



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
**Universidad del Perú. Decana de América**  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria**

**“Efecto de antígenos de *Clostridium perfringens* y ácido retinoico sobre la expresión de IgA en la mucosa intestinal de crías de alpacas (*Vicugna pacos*)”**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Roberto César LÁZARO BARRETO

Lima, Perú

2013

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar los niveles de expresión relativa del gen del exón 1 de la IgA en el epitelio intestinal de las crías de alpacas tratadas y no tratadas por vía oral con antígenos de *Clostridium perfringens* más All -trans Ácido Retinoico (ATRA). Se muestrearon 32 animales: 14 tratados (6 de 1 día de edad y 8 entre 7 a 14 días de edad) y 18 no tratadas (10 de 1 día de edad y 8 entre 7 a 14 días de edad). Las muestras tomadas correspondieron a 2 cm de yeyuno, la cual fue congelada en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ . A su arribo en el laboratorio se realizó la extracción de ARN total con Trizol® siguiendo las indicaciones del fabricante, luego se sintetizó ADN complementario (ADNc). Posteriormente se realizó la PCR convencional y la técnica de RT-PCR Tiempo Real empleando oligonucleótidos diseñados para la detección del exón 1 de la región Fc IgA de alpaca. La cuantificación de la expresión relativa mediante normalización con ARNm del gen GAPDH y los cálculos de la expresión relativa se realizaron utilizando el método Ct comparativo ( $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ ). Se comprobó que la administración de antígenos de *Clostridium perfringens* más ATRA ejerce un efecto inmunomodulador positivo sobre la IgA en mucosa intestinal de crías de alpacas tratadas con respecto a las no tratadas. Los animales tratados de 1 día de edad y entre 7 a 14 días de edad presentaron mayor producción de ARNm de IgA con respecto a sus sendos grupos no tratados, evidenciando diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### **Palabras claves:**

Camélidos sudamericanos, *Clostridium perfringens*, inmunoglobulina A, Ácido retinoico, RT-PCR tiempo real, cuantificación relativa

## ABSTRACT

The aim of this study was to compare relative expression levels of the gene from exon 1 of the IgA in the intestinal epithelium of baby alpacas untreated and treated orally with *Clostridium perfringens* antigens and All-trans retinoic acid (ATRA). 32 animals were sampled: 14 treated (6 of 1 day old and 8 between 7-14 days old) and 18 untreated (10 of 1 day old and 8 between 7-14 days old). The samples corresponded to 2 cm of the jejunum, which was frozen in liquid nitrogen at -196 ° C. On arrival in the laboratory total RNA extraction was conducted with Trizol ® following the manufacturer's instructions, then synthesized complementary DNA (cDNA). Later the conventional PCR and RT-PCR Real Time using oligonucleotides designed for the detection of exon 1 of the region Fc IgA alpaca. Quantifying the relative expression by normalization with GAPDH gene mRNA, and the relative expression calculations were performed using the comparative Ct method (2-DDCt). It was found that the administration of antigens *Clostridium perfringens* and ATRA exerts positive immunomodulatory effect of IgA on the intestinal mucosa alpacas pups treated with respect to those not treated. Animals treated 1 day old and 7 to 14 days old showed higher IgA mRNA production with respect to its two separate untreated group showing significant differences ( $p < 0.05$ ).

### **Keywords:**

Camelids, *Clostridium perfringens*, immunoglobulin A, Retinoic Acid, real-time RT-PCR, relative quantification