

MEJORAMIENTO DE UNA VACUNA ACELULAR NOVEL CONTRA PERTUSSIS, ENFERMEDAD RESURGENTE Carriquiriborde Francisco

Hozbor Daniela (Dir.)

Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IBBM), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CONICET.

franciscopcarri@gmail.com

PALABRAS CLAVE: Pertussis, Vacuna, Biofilm.

El trabajo de tesis que realizo en el Instituto de Biotecnología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP-CONICET bajo la dirección de la Dr. Daniela Hozbor y la Co Dirección del Dr. Martín Rumbo, refiere a la búsqueda de estrategias que mejoren el control de la enfermedad denominada pertussis. Esta enfermedad respiratoria aguda causada principalmente por *Bordetella pertussis* ha resurgido en los últimos años. El incremento de los casos detectados ha provocado preocupación en los sistemas de salud y en el sector científico movilizándolos hacia la búsqueda de la comprensión de las causas que llevan a dicha situación epidemiológica y a la revisión y diseño de nuevas estrategias de control. En la actualidad existen dos tipos de vacunas contra esta enfermedad que afecta a todos los grupos etarios siendo los más vulnerables los lactantes menores de 6 meses de edad: las vacunas celulares que fueron las primeras en desarrollarse y las vacunas acelulares que se desarrollaron más tardíamente en respuesta a los reportes sobre la inducción de reacciones adversas asociadas a las vacunas celulares. En la actualidad ambas vacunas se emplean en distintos países para cubrir el esquema recomendado por la organización mundial de la salud para la población pediátrica. Las vacunas acelulares se emplean además para los refuerzos recomendados en la población mayor a 7 años de edad. El uso de estas vacunas por más de 70 años redujo significativamente la morbilidad y mortalidad asociada a la enfermedad. Sin embargo, en los últimos años y más marcadamente en los países que emplean sólo vacunas acelulares en sus calendarios se han registrado un incremento de casos con brotes de gran envergadura. Estudios relativamente recientes muestran que las vacunas acelulares inducen una respuesta inmune menos robusta que el de las vacunas celulares la cual estaría mediada fundamentalmente por anticuerpos (mayormente perfil de respuesta del tipo Th2). La duración de la inmunidad inducida por estas vacunas es relativamente corta y según los ensayos en el modelo de primates, estas vacunas protegerían contra la enfermedad pero no contra la infección y/o la transmisión. Más aún su composición de poco epitopes parece estar ejerciendo una presión de selección fuerte sobre la población bacteriana circulante. En este contexto resulta clara la necesidad de desarrollar una nueva vacuna acelular que sola o en combinación tenga la capacidad de superar las debilidades de las actuales vacunas es decir inducir un perfil de respuesta mixto (mayormente de tipo Th1) y cuya composición sea multiepitope. En este contexto nuestro grupo de trabajo ha logrado diseñar una nueva vacuna

basada en vesículas de membrana externa derivadas de *B. pertussis*, (OMVs) que ha mostrado ser seguro y efectivo en modelo murino de protección. A diferencia de la vacuna aP que induce mayormente un perfil de respuesta celular Th2, nuestro candidato vacunal multiepitope induce un perfil mixto Th1/Th17/Th2 de mayor duración. En mi trabajo de tesis me he focalizado en la evaluación de la posibilidad de combinar las OMVs a las vacunas acelulares comerciales con el fin de no solo lograr una vacuna acelular superadora en los términos mencionados sino además para simplificar en un futuro los posibles ensayos clínicos que requerirá nuestro candidato vacunal. Hemos evaluado así el efecto de adicionar las OMVs a las vacunas aP comerciales. Hemos demostrado que al adicionar OMVs (rango ensayado: 0,75 µg - 3 µg) a la vacuna aP no sólo no se pierde la capacidad protectora de ambas vacunas sino que se logra inducir el perfil mixto recomendado aún con la dosis 0,75 µg de OMVs. La adición de 0,75 µg OMVs permitió además incrementar los títulos de IgG totales y de los isotipos IgG3, IgG2a e IgG1 en comparación a los otros tratamientos. Como otra alternativa y para mejorar aún más a nuestro candidato vacunal hemos decidido evaluar y caracterizar la presencia de OMVs en cultivos en biofilm de *B. pertussis*. Recientemente se ha descrito la importancia de la formación de biofilm durante la infección de este patógeno. Más aún se ha detectado que las bacterias creciendo en biofilm presentan un perfil proteico e inmunogénico diferente al proveniente de cultivos planctónicos. Para avanzar en nuestro objetivo se evaluó la formación de biofilm para un aislamiento clínico de *B. pertussis* de nuestra colección. Así hemos detectado que el mayor rendimiento de biofilm ocurre a las 96 h de cultivo. Interesantemente, aplicando las técnicas de aislamiento de OMVs ya puestas a punto en nuestro laboratorio, hemos evidenciado la presencia de las mismas en el biofilm. Para evaluar la capacidad protectora de las mismas en forma comparativa con las OMVs derivadas de cultivos planctónicos hemos empleado el modelo de desafío intranasal en ratones. Los resultados obtenidos han mostrado que la formulación conteniendo a las OMVