

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

ISBN 978-987-46701-3-7



Auspiciantes



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY



Programa Corto

miércoles 5 de diciembre	jueves 6 de diciembre	viernes 7 de diciembre
15:00 h Acreditación	9:00-11:00 h SESIÓN 3	9:00-11:00 h SESIÓN 7
16:00 h Apertura de la Reunión	11:00-11:30 h Intervalo	11:00-11:30 h Intervalo
16:00-18:00 h SESIÓN 1	11:30-13:00 h SESIÓN 4	11:30-12:30 h SESIÓN 8.
18:00-18:30 h Intervalo	13:00 h Almuerzo	Taller: “La Seguridad Biológica en los laboratorios de Virología”. Catalina Romano, Susana Mersich y Sandra Cordo.
18:30-20:30 h SESIÓN 2	16:00-18:00 h SESIÓN 5	Cierre
20:30 h Cena	18:00-18:30 h Intervalo	13:00 h Almuerzo
	18:30-20:30 h SESIÓN 6	Fin de la Reunión
	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	

entre el DWV-A y el DWV-B. Futuros estudios intentarán describir la presencia de recombinantes 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 oligonucleótidos 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* bioinformático 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 neurodegenerativa 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 nucleótidos 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