



XXVII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-019 (ID: 2314)

Autor: Alegre Brunel, Fernando Marcelo

Título: Detección de linfocitos Th1 mediante inmunohistoquímica en nódulos linfoides de caninos naturalmente infectados con Leishmania sp.

Director: Catuogno, María Silvia

Palabras clave: Inmunohistoquímica, Linfocitos, Leishmania, Caninos

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Pregrado

Periodo: 31/01/2021 al 31/01/2022

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (18B001) Determinación del tipo de respuesta inmune al tratamiento con inmunomodulador en pacientes caninos infectados naturalmente con Leishmania sp.

Resumen:

La inmunohistoquímica mide la expresión proteica utilizando especialmente anticuerpos etiquetados o marcados que se unen a las proteínas de interés. Los resultados de la prueba se basan en la capacidad de las células teñidas o el porcentaje de células teñidas. El objetivo del presente trabajo fue determinar la población de linfocitos Th1 (encargados de la inmunidad celular) en caninos naturalmente infectados con Leishmania sp. comparado con la cantidad presente en caninos sanos. Se obtuvieron 20 muestras de caninos infectados con Leishmania sp. estas se tomaron mediante punción con aguja fina (PAF) provenientes de Nódulos Linfoides. Se procedió a la hidratación de las muestras mediante pasajes en alcohol de graduación decreciente, hasta llegar a PBS. Seguidamente se expuso a las muestras al proceso de Inhibición de la Peroxidasa Endógena. Se realizó la incubación de las muestras en cámara húmeda con el anticuerpo primario policlonal, la misma se mantuvo en heladera hasta el otro día a temperatura de 4°C. Luego se continuó con 2 lavados en PBS. Se colocaron nuevamente las muestras en la cámara húmeda con el anticuerpo secundario biotinilado dejando a temperatura ambiente. Se escurrió el anticuerpo secundario y se realizaron otros 2 lavados con PBS. Se aplicó Extravidina – Peroxidasa sobre las muestras, también en cámara húmeda a temperatura ambiente. Nuevamente se expuso a 2 lavados de PBS, se aplicó el cromógeno DAB y se cortó la reacción sumergiendo las muestras en agua destilada. Se llevaron a cabo 2 lavados con agua destilada. Como etapa final se hizo un pasaje por hematoxilina a modo de contraste y baños en alcoholes, posterior aclaramiento en xilol y montaje bálsamo de Canadá natural.

Se observó que los animales que presentaban positividad a la serología para Leishmaniosis presentaban de 5 a 10 linfocitos Th1 en los 20 campos de 40X contabilizados, es decir que, al examen microscópico los animales con Leishmaniosis presentaron menos del 50 % de linfocitos Th1 en comparación con muestras de animales sanos. En animales sanos se contabilizaron más de 50 células TH1 en los 20 campos.