de la familia *Baculoviridae* permitió identificar un conjunto de 33 proteínas conservadas. La composición proteica de los OB de EpapGV fue interrogada utilizando un enfoque proteómico basado en MS, que muestra un perfil de proteínas altamente conservado en la familia *Baculoviridae*. Nuestros datos resaltan la utilidad de la proteómica para caracterizar el complemento proteico de la partícula viral y la posibilidad de mejorar la anotación del genoma a través de la evidencia

experimental de la traducción de las regiones codificantes.

76. Actividad antiviral y antiinflamatoria de análogos esteroidales sintéticos frente a la infección causada por virus Respiratorio Sincicial Humano. Salinas FM(1,2); Bueno CA(1,2), Vázquez L(3), Michelini FM(1,2), Alché LE(1,2). (1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Biológica, Laboratorio de Virología, Buenos Aires; (2) CONICET- Universidad de Buenos Aires, Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), Buenos Aires; (3) UOCCB (Unidad Operativa Centro de Contención Biológica), Instituto Dr. Carlos G. Malbrán, ANLIS.

Los virus respiratorios afectan de manera severa a niños, ancianos e individuos inmunocomprometidos. Está demostrado que el Virus Respiratorio Sincicial Humano (HRSV) es la causa más importante de infección severa del tracto respiratorio inferior infantil, poniéndose de manifiesto en dos enfermedades muy frecuentes: la neumonía y la bronquiolitis. El HRSV incide en la inmunidad del hospedador para provocar una fuerte respuesta inflamatoria que lleva al daño pulmonar y a la diseminación del virus. En la actualidad, no existe una vacuna o compuesto antiviral anti-HRSV. Por otra parte, existen anticuerpos monoclonales aprobados para su uso en la prevención de la infección viral severa, aunque se aplican de manera muy limitada por su alto costo. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de disponer de drogas no tóxicas con potencia terapéutica y profiláctica contra las infecciones provocadas por el HRSV. Los análogos esteroidales (22S,23S)-22,23-dihidroxiestigmast-4-en-3-ona) (compuesto 1) y (22S,23S)-22,23-dihidroxiestigmast-1,4-dien-3-ona) (compuesto 2) presentan actividad antiviral frente a distintos virus de importancia clínica. Previamente reportamos que estos compuestos inhiben la multiplicación de HRSV *in vitro* y reducen la expresión de citoquinas proinflamatorias en macrófagos humanos y murinos infectados.

En base a estos resultados, nuestra hipótesis de trabajo fue que los compuestos tienen la capacidad de inhibir la multiplicación del HRSV *in vivo* en el modelo de infección en ratón.

Para evaluar la actividad antiviral, inmunomoduladora y la capacidad de ambos compuestos para reducir la patología pulmonar, ratones BALB/c fueron infectados con las cepas A2 y L19 del HRSV por vía intranasal. Los ratones infectados se trataron diariamente por vía intraperitoneal, con los compuestos 1 y 2. En el día 5 p.i., observamos que sólo el compuesto 2 redujo la carga viral en los pulmones de los ratones infectados. Sin embargo, al analizar los cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina en el día 8 p.i., observamos una reducción en la histopatología pulmonar en los ratones infectados y tratados con ambos compuestos. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el perfil de las citoquinas IL-4, IL-13, IFN-γ y IL-6 con respecto a los controles sin tratar, mediante qPCR. Por lo tanto, el compuesto 2 resultó efectivo para inhibir la multiplicación del HRSV en el modelo experimental de infección en ratón, mientras que ambos compuestos lograron reducir la patología pulmonar desencadenada por el virus.

77. Descripción epidemiológica y molecular del brote de Influenza equina ocurrido en Argentina en el año 2018. Olguin Perglione C(1); Vissani MA(1,2); Alamos F(1); Tordoya MS(1); Barrandeguy M(1,2). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología; (2) Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires.

La Influenza equina (IE), producida por el virus de Influenza equina (EIV) subtipo H3N8, es una enfermedad respiratoria aguda contagiosa, endémica en casi todo el mundo, con un elevado impacto económico debido a su alta transmisibilidad. El último brote de IE registrado en Sudamérica, fue en el año 2012, debido a la infección con un virus del sublinaje Florida clado 1.

Objetivo: Dar a conocer los hallazgos epidemiológicos y moleculares del EIV detectado en el brote de IE ocurrido en Argentina en el año 2018.

