

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:

Langelliotti, Cecilia; Quattrocchi, Valeria; Soria, Ivana

Técnico Externo:

Gammella, Mariela

Resumen

La vacuna el Virus de la Fiebre Aftosa (VFA) que se utiliza es eficaz, pero dado que contiene virus inactivados puede traer algunos inconvenientes. Por este motivo se buscan nuevas estrategias, como las vacunas peptídicas.

El objetivo es evaluar la inmunogenicidad y la protección inducida en bovinos por péptidos dendrímeros derivados del VFA O1 Campos: B2T y B4T que contienen un epítotope T [VP1 (aa 21-40)] inmunodominante en bovino y 2 o 4 copias de epítotope B [sitio A de VP1 (aa 135-160)]. Se vacunaron bovinos (n=5/grupo) con 2 mg de B4T o B2T (días 0 y 21) vía intramuscular, y a los 37 días se hizo una posvacunación (dpv) con 0,5 mg.

A los 44 dpv, se detectaron altos niveles de IgGs α -péptido que reconocieron a la cápside viral (ELISA), con títulos de IgGs de 3.7 ± 0.3 y 3.7 ± 0.3 para los grupos B2T y B4T respectivamente; el isotipo predominante fue IgG1 y no hubo diferencia de avidéz entre grupos. Los títulos de anticuerpos seroneutralizantes de los animales vacunados fueron para B2T: $1,39 \pm 0,02$ y para B4T: $1,7 \pm 0.3$. Se desarrolló un test de opsonofagocitosis (VFA-FITC, macrófagos Bovinos –BoMac– gy los sueros problemas) y se midió por citometría de flujo. Los niveles de opsonofagocitosis fueron $24 \pm 11\%$ para B2T y $31 \pm 14\%$ para B4T; ambos son significativamente mayores al observado con sueros libres de anticuerpos contra VFA.

A los 46 dpv los bovinos fueron desafiados con 10^4DL_{50} de VFA. Todos los animales vacunados con los péptidos estuvieron protegidos frente al desafío viral (con VFA O1 Campos) al no tener lesiones. Los animales control mostraron todos los síntomas de la enfermedad.

Asimismo, se evaluó la inmunidad y la protección heteróloga inducida. Se vacunaron bovinos con péptidos B2T y B4T derivados del VFA OUK, que contienen un epítotope T [3A (21-35)] y dos o cuatro copias de un epítotope B [sitio A de VP1(aa 140-160)]; los animales presentaron inmunidad específica contra VFA O1 Campos, pero baja protección cuando fueron desafiados con VFA O1Campos.

La respuesta protectora (totalmente protegidos, parcialmente o no protegidos) correlacionó con la respuesta de células T específicas y LB de memoria inducida luego del desafío viral. Se utilizó

ELISPOT para medir células secretoras de anticuerpos VFA (IgG1, IgG2, IgA) en tejido linfoide distal al sitio de inoculación.

Por primera vez se probó en bovinos una vacuna que combina, en una única plataforma molecular, varias copias de epítopes del VFA, que induce protección frente al desafío con virus homólogo.

Palabras clave: virus de la fiebre aftosa; bovinos; vacunas; péptidos dendriméricos; protección

Abstract

The Foot and Mouth Disease Virus (FMDV) vaccine that is used is effective, however it contains inactivated virus, which brings disadvantages. For this reason, new strategies, such as peptide vaccines, are sought.

The objective is to evaluate the immunogenicity and protection induced in cattle by dendritic peptides derived from FMD O1 Campos: B2T and B4T which contain an immunodominant T [VP1 (aa 21-40)] epitope in bovine and two or four copies of epitope B [site A of VP1 (aa 135-160)]. Bovines (n =5/group) were vaccinated with 2 mg of B4T or B2T (days 0 and 21) intramuscularly and at 37 days pv (dpv) with 0.5 mg. At 44 dpv, high levels of α -peptide IgGs that recognized the viral capsid (ELISA) were detected, with titers of IgGs of 3.7 ± 0.3 and 3.7 ± 0.3 for the B2T and B4T groups respectively; the predominant isotype was IgG1 and there was no avidity difference between the groups. Seroneutralizing antibody titers of the vaccinated animals were for B2T: 1.39 ± 0.02 and for B4T: 1.7 ± 0.3 . We developed an opsonophagocytosis test (VFA-FITC, Bovine-Bo-Mac macrophages and serums problems), was measured by flow cytometry. The levels of opsonophagocytosis were 24 ± 11 % for B2T and 31 ± 14 % for B4T; both being significantly greater than that observed with sera free of antibodies against FMDV.

At 46 dpv the cattle were challenged with 104DL50 of VFA O1 Campos. All the animals vaccinated with the peptides were protected against the viral challenge (with VFA O1 Campos) as they did not have lesions. The control animals showed all the symptoms of the disease.

Also, immunity and heterologous protection induced were evaluated. Bovines were vaccinated with peptides B2T and B4T derived from the VFA OUK: containing an epitope T [3A (21-35)] and two or four copies of an epitope B [site A of VP1 (aa 140-160)]; the animals presented specific immunity against FMV O1 Campos, but low protection when challenged with VFA O1 Campos.

The protective response (fully protected, partially or unprotected) correlated with the response of specific T cells and LB induced memory after the viral challenge. ELISPOT was used to measure VFA antibody-secreting cells (IgG1, IgG2, IgA) in lymphoid tissue distal to the site of inoculation.

For the first time, a vaccine was tested in bovinos in a single molecular platform, where several copies of epitopes of the FMDV induces protection against challenge with homologous virus.

Keywords: Foot-and-Mouth Disease Virus; bovinos; vaccines; dendrimeric peptides; protection