

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO²: 2014 - 2015

Legajo N°: 212263

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: **GALOSI**
NOMBRES: **CECILIA MONICA**
Dirección Particular: Calle: N°:
Localidad: **Berisso** CP: **1923** Tel:
Dirección electrónica (donde desea recibir información): **cmgalosi@fcv.unlp.edu.ar**

2. TEMA DE INVESTIGACION:

Estudios virológicos, patogénicos, moleculares y epidemiológicos en virus de interés veterinario y productivo

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: *Asistente* Fecha: *5/5/90*
ACTUAL: Categoría: *Principal (Aprobado por Directorio por Res 1395/13 en diciembre de 2013. Decreto PE 2125/14)*

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: **Universidad Nacional de La Plata**
Facultad: **Facultad de Ciencias Veterinarias**
Departamento: **Departamento de Microbiología**
Cátedra: **Cátedra de Virología**
Otros:
Dirección: Calle: **60 y 118** N°: **s/n**
Localidad: **La Plata** CP: **1900** Tel: **0221 4824956**
Cargo que ocupa: **Profesor titular de Virología, Investigador Principal CIC PBA**

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres:
Dirección Particular: Calle: N°:
Localidad: CP: Tel:
Dirección electrónica:

.....**NO CORRESPONDE**.....

Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Estudios virológicos, patogénicos, moleculares y epidemiológicos en virus de interés veterinario y productivo

Herpesvirus equino 1 (EHV-1): Se estudiaron mecanismos patogénicos o inmunológicos involucrados en el aborto y en la obtención de una eficiente respuesta inmune. 1) Para estudiar si el virus interfiere con la apoptosis de las células infectadas, se evaluó su efecto en cultivos de células MDBK y ED infectadas a las 3, 9 y 18 h pi de su ciclo de replicación y se estudió la apoptosis en pulmones de ratones BALB/c a las 24, 48, 72 y 96 h pi. Los resultados de los ensayos *in vitro* (aplicando técnicas que evidencian cambios morfológicos y bioquímicos característicos de la apoptosis) permiten inferir que EHV-1 interfiere en la muerte por apoptosis de las células infectadas hacia la mitad de su ciclo de replicación y que este efecto es más evidente en las células homólogas. Los resultados obtenidos *in vivo* no presentaron diferencias significativas. 2) Se analizaron cambios a nivel de la respuesta inmune local que podrían intervenir en la interrupción de la gestación de hembras BALB/c inoculadas por vía intranasal al día 13 de gestación. Se realizó AV en pulmones, uteros y placentas tomados al día 3 pi. Por qPCR se analizaron los mRNA para TNF, IFN- γ e IL10 y la expresión de IFN- γ y TNF fue corroborada por ELISA y citometría de flujo. Se hallaron menor número de fetos que la media normal. EL AV fue positivo solo en pulmones. La cuantificación relativa por qPCR y expresada como $2^{-\Delta\Delta Ct}$ mostro diferencias significativas. El incremento de TNF indico predominancia de la respuesta TH1, el incremento de IFN- γ fue consistente con una infección viral y el moderado incremento de IL-10, asociado a una respuesta TH2 tolerogénica puede ser debido a la restauración del balance homeostático ante la infección. 3) se comparó la respuesta inmune en ratones BALB/c inmunizados con dos glicoproteínas recombinantes: gD y gC. La gD se utilizó combinada con la subunidad beta de la toxina colérica (BTC) y la gC con Montanide ISA 206. Se utilizaron 4 grupos de ratones inmunizados de la siguiente manera: A) gD+ BTC via intranasal (IN); B) gD + BTC vía IN y gC + Montanide ISA 206 vía intramuscular (IM), simultáneamente; C y D) animales control que recibieron el adyuvante correspondiente. Se realizaron 2 inmunizaciones con 15 días de intervalo y previo a cada inmunización los animales fueron sangrados. Se sacrificaron al día 7 pos segunda inmunización por sangrado a blanco. Se determinó la presencia de IgG e IgA en suero por ELISA indirecto. Se detectó IgG e IgA en el grupo A luego de la segunda inmunización, mientras que con la inmunización combinada no se detectaron anticuerpos. Los animales control se mantuvieron negativos. Se concluye que la inmunización con dos dosis de gD IN fue la única estrategia que indujo la producción de anticuerpos en suero. **Herpesvirus felino y canino:** Se analizaron 19 muestras de casos clínicos compatibles con queratoconjuntivitis felina, durante el periodo 2014-2015. De las 19, cinco (4 hisopados oculares-3 conjuntivales y 1 corneal- y un hisopado nasal) resultaron dudosas por AV. De ellas, solo una (hisopado nasal) resulto positiva por PCR. Considerando que el mismo paciente que resulto positivo en el hisopado nasal no lo fue en el hisopado conjuntival, sería necesario continuar realizando aislamientos de nuevas cepas de casos clínicos compatibles y poder esclarecer la participación del virus en los mismos. Se plantea entonces continuar los estudios para esclarecer la participación del virus en casos oftalmológicos. Se analizaron 5 natimortos caninos por AV y 55 sueros provenientes de animales sin antecedentes de vacunación e ingresados al Hospital de Clinicas de la Facultad. Quince sueros resultaron positivos por virusneutralización con títulos entre $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{16}$ manteniendose de esta manera la prevalencia hallada en estudios previos. **Virus que afectan a las abejas:** Para establecer el status sanitario en colmenares de las diferentes Regiones Apícolas de la PBA se realizó un muestreo de abejas para de determinar la incidencia de *V. destructor* y seis virus ya hallados en Argentina. El porcentaje de colmenas infestadas por *V. destructor* fue de 30,35%, sin embargo los resultados obtenidos entre las distintas regiones fueron muy variables. La diversidad de los virus encontrados fue amplia. Podemos inferir que existe una relación entre la presencia de *V. destructor* y algunos virus (IAPV y DWV) mientras que otros virus analizados en este ensayo (CBPV, ABPV, BQCB, SBV) se dispersaron independientemente de la presencia de ácaros.

Virus que afectan a los animales de laboratorio. Se finalizo con el trabajo experimental de la tesis doctoral de JM Laborde: **Estudio de la prevalencia de infecciones producidas por el Virus Diminuto del Ratón (MMV) en Bioterios de Argentina y su influencia en la contaminación de tumores trasplantables.** Se está realizando la redacción y organización del trabajo final de tesis a presentar con fecha probable en setiembre-octubre de 2016.

Los principales inconvenientes encontrados durante el desarrollo del plan estuvieron relacionados con la disponibilidad materiales debido a los problemas de importación existentes y costos.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES.

7.1.1

Effects of *Equid herpesvirus 1* (EHV-1) AR8 and HH1 strains on BALB-c mice. Zanuzzi CN, Scrochi MR, Fuentealba NA, Nishida F, Portiansky EL, Muglia C, Gimeno EJ, Barbeito CG, **Galosi CM.** Archives of Virology, 159(1):141-5, **2014** Con referato (ISSN: 0304-8608) **IF: 2,390**

<http://link.springer.com/journal/705/159/1>

Abstract

The pathogenic potential of the Argentinean *Equid herpesvirus 1* (EHV-1) AR8-strain is described for the first time and compared with the reference virulent Japanese HH1 strain in mice at different intranasal post-inoculation (pi) times. AR8-inoculated animals showed dyspnea and ruffled fur from day 1 pi, whereas in those inoculated with HH1 clinical signs began later. Viremic phase was shorter in AR8-inoculated mice. Virus isolation and DNA detection from lung, liver and spleen were positive for each strain at different pi times. Infection foci were only immunohistochemically detected in bronchial and bronchiolar epithelium from day 1 to 4 pi for each strain. Our results using HH1 differed from those previously reported. The relevance of standardization of any EHV-1 strain before providing valid conclusions is highlighted. We suggest and support the use of native EHV-1 strains to better understand the disease process.

Participación personal: Diseño del trabajo, discusión de la metodología y resultados, redacción. Se sintetizan los resultados de la beca posdoctoral de CN Zanuzzi (bajo mi dirección) y actual Investigadora asistente del CONICET.

7.1.2

Production of equine herpesvirus 1 recombinant glycoprotein D and development of an agar gel immunodiffusion test for serological diagnosis. Fuentealba NA, Sguazza GH, Scrochi MR, Bravi ME, Zanuzzi CN, Corva SG, Gimeno EJ, Pecoraro MR, **Galosi CM.** Journal of Virological Methods, 202: 15-18 (ISSN: 0166-0934) **Indice de impacto: 2,011**

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=975070487&_sort=r&_st=13&_view=c&_md5=99d05d185f6c99db845bc04b78fccdca&_searchtype=a

Abstract

Equine herpesvirus 1 and 4 (EHV-1 and 4) infect most of the world's horses, causing serious clinical illness. Viral glycoproteins have been identified as the immunodominant antigens that

generate the antiviral serological responses to EHV-1 and EHV-4 in infected horses. Here, glycoprotein D of EHV-1 was expressed by a recombinant baculovirus, purified and evaluated by a simple agar gel immunodiffusion test (AGID). Compared with virus neutralization, serological analysis by AGID showed good specificity (100%) and sensitivity (99.5%). The estimated Kappa values for repeatability and reproducibility were satisfactory. Thus, this rapid, inexpensive, simple and highly specific AGID test seems to be a valuable alternative tool for serological detection of antibodies against both EHV-1 and EHV-4.

Participación personal: Dirección del trabajo, discusión de la metodología y resultados, redacción. Se sintetizan los resultados obtenidos con una herramienta molecular desarrollada durante el desarrollo de la tesis de doctorado de Fuentealba NA y actual Investigadora asistente del CONICET bajo mi dirección.

7.1.3

Spread of Vaccinia Virus to Cattle Herds, Argentina, 2011. Moreira Franco Luiz AP, Fagundes Pereira A, Barbosa Costa G, Alves PA, Bretas Oliveira D, Bonjardim CA, Peregrino Ferreira PC, de Souza Trindade G, Panei CJ, **Galosi CM**, Abrahão JS, Geessien Kroon E. Emerging Infectious Disease (CDC: Center for Disease Control and Prevention) 20 (9): 1576-1578, **2014**. (ISSN 1080-6059) **IF: 7.1** WWW.CDC.GOV/EID

Abstract

We describe the spread of the zoonotic *Vaccinia virus* (VACV) to Argentinian bovine herds. Neutralizing antibodies were detected in 12% of bovine serum samples collected from Argentinian provinces. Viral DNA was detected in sera from 5 animals. Phylogenetic analysis of hemagglutinin (HA) gene suggested that Argentinian VACV spread from Brazil.

Participación personal: Participación como contraparte de Argentina en la colaboración del proyecto financiado por Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Toma de las muestras, discusión de la metodología y resultados, redacción.

7.1.4

Protective effects of intranasal immunization with recombinant glycoprotein D in pregnant BALB/c mice challenged with different Equine herpesvirus 1 strains. Fuentealba NA, Zanuzzi CN, Scrochi MR, Sguazza GH, Bravi ME, Cid de la Paz V, Corva SG, Portiansky EL, Gimeno EJ, Barbeito CG, **Galosi CM**. J Comparative Pathol 151: 384-393, **2014**. Con referato (ISSN: 0021-

9975) **IF: 1,647.**

[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=tag&searchtype=a&refSource=search&_st=13&count=62&sort=r&filterType=&_chunk=0&hitCount=62&NEXT_LIST=1&view=c&md5=a6eeb3b889340c9ec421b29b256e60cb&_ArticleListID=-975074163&chunkSize=25&sisr_search=&TOTAL_PAGES=3&zone=exportDropDown&citation-type=RIS&format=cite-
abs&bottomPaginationBoxChanged=&bottomNext=Next+%3E%3E&displayPerPageFlag=f&resultsPerPage=25](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=tag&searchtype=a&refSource=search&_st=13&count=62&sort=r&filterType=&_chunk=0&hitCount=62&NEXT_LIST=1&view=c&md5=a6eeb3b889340c9ec421b29b256e60cb&_ArticleListID=-975074163&chunkSize=25&sisr_search=&TOTAL_PAGES=3&zone=exportDropDown&citation-type=RIS&format=cite-
abs&bottomPaginationBoxChanged=&bottomNext=Next+%3E%3E&displayPerPageFlag=f&resultsPerPage=25)

Abstract

Equine herpesvirus (EHV)-1 induces respiratory infection, neurological disorders and abortion in horses. Most of the currently available attenuated or inactivated vaccines against this infection are administered intramuscularly and only provide partial protection against the respiratory disease. The present study examines the effect of intranasal immunization with purified EHV-1 recombinant glycoprotein D (gD) in BALB/c mice followed by challenge with three different EHV-1 strains during early to mid-pregnancy. The induced viral infection was evaluated by virus isolation, DNA detection by polymerase chain reaction, histopathology and immunohistochemical localization of antigen in the lung, placenta and uterus. Non-immunized mice showed clinical signs of infection, positive virus isolation from lungs and uteri, and abortion induced by one of the virus strains. Endometrial lesions developed in some of these animals that have been described previously only in horses. Immunized mice and their offspring had no viral infection or typical lesions. Intranasally administered gD therefore induced partial or complete protection against three different EHV-1 strains in BALB/c mice.