Se obtuvieron muestras de hisopados nasofaríngeos (HN) de 74 animales que presentaban signos de enfermedad respiratoria aguda; y muestras de sangre entera sin anticoagulante de animales afectados durante el periodo agudo (n= 54) y convalecencia (n=

33). Los HN fueron analizados por la técnica de Real Time RT-PCR para la detección del gen de la proteína M del virus de Influenza A. En las muestras EIV positivas, se amplificaron y secuenciaron los genes de la Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA); y se realizó el análisis filogenético mediante el método de Máxima Verosimilitud. Las muestras de suero fueron analizadas por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) contra EIV.

Se detectó EIV en el 58% (43/74) de los HN analizados. El análisis filogenético de los genes de la HA y NA demostró que los virus circulantes pertenecen al subtipo H3N8 y agrupan dentro del sublinaje Florida clado 1. El análisis de la secuencia deducida de aminoácidos (aa) demostró que estos virus presentan un 99% de identidad con cepas aisladas en Escocia y Chile en el año 2018, en Japón en el 2017 y en Estados Unidos en el 2016. Al comparar estas cepas con la incluida en una de las vacunas más utilizada en nuestro país (A/eq/Kentucky/1997), se observó que las mismas presentan 14 diferencias de aa, 5 de las cuales se encuentran en sitios antigénicos. Con respecto a la vacuna nacional (A/eq/Argentina/E2345-1/2012), se encontraron 4 sustituciones de aa, 2 de ellas en sitios antigénicos.

La IHA demostró que un 30% (16/54) de los animales presentaba niveles de anticuerpos bajos, un 33% (18/54) intermedios y un 37% (37/54) altos. En el 61% (33/54) de estos animales, también se detectó EIV. Dentro de este grupo, el 43% (14/33) presentaba niveles de anticuerpos bajos mientras que el 33% (11/33) y 24% (8/33) presentaba niveles intermedios y altos respectivamente. Todos los animales infectados seroconvirtieron o demostraron un aumento en el título de anticuerpos durante el periodo de convalecencia.

Estos resultados enfatizan la necesidad de revisar los programas de vacunación, sobre todo en lo que respecta a la calidad antigénica de las vacunas autorizadas para su comercialización y uso en nuestro país, las cuales deberían contener las cepas recomendadas por el panel de expertos en IE de la OIE. Además, este trabajo permite visualizar la importancia de mantener rigurosos programas de vigilancia epidemiológica, para disminuir el riesgo de nuevos brotes de IE.

78. Caracterización de la respuesta inmune inducida por cápsides vacías naturales del VFA en el modelo murino. Miraglia MC(1,2); Bucafusco D(1,2); Di Giacomo S(1); Barrionuevo F(1,2); Schammas J(1); Ayude A(1); Capozzo A(1,2); Pérez Filgueira M(1,2). (1) Instituto de virología CCVyA INTA Castelar, (2) CONICET.

Las vacunas actuales contra el Virus de la Fiebre Aftosa (VFA) están formuladas con virus completo inactivado (146S). Por similitud estructural y antigénica con la 146S, las cápsides virales carentes de ARN viral (75S), han surgido como una alternativa para reemplazar las partículas completas del VFA. De esta manera, se evita el manejo del patógeno activo, eliminando el riesgo de escape viral y economizando su producción. En el presente trabajo se buscó caracterizar la respuesta inmune específica, tanto humoral como celular, inducida por las partículas completas (146S) versus las cápsides vacías (75S) en un modelo murino de la cepa C57BL/6. Se inmunizaron 2 grupos de animales (n=8) con partículas completas de VFA A24/Cruzeiro purificado (146S) y otros 2 grupos con cápsides vacías naturales del mismo virus. Para cada vacuna experimental se evaluaron dos concentraciones antigénicas, 0,3 µg/dosis y 0,15 µg/dosis formuladas con un adyuvante oleoso comercial. Se tomaron muestras de suero a los 7, 14, 21 y 27 días post vacunación (dpv) para determinar anticuerpos totales anti-VFA y perfil de isotipos por ELISA. A los 28 dpv, 5 animales/grupo fueron desafiados con VFA A24/cruzeiro. Los animales restantes, fueron utilizados para realizar re-estimulación *in vitro* de esplenocitos con ambas partículas (146S y 75S) purificadas, con el fin de medir citoquinas presentes en el sobrenadante de cultivo. A los 21 dpv, la inmunización con 0,3 µg/dosis de partículas completas (146S) mostró un aumento significativo de anticuerpos IgG con respecto a las formulaciones de cápsides vacías (75S). Además, el perfil de isotipos reveló respuestas humorales cualitativamente diferentes, siendo la producción de IgG2a significativamente mayor en los animales inmunizados con 146S respecto al grupo inmunizado con 75S, en todas las concentraciones antigénicas evaluadas. Adicionalmente, experimentos previos en ratones inmunizados con una carga antigénica mayor (1 ug/dosis) de 146S y 75S, mostraron valores similares

