

ESTUDIO DE LA ACCIÓN DE UNA CONSTRUCCIÓN PEPTÍDICA DENDRIMÉRICA COMO VACUNA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA EN BOVINOS

Investigador USAL:

Directora Zamorano, Patricia (patricia.zamorano@usal.edu.ar)

Investigadores Externos:

Soria, Ivana; Quattrocchi, Valeria; Langellotti, Cecilia

Técnico Externo:

Gammella, Mariela

Resumen

La Fiebre aftosa (FA) es una enfermedad muy contagiosa de los animales de pezuña hendida y es probablemente la enfermedad más importante en términos de impacto económico. El control se realiza mediante el uso de vacunas que contienen el virus inactivado químicamente. Esto requiere de la producción de grandes volúmenes de virus, su inactivación y posterior concentración, y de la purificación del antígeno. Por esta causa, ha aumentado la preocupación por cuestiones vinculadas a la bioseguridad, como el riesgo de que se produzca “escape” del virus durante la producción. Otros problemas de las vacunas incluyen: i) la falta de protección a largo plazo, ii) inestabilidad térmica de la vacuna, etc.

El uso de péptidos sintéticos ofrece ventajas sobre las vacunas convencionales. Los péptidos dendrímeros (PD) son moléculas poliméricas de síntesis química con estructuras bien definidas y muy versátiles. Consisten en la unión de estructuras ramificadas y la presencia de múltiples sitios inmunogénicos.

El objetivo del estudio fue evaluar la inmunogenicidad y la protección inducida por los péptidos dendrímeros derivado del virus de la FA: B2T y B4T que contienen un epítotope T [3A (aa 21-35)] y dos o cuatro copias de un epítotope B [sitio A de VP1 (aa 136 a 154)] en bovinos.

Se vacunaron bovinos con 2 mg de B4T (n = 4) o B2T (n = 4) (días 0 y 20) por vía intramuscular y 2 animales se usaron como controles negativos.

A los 38 días postvacunación (dpv), los títulos de anticuerpos contra el virus de la FA (ELISA) en el grupo de B4T y B2T fueron de $3,5 \pm 1,0$ y $4,1 \pm 1,0$ respectivamente (el isotipo predominante fue IgG1). Los anticuerpos α -péptido también se vieron incrementados en ambos grupos. Los índices de neutralización fueron $\geq 1,8$. La respuesta linfoproliferativa fue positiva ($IE = 0 > 3$) en los animales vacunados con B2T y B4T cuando las células mononucleares fueron reestimuladas *in vitro* con los péptidos. También se detectó incremento de IFN γ en el sobrenadante de estas células cuando fueron estimuladas con virus de la FA inactivado.

A los 42 dpv los bovinos fueron desafiados con virus de la FA activo. Dos animales en el grupo B4T y 2 en el grupo B2T retrasaron la aparición de los signos clínicos de aftosa, mientras que solo

un animal de cada grupo estuvo completamente protegido.

A partir de estos resultados se ha concluido que la protección inducida por B4T y B2T fue baja, pero se observó el mayor nivel de protección en los animales que presentaron mayores respuestas específicas celular y humoral frente a VFA.

Palabras clave: virus de la fiebre aftosa; nuevas vacunas; péptido dendrimérico; bovinos

Abstract

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious disease of cloven-hoofed animals, and probably the most important cattle disease in terms of economic impact. Control of FMD is achieved by using vaccines containing the chemically inactivated virus; this requires the production of large volumes of the virus, the inactivation of the virus, antigen concentration and purification with the risk of virus release during vaccine production. Other vaccine problems include: (i) lack of long-term protection, (ii) thermal instability of the vaccine, etc.

The use of synthetic peptides offers advantages over conventional vaccines. Dendrimeric (PD) peptides are chemically synthesized molecules with a well-defined structure, and at the same time very versatile. They consist of the union of branched structures and the presence of multiple immunogenic sites.

The aim of the study was to evaluate the immunogenicity and protection induced by FMD virus-derived dendrimeric peptides: B2T and B4T containing a T [3A (aa 21-35)] epitope] and two or four copies of a B epitope [site A VP1 (aa 136 to 154)] in cattle.

Bovines were vaccinated with 2 mg of B4T (n = 4) or B2T (n = 4) (days 0 and 20) intramuscularly and 2 animals were used as negative control.

At 38 days post-vaccination (dpv), antibody titers against FMD virus (ELISA) in B4T and B2T groups were: 3.5 ± 1.0 and 4.1 ± 1.0 respectively (the predominant isotype was IgG1). The α -peptide antibodies were also increased in both groups. The neutralization indexes were ≥ 1.8 . The proliferative lymphocyte response was positive ($IE \geq 3$) in animals vaccinated with B2T and B4T when the mononuclear cells were “*in vitro*” re-stimulated with peptides; an increase of IFN γ was also detected in the supernatant of these cells when stimulated with inactivated FMD virus.

At 42 dpv the bovines were challenged with active FMDV. Two animals in the B4T group and 2 in the B2T group delayed the onset of aphthous symptoms, while only one animal in each group was fully protected.

In conclusion, the protection induced by B4T and B2T was low but the highest level of protection was observed in animals that presented higher cellular and humoral responses against FMD virus.

Keywords: foot and mouth virus; new vaccines; dendrimeric peptide; cattle