

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

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 Nordihidroguayarático 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 nordihidroguayarático (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 (%) 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%). 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 N° 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 5×10^8 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