

Un candidato vacunal para variantes argentinas de IBDV producido en plantas

De Rosa, JE(1); Jatón, J(1); Rizzi, L(1); Lucero, MS(1); Gravisaco, MJ(1); Berinstein, A(1); Gómez, ER(1), Chimeno Zoth, S(1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular.

Contacto: derosa.javier@inta.gob.ar

El virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (IBDV) es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa e inmunosupresora que afecta a pollos jóvenes. Existen variantes argentinas de IBDV que son capaces de evadir la protección conferida por las vacunas atenuadas, inactivadas o vectorizadas basadas mayormente en cepas clásicas de los genogrupos 1 y 3, comprometiendo el estado inmunitario y produciendo la enfermedad. Hasta la fecha, no se han evaluado vacunas producidas contra estas variantes de genogrupo 4. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la capacidad protectora de un candidato vacunal producido por expresión in planta de VP2 (vP33), proteína de cápside que presenta los principales determinantes antigénicos, de un aislamiento local del genogrupo 4 de IBDV. El inmunógeno recombinante VP2 se expresó de forma transitoria mediante la agroinfiltración de hojas de *Nicotiana benthamiana*; se expresó GFP (un antígeno no relacionado) como control. A partir de las hojas infiltradas se realizaron extracciones en frío, se filtraron y clarificaron esos extractos. VP2 se detectó por Western Blot y se cuantificó comparando contra una curva estándar de seroalbúmina bovina, a partir de SDS-PAGE 12%. Para el ensayo se utilizaron pollos libres de patógenos específicos y se dividieron en 7 grupos de 10 animales cada uno. Se administró por vía intramuscular a los 15 y 29 días de edad el extracto proteico conteniendo 100 µg de VP2 a pollos de los grupos vacunados, y PBS o GFP a los animales de los grupos control. Tres semanas después del refuerzo, los animales fueron desafiados con cepas de los genogrupos 1 o 4, y sacrificados 7 días después. Como controles sanos se dejó un grupo de animales sin desafiar. Se evaluaron diversos parámetros que estiman el nivel de protección frente a la infección con el virus. Todos los animales vacunados con vP33 resultaron protegidos contra el desafío independientemente del genogrupo viral. La inducción de anticuerpos específicos contra VP2 se determinó por ELISA indirecto, resultando positivos los sueros de los grupos inmunizados con vP33 y negativos los de los grupos control. Por otro lado, el nivel de atrofia en la bursa se evidenció por la relación de peso bursa/cuerpo, que no reveló diferencias significativas entre los grupos vacunados con vP33 y animales sin desafiar. Además, se realizó un análisis histopatológico de la bursa por tinción con hematoxilina-eosina, asignando un score de daño según depleción linfocítica e infiltrado inflamatorio. Los grupos vacunados con vP33 no presentaron daño, mientras que los grupos control desafiados presentaron lesiones severas. Por último, la carga viral en la bursa cuantificada por RT-qPCR, resultó

significativamente menor en los animales vacunados con vP33 respecto de los grupos control desafiados. Nuestros resultados indican que vP33 es un candidato vacunal prometedor para la prevención de infecciones por IBDV de los genogrupos 1 y 4.