de IgG total a los 21 dpv pero evidenciaron aún más las diferencias en cuanto a los isotipos predominantes para cada formulación. A los 27dpv, IgG1 es significativamente mayor en las formulaciones que contienen 75S en comparación con las de 146S, en las cuales predomina el isotipo IgG2a. La supervivencia frente al desafío homólogo fue del 100% para los 4 grupos experimentales, aun cuando solo el grupo inmunizado con 146S presentó diferencias significativas de IgG total con respecto al grupo control, previo al desafío. La secreción de las citoquinas IFN-g e IL-6 predominó en el sobrenadante proveniente de esplenocitos re-estimulados antigénicamente *in vitro* con la partícula 146S independientemente del grupo vacunal procedente.
Estos resultados exponen las diferencias inmunogénicas entre las cápsides completas y las cápsides desprovistas de ARN viral, siendo el modelo murino una herramienta útil para determinar los mecanismos subyacentes a las diferencias mencionadas

79. Cinética de inducción del interferón tipo I (IFN-I) en la infección con el virus Saint Louis encephalitis (SLE). Rivarola ME(1); Schreier S(2); Fiocca F(3); Albrieu-Llinás G(1); Contigiani MS(1); Kröger A(2); Gruppi A(3). (1) Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología ‘‘Dr. J. M. Vanella’’, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; (2) Innate Immunity and Infection, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany; (3) Inmunología, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

El virus St. Louis encephalitis (SLEV, *Flavivirus, Flaviviridae*) es un arbovirus ampliamente distribuido en América. En Argentina ha remergido como un patógeno del sistema nervioso central desde el año 2002 causando brotes de encefalitis. En nuestro laboratorio, estudiamos la virulencia de la cepa epidémica CbaAr-4005, aislada de un brote ocurrido en Córdoba en el año 2005, y observamos que es más virulenta que otras cepas no epidémicas. Demostramos, en modelo murino, que esa virulencia podría estar asociada a una mayor capacidad de replicación en órganos periféricos y a la capacidad de invadir, replicar e inducir degeneración y muerte a nivel del sistema nervioso central (SNC). Creemos que el sistema inmune del hospedador es un factor clave que condiciona la capacidad neuroinvasia del virus. Por ello, trabajamos con animales deficientes en distintas células y moléculas de la inmunidad innata y adaptativa y demostramos que la respuesta del interferón tipo I (IFN-I, IFN-α y sus subtipos e INF-β) limita la replicación inicial de la cepa CbaAr-4005 en órganos periféricos, su ingreso al SNC y su patogenicidad. Nos propusimos entonces, identificar *in vivo* la cinética de inducción del IFN-I. Para identificar aquellos órganos/tejidos productores de IFN-I, un grupo de ratones productores de INF-β reporteros para el gen de la luciferasa (IFN-β +/βΔluc) fue inoculado y a distintos tiempos post-infección (de 24 a 96h), y se extrajeron distintos órganos periféricos y cerebro. Como control se utilizó un grupo de animales inoculados con PBS. Cada animal fue perfundido con PBS y posteriormente cada órgano fue homogeneizados en buffer de lisis reportero utilizando un equipo FastPrep-24 (MP). Posteriormente a cada lisado se le agregó LARII (Promega). La medición de la actividad de luciferasa se realizó utilizando un Luminómetro (Berthold). Los resultados se expresaron como Unidad Relativa de Luminiscencia/gramo (URL/gr). Estos experimentos se realizaron en un BSL-3 en el Helmholtz Centre for Infection Research, Alemania. La cuantificación de la actividad relativa de la luciferasa en general reveló una respuesta de IFN-β a partir de las primeras 24 horas post-infección en distintos órganos murinos, siendo los principales productores el bazo y el timo. Estos resultados constituyen un importante antecedente de la inmunología asociada a SLEV, y sugieren que el IFN-I podría cumplir un rol importante en el control de la infección contra SLEV. El estudio detallado de la respuesta inmune ante esta infección resulta fundamental para entender los mecanismos de neuroinvasión del SLEV. Además, permitirá contar con una base empírica sólida y necesaria a la hora de evaluar terapias antivirales tendientes a mitigar las complicaciones neurológicas en pacientes susceptibles y de considerar posibles sinergias antigénicas con otros representantes del género *Flavivirus*.