Participación personal: Dirección del trabajo, discusión de la metodología y resultados, redacción. Se sintetizan los resultados obtenidos al evaluar la capacidad inmunogénica de una glicoproteína recombinante producida durante el desarrollo de la tesis de doctorado de Fuentealba NA y actual Investigadora asistente del CONICET bajo mi dirección.

7.1.5

Interferencia del *Herpesvirus equino 1* (EHV-1) en la apoptosis inducida. Scrochi MR, Zanuzzi CN, Muglia CI, Fuentealba NA, Nishida F, Gimeno EJ, Barbeito CG, Portiansky EL, **Galosi CM.** Revista InVet, 15, 1-2, Este trabajo obtuvo el **Premio estímulo a la investigación científica** otorgado por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación al trabajo. Expediente 45301/13, Res 2724/13, 17/9/13. **Presentado en 2013, comunicado el resultado en el 2014 y publicado en 2015** (Revista del Nucleo básico ISSN 1514-6634).

Resumen

La apoptosis es un tipo de muerte celular programada que puede ser desencadenada por múltiples factores, tanto internos como externos; dentro de estos últimos se encuentran las infecciones virales. Algunos alphaherpesvirus han desarrollado diversas estrategias para retardar o inhibir la muerte celular obteniendo, de esta manera, su propio beneficio al poder permanecer durante más tiempo en la célula. Hasta el momento no se ha identificado ningún mecanismo relacionado con la modulación de la muerte celular durante la infección con Herpesvirus equino tipo 1 (EHV-1). El objetivo del presente trabajo fue describir el efecto producido por la infección con EHV-1 sobre cultivos celulares inducidos a la muerte por apoptosis. La evaluación de la apoptosis se realizó mediante el reconocimiento de la fragmentación en escalera del ADN, la evaluación de la relación Anexina V/ioduro de propidio (IP) y la determinación del clivaje de la citoqueratina 18, utilizando técnicas de inmunofluorescencia. Los resultados indican una posible interferencia del EHV-1 con la muerte por apoptosis hacia la mitad de su ciclo de replicación, que se incrementa hacia el final del mismo.

Participación personal: Diseño del trabajo, Dirección del grupo de trabajo. Discusión de la metodología y resultados, redacción. Dirección de la becaria de doctorado Mariela Scrochi.

7.1.6

Modelos experimentales para el estudio de la patogenicidad de la muerte embrionaria en tritricomonosis bovina y herpesvirosis equina. Galosi CM, Monteavaro C, Woudwyk MA, Zanuzzi CN, Portiansky EL, Fuentealba NA, Scrochi MR, Nishida F, Bravi ME, Eöry ML, Martín Ocampos GP, Cid de la Paz V, Barbeito CG, Gimeno EJ. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. **Presentado en 2013 y publicado en 2015. Tomo LXVII: 239-332**

Con referato (ISSN 0327-8093).

http://www.anav.org.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=387&Itemid=106

Resumen

Se presentan los resultados de investigaciones en las que se trabajó con modelos murinos para el estudio de la patogenicidad por la infección de herpesvirus equino 1 (EHV-1) y de tritricomonosis bovina. Si bien el uso de ratones tiene algunas limitaciones por las diferencias entre las placentas y la inmunología reproductiva con las especies que se enferman naturalmente, muchos resultados son extrapolables. En el caso de la infección por EHV-1 se determinaron lesiones uterinas en ratones BALB/c similares a las que se producen en equinos, además de las lesiones pulmonares y placentarias ya conocidas. Se realizó un estudio molecular sin encontrarse relación entre la filogenia de las cepas, los signos y las lesiones. Se determinaron diferencias en la cinética viral entre cepas y el efecto protector de la glicoproteína viral D inoculada por vía intranasal cuando se

enfrenta a los animales con una cepa patogénica. Por último se demostró que el anestésico utilizado para la inoculación intranasal de los virus puede generar diferencias en los resultados obtenidos. El modelo murino de tritrichomonosis bovina permitió estudiar algunos aspectos de la patogenia de la muerte embrionaria ocasionada por *Tritrichomonas foetus*. La infección en ratonas BALB/c preñadas genera modificaciones en los carbohidratos del epitelio uterino que podrían ser determinantes en la muerte embrionaria. Los cambios en la proliferación y muerte celular, inducidos por *T. foetus*, también podrían intervenir en la muerte embrionaria. En cuanto a los mecanismos inmunes se exacerbó la respuesta efectora Th1 y Th17 tendiente a controlar la infección por *T. foetus*, pero que a la vez podría ser deletérea para los embriones. Además, se alteran mecanismos que protegen la preñez, como la expresión de la enzima hemoxigenasa. Por último, el incremento en el número de las células T reguladoras observado podría asociarse con el incremento de la muerte embrionaria, al promover la persistencia de la infección por sus efectos inmunosupresores.

Participación personal: Diseño conjunto del trabajo con los otros investigadores participantes y responsables de cada área, discusión de la metodología y resultados, redacción. Dirección del trabajo de virología. Dirección de tesis y becarios participantes por el área de virología.

7.1.7

Análisis de la relación entre virus y Varroa en colmenas de Buenos Aires. Castilla RS, Reynaldi FJ, Sguazza GH, Galosi CM, Pecoraro MR. Revista del Colegio Veterinario de la Pcia de Bs As. 63: 68-69, 2015, Con referato ISSN 2250-5040. <http://cvpba.org/wp-content/uploads/2015/11/REVISTA-63.-CVPBA.pdf>

Resumen: Se estableció el status sanitario en colmenares de las diferentes Regiones Apícolas de la Prov. de Buenos Aires. Se realizó un muestreo de abejas para determinar la incidencia de Varroa destructor y seis virus comúnmente encontrados en abejas en Argentina. En base a los resultados, podría inferirse que existe una relación entre la presencia de Varroa destructor y algunos virus (IAPV y DWV). Asimismo, destacamos que los otros virus analizados en este ensayo (CBPV, ABPV, BQCB, SBV) se dispersaron independientemente de la presencia de ácaros. Por lo tanto, deben existir otros factores, no bien determinados, que influyen en la dinámica de infección viral de las colonias.

Concluimos que el control de los ácaros podría disminuir la presencia de ciertos virus en las colonias. Con otros estudios ya en desarrollo, se determinará el verdadero impacto sanitario que tienen estos virus y podrán generarse medidas de control con el fin de evitar pérdidas económicas en la producción.

Participación personal: Diseño conjunto del trabajo con el Dr Francisco Reynaldi. Ambos dirigimos a la becaria de entrenamiento de CIC PBA Rocio Castilla quien realizo el trabajo experimental.

RESUMENES PUBLICADOS EN REVISTAS

7.1.8

Modulation of apoptosis in equine herpesvirus-1 infected cells. Scrochi MR, Zanuzzi CN, Fuentealba NA, Bravi ME, Gimeno EJ, Barbeito CG, Portiansky EL, Muglia CI, Galosi CM. BIOCELL 38 (Suppl. 3), A 67. 2014 Con referato ISSN 0327-9545 (**Pub Med-Indexed for MEDLINE**) **Indice de Impacto 2013: 0,730.** http://www.cricyt.edu.ar/biocell/vol/38_3.html

Abstract

La muerte por apoptosis puede actuar como un mecanismo de protección contra agentes infecciosos. El *Herpesvirus equino tipo 1* (EHV-1) es un agente infeccioso que produce signos respiratorios, nerviosos, muerte embrionaria, aborto y síndrome neonatal en equinos. A diferencia de otros alphaherpesvirus que modulan la apoptosis para favorecer su replicación dentro de la célula infectada, se desconoce si el EHV-1 podría ejercer dicha acción, solo se demostró un efecto inhibitor sobre neuronas infectadas *in vitro*. Nuestro objetivo, fue estudiar el efecto del EHV-1 en cultivos celulares no neurales. Se utilizaron células Madin-Darby bovine kidney infectadas con EHV-1 e inducidas a la apoptosis a 3, 9, y 18 hs posinfección (pi) mediante su incubación con sorbitol 1M, (Inf+/ Apo+). Para cada tiempo analizado se realizaron controles positivos y negativos de apoptosis e infección. Se evaluó cuantitativamente la apoptosis mediante tinción con bromuro de etidio y naranja de acridina, se detectó por citometría de flujo la exteriorización de fosfatidilserina mediante Anexina V /ioduro de propidio y reconocieron cambios ultraestructurales por microscopía electrónica de transmisión (MET). El análisis de las técnicas determinó que solo a las 9 hs pi el índice de apoptosis fue significativamente menor en el grupo (Inf+/ Apo+) respecto al control positivo de la misma (Inf-/Apo+). Por MET se confirmó la presencia del virus y cambios ultraestructurales característicos del proceso apoptótico. Se concluye que la infección por EHV-1 retardaría la apoptosis en células infectadas durante la primera etapa del ciclo de replicación viral, efecto que podría favorecer su multiplicación

Participación personal: Diseño del trabajo, discusión de la metodología y resultados, redacción. Dirección de la doctorando Mariela Scrochi.

7.1.9

Pathogenic and immunological study of equine herpesvirus 1 infection (EHV-1). New insights in prophylactics strategies. Scrochi MR, Bravi ME, Fuentealba NA, Sguazza GH,

Nishida F, Cid de la Paz V, Gimeno EJ, Portiansky EL, Barbeito CG, Muglia CI, Zanuzzi, CN, Galosi CG. **Virus Reviews and Research. Journal of the Brazilian Society for Virology 20 (S1):217, 2015. Con referato ISSN 519- 2563.**
http://www.sbv.org.br/site/livro_anais_cbv_XXVI.pdf

Resumen

El EHV-1 produce signos respiratorios, nerviosos, muerte embrionaria, abortos y síndrome neonatal. Nuestros estudios están dirigidos a estudiar los mecanismos patogénicos o inmunológicos involucrados en el aborto y en la obtención de una eficiente respuesta inmune. En este trabajo se utilizó la cepa viral AR8 para todas las experiencias y los estudios in vivo se realizaron en el modelo ratón BALB/c. Experiencia 1) Se analizaron cambios a nivel de la respuesta inmune local en útero y unidades fetoplacentarias que podrían intervenir en la interrupción de la gestación de hembras inoculadas por vía intranasal al día 13 de gestación. Se seleccionó el día 3 posinfección (pi) para la toma de muestras, según resultados de ensayos previos. Se cuantificó el ARNm por PCR en tiempo real (qPCR) de los genes que codifican para TNF, IFN-gamma, IL-10 e IL13. Se midieron los niveles de expresión de las proteínas producidas por ELISA (IFN-gamma e IL13) y Citometría de Flujo (TNF). La cuantificación relativa por qPCR expresada como $2^{-\Delta\Delta Ct}$ y la medición de la expresión de todas las citoquinas indicó diferencias del grupo infectado respecto al control. Experiencia 2) Se estudió el efecto modulador de la apoptosis durante el ciclo de replicación viral comparativamente en células heterólogas y homólogas infectadas. La tinción con bromuro de etidio y naranja de acridina, Anexina V FICT e yoduro de propidio determinó que el índice de apoptosis fue significativamente menor en los grupos infectados.

