

### **Evaluación de la respuesta inmune inducida en potrillos inoculados con la glicoproteína D deL Varicellovirus equidalpha**

Bravi, ME(1,2); Azcurra, MB(3); Lopez, RA(4); Panei, CJ(1,2); Galosi, CM(5); Fuentealba, NA(1,2).

(1) Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV-UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina; (2) CONICET, Buenos Aires, Argentina; (3) Cátedra de Reproducción Animal, FCV-UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina; (4) Cátedra de Medicina Equina, FCV-UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina; (5) FCV-UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
*Contacto: mariaemiliabravi@gmail.com*

El varicellovirus equidalpha1 produce signos respiratorios, nerviosos, abortos y síndrome neonatal en equinos. Los animales no desarrollan inmunidad duradera siendo susceptibles a la reinfección. Existen vacunas inactivadas y atenuadas pero la protección es incompleta y de corta duración. Las glicoproteínas de envoltura cumplen un importante rol en el proceso infeccioso y son inductoras de la respuesta inmune. El objetivo del trabajo fue evaluar la respuesta inmune en potrillos lactantes ante la inmunización intranasal (IN) con la gD obtenida de un baculovirus recombinante. Se utilizaron 10 yeguas preñadas, que fueron vacunadas durante la gestación con una vacuna comercial. Se tomaron muestras de sangre luego de cada inmunización y se verificó la presencia de anticuerpos por virusneutralización (VN). En los potrillos nacidos se controló la presencia de anticuerpos por VN, y al resultar negativos se realizó la inmunización. Se inmunizaron 6 animales con 2 dosis de 3 mg de gD combinada con 50 µg de la subunidad B de la toxina colérica, por vía IN, cada 21 días. Se utilizaron 2 animales como control negativo que recibieron PBS. Los potrillos se sangraron antes de cada inmunización y 2 semanas después de la segunda inmunización y se realizaron lavados nasales a los 7 días de cada inmunización. Se determinó la presencia de anticuerpos en suero por VN y ELISA, y de IgA en suero y en lavados nasales por ELISA. A los 15 días de la segunda inmunización se tomaron muestras de sangre con anticoagulante y se evaluó la producción de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica (PBMC), realizando la cuantificación relativa de la expresión de los genes de IL-4, IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$  e IL-10 por PCR en tiempo real. Se evaluó la subpoblación linfocitaria TCD8+ en sangre por citometría de flujo. Se observó un bajo título de anticuerpos en las yeguas luego de cada vacunación, y se mantuvo constante o en algunos casos hubo un aumento en una o dos diluciones luego de cada dosis. El ensayo continuó con 8 potrillos, ya que uno nació muerto y otro fue hospitalizado. En las crías se observó que 7 tenían anticuerpos calostrales con títulos variables, y una no tenía anticuerpos. Luego de la primera inmunización el título de anticuerpos neutralizantes en suero aumentó en 3 animales inmunizados y se mantuvo hasta el final del ensayo. Se detectó IgG en suero por ELISA en otros 3 animales, mientras que los restantes y el grupo control permanecieron negativos. En los lavados nasales un animal resulto positivo para

IgG e IgA luego de las dos inmunizaciones, y en otro animal solo se detectó IgA. Se observó un aumento en la expresión de IL-4 en PBMC de los animales inmunizados con respecto a los controles y no hubo diferencia en la detección de TCD8+ entre los animales inmunizados y los controles. Los resultados obtenidos indican que la gD administrada por vía IN es capaz de estimular la respuesta inmune mucosal y sistémica.