80. Detección de virus de la abeja melífera (*Apis mellifera*) en abejas nativas de la familia Apidae (Hymenoptera: Apiformes) en Argentina. Genchi García ML(1,3); Bravi ME(1,2); Álvarez LJ(1,4); Sguazza GH(1); Susevich ML(1,2); Pecoraro M(1,2); Galosi CM(1,2); Ramello PJ(1,4); Almada V(4); Reynaldi FJ(1,2). (1) Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); (3) Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-PBA); (4) División Entomología, Museo de La Plata, Universidad Nacional de La Plata.

Las abejas de la familia Apidae (Hymenoptera: Apiformes) cumplen un importante rol ecológico y económico como polinizadores. La disminución de las poblaciones de estos polinizadores a nivel mundial, puede estar relacionada con ciertos patógenos como los virus. La presencia de los siete virus más ampliamente hallados en la especie *Apis mellifera*: *Virus Israelí de la Parálisis Aguda* (IAPV), *Virus de las Alas Deformadas* (DWV), *Virus de la Cría Ensacada* (SBV), *Virus de las Celdas Reales Negras* (BQCV), *Virus de Cachemira* (KBV), *Virus de la Parálisis Aguda* (ABPV), *Virus de la Parálisis Crónica* (CBPV), fue examinada en 67 muestras pertenecientes a 12 especies de abejas sin aguijón de la tribu Meliponini y en 93 muestras pertenecientes a tres especies de abejorros del género *Bombus*. Las muestras fueron recolectadas en las provincias de Misiones y Corrientes (Argentina), en campañas realizadas durante los años 2015-2018. Cada muestra fue individualizada y conservada a -80°C. Se realizó la extracción de ARN utilizando el kit Viral Nucleic Acid Extraction Kit II (Real Biotech). Posteriormente, se realizó la retrotranscripción para obtener el ADNc molde. La presencia de los virus antes mencionados se evaluó mediante una PCR múltiple previamente desarrollada en nuestro laboratorio. Los amplicones fueron observados en geles de agarosa al 2% teñidos con bromuro de etidio, las muestras positivas fueron secuenciadas para confirmar la identidad de los virus hallados y las secuencias obtenidas fueron analizadas utilizando el software BLAST.

Se detectaron virus en cuatro especies de abejas sin aguijón. El virus que registró mayor presencia fue DWV en *Tetragonisca fiebrigi* (n=15) seguido por IAPV en *Plebeia emerinoides* (n=4) *P. droyana*, *T. fiebrigi* y *Trigona spinipes* y ABPV en *P. emerinoides* (n=1). En las muestras de abejorros, el virus más prevalente fue IAPV en la especie *B. brasiliensis* (n=3), *B. morio* (n=8) y *B.pauloensis* (n= 1), seguido por DWV en *B.morio* (n= 2) y, ABPV en *B. pauloensis* (n= 1). Por otra parte, fueron halladas coinfecciones en las muestras de *B. morio* (n=1 ABPV-SBV, n=1 IAPV-ABPV, n=1 DWV-IAPV-ABPV, n=3 DWV-IAPV). Nuestros resultados confirman la presencia de virus de abejas melíferas en otras abejas de la familia Apidae en Argentina. La transmisión de patógenos desde una población reservorio a otras poblaciones de distribución simpátrica puede conducir a la aparición de enfermedades emergentes, resultando en la rápida disminución de las nuevas poblaciones hospedadoras, teniendo mayor probabilidad de ocurrencia cuando los hospedadores son filogenéticamente cercanos. Futuros estudios son necesarios para poder establecer la dinámica de transmisión de los virus estudiados entre las distintas especies de abejas.

81. Caracterización de la distribución subcelular de la proteína de cápside de Zika durante la infección viral. Costa Navarro GS(1,2), Byk LA(1,2), Rossi AH(1,2), Pallarés HM(1,2), De Borba L(1,2), Gamarnik AV(1,2). (1) Fundación Instituto Leloir; (2) CONICET, Buenos Aires.