Participación personal: Diseño del trabajo, discusión de la metodología y resultados, redacción. Dirección de la doctorando Mariela Scrochi, Maria E Bravi y de la Investigadora Nadia Fuentealba.

CAPITULO DE LIBRO

7.1.10

Galosi CM, Pecoraro MR: Influenza hiperactiva. Entre genes y especies. ¿Dónde estamos? En: Temas de Zoonosis VI. Cap.44 Editores: Basualdo Farjat J, Enría D, Martino P, Rosenzvit M, Seijo A; Asociación Argentina de Zoonosis. IdeoGráfica, Bs As, Argentina, 2014, pp: 423-429. ISBN 978-987-97038-5-4.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.

CAPITULOS DE LIBRO

7.2.1

Galosi CM, Fuentealba NA. Familia Herpesviridae, En: Microbiología Veterinaria, Editor: Dr Nestor Stanichi y colaboradores, Editorial Intermédica, Bs As, Argentina, Prueba de galera revisada 2015

7.2.2

Galosi CM. Familia Poxviridae, En: Microbiología Veterinaria, Editor: Dr Nestor Stanichi y colaboradores, Editorial Intermédica, Bs As, Argentina, Prueba de galera revisada 2015

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.

7.3.1

Characterization of caprine arthritis encephalitis virus from goats in Argentina

C.J. Panei, A. Dellarupe, M.L. Gos, G.E. Metz, M.S. Serena, **C.M. Galosi** & M.G. Echeverría.

Enviado al Rev. Sci.Tech. Off. Int. Epizz. Agosto de 2015.

Abstract

In recent years, the epidemiologic status of caprine arthritis encephalitis (CAE) disease evidenced an increase in prevalence in Argentina. Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) cause immune-mediated lesions associated with interstitial pneumonia, mastitis, encephalitis, and arthritis which involve economic loss in the goat industry. AP-1, AP-4 and AML(vis) motifs, located in the U3 promotor region of the long terminal repeat (LTR), play a central role in viral tropism where variability in this region may enhance viral persistence and not be recognized by the immune system. Moreover the capsid protein (CA) is the first antigen recognized by infected animals and usually remains for a long time. This protein is considered one of the immunodominant antigens in *lentivirus* infection. The alignment of the LTR sequences in this work showed three gaps in all of the Argentine genotypes and revealed twelve nucleotide substitutions in CAEV-Arg 1, CAEV-Arg 2 and CAEV-Arg 3, and thirteen in CAEV-Arg 4 compared to the consensus sequence, giving an overall homology of 99.6% and 99.4%, respectively. An equivalent phylogenetic analysis of the CA protein relative to other small ruminant lentiviruses (SRLVs) indicated that all the Argentine sequences were located in the same cluster. Significant differences were found in the immunodominant regions of the CA contained amino acid substitutions in all Argentine genotypes

which indicate that those regions are not conserved. The first molecular characterization of the CAEVs from goats in Argentina is highly relevant to determine the types of viral strains that are circulating in our country.

7.3.2

Equine herpesvirus 1 infection negatively impacts on cell apoptosis.

M. R. Scrochi, C. N. Zanuzzi, N. A. Fuentealba, F. Nishida, M. E. Bravi, G. H. Sguazza, E. J. Gimeno, C. G. Barbeito, E. L. Portiansky, C.I. Muglia, C. M. Galosi.

Enviado a Archives of Virology, diciembre de 2015.

Abstract

Alphaherpesvirus have developed several strategies of cell death modulation to stay longer within them. So far, no mechanism of cell death modulation induced by *Equid herpesvirus 1* (EHV-1) has been studied yet. The aim of the present study was to describe the effect of EHV-1 on the apoptosis of two different cells lines: Equine Dermis and Madin-Darby bovine kidney cells. Morphologic and biochemical features of early and late apoptosis, such as translocation of phosphatidil serine to cell surface, nuclear fragmentation and changes in the cytoskeleton, were studied by annexin V / propidium iodide staining by flow cytometry, DNA laddering and *in situ* TUNEL labeling assay, and immunofluorescence staining of cytokeratin 18 cleavage, respectively. We detected that EHV-1 interfered with the apoptosis in both cell lines, particularly in the middle of the replication cycle, an effect that has also been reported for other alphaherpesvirus. Our results may help to understand the ability of EHV-1 to improve its efficiency during cell infection. Further studies are needed to develop therapies that may counteract viral strategies.

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION

7.4.1

Immunogenicity and induced protection of recombinant glycoprotein D in the BALB/c respiratory mouse model of *Equid herpesvirus 1* infection

Nadia A. Fuentealba, Guillermo H. Sguazza, Carolina N. Zanuzzi, Mariela R. Scrochi, Maria E. Bravi, Alejandro R. Valera, Santiago G. Corva, Enrique L. Portiansky, Claudio G. Barbeito, Eduardo J. Gimeno, Marcelo R. Pecoraro, Cecilia M. Galosi.

Abstract

Equid herpesvirus 1 (EHV-1) infection causes abortion, respiratory and neurological disorders in horses. Natural respiratory infection and available vaccines provide only partial and short-lived

protection. In the present study we analyzed the immunogenicity of our purified baculovirus-expressed glycoprotein D administered by different routes, and the protection conferred to BALB/c mice after challenging with the EHV-1 AR8 strain. Clinical signs varied among mice immunized by parenteral routes, whereas no clinical signs were observed in intranasally immunized mice. Systemic immunization was effective to elicit a specific immune response, but did not prevent the virus from reaching the lung. However, in intranasally immunized mice virus isolation and histological and immunohistochemical detection for EHV-1 were negative in their lungs. Although intranasal route of immunization did not stimulate humoral immunity, the local immune response in the upper respiratory tract may reduce the initial viral attachment and prevent the virus from reaching the lungs. Our results provide valuable support to further study new immunization strategies in the natural host to increase the protection at weaning.

7.4.2

Microvascular lesions and changes in cell proliferation and death, and cytokine expression in the placentas of mice experimentally infected by *Equid Herpesvirus 1*

CN Zanuzzi, ME Bravi, MR Scrochi, F Nishida, NA Fuentealba, ME Diessler, HG Sguazza, CI, Muglia, EJ Gimeno, EL Portiansky, CG Barbeito, CG Galosi

Abstract

This study describes the changes observed in the placentas of mice experimentally infected with an abortigenic strain of EHV-1 at mid-pregnancy and euthanized at days 3 and 4 pos infection. We analyzed microscopic vascular alterations, cell proliferation and death by immunohistochemistry, and the expression of IFN- γ , TNF- α and the IL-10 by qPCR and flow cytometry. Infected mice showed slight respiratory signs and ruffled fur during the first two days pos infection. Virus isolation and DNA detection were positive only in the lungs of the infected mice. Vascular congestion, increase in the labyrinth area, and a significant reduction in fetal capillary endothelium surface of infected placentas were found. Proliferation was significantly reduced in the infected placentas, whereas the apoptosis was significantly increased. IL10, TNF and IFN- γ showed different expression in the infected placentas and uteri. The effects of EHV-1 during pregnancy depend on different pathogenic mechanisms in which vascular alterations, and cell death and proliferation and local cytokine changes are compromised.

7.4.3

A single ELISA for routine detection of antibodies against Mouse Minute Virus (MMV) in mice colonies

Juan M Laborde, Guillermo H Sguazza, Nadia A Fuentealba, Santiago G Corva, Cecilia Carbone C, Cecilia M Galosi

Abstract

In this study we obtained an easy to produce and sensitive antigen for to use in a indirect ELISA test to detect antibodies against Mouse Minute Virus (MMV). The antigen was produced from BHK-21 cells trypsinized and placed in a new culture bottle with prototype strain of MMV simultaneously. The optimal concentration of antigen and serum dilutions was established. Optimized ELISA was validated by detection of antibodies in known positive and negative serum samples before testing a panel of 460 sera of conventional facilities. The reproducibility and repeatability within plate and among plates was determined. Performance of ELISA was compared with the indirect fluorescent antibody test, and the cutoff value was determined by receiver operating curve. ELISA showed 100% sensitivity and 99% specificity. The 18,75% of sera analyzed were found to be positive indicating seroprevalence consistent with other countries. This ELISA is an useful tool for develop in standard laboratories of virology and can be use in several countries for screening animals more quickly than with traditional indirect fluorescent antibody test. Parvovirus infections continue to be a problem in laboratory animal facilities, therefore sensitive and specific techniques must be continuously developed for to prevent the transmission between animal facilities and to minimize its interference with researches

7.5 COMUNICACIONES.

7.5.1

Estandarización del tiempo posifección para el estudio de la respuesta inmune local en la patogenia del aborto inducido por Herpes Virus Equino 1. Bravi ME, Scrochi MR, Fuentealba NA, Sguazza HG, Muglia CI, Nishida F, Portiansky EL, Barbeito CG, Gimeno EJ, Zanuzzi CN, Galosi CM. IX Reunión Argentina de Patología Veterinaria (RAPAVE). Tandil, 29 al 31-10-2014.

7.5.2

Búsqueda serológica de reactores a Herpesvirus bovino 1 y virus de la diarrea viral bovina en caprinos de Chamental, La Rioja. Resultados preliminares. Pidone CL; Valera AR; Lopez MA; Merlo CC; Noste JJ; GalosiCM. XX Reunion Cientifica de la AAVLD. Tucuman, 27-29 de noviembre de 2014.

7.5.3

Protective effects of intranasal immunization with recombinant glycoprotein in the BALB/c mouse model of Equine herpesvirus 1 infection Fuentealba N, Sguazza G, Zanuzzi CN, Scrochi M, Bravi M, Cid de la Paz V, Valera A, Corva S, Barbeito CG, Gimeno EJ, Pecoraro M,

Galosi CM.. Second Joint European Congress of the European Society of Veterinary Pathology, European Society or Toxicological Pathology and the European College of Veterinary Pathology. Berlín, 27 al 31-08-2014. Proceedings, pag. 250.

7.5.4

Aislamiento de una nueva cepa del virus de la Enfermedad de Aujeszky a partir de un caso clínico. Serena MS, Metz GE, Lozada MI, Di Paolo LA, Travería G, Quiroga MA, Galosi CM, Echeverria MG. XX Reunion Cientifica de la AAVLD. Tucuman, 27-29 de noviembre de 2014.

7.5.5

Estudios virológicos, moleculares, epidemiológicos y biotecnológicos aplicados al conocimiento y control de virosis de interes sanitario y económico (Parte II). Galosi CM, Echeverria MG, Pecoraro MR, Valera AR, Cid de la Paz V, Sguazza GH, Fuentealba NA, Tizzano MA, Panei CJ, Serena MS, Metz GE, Scrochi MR, Bravi ME, Abeya MM, Fernandez V, Reynaldi FJ, Mortola EC, Larsen A, Corva SG, De Palma VE, Cassagne PN, Marti GA, Susevich ML. Jornadas de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, 26-28 de noviembre de 2014.-

(ISSN impresa 0365514-8, electrónica 1514-2590). Analecta veterinaria 2014, 34 (1-2)

http://www.fcv.unlp.edu.ar/images/stories/analecta/vol_34_n1/Resumenes.pdf

7.5.6

Respuesta inmune local en la patogenia del aborto inducido por Herpesvirus equino 1. Bravi ME, Zanuzzi CN, Galosi CM.

Jornadas de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, 26-28 de noviembre de 2014.-

(ISSN impresa 0365514-8, electrónica 1514-2590). Analecta veterinaria 2014, 34 (1-2)

http://www.fcv.unlp.edu.ar/images/stories/analecta/vol_34_n1/Resumenes.pdf

7.5.7

Herpesvirus equino 1: evaluación de la apoptosis en cultivos de células heterólogas y homólogas y en pulmón de ratones BALB/c, como mecanismo patogénico y de evasión de la respuesta inmune del hospedador. Scrochi MR, Galosi CM, Barbeito CG, Zanuzzi CN, Muglia C. Analecta veterinaria 2014, 34 (1-2). Jornadas de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, 26-28 de noviembre de 2014.- (ISSN impresa 0365514-8, electrónica 1514-2590).

http://www.fcv.unlp.edu.ar/images/stories/analecta/vol_34_n1/Resumenes.pdf

7.5.8

Cultivos celulares primarios de cornea felina para el estudio de herpesvirus felino (FHV-1). Cassagne P, Cid de la Paz V, Zapata GL, Galosi CM, Fuentealba NA, DePalma V. a cargo de Pamela Cassagne.

III Encuentro de oftalmología veterinaria, Bs As, 1 de diciembre de 2014. Exposición oral .

7.5.9

Modulación de la apoptosis en cultivos celulares heterólogos y homólogos infectados con Herpesvirus equino 1. Scrochi MR; Bravi ME; Fuentealba NA; Gimeno EJ; Portiansky EL; BarbeitoCG; Muglia CI; Zanuzzi CN; Galosi CM.

XVI Congreso y XXXIV Reunion Anual Sociedad de Biología de Rosario. 4-5 de diciembre de 2014, Rosario Santa Fe. ISSN 2314-1484.

7.5.10

Caracterización molecular de la proteína de la capsida del virus de Artritis encefalitis caprina detectado en cabras de Argentina. Panei CJ, Dellarupe2 A, Gos ML, Metz GE, Serena MS, Larsen A, Galosi CM, Echeverría MG.

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina.

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

7.5.11

El herpesvirus equino 1 interfiere con la apoptosis de las células infectadas. Scrochi MR, Bravi ME, Fuentealba NA, Gimeno EJ, Portiansky EL, Barbeito CG, Zanuzzi CN, Muglia CI, Galosi CM.

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina.

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

7.5.12

Expresión de la glicoproteína del virus de la rabia en Pichia Pastoris. Picotto LD, Sguazza GH, Galosi CM, Cavalitto SF, Pecoraro MR.

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina.

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

7.5.13

Cambios moleculares a nivel de la respuesta inmune local ante la infección experimental por herpesvirus equino 1 en el modelo ratón BALB/c. Bravi ME, Sguazza GH, Scrochi MR, Fuentealba NA, Nishida F, Orsini Delgado L, Smaldini P, Docena G, Barbeito CG, Muglia CI, Zanuzzi CN, Galosi CM.

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

7.5.14

Análisis preliminar de las propiedades inmunogénicas de la proteína de fusión y la hemaglutinina del virus del Distemper canino obtenidas en forma recombinante en la levadura *Pichia Pastoris*. Tizzano MA, Sguazza GH, Fuentealba NA, Picotto LD, Galosi CM, Pecoraro MRI.

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

7.5.15

Detección de virus que afectan a las abejas durante el periodo 2009-2014. Castilla RS, Reynaldi FJ, Sguazza GH, Pecoraro MR, Galosi CM .

XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina.

<http://www.cav2015.com.ar/pdf/Libro-de-resumenes.pdf>

Trabajo premiado por la American Society of Microbiology.

7.5.16

Estudios patogénicos-moleculares asociados a la infección por Herpesvirus equino 1. Bravi ME, Scrochi MR, Fuentealba NA, Sguazza GH, Nishida F, Cid de la Paz V, Corva SG, Barbeito CG, Gimeno EJ, Portiansky EL, Muglia CI, Zanuzzi CN, Galosi CM.

XXIII Jornadas Jóvenes investigadores de AUGM, Universidad Nacional de La Plata, 24 de agosto de 2015

7.5.17

Herpesvirus felino 1 (FHV-1). Aislamiento de cepas virales en pacientes felinos con signología ocular y respiratoria. Cassagne PN, De Palma VE, Cid de la Paz V, Galosi CM, Fuentealba NA.

9nas. Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica, Mar del Plata, 28-29 de agosto de 2015

<http://cvpba.org/noticias/jornadas-2015/posters-de-las-9nas-jornadas/>

7.5.18

Diagnóstico de Leucosis bovina enzoótica (BLV) en sangre periférica de animales asintomáticos mediante droplet digital PCR (DDPCR).

Puentes R, Flatschart A, Panei CJ, Galosi CM, Nicolini P, LLambí S, Flatschart R.

9as Jornadas de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular (SBBM, SUB)

Universidad de la República (UdelaR), 15-16 de octubre de 2015. Montevideo, URUGUAY

<http://www.iibce.edu.uy/SBBM/Jornadas.html>

7.5.19

Development of an AGID based on baculovirus expressed Pseudorabies virus glycoprotein

B. Serena MS; Metz GE; Panei CJ; Larsen AE; Aspitia CG; Palacios M; Galosi CM; Mortola EC; Echeverria MG

11th Congress of the Latin American Association of Immunology (ALAI) and 10th Congress of the Asociación Colombiana de Alergia, Asma e Inmunología (ACAAI) IMMUNOCOLOMBIA 2015.: Medellín; Colombia, octubre de 2015

http://www.frontiersin.org/Community/AbstractDetails.aspx?ABS_DOI=10.3389/conf.fimmu.2015.05.00236&eid=2531&sname=IMMUNOCOLOMBIA2015 -

[11th Congress of the Latin American Association of Immunology - 10o Congreso d](#)

7.5.20

Estudios preliminares sobre la respuesta inmune inducida por las glicoproteínas D y C del Herpesvirus equino 1 (EHV-1) en ratones BALB/c.

Fuentealba NA, Bravi ME, Scrochi MR, Sguazza GH, Zanuzzi CN, Gimeno EJ, Galosi CM

II Jornada Internacional y VII Jornada y Reunion Anual de la Asociacion Argentina de Inmunologia Veterinaria, Campus Universitario de Tandil 25-26 de noviembre de 2015.

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES.

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES

Continuación con la implementación de BPL en el laboratorio de la Cátedra de Virología de la FCV UNLP

- Ingreso personal a Red de Diagnóstico de Leucosis Bovina (LB) Marzo de 2014 (050/14)

- Auditoria de SENASA diciembre de 2014 al Servicio de diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina (AIE). Resultado sin novedades
- Auditoria de SENASA diciembre de 2014 al Servicio de diagnóstico de Leucosis Bovina. Resultado sin novedades
- Mantenimiento en Red de AIE y LB, 2015. Pruebas de proeficiencia superadas.
- Aprobada la comercialización del nuevo antígeno recombinante elaborado en la Catedra de Virologia para diagnóstico de AIE (diciembre de 2015) Expediente 25177/14 Certificado 15-162
- Rehabilitación del Laboratorio de Virologia (diciembre de 2015). Certificación en trámite

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS.

Informe técnico: Reynaldi FJ; Sguazza GH; Castilla RS; Pecoraro MR; Galosi CM. Virosis que afectan a las abejas de la República Argentina. www.senasa.gov.ar 2015

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.1.1

Guías de Actividades presenciales obligatorias (APO) para los alumnos de Microbiología I y II parte del Plan de estudio vigente de la FCV-UNLP. En esta elaboración interviene todo el personal docente de la Cátedra. Reedición 2014-2015.

10.1.2

Guías de Actividades presenciales obligatorias (APO) para los alumnos Analisis clínicos veterinarios del Plan de estudio vigente de la FCV-UNLP. Participación personal. Reedición 2014-2015.

10.1.3

Reestructuración de plataforma Moodle para el desarrollo de la Especialización en Diagnostico Veterinario de Laboratorio, Módulo Virologia

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.

Becario de entrenamiento

Apellido y nombre del becario: Castilla Rocio Soledad

(Directores: Galosi CM, Reynaldi FJ)

Año: 10/14 al 9/15

Tema: Virus de las alas deformadas (DWV) que afectan la producción apícola de la Provincia de Buenos Aires. Su relación con *Varroa destructor*. Análisis de variabilidad genómica de diferentes aislamientos.

Institución otorgante: CIC Pcia de Bs As Acta 1406/14, Res 1382/14

Categoría: Entrenamiento para alumnos

Becarios de posgrado

Apellido y nombre del becario: Lic. Nadia A. Fuentealba

Año: 2007- 2014

Tema: Herpesvirus equino 1: estudio de la expresión de proteínas antigénicas y evaluación de la respuesta inmune inducida. Rol de la inmunidad de mucosas en ratones BALB/c inmunizados por vía intranasal con la glicoproteína D recombinante (gpD-Bac) de herpesvirus equino-1.

Institución otorgante: CONICET

Categoría: PG tipo I, PG tipo II y Posdoctoral

Apellido y nombre del becario: Mariela Scrochi

Año: 2012-2017

Tema: Herpesvirus equino 1: inhibición de la apoptosis como mecanismo patogénico y de evasión de la respuesta inmune del hospedador.

Institución otorgante: CONICET. Otorgada además por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As y renunciada por incompatibilidad.

Categoría: Posgrado tipo I (Exp. 001526/11) y II (Res.1736)

Apellido y nombre del becario: Maria E Bravi

Año: 2013-2016

Tema: Respuesta inmune local en la patogenia del aborto producido por Herpesvirus equino 1.

Institución otorgante: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT2011-1123).

Categoría: Inicial (doctoral) FONCyT

INVESTIGADORES

Apellido y nombre: Dra Nadia Fuentealba (Dirección)

Año: Designado el ingreso en septiembre de 2014 (Expediente N° 7963/13) Posesion 1/3/2015.

Tema: Estrategias de inmunización contra Herpesvirus equino 1 utilizando glicoproteínas recombinantes

Institución: CONICET

Lugar de Trabajo: Cátedras de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Apellido y nombre: Dra Maria S Serena (Codirección)

Año: Res. 3993, 16/11/13

Tema: Estudio de virosis porcinas que afectan la reproducción y su posible asociación con la presencia de fallas reproductivas. Aspectos sanitarios y epidemiológicos

Institución: CONICET

Lugar de Trabajo: Cátedras de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Apellido y nombre: Dr Carlos J Panei (Codirección)

Año: Res. 3186 , 4/9/2013

Tema: Elaboración de equipos de diagnóstico para la detección del virus de Maedi-Visna (MVV) y del Virus de Artritis-Encefalitis Caprina (CAEV) en pequeños rumiantes

Institución: CONICET

Lugar de Trabajo: Cátedras de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

12. DIRECCION DE TESIS.

TESIS DE MAESTRIA en curso

Apellido y nombre del maestrando: Veterinaria Ana L Piskorz

Año: Inicio 2015

Tema: Estudio comparativo de modelos experimentales para la evaluación de la respuesta inmune humoral inducida por inmunógenos contra Herpesvirus equino 1

Universidad: Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Lugar de Trabajo: SENASA (Laboratorio Martinez) y Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

TESIS DE DOCTORADO en curso

Apellido y nombre del doctorando: MV Mariela R Scrochi

Año: Inicio 2012 , en redacción

Tema: *Herpesvirus equino 1*: evaluación de la apoptosis celular como mecanismo patogénico y de evasión de la respuesta inmune del hospedador

Universidad: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Lugar de Trabajo: Cátedras de Virología e Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Apellido y nombre del doctorando: MV Maria E Bravi

Año: Inicio 2013 (Obtuvo Beca CONICET de finalización de doctorado)

Tema: Respuesta inmune local en la patogenia del aborto producido por Herpesvirus equino 1.

Universidad: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Lugar de Trabajo: Cátedras de Virología e Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Apellido y nombre del doctorando: Lic. Juan M Laborde

Año: Inicio 2010, Tesis en redacción a defender en 2016

Tema: Estudio de la prevalencia de infecciones producidas por el Virus Diminuto del Ratón (MMV) en Bioterios de Argentina y su influencia en la contaminación de tumores trasplantables

Universidad: Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Lugar de Trabajo: Cátedras de Animales de Laboratorio y Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

PERSONAL DE APOYO A LA INVESTIGACION

Apellido y nombre : Med Vet. Viviana Cid de la Paz

Institución: Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As. Cat Principal. Res 961/09-continúa

Lugar de Trabajo: Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.

De Investigación

Los trabajos científicos presentados se citan en el punto 7.5

13.1 Congreso Argentino de Zoonosis. La Plata 4-6 de junio de 2014, Argentina.

Miembro del Comité Científico, Coordinadora de MR sobre Influenza.

13.2 XXXIV Reunión científica anual de la Sociedad Argentina de Virología (SAV) dependiente de la Asociación Argentina de Microbiología. Bs As 2 de diciembre de 2014.

Miembro Comité organizador

13.3 CONFERENCIA “Relaciones virus-huesped y el problema de la emergencia” a cargo del Dr M Lozano. Sociedad Argentina de Virologia, Asociación Argentina de Microbiología. 15 de mayo de 2015.-

Organización y Asistente

13.4 XI CONGRESO ARGENTINO DE VIROLOGIA Y II SIMPOSIO DE VIROLOGIA VETERINARIA. Buenos Aires , 22-25 de junio de 2015

Miembro de Comité Científico organizador del Congreso, Organizadora del Simposio de Virologia Veterinaria, Asistente y expositor de trabajos

13.5 9NAS. JORNADAS INTERNACIONALES DE VETERINARIA PRÁCTICA. Mar del Plata, 28-29 de agosto de 2015.

Asistente y expositor de trabajos

13.6 XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE VIROLOGIA , X ENCONTRO DE VIROLOGIA DO MERCOSUL . Florianopolis Brasil, 11-14 de octubre de 2015.

Asistente y presentador de trabajo

13.7 4TH MEETING OF THE LATIN AMERICAN SOCIETY FOR IMMUNODEFICIENCIES. 4TH MEETING OF THE LATIN AMERICAN SOCIETY FOR IMMUNODEFICIENCIES (LASID 2015), Bs As 18-21 de noviembre de 2015.

Evaluador de trabajos

13.8 XXXV REUNION CIENTIFICA ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE VIROLOGIA (SAV) dependiente de la ASOCIACION ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA. Buenos Aires 3/12/15.

Organizador, Asistente,

De Docencia y Extensión

13.9 Organizadora conjunta con docentes investigadores de la FCAyF, de la actividad de Extensión “Virus de las abejas, avances e investigaciones en la unidad de abejas y medioambiente del Instituto Nacional para la Investigación Agronómica de Francia (INRA): Dra Anne Dalmon, Investigadora del INRA en la ciudad de Avignon y responsable de la Unidad de Investigación del Medio Ambiente y las abejas. 20 de octubre de 2014.-

13.10 Asistente a la 2º JORNADA DE ENSEÑANZA DE MEDICINA VETERINARIA. (Reunión de Docentes de Microbiología Veterinaria). Organizada por las Facultades de Veterinaria del Centro de la Pcia de Bs As, La Plata, La Pampa, Cuyo, del Litoral y por el Colegio de Veterinarios de la Pcia de Bs As. Mar del Plata 28 de agosto de 2015.

Otras

13.11 Jornada de Propiedad Intelectual: Taller sobre patentes. Secretaria de Ciencia y Técnica de la FCV-UNLP. 6 de noviembre de 2015

14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.

Docencia

Nombre: Evaluación asistida por computadora. Uso de software. Implementación en plataforma

Institución y duración: Secretaría de Posgrado, FCV-UNLP.

Carga horaria: 20 horas, semipresencial. Julio-agosto de 2014

Aprobado

15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.

15.1 - PIP CONICET PIP 2012-2014 GI. N° 0851/12. Subsidio Monto: \$36000. Duración 3 años. Proyecto: Estudio de las principales virosis que afectan la producción apícola en la República Argentina. **Investigadores Responsables:** Dr Francisco Reynaldi y Dra Cecilia Galosi. Grupo: Dr Pecoraro Marcelo. Dr Guillermo H Sguazza, Dra Nadia Fuentealba.

<http://web.conicet.gov.ar/documents/11794/0/PIP+convocatoria+2012-2014+aprobados.pdf>

Aun en usufructo por atrasos en los pagos

15.2 - PICT 2011-1123. Res 140/12 Temas abiertos (tipo A). Mecanismos patogénicos del herpesvirus equino 1. Su potencial importancia para estrategias terapéuticas y profilácticas. **Galosi CM (Investigador responsable);** Gimeno EJ y Zanuzzi CN (Grupo responsable); Colaboradores: Portiansky EL, Barbeito CG, Pecoraro MR, Muglia C, Sguazza GH, Fuentealba NA, Nishida F, Scrochi MR; Conde A, Leguizamón C. Institución otorgante: Agencia Nacional de Promoción Científica, Tecnológica e Innovación Productiva (ANPCyT). 3 años. \$268.800. 28/09/12 a 27/09/15. <http://www.mincyt.gov.ar/convocatoria/pict-2011-7804>

Prorrogado hasta mayo de 2016.-

15.3- Subsidio Monto: \$8000. Duración 1 año. **Proyecto de Carrera de Investigador:** Estudios virológicos, patogénicos, moleculares y epidemiológicos en virus de interés veterinario y productivo. Institución otorgante: Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As. Acta 1395/13

<http://www.cic.gba.gov.ar/lesgislacion/actas.htm>

15.4- Subsidio Monto: \$35000 (2014). **Investigador responsable** Categoría I de Proyecto Incentivos Docentes UNLP: V221 Estudios virológicos, moleculares, epidemiológicos y biotecnológicos aplicados al conocimiento y control de virosis de interés sanitario y económico. Año 2014-2017.

<http://secyt.presi.unlp.edu.ar/Wordpress/?p=3000>

15.5- Subsidio Monto: \$15000. Subsidio CONICET para organización de Reuniones Científicas 2015 (II Simposio de Virología Veterinaria en el marco del XI Congreso Argentino de Virología y II Congreso Latinoamericano de Virología Resolución N° 5059/14.

15.6- Subsidio Monto: \$ 8000. Subsidio de la SeCyT de la UNLP para el programa de viajes y estancias de investigadores, para la asistencia al Congreso de la Sociedad Brasileira de Virología (10-14 de octubre de 2015). (Res. 753/15)

http://secyt.presi.unlp.edu.ar/varios/resolucion753_15_viajes2015_1.pdf

15.7 Subsidio Monto: \$10000. Duración 1 año. **Proyecto de Carrera de Investigador:** Estudios virológicos, patogénicos, moleculares y epidemiológicos en virus de interés veterinario y productivo. Institución otorgante: Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As. Acta 1411/14 (Res. 1266/14) <http://www.cic.gba.gov.ar/lesgislacion/actas.htm>

15.8- Subsidio Monto: \$52123 (Res 1147/15). **Investigador responsable** Categoría I de Proyecto Incentivos Docentes UNLP: V221 Estudios virológicos, moleculares, epidemiológicos y biotecnológicos aplicados al conocimiento y control de virosis de interés sanitario y económico. Año 2014-2017.

http://secyt.presi.unlp.edu.ar/varios/resolucion_1147_adjudicados_completa.pdf

16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

17.1-Premio al mejor trabajo en poster en Virología veterinaria otorgada por la American Society for Microbiology en el marco del XI Congreso Argentino de Virología, Simposio de Virología Clínica y II Simposio de Virología Veterinaria. Bs As, 23-26 de junio de 2015, Argentina. Trabajo: Detección de virus que afectan a las abejas durante el periodo 2009-2014. Autores: Castilla RS, Reynaldi FJ, Sguazza GH, Pecoraro MR, Galosi CM .

17.2- Premio al trabajo “Análisis de la relación entre virus y Varroa destructor en colmenas de Buenos Aires”. Area Microbiología. Autores: Castilla RS, Reynaldi FJ, Sguazza GH, Guardia Lopez A, Galosi CM, Pecoraro MR.

9nas. Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica, Mar del Plata, 28-29 de agosto de 2015.

18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA y/o UNIVERSITARIA

18.1 Evaluadora de Proyectos de Investigación Científica y Tecnológica, Ministerio de Cultura y Educación, Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. 2014

18.2 Evaluadora Proyectos de Investigación UBACyT. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, 2011-2014.

18.3 Miembro representante de la UNLP para actuar de Jurado en el Concurso del cargo de Director del Instituto de Genética Veterinaria (IGeVet) Fernando Doulut FCV-UNLP. Res 351/14 y 2838/14. 2014

18.4 Integrante del Registro de Expertos de CONEAU. Desde setiembre de 2014

18.5 Convocada como Par evaluador de CONEAU (diciembre de 2014) para evaluación de las Carreras de Ciencias Veterinarias. Función no ejecutada por superposición con tareas en Facultad de Veterinaria de Uruguay.

18.6 Miembro integrante de la Comisión Asesora Honoraria Ciencias Agrícolas, Producción y Salud Animal, Comisión de Investigaciones científicas de la Pcia de Bs As, Acta 1407/14. 2014-continúa

18.7 Evaluador de informes de incentivos Area Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de San Martín (Codigos 10020140200061 y 10020140200072). 2015

18.8 Integrante del Banco de Evaluadores para Carrera Académica de la Universidad Nacional del Centro, Comisión Evaluadora correspondiente al Departamento de Sanidad Animal y Medicina

Preventiva. Res HCS 2015.

18.9 Evaluadora de Proyectos de Investigación Científica y Tecnológica, Ministerio de Cultura y Educación, Secretaría para la Tecnología, la Ciencia y la Innovación Productiva. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. 2015.

18.10 Miembro de la Comisión Asesora de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP . 2014-2018. Res 304/14

18.11 Miembro titular de la Junta Departamental del Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP . Res 379/14

18.12 Miembro Comisión de la Comisión Asesora Técnica (CAT) de Ciencias Naturales UNLP (Convocatoria a Becas) 2014-2015-2016.

18.13 Miembro de la Comisión de Actividades Educativas de Posgrado a Distancia. Secretaría de Posgrado, Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. **Exp. 0600-003500/15. Res. 1013/15.** Periodo 2015-continua

18.14 Evaluador informes becas Vocaciones Científicas 2015, UNLP.

18.15 Concursos docentes

- Miembro suplente de la Comisión asesora encargada de dictaminar en el concurso para cubrir un (1) cargo de Jefe de Trabajos Prácticos dedicación simple, y dos (2) cargos de Ayudante Diplomado dedicación simple, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Epizootiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. (Exp. 600-0003377/15-000. Res. 581/15)
- Miembro titular de la Comisión asesora encargada de dictaminar en el concurso para cubrir un (1) cargo de Jefe de Trabajos Prácticos dedicación semi exclusiva, y dos (2) cargos de Ayudante Diplomado dedicación simple, Cátedra de Micología Médica e Industrial (Carrera de Microbiología Clínica e Industrial), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. (Exp. 600-0003336/15-000. Res. 574/15)
- Miembro suplente de la Comisión asesora encargada de dictaminar en el concurso para cubrir un (1) cargo de Jefe de Trabajos Prácticos dedicación semi exclusiva, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Epizootiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. (Exp. 600-0003448/15-000. Res.634/15)

18.16 Jurado de tesis y/o tesinas

- Miembro del Jurado evaluador de la Tesis Doctoral del Med.Vet Maria Ines Lozada, Tema: Estudios epidemiológicos, anatomopatológicos y virológicos del Complejo respiratorio infeccioso porcino FCV-UNLP, 2014
- Miembro del Jurado evaluador de la Tesis doctoral de la MV Victoria Nieto Farias: Estudios de dinámica celular en animales infectados con el virus de la leucosis bovina (BLV) que desarrollan baja o alta carga proviral. Tandil, 2 de setiembre de 2014

- Miembro del Jurado evaluador de la Tesis doctoral de la MV Spasandin Ana G: Evaluación de la resistencia genética a la Anemia Infecciosa Equina en caballos de una zona endémica de la Argentina, 2 de setiembre de 2014.
- Miembro del Jurado evaluador de la Tesis Doctoral del Med.Vet Nicolás Streitemberger: Estudios clínicos, anatomopatológicos y virológicos del complejo Enfermedad Respiratoria Bovina en engorde a corral FCV-UNLP, 2014, Res, 643/14
- Miembro del Jurado evaluador de la Tesis Doctoral del Lic.Daniel E Rensetti: Estudio de los mecanismos asociados a la neuropatogénesis del Herpesvirus bovino tipo 5 (BoHV-5) en su hospedador natural FCV-UNLP, 2015, Res.870/15

COMITES EDITORIALES/REVISOR

Nacionales

- 01** Revisor Revista Analecta Veterinaria (Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLP) 2009-continua
- 02** Revisor Revista de la Asociación Argentina de Microbiología (RAM) 2005-continua
- 03** Comité científico asesor Revista INVET (Facultad de Veterinaria - Universidad de Buenos Aires) 2010-continua
- 04** Comité científico asesor Revista de la Asociación Argentina de Microbiología (RAM) 2015-continua <http://aam.org.ar/revista.php>

Internacionales

- 01** Evaluador Revista Veterinaria (Montevideo-Uruguay).2009-continua
- 02** Reviewer Journal of Virological Methods (Elsevier). 2010-continua
- 03** Reviewer Virologica Sinica (Springer). 2011-continua
- 04** Reviewer Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP 2011-continua
- 05** Reviewer Journal Veterinary Diagnostic and Investigation (WAVLD) 2012-continua
- 06** Reviewer Brazilian Journal of Microbiology (BJM) (Brasil) 2013-continua
- 07** Reviewer Virus Reviews and Research (SBV-Brasil) 2014-continua

19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

Profesor titular (Exp.600-008657/12, Res. 39/12)

Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP.

Periodicidad: desde julio de 2012-continúa

Cargo concursado en marzo de 2014 y otorgado por Res. 116/14 del Consejo Directivo.

Dejado sin efecto por Disposición 409/14 del Consejo Superior (anulación del llamado completo de todos los cargos por defectos de procedimiento generales)

Actividad docente en:

Curso de Virología, Carrera de Microbiología Clínica e Industrial (4 hs semanales durante 18 semanas)

Cursos de Microbiología I y II, Carrera de Ciencias Veterinarias, (5 horas semanales durante 7 semanas)

Curso de Enfermedades de los equinos, Carrera de Ciencias Veterinarias, (8 hs en una semana)

Curso de Análisis Clínicos Veterinarios, Carrera de Ciencias Veterinarias, (8 hs en una semana)

Coordinador suplente (2014-2015)

Carrera de Especialización en Diagnóstico Veterinario, Coordinadora y docente del Módulo de Diagnóstico virológico. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, 2012, 2013 (16 horas durante tres semanas incluyendo sábados)

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.

20.1 CREACION Y DIRECCION DEL LABORATORIO DE VIROLOGIA (LAVIR)

Directora del Laboratorio de Virologia (LAVIR) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (reconocimiento como unidad de investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Expediente: 600-003520/15 , Res 1004/15) para su posterior reconocimiento por la UNLP

Presentación elaborada durante el año 2014 y presentada en el año 2015.

Tarea personal desarrollada: responsable de recolección de la información, organización, realización de la presentación y confección del reglamento.

Estado actual del trámite: Reconocido por FCV, en evaluación por UNLP.

Marco teórico que fundamentó la presentación

Las enfermedades virales son una de las causas más importantes de enfermedad en el hombre y en los animales. Hace pocas décadas atrás poco se hacía en relación a las mismas sin embargo, en la actualidad, con el soporte técnico del diagnóstico rápido y preciso y la existencia

de tratamientos efectivos para muchas de ellas, la visión sobre las enfermedades virales ha cambiado sustancialmente. Conjugados estos aspectos con los avances en Inmunología y Biología molecular, los conceptos sobre diagnóstico, patogenia y prevención de las enfermedades virales permitieron construir una nueva concepción de la virología.

En este contexto, desde hace ya casi 50 años de su creación, la Cátedra de Virología no permaneció ajena a los cambios y las investigaciones, en un comienzo básicas, avanzaron de acuerdo a la evolución de esta ciencia y de sus herramientas de estudio.

La Cátedra de Virología se organizó entre los años 1966-1967, etapa en la que se acondicionó el edificio (actual Pabellón Nocard) para armar en primera instancia un laboratorio de cultivos celulares. Ya estaba en la decisión oficial de las autoridades de crear a la Cátedra de Virología. La primera actividad que se realizó fue el "Curso internacional de Virología" con profesionales llegados desde Francia y al que asistieron invitados extranjeros, de INTA, UBA y del Instituto Malbrán. Recién en agosto de 1969 se comenzó con el dictado de la materia bajo la dirección de la Dra María E Etcheverigaray. Posteriormente y con la incorporación de nuevos profesionales en docencia y en investigación en el área, se reorganizó el curso original y se lograron los primeros doctorados en Virología.

En un comienzo, los temas de investigación estuvieron relacionados con las virosis aviares hasta que en la década del 70 y habiéndose desarrollado el test de Coggins como método de referencia para el diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina (AIE), se iniciaron los diagnósticos de dicha enfermedad, en un comienzo dirigida a los equinos del Hipódromo de La Plata y luego como servicios a terceros a veterinarios de organismos oficiales y de práctica privada. Ya iniciada la década del 80 se comenzaron investigaciones en otras virosis equinas, bovinas y porcinas y cuyos resultados fueron siendo transmitidos en Cursos de Perfeccionamientos para Profesionales del servicio sanitario animal (SELSA).

Desde el año 1985 se iniciaron los convenios con JICA plasmados en la asistencia de varios expertos, instruyendo a becarios de otros países de Latinoamérica, hubo una permanente incorporación de becarios de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As, del CONICET y de la UNLP y además se sumaron cursos de extensión.

Como resultado tangible de la capacitación y formación de profesionales en el marco del desarrollo de los Proyectos con JICA, en el año 1986 la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP, fue inscripta como Laboratorio elaborador, fraccionador y distribuidor de Antígenos y Vacunas virales (SENASA-SELAB Certificación N° 10028). En el año 1987 le fue otorgada la Certificación N° 691/87 SENASA-SELAB que la autorizó como laboratorio para el uso y comercialización del producto "Antígeno para diagnóstico por inmunodifusión de Anemia Infecciosa Equina". En 1988, se le otorgó la Certificación N° 923/88 SENASA-SELAB que autorizó al laboratorio el uso y la comercialización del producto "Antígeno para diagnóstico por

inmunodifusión de Leucosis Enzoótica Bovina (Exp SENASA 40285/87, Certificado 88494). Actualmente estos productos continúan siendo desarrollados y, en el año 2015, ha sido aprobado por el SENASA un nuevo Antígeno para la detección de anticuerpos contra Anemia Infecciosa Equina cuya elaboración de basa en la producción de proteína recombinante en un sistema de *P.Pastoris* y que en este momento está a la espera de número de certificado (exp. 25177/14, Certificado 15-162).

Sin duda los proyectos con JICA y la Universidad de Tokyo constituyeron un antes y un después en el equipamiento del laboratorio de la Cátedra de Virología proyectado en un pujante desarrollo científico de la misma que se plasmó en la formación de nuevos recursos humanos en los años 90 en las diferentes líneas de trabajo concretándose así varios trabajos de Tesis de Maestría y Doctorado.

Este trabajo de todo un equipo no hubiera sido posible si además no se hubiese contado con el valorable apoyo económico de los subsidios en el marco del Programa de incentivos docentes iniciado en la década del 90, de la continua actividad de servicios a terceros que se realizaba en el laboratorio, de los Proyectos de convocatorias nacionales y provinciales (PME, PRAMIN, PRIETEC, PICT, Subsidios CIC, etc) que permitieron remodelar partes del laboratorio y construir un laboratorio de Producción de proteínas recombinantes y bioprocesos.

Los logros desde la creación de la Cátedra de Virología hasta el año 2009 pueden sintetizarse en: 1) aproximadamente 200 comunicaciones en Congresos nacionales e internacionales, 2) más de 150 publicaciones de trabajos en revistas nacionales y extranjeras, 3) tres productos de aplicación al diagnóstico y control de virosis de interés veterinario que actualmente están en producción y venta, 4) más de 80 subsidios recibidos en el marco de desarrollo de proyectos de investigación, 5) dictado de más de 40 cursos de posgrado, 7) premios/menciones por tareas de investigación, 8) participaciones varias en la resolución de problemas sanitarios veterinarios en colaboración con diversas instituciones nacionales (SENASA, INTA y CEVAN) y 9) participación de la mayoría de los integrantes de la Cátedra (de acuerdo a cada categoría) en tareas como revisores de revistas científicas y en comisiones asesoras y de gestión en la FCV, en la UNLP y en organismos de Ciencia y Técnica nacionales (CIC PBA, CONICET, FONCyT, etc) e internacionales (DIME- Colombia, ANNI Uruguay, etc).

Actualmente en el Laboratorio de Virología trabajan 21 profesionales (11 Docentes categorizados y 7 en proceso de categorización). De ellos 1 es investigador de CIC PBA, 6 del CONICET, 1 es Profesional de apoyo de CIC PBA, 4 becarios-doctorandos, un docente doctorando, 3 becarios alumnos. Forman parte del personal no docente un técnico y un administrativo, abocados todos al desarrollo contante de sus tareas específicas y trabajando para la continuidad y el engrandecimiento de este Laboratorio que si duda cumple y seguirá cumpliendo

con el desarrollo de los tres pilares básicos de la UNLP: Docencia, Investigación y Extensión siguiendo además una política de vinculación tecnológica con el medio.

Por lo expresado anteriormente se consideró que el reconocimiento como una Unidad de Investigación de la UNLP, aportaría un marco institucional que completaría la trascendencia de los logros obtenidos.

El **objetivo general** del Laboratorio de Virología (LAVIR) es que la investigación y el desarrollo en Virología básica y aplicada contribuya a: avanzar en el conocimiento de la ciencia y en la formación de recursos humanos (Investigación), transmitir los conocimientos generados a los alumnos de la carrera de Medicina Veterinaria y Microbiología Clínica e Industrial (Docencia), transferir los conocimientos generados a la comunidad (Transferencia), fortalecer los vínculos con la misma para la resolución de problemas específicos (Extensión) y mantener el contacto permanente con diferentes organizaciones propiciando la realización de convenios (Vinculación).

Son **objetivos específicos**:

- Contribuir para lograr que cada línea de investigación se desarrolle para conformarse como grupo consolidado.
- Concientizar en la realización de trabajo en equipo
- Fortalecer la relación a nivel nacional e internacional con grupos actuantes en las mismas líneas de investigación
- Lograr nuevos sistemas de financiamiento de las investigaciones
- Analizar la incorporación de nuevas líneas de trabajo
- Propiciar la realización de pasantías y estadías en otros centros de investigación para consolidar la formación de los becarios e investigadores jóvenes del laboratorio.
- Continuar incrementando la producción científica en la disciplina.
- Consolidar las actividades docentes de grado y propiciar para que el plantel docente sea incorporado al dictado de otros cursos de las carreras de la FCV íntimamente relacionados con la disciplina
- Fomentar la oferta de cursos de posgrado y pasantías por parte de los integrantes del laboratorio.
- Incentivar a los docentes con claro perfil extensionista a la presentación y concreción de proyectos de extensión y transferencia.
- Continuar con la producción de antígenos de diagnóstico e incorporar de nuevos servicios a terceros.
- Consolidar las relaciones interinstitucionales y con autoridades sanitarias provinciales y nacionales.

- Fortalecer la formación de los recursos humanos en investigación, docencia y extensión para promover la inserción en Comisiones evaluadoras universitarias y de organismos de ciencia y técnica.

20.2 DIRECCION TECNICA

Profesional integrante de la Red Nacional de Ensayos y Diagnóstico del Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria. (Diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina L067) Res.736/06.

Profesional integrante de la Red Nacional de Ensayos y Diagnóstico del Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria. (Diagnóstico de Leucosis bovina enzoótica L067) Res.736/06 (050/2014).