El virus de Zika (ZIKV) es un patógeno emergente de la familia *Flaviviridae* transmitido por mosquitos del género *Aedes*, que contiene un genoma de ARN simple cadena de polaridad positiva que codifica para tres proteínas estructurales y siete no estructurales. La proteína de cápside es una proteína estructural pequeña y altamente básica que forma homodímeros y se asocia con el genoma viral formando las nucleocápsides. Es la proteína viral menos conservada de la familia a nivel aminoacídico, pero conserva la distribución de cargas y la estructura esenciales para la función que desempeña. Durante la infección de flavivirus relacionados como DENV, WNV y JEV la proteína de cápside adquiere una localización subcelular particular y en ciertos casos es determinante para la morfogénesis de partículas. Sin embargo, hasta el momento no se conoce el

comportamiento de la proteína de cápside de ZIKV durante la infección viral.

En este trabajo, clonamos a la proteína de cápside de ZIKV y obtuvimos anticuerpos específicos. Los mismos fueron empleados para describir su distribución subcelular durante las distintas etapas de la infección. Se llevaron a cabo infecciones con aislamientos epidémicos y no epidémicos del virus de ZIKV tanto en células de mamífero como de mosquito y se realizaron ensayos de inmunofluorescencia utilizando marcadores específicos de organelas celulares. Se determinó que en tiempos tempranos (6-10 hpi) la proteína se localiza principalmente en citoplasma y alrededor de organelas involucradas en el metabolismo de lípidos llamadas *lipid droplets* (LD). Posteriormente, en etapas medias-tardías de la infección (10-20 hpi) se detecta además en retículo endoplásmico y en el núcleo celular, específicamente en nucléolos. Se realizaron ensayos de fraccionamiento subcelular en células humanas que confirmaron esta distribución. Por otro lado, a partir de clones infecciosos de ZIKV generados en el laboratorio, se diseñaron virus recombinantes que cuentan con una segunda copia de la proteína de cápside fusionada a los fluoróforos mCherry o GFP, con los que se realizaron estudios *in vivo* de microscopía confocal por transfección del ARN viral en células de mamífero. Con estas construcciones fue posible detectar proteína viral desde las dos horas post transfección, principalmente en retículo endoplásmico, citoplasma y nucléolos. Estos estudios en su conjunto describen el comportamiento de la proteína de cápside en las distintas etapas de la infección, contribuyendo al conocimiento de la interacción del virus de ZIKV con el hospedador. Esta información representa una aproximación importante para la búsqueda de determinantes moleculares esenciales para la localización de la proteína y su influencia en el empaquetamiento del genoma, que pueden ser abordados en el desarrollo de nuevas estrategias antivirales.

82. Introducciones de virus sarampión de distinto origen en Argentina durante 2018. Benedetti E(1); AvaroM(1); Macias E(1); Russo M(1); Pardon F(1); Czech A(1); Elbert G(2); Biscayart C(2); Pontoriero A(1) y Baumeister E(1). (1) Laboratorio Nacional de Referencia de Sarampión y Rubéola, Servicio Virosis Respiratorias, INEI-ANLIS “Dr. C.G. Malbrán”; (2) Dirección de Control de Enfermedades Inmunoprevenibles de la Ministerio de Salud de la Nación.

El sarampión es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa, se propaga eficientemente de persona a persona por vía respiratoria y es una de las cinco causas principales de morbi/mortalidad prevenible por vacunación. Posee un serotipo único y múltiples genotipos. En el año 2016, la OMS declara su eliminación en la región de las Américas. En Argentina el último caso endémico ocurrió en el año 2000. En éste contexto, la presentación clínica compatible no es suficiente para el diagnóstico etiológico por lo que todos los casos sospechosos deben ser estudiados por laboratorio. En el transcurso de éste año 11 países de América han reportado más de 6600 casos con diagnóstico de laboratorio y 72 defunciones. En Venezuela, la transmisión endémica se ha restablecido alcanzando la cifra de 4600 casos con 62 fallecidos. Además, se han registrado numerosos casos en Europa y otras regiones.

Entre 2010 y 2018 se han detectado en Argentina solo casos relacionados a importación. El riesgo de introducción por movimientos migratorios y turísticos es elevado lo que puede llevar a establecer la circulación sostenida y pérdida de la condición de país libre. Los objetivos propuestos son:confirmar los casos de sarampión ocurridos en Argentina durante 2018 y determinar genotipos, linajes y origen de las introducciones en un contexto global. Los casos sospechosos que presentaron IgM positivos para sarampión identificados en la vigilancia fueron estudiados mediante la detección de genoma viral por real time RT-PCR en muestras de orina e hisopados nasofaríngeos. En las muestras positivas se amplificó y secuenció una región de 634 nt del gen de la Nucleoproteína viral de acuerdo a protocolos de referencia internacionales para la determinación de genotipo y linaje. Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando DNAstar, Bioedit, MEGA 5, MeaNS (base de datos de nt de calidad controlada de la OMS para los LNR). Hasta la SE 41, se detectaron 12 casos de sarampión no asociados a vacunación. Todos los casos correspondieron al genotipo D8. El primer

caso caracterizado de la SE 13 tuvo 100% de homología con la cepa de referencia Mvs/Osaka/JPN/29.15D8 (linaje Osaka) y con cepas circulantes en Tailandia durante éste año, confirmando la introducción a través de un turista argentino que estuvo en ese país.
Nueve casos detectados entre la SE 29 y 39 tuvieron 100% de homología con la cepa de referencia Mvi/Hulu Langat.MYS/26.11D8 (Linaje Hulu Langat) cepa idéntica a las circulantes en Venezuela, Brasil y Colombia. Otros 2 casos más se encuentran en estudio. Los casos detectados corresponden a un único genotipo, D8, pertenecientes a 2 linajes diferentes, tratándose al menos de 2 introducciones distintas. La circulación de sarampión en otras regiones del mundo y el regreso de la circulación endémica en Venezuela representan una amenaza. Para sostener la eliminación es necesario contar con altas coberturas de vacunación; vigilancia epidemiológica y medidas de control oportunas.

83. Epidemiología viral de parvovirus canino. Grecco S, Calleros L, Marandino A, Francia L, Panzera Y, Pérez R. Grupo de Genética de Microorganismos, Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

El parvovirus canino (CPV) es uno de los virus no-zoonóticos más interesantes para estudiar desde el punto de vista epidemiológico y se considera modelo de estudio por sus peculiares características evolutivas. CPV es capaz de realizar saltos interespecíficos, tiene una gran dispersión global y es responsable de una de las enfermedades infecciosas más importante de los cánidos domésticos y otros miembros de la familia Canidae. Es un virus DNA simple hebra de polaridad negativa de 5,2 kb que codifica para proteínas de cápside (VP1/VP2) y no-estructurales (NS1/NS2). A pesar de ser un virus DNA, presenta altas tasas de evolución, lo cual, junto a diversas presiones selectivas, son la causa de su rápida evolución. Actualmente existen tres variantes antigénicas de CPV (2a, 2b, y 2c), que se clasifican de acuerdo al aminoácido presente en la posición 426 de la proteína VP2: Asn (2a), Asp (2b) y Glu (2c). Estas variantes no constituyen grupos filogenéticos y varios autores consideran que no son útiles para clasificar evolutivamente a CPV. En Uruguay, una cepa 2c del grupo Europa-I (Eur-I) (origen europeo) fue la variante prevalente durante 2006-2010. A mediados del 2010 emergió una nueva cepa (2a) perteneciente al grupo Asia-I, que difiere en varias posiciones del genoma de la variante 2c, como consecuencia de su origen asiático. En este trabajo se continuó con el análisis de los patrones de variabilidad genética de poblaciones de CPV de Uruguay mediante secuenciación tradicional y masiva del genoma viral. En el periodo 2011-2017 se obtuvieron 30 genomas completos que permitieron realizar un seguimiento de la variabilidad genética de la población uruguaya y su comparación con la variabilidad existente en el resto de Sudamérica. Los genomas se analizaron utilizando programas filogenéticos (MEGA y BEAST) y la presencia de recombinación se detectó con RDP4 y SplitsTree. Los datos obtenidos se analizaron con programas bioinformaticos (SeqMan-NGen y ViVan). La mayoría de los genomas obtenidos se clasificaron en los grupos Eur-I y Asia-I, evidenciando la divergencia de las cepas de distinto origen. Se detectó una cepa recombinante entre variante 2a (Asia-I) y 2c (Eur-I), la cual es idéntica a una publicada previamente por nuestro grupo, lo que sugiere que la cepa recombinante representa una forma recombinante circulante. De esta cepa se realizó la secuenciación masiva (NGS) de un amplicón correspondiente al genoma completo obtenido mediante PCR utilizando una Taq polimerasa de alta fidelidad. Este análisis demostró que la muestra no era co-infectante y presentaba un número muy reducido de variantes minoritarias. La coexistencia de variantes pertenecientes a grupos divergentes de distinto origen permite analizar la dinámica evolutiva conjunta de ambas variantes y evidenciar eventos de recombinación entre ellas, así como analizar la variabilidad intra-host en la población.

84. Estudio en modelo de infección de herpesvirus caprino: efecto antiviral de extractos naturales de plantas frente a infecciones genitales de alfaherpesvirus. Ferreccio C(1); Konigheim B(2); Maidana S(2); Grazziotto, N (1); Romera, SA (1). (1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; (2) CONICET.

El herpesvirus caprino 1 (CpHV1) es un virus con afinidad por mucosa respiratoria y genital. Se ha reportado por serología, su circulación en Argentina. Al igual que el herpesvirus humano 2 (HHV-2), la infección por CpHV1 en cabras se asocia con lesiones genitales, proporcionando un modelo único para estudiar la eficacia y efectos de fármacos antiherpeticos. Los tratamientos actuales para las infecciones por herpes basados en análogos de nucleósidos (aciclovir, valaciclovir y famciclovir), son drogas costosas y su uso extenso ha llevado a la aparición de cepas virales resistentes, principalmente en pacientes inmunocomprometidos. Esta falta de terapias eficaces remarcan la necesidad de evaluar nuevos agentes quimioterapéuticos alternativos, de fuentes naturales, incluidos extractos y compuestos puros de hierbas medicinales con baja toxicidad y cuyos costos de producción sean rentables efectivos para el tratamiento de enfermedades virales. Para Argentina se reportaron trabajos con extractos de plantas nativas sobre la inhibición *in vitro* de virus con importancia en la salud pública. El objetivo del presente proyecto es ampliar el relevamiento serológico a CpHV1 asi como estudiar la capacidad antiviral de *Baccharis crispa* (carqueja), *Verbascum thapsus* (Verbasco), *Mintosthachys verticilata* (Menta), *Larrea divaricata* (Jarilla). Para determinar su eficacia protectiva *in vitro*, en principio se evaluó la toxicidad y concentración antiviral optima de los extractos y la interferencia en la cinética de replicación viral.

Se realizó ELISA indirecto de CpHV1 para determinar seroprevalencias. Las provincias relevadas son Rio Negro, La Rioja, Buenos Aires, La Pampa, San Luis Salta, Jujuy y Catamarca. En cuanto a los extractos vegetales se realizó la determinación de toxicidad sobre monocapas de MDBK, determinación de mínima concentración de extracto que protege contra efecto viral y cinética de replicación de un paso. Los porcentajes de seroprevalencia son 39,49%, 44,2%, 67% y 38,37% 32% 43,63% 36,8% para Rio Negro, La Rioja, Buenos Aires, La Pampa, San Luis, Salta, Jujuy y Catamarca respectivamente. La concentración que no produce citoxicidad resulto en 31,25ug/ul para Jarilla y Menta, 62,5 ug/ul para Verbasco y 4,2ug/ul Carqueja. El ensayo para determinar dilución de protección mostro que solo 2 extractos (menta y jarilla) tienen efecto antiviral. La concentración óptima de Jarilla con efecto antiviral es 31,25ug/ul y se observó una mayor acumulación de CpHV1 (con títulos de al menos 2 log de diferencia) en la porción intracelular de las monocapas infectadas y tratadas con Jarilla respecto de las monocapas infectadas sin tratar.

En conclusión la jarilla y la menta mostraron tener efecto antiviral, siendo la Jarilla la que muestra un efecto antiviral estable. Estudios preliminares mostraron que en monocapas infectadas con CpHV1 tratadas con Jarilla disminuye los títulos virales acumulados en la porción intracelular respecto de control sin tratar el virus.

85. Las isoformas de la Proteína de Unión al tracto de Polipirimidina (PTB) tienen un impacto diferencial en la traducción del ARNm de dengue virus. Fernández-García L; Angulo J; Vera-Otarola J; Pino K; López-Lastra M. Laboratorio de Virología Molecular, Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Centro de Investigaciones Médicas, Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Denguevirus (DENV) es un virus envuelto, con genoma de ARN, simple hebra y polaridad positiva, que pertenece a la familia Flaviviridae. En contraste con la mayoría de los ARNm celulares, el ARNm viral tiene una estrcuturam 7GpppN (cap) en la región 5'UTR y carece de una cola de 3'UTR poly (A). Estas regiones 5' y 3´ son altamente estructuradas y se asocian físicamente para mediar en la circularización del ARN. Tanto el 5' como el 3' UTR participan en el inicio de la traducción del ARNm viral, principalmente a través de un mecanismo cap-dependiente. Es conocido que se requieren proteínas celulares de unión al ARN (RBP) para la traducción del ARNm de DENV. La proteína de unión al tracto de polipirimidina (PTB, por sus siglas en inglés), es una proteína ubicua, de localización nuclear, que ha sido descrita como un factor que se requiere para la traducción del ARNm de DENV. Como resultado de splicing alternativo, se producen tres isoformas de PTB: PTB1, PTB2 y PTB4. La proporción entre las diferentes isoformas de PTB varía según los diferentes tipos de células. Estas isoformas tienen un impacto distinto en la tasa de traducción de sus ARNm objetivo.

En este estudio, evaluamos la actividad de las diferentes isoformas de PTB en la traducción del ARNm de DENV. Los resultados muestran que PTB1, PTB2 y PTB4 impactan de manera no equivalente la traducción del ARNm de DENV. Además, mostramos que las relaciones PTB1 / PTB4, PTB1 / PTB2 y PTB4 / PTB2 en las células regulan la síntesis de proteínas DENV. Análisis de mutantes de unión a RNA evidencian diferentes requerimientos de motivos de unión a RNA (RRM, por sus siglas en inglés) en el control traduccional de PTB sobre el ARNm viral. En conclusión, en este estudio, mostramos que las isoformas de PTB modulan diferencialmente la traducción del ARNm de DENV.

86. Efecto antiviral de derivados de bases de Tröger contra herpesvirus. Trupp LJ(1); Alché LE(2, 3); Bruttomesso AC(1); Petrera E (2). (1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Orgánica, UMYMFOR-CONICET. Buenos Aires; (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química Biológica, Laboratorio de Virología. Buenos Aires; (3) CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN), Buenos Aires.

El virus herpes simplex (HSV), es el prototipo de los virus de doble cadena de ADN y ha desempeñado un papel destacado en el desarrollo de antivirales. Por otro lado, las características estructurales de las bases de Tröger (BT) se han utilizado en el diseño de aglutinantes de ADN. Esto nos animó a estudiar las propiedades antivirales de este tipo de compuestos.
En este trabajo, presentamos la síntesis y el efecto antiviral de cinco nuevos derivados de BT contra la infección por HSV. El paso clave en la síntesis de los compuestos fue la construcción del esqueleto, a través de la condensación catalizada por ácido entre una anilina y paraformaldehído. Todos los compuestos finales se purificaron cromatográficamente y se caracterizaron mediante técnicas de Espectrometría de masa y Resonancia Magnética Nuclear 1D y 2D. Con respecto a la actividad biológica, primeramente se observó que los compuestos no presentaron citotoxicidad en células Vero, obteniéndose valores de CC_{50}> 300 µM por la técnica de MTT. Para evaluar la actividad antiviral, se usaron diferentes cepas de HSV-1 y HSV-2. Distintas concentraciones de los cinco derivados de TB fueron agregadas después de la adsorción del virus, 24 h más tarde se recogieron los sobrenadantes y se obtuvieron los títulos virales mediante un ensayo de formación de placas. La mayoría de los compuestos analizados inhibieron el rendimiento viral de las cepas HSV-1 KOS, HSV-1 TK-B2006 y HSV-1 TK- Field, así como también HSV-2 G y HSV-2 MS. Los índices de selectividad obtenidos van desde 4 para la cepa HSV-2 MS que resultó ser la menos sensible a las bases TB, a >69,8 para la cepa HSV-1 Field.
Por otro lado, mediante el uso de la técnica de ELISA , se evaluó el efecto de los compuestos sobre la producción de citoquinas en macrófagos estimulados con HSV-1 KOS o LPS. Pudimos observar que algunos de los compuestos modularon la producción de citoquinas en los cultivos de macrófagos J774A1 tanto al ser inducidos por HSV-1 como por LPS bacteriano.
Los resultados obtenidos muestran que estos derivados de bases de Tröger inhiben el HSV en las células Vero y modulan la producción de citoquinas en macrófagos.

SESIÓN 8

Taller: "La Seguridad Biológica en los laboratorios de Virología".
Catalina Romano, Susana Mersich y Sandra Cordo. Subcomité de Bioseguridad, Servicio de Higiene y Seguridad, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

En el transcurso del taller analizaremos la encuesta realizada previamente entre los asistentes registrados a la reunión con el fin de reflexionar sobre nuestras prácticas de bioseguridad en el desarrollo diario de las tareas, y revisar nuestra comprensión sobre los riesgos laborales y la responsabilidad de las instituciones en la que trabajamos**.**

PRESENTACIÓN XIII CONGRESO ARGENTINO DE VIROLOGÍA 2020. Palabras de Mariano Pérez Filgueira y Andrea Mangano.