20.3 EXTENSION UNIVERSITARIA

-Proyecto otorgado por el Consejo Federal de Inversiones (CFI) Exp n° 13342.Tema:” Estudio de zonificación y promoción del sector apícola en la Provincia de Buenos Aires. ETAPA II. Implementación”. Coordinador Dr Francisco Reynaldi, Asesores por Catedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias - UNLP: **Dra Cecilia Galosi** y Dr Marcelo Pecoraro **2013-2014**.

-Carta Acuerdo dentro del los Convenio Marco que tiene la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP (contactos Dra. Galosi Cecilia, Dr. Marcelo Pecoraro y Dr. Reynaldi, Francisco J.) con el Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires (contacto: Ing Agr. Ariel Guardia López, Director de la Unidad de Coordinación Apícola del MAA de la Prov. de Buenos Aires). Objetivo del convenio: **1-** relevar la presencia y dispersión de las virosis que afectan a las abejas en la Provincia de Buenos Aires. **2010-a la fecha**.

-Proyecto de Voluntariado Universitario. “Tambo sano”: [Secretaría de Políticas Universitarias Resolución N° 2653](#) del 4 de octubre del 2013 (Expediente N° 2327/13). Docente de la Catedra de Virologia designado para su presentación y ejecución: Dr Alejandro Valera. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Ejecución **2013-2014**.

-Proyecto “Tambo y cerdos sanos”. Facultad de Ciencias Veterinarias, Agrarias y Forestales y Bellas Artes . Docente de la Catedra de Virología designado para su presentación y Ejecución: Dr Alejandro Valera. Participacion personal en el mismo. Res.2015. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Ejecución **2016**.

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.

Estudios virológicos, patogénicos, moleculares y espidemiológico en virus de interés veterinario y productivo (continuación)

Herpesvirus de interés veterinario. *Herpesvirus equino 1 (EHV-1, continuación)*. El EHV-1 produce signos respiratorios, nerviosos, muerte embrionaria, abortos y síndrome neonatal en equinos. Ingresa a través de las vías respiratorias superiores luego de producirse el contagio por inhalación de partículas virales o por contacto con fomites infectados; replica en las células epiteliales y rápidamente atraviesa el epitelio respiratorio para propagarse a las células vecinas de la lámina propia. Dentro de las 24 horas posinfección (pi) pueden detectarse leucocitos mononucleares (PBMC) infectados en el parénquima del tracto respiratorio asociado a los nódulos linfáticos. Una vez allí, se produce una nueva multiplicación viral y los leucocitos infectados son drenados por las vías linfáticas para alcanzar la circulación sanguínea y comenzar la viremia asociada a células. Durante la viremia el virus puede llegar a infectar el endotelio de los vasos sanguíneos y afectar al sistema nervioso central y al útero preñado. La extensión de la viremia va a depender de la carga y cepa viral y del estado inmunitario del animal. Se demostró además que el virus establece latencia en PBMC constituyendo éste uno de los mecanismos de evasión inmunológica al evitar la citotoxicidad dependiente de anticuerpos (Ac). En la latencia, el genoma viral está silenciado, no hay replicación ni traducción, solo se transcriben algunos genes y a algunos de ellos se les atribuyen funciones antiapoptóticas. El estado de latencia funciona como un refugio del virus frente al sistema inmune que puede reactivarse en ciertas circunstancias, como la inmunosupresión. La importancia de la viremia reside en constituir un prerrequisito necesario para la presentación abortigénica de la enfermedad. La llegada al útero depende de la interacción entre los leucocitos infectados y el endotelio, y de diversos factores hormonales y citocinas locales que inducen la expresión de moléculas para el reconocimiento y la adhesión de los leucocitos infectados. Una vez establecida la infección en el útero, los efectos del EHV-1 dependen del momento de la gestación, aunque lo más frecuente es que las hembras infectadas aborten generalmente en el último trimestre de la preñez. El virus latente puede reactivarse generalmente en un momento más avanzado de la gestación en el que se genera un microambiente inmunosupresor. La extensión de las lesiones vasculares condicionaría la viabilidad del feto. Con cepas altamente endoteliotrópicas se producen trombosis e isquemia severas con separación abrupta de la placenta y expulsión de fetos virológicamente negativos. Si los daños vasculares son de menor intensidad, el virus atraviesa la placenta e infecta al feto antes de que se produzca el aborto. De esta manera factores maternos, placentarios y fetales intervendrían en la patogenia. En el útero, desde la implantación y durante toda la gestación, los tejidos extraembrionarios y el sistema inmunitario interactúan y se regulan recíprocamente. Los primeros modulan la respuesta inmune generada para evitar la respuesta inflamatoria hacia los aloantígenos. A su vez, el sistema inmunológico limita y permite la invasión de los tejidos trofoblásticos. En esta regulación intervienen diversas poblaciones de células como los linfocitos T helper 1, 2 y reguladores (LTh1, LTh2 y Tregs), células dendríticas, *Natural Killers* uterinas, macrófagos, mastocitos y células trofoblásticas. En el reclutamiento y comunicación de las poblaciones citadas están involucradas una gran cantidad de moléculas señalizadoras como quemoquinas, citoquinas, hormonas y factores de crecimiento. La identidad de estas moléculas está relativamente bien documentada para cada etapa de la preñez como también su importancia para la viabilidad de las mismas. Además, se ha demostrado que la desregulación en los niveles de éstas puede comprometer la continuidad del conceptus. En los focos de infección por EHV-1, tanto en la placenta equina como en la murina, se desarrolla un notorio proceso inflamatorio y la infiltración diferencial de células inmunitarias que podría reflejarse en cambios en los niveles de citoquinas. Esto sería la causa de la alteración en la unidad madre-feto y, en consecuencia, del aborto. La respuesta inmune ante la infección primaria por EHV-1 genera la producción de Ac con capacidad neutralizante, sin embargo los animales no desarrollan inmunidad duradera contra el virus y siguen siendo susceptibles a la reinfección. La protección de los equinos a la infección depende de la cooperación de la respuesta humoral y celular específica y, la inmunidad de mucosa, es un componente importante en este mecanismo. La respuesta inmune de mucosas,

local y específica para el virus, representa la primera línea de defensa contra la infección y puede impedir el establecimiento de la viremia asociada a leucocitos. Existen mundialmente vacunas inactivadas, atenuadas y han sido ensayadas muchas otras elaboradas por ingeniería genética; sin embargo, todas utilizan la vía intramuscular de aplicación, requieren repeticiones de inmunización y conducen a una respuesta inmune en la que predominan Ac en sangre periférica. Por este motivo la eficacia de las vacunas que se disponen actualmente es limitada y la protección es usualmente incompleta y de corta duración. Muchos estudios realizados con distintos virus, en especial con virus Influenza humana, han demostrado que la inmunidad de mucosas debida a la IgA secretoria (IgA-S) en el tracto respiratorio superior y adquirida posteriormente a una infección natural es mucho más efectiva que la inducida por vacunas parenterales. La IgA sería entonces la responsable de la protección en la mucosa nasal y la IgG protegería al pulmón eliminando la infección viral que se haya establecido. Esta respuesta puede ser inducida por las gp de la envoltura viral, como son la gD y la gC. El principal aspecto que aun no está resuelto sobre la protección a la infección por EHV-1 es como lograr que un inmunógeno estimule una respuesta similar a la infección natural. La vacunación en Argentina no es obligatoria, sin embargo muchos establecimientos utilizan vacunas como medida de profilaxis. Las vacunas disponibles en el mercado nacional, en muchos casos, no se acompañan de datos objetivos que avalen su calidad inmunogénica y eficacia. Además, la dificultad de contar con equinos seronegativos para EHV-1 en nuestro país y el elevado costo de las pruebas de inmunogenicidad en el hospedador natural, plantean la necesidad de desarrollar pruebas confiables en animales de laboratorio que permitan evaluar comparativamente la potencia de cada vacuna, en forma armonizada, garantizando así la presencia en el mercado de productos eficaces y homogéneamente controlados. Por otra parte, se conoce que los herpesvirus desarrollan además distintos mecanismos para evadir la respuesta inmune. Entre ellos uno de los más interesantes es evitar que las células infectadas mueran, lo que permite que el virus siga replicándose en su interior. Mediante estudios experimentales han sido reconocidos varios mecanismos de evasión e inhibición de la apoptosis en distintos herpesvirus aunque ninguno de estos mecanismos ha sido estudiado aun en el EHV-1. La identificación de proteínas o transcritos involucrados en posibles mecanismos anti-apoptóticos permitirían el desarrollo de fármacos específicos dirigidos a interferir con la función de estas moléculas. Es por eso que las investigaciones sobre esta virosis se encuentran dirigidas a dos aspectos principales que son: a) los mecanismos patogénicos involucrados en el aborto y b) la obtención de respuesta inmune que prevenga el aborto. Ante esta situación y considerando los resultados obtenidos en 2014-2015 e informados los objetivos generales que se plantean en este proyecto son **a) comprender los mecanismos patogénicos que intervienen en la herpesvirosis equina de tipo 1 y b) delinear las bases que permitan diseñar estrategias profilácticas y terapéuticas aplicables a la enfermedad.**

Objetivo 1) Determinar cambios celulares y moleculares, a nivel de la respuesta inmune local innata y adaptativa, que intervengan en la interrupción de la gestación por EHV-1: se analizará por real time PCR en la placenta de ratones BALB/c infectados con una cepa de EHV-1, los posibles cambios cualitativos y cuantitativos en la expresión de genes que codifican para citoquinas, se comparará el número de células de diversas poblaciones inmunes que existen en animales infectados y control y se establecerá el índice de muerte celular a nivel placentario. Se evaluará la presencia de partículas virales infectivas y por PCR la presencia de ADN viral, se describirán las lesiones histológicas producidas por el virus. Las cuantificaciones celulares se realizarán por conteo directo con microscopio óptico/fluorescencia o mediante el uso de *software* de análisis de imágenes. (Continuación de Tesis doctoral de Maria E Bravi quien obtuvo beca de finalización del doctorado)

Objetivo 2) Debido a los resultados obtenidos en la primera etapa del trabajo relacionados a las diferencias en el comportamiento de las células MDBK y de las ED (relacionadas al incremento de la gC viral luego de la infección de las mismas) y a la interferencia de la apoptosis ejercida por el virus, se planea ampliar las líneas celulares en donde se evaluará comparativamente el mecanismo de interferencia utilizando idéntica metodología. El fundamento principal de este objetivo está referido a las recomendaciones que realiza la OIE respecto al uso de células heterólogas y homólogas indistintamente para diagnóstico de la enfermedad. Nuestra hipótesis

plantea que el mecanismo de interferencia viral en la apoptosis de diferentes líneas celulares podría tener un efecto directo en los títulos serológicos obtenidos al desarrollar la técnica de seroneutralización, utilizada como referencia para su diagnóstico. Para el desarrollo de este objetivo se evaluarán las líneas RK13, VERO, PK15 y BHK21 con la misma metodología informada. Posteriormente se estudiarán comparativamente los títulos virales y de anticuerpos obtenidos en la técnica de neutralización viral utilizando la metodología clásica de uso corriente en estudios virológicos

Objetivo 3) De los resultados obtenidos al analizar la respuesta inmune conferida por la gD recombinante en el modelo BALB/c surge la necesidad de realizar una prueba piloto en el huésped natural. Teniendo en cuenta que el SENASA utiliza el modelo cobayo para la evaluación de las vacunas que previenen varias enfermedades virales equinas y considerando que el ratón CF1 es utilizado como modelo experimental para la valoración de otras vacunas (rabia y encefalitis), se propone comparar los modelos cobayo y ratón CF1 para la evaluación de vacunas comerciales para EHV-1 y la gD recombinante realizando un ensayo de inmunización en equinos. Nuestras hipótesis plantean que: a) el modelo ratón CF1 (al igual que el tradicional BALB/c) puede ser utilizado para evaluar vacunas comerciales para EHV-1 y la gD recombinante con idéntica efectividad que en el modelo cobayo; b) la gD recombinante es un buen inmunógeno para equinos adultos. Se evaluarán: a) dos vacunas comerciales aprobadas por el organismo oficial (SENASA) y que serán denominadas "A" y B". b) la gD combinada con adyuvante (mezcla en partes iguales con Montanide ISA 206), en dosis a determinar. Se usaran grupos de ratones CF1 y cobayos que recibirán dos dosis de inmunógeno y serán sangrados a blanco 20 días pos 2da inmunización. Los equinos recibirán las vacunas comerciales (según protocolo del fabricante) y gD (dos inoculaciones IM 30 con días de intervalo entre ambas y sangrado 30 días posteriores a la última dosis). Para el análisis serológico se utilizara la técnica de seroneutralización recomendada por la OIE. Tesis de Maestría UBA de Ana Piskorz (SENASA)

Herpesvirus que infectan a pequeños animales (Herpesvirus canino-CaHV-1 y Herpesvirus felino-FeHV-1)(continuación) Se continuarán realizando estudios para esclarecer la participación del FHV-1 en casos oftalmológicos y del CaHV-1 en aborto espontáneos en caninos. Los estudios serán abordados con la metodología de uso corriente en virología.

Virus que infectan a las abejas (continuación). Las abejas (Hymenoptera, Apoidea) representan uno de los grupos de insectos más abundantes y beneficiosos para el hombre, responsables de gran parte de la polinización de plantas, tanto silvestres como cultivadas. Desde hace varios años existe a nivel mundial una gran preocupación por la disminución poblacional y en algunos casos extinciones regionales de estos insectos debido a múltiples razones, entre las que se destaca la presencia de distintas clases de virus hallados principalmente en la abeja de la miel (*Apis mellifera*). En el caso de las abejas silvestres, a pesar de su gran diversidad, abundancia e importancia no se han abordado estudios tendientes a identificar las virosis que le son propias o provenientes de sus congéneres. El conocimiento virológico de este grupo de insectos resulta de gran importancia para explicar la disminución poblacional que podría explicar pérdidas en la producción apícola en nuestro país e intensificar la prevención y control. Nuestra hipótesis postula que "existen virus que afectan simultáneamente a *Apis mellifera* y otras abejas, y estos a su vez pueden ser transmitidos de unos a otros favoreciendo su diseminación." Por lo expuesto, el objetivo general de este proyecto será relevar la presencia de virus, en diferentes especies de abejas nativas presentes en la región pampeana y ya detectados en *Apis mellifera*, utilizando las técnicas moleculares desarrolladas en años anteriores. Asimismo, se intentará determinar la importancia epizootiológica que tienen las abejas nativas en la diseminación de estas virosis. Los resultados hallados permitirán profundizar los conocimientos sobre la presencia de virus en el área de estudio y establecer la posible diseminación de estos entre las distintas poblaciones de abejas."

REFERENCIAS

- Allen, G.P., Kidd J.H., Slater J.D., Smith K.C. (1999). Advances in understanding of the pathogenesis, epidemiology and immunological control of equine herpesvirus abortion. Proc. 8th Int. Conf. Eq. Inf. Dis. Eds: U Wernery, JF Wade JA, Mumford, Kaaden OR, R&W Publications (Newmarket) pp 129-146.
- Allen, G.P.K., J.D.; Slater, J.D.; Smith, K.C. (2004). Equid herpesvirus-1 (EHV-1) and -4 (EHV-4) infections. In Infectious diseases of Livestock, J.A.W.a.T. Coetzer, R.C., ed. (Cape Town, Oxford Press), pp. 829-859.
- Aubert, M. and Blaho, J.A. (1999). The herpes simplex virus type 1 regulatory protein ICP27 is required for the prevention of apoptosis in infected human cells. *J Virol* 73, 2803-2813.
- Aubert, M., Pomeranz, L.E., and Blaho, J.A. (2007). Herpes simplex virus blocks apoptosis by precluding mitochondrial cytochrome c release independent of caspase activation in infected human epithelial cells. *Apoptosis* 12, 19-35.
- Awan, A.R., Baxi, M. and Field, H.J. (1995). EHV-1-induced abortion in mice and its relationship to stage of gestation. *Res Vet Sci* 59, 139-145.
- Bartels, T., Steinbach, F., hanh, G., Ludwig, H., Borchers, K. (1998). In situ study on the pathogenesis and immune reaction of equine herpesvirus type 1 (EHV-1) infections in mice. *Immunology*, 93, 329-334.
- Blois, S.M., Joachim, R., Kandil, J., Margni, R., Tometten, M., Klapp, B.F., and Arck, P.C. (2004). Depletion of CD8+ cells abolishes the pregnancy protective effect of progesterone substitution with dydrogesterone in mice by altering the Th1/Th2 cytokine profile. *J Immunol* 172, 5893-5899
- Colle, C.F., 3rd, Tarbet, E.B., Grafton, W.D., Jennings, S.R. and O'Callaghan, D.J. (1996). Equine herpesvirus-1 strain KyA, a candidate vaccine strain, reduces viral titers in mice challenged with a pathogenic strain, RaCL. *Virus Res* 43, 111-124.
- Csellner, H., Walker, C., Wellington, J.E., McLure, L.E., Love, D.N., Whalley, J.M. (2000). EHV-1 glycoprotein D (EHV-1 gD) is required for virus entry and cell-cell fusion, and an EHV-1 gD deletion mutant induces a protective immune response in mice. *Archives of Virology*, 145, 2371-2385.
- De Martino, L., Marfe, G., Di Stefano, C., Pagnini, U., Florio, S., Crispino, L., Iovane, G., Macaluso, M. and Giordano, A. (2003). Interference of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in sorbitol-Induced apoptosis. *J Cell Biochem* 89, 373-380.
- Fuentealba NA, Sguazza HG; Tizzano MA, Corva SG, Gonzalez ET, Pecoraro MRI, Galosi CM. (2009) Evaluación de la capacidad antigénica de la glicoproteína D recombinante de herpesvirus equino 1. XXIX Reunión Científica Anual, Sociedad Argentina de Virología, 10 al 12 de diciembre de 2009. Huerta Grande. Córdoba.
- Ito, R., Ozaki, Y.A., Yoshikawa, T., Hasegawa, H., Sato, Y., Suzuki, Y., Inoue, R., Morishima, T., Kondo, N., Sata, T., *et al.* (2003). Roles of anti-hemagglutinin IgA and IgG antibodies in different sites of the respiratory tract of vaccinated mice in preventing lethal influenza pneumonia. *Vaccine* 21, 2362-2371.
- Jerome, K.R., Chen, Z., Lang, R., Torres, M.R., Hofmeister, J., Smith, S., Fox, R., Froelich, C.J. and Corey, L. (2001). HSV and glycoprotein J inhibit caspase activation and apoptosis induced by granzyme B or Fas. *J Immunol* 167, 3928-3935.
- Jerome, K.R., Fox, R., Chen, Z., Sarkar, P. and Corey, L. (2001). Inhibition of apoptosis by primary isolates of herpes simplex virus. *Arch Virol* 146, 2219-2225.
- Jin, L., Peng, W., Perng, G.C., Brick, D.J., Nesburn, A.B., Jones, C., and Wechsler, S.L. (2003). Identification of herpes simplex virus type 1 latency-associated transcript sequences that both inhibit apoptosis and enhance the spontaneous reactivation phenotype. *J Virol* 77, 6556-6561.
- Packiarajah, P., Walker, C., Gilkerson, J., Whalley, J.M. and Love, D.N. (1998). Immune responses and protective efficacy of recombinant baculovirus-expressed glycoproteins of equine herpesvirus 1 (EHV-1) gB, gC and gD alone or in combinations in BALB/c mice. *Vet Microbiol* 61, 261-278.
- Spencer, T.E. and Bazer, F.W. (2004). Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2, 49.
- Watanabe, I., Hagiwara, Y., Kadowaki, S.E., Yoshikawa, T., Komase, K., Aizawa, C., Kiyono, H., Takeda, Y., McGhee, J.R., Chiba, J., *et al.* (2002). Characterization of protective immune responses induced by nasal influenza vaccine containing mutant cholera toxin as a safe adjuvant (CT112K). *Vaccine* 20, 3443-3455.
- Wilsterman, S., Soboll-Hussey, G., Lunn, D.P., Ashton, L.V., Callan, R.J., Hussey, S.B., Rao, S. and Goehring, L.S. (2011). Equine herpesvirus-1 infected peripheral blood mononuclear cell subpopulations during viremia. *Vet Microbiol* 149, 40-47.
- Zenclussen, A.C., Schumacher, A., Zenclussen, M.L., Wafula, P. and Volk, H.D. (2007). Immunology of pregnancy: cellular mechanisms allowing fetal survival within the maternal uterus. *Expert Rev Mol Med* 9, 1-14.
- Zhang, Y., Smith, P.M., Jennings, S.R. and O'Callaghan, D.J. (2000). Quantitation of virus-specific classes of antibodies following immunization of mice with attenuated equine herpesvirus 1 and viral glycoprotein D. *Virology* 268, 482-492.

- Zhou, G., Avitabile, E., Campadelli-Fiume, G. and Roizman, B. (2003). The domains of glycoprotein D required to block apoptosis induced by herpes simplex virus 1 are largely distinct from those involved in cell-cell fusion and binding to nectin1. *J Virol* 77, 3759-3767.
- Maggs, D.J., 2009. *Córnea y Esclera*. En Slatter, *Fundamentos de oftalmología veterinaria*. 4° ed. Elsevier. Barcelona (España) 179-206 . - Gould, D., 2011. Feline herpesvirus-1 Ocular manifestations, diagnosis and treatment options *Feline Practice Clinical Review Journal of Feline Medicine and Surgery* 13, 333–346.
- Hugh J. Field , Subhajit Biswas and Islam T. Mohammad, 2006. Mini-review Herpesvirus latency and therapy—From a veterinary perspective. *Antiviral Research* 71 127–133.
- Didier, S., M., Olivier, J., 2003. *Queratitis herpética del gato*. Bases terapéuticas y resultados. Congreso AFVAC 2003, Nantes 21-22-23 de Noviembre. -Pepose J., Leib D., Stuart M. and Easty D., 1996. Herpes simplex virus disease: anterior segment of the eye. In: Pepose J., Holland G., Wilhelmus K. *Ocular infection & Immunity*. Ed Mosby, 905-932.
- Thiry, E., Addie, D., Belák, S., Boucraut- Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M., J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M., G., Radford, A., D., Truyen, U., and Horzinek, M., C., 2009. Feline Herpesvirus infection. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11, 547- 555.
- Benjeddou, M., Leat, N. Allsopp, M. & Davinson, S., 2002. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PRC. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2384-2387.-
- Chen, Y.P., Zhao, Y. Hammond, J., Hsu, H., Evans, J. & Feldlaufer, M., 2004. Detection of deformed wing virus infection in honeybees. *Am. Bee J.* 144, 557-559.
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., Quan, P.L., Briese, T., Hornig, M. Gieser, D.M., Martinson, T., Vanengelsdorp, D., Kalkstein, A.L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Hutchinson, S.K., Simons, J.F., Egholm, M., Pettis, J.S. & Lipkin, W.I. 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318, 283-287.
- Maori, E., Lavi, R., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Edelbaum, O., Tanne, E. & Sela, I. 2007. Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a Dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra and inter-species recombination. *J. Gen. Virol.* 88, 3428-3438.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zapulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M.E. & Bergoin, M., 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 7185-7191.
- Teixeira, W.E., Yanping, C. Message, D. Pettis, J. & Evans, J.D. 2008. Virus infections in Brazilian honey bees. *J. Invert. Pathol.* 99, 117-119.-van Engelsdorp D., Underwood, R., Caron D. & Hayes J. Jr., 2007. An estimated of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report commissioned by the apiary inspectors of America. *Am. Bee J.* 147, 599-603.
- Yue, C. & Genersch, E., 2005. RT-PCR análisis of deformed wing virus in honetbees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.* 86, 3419-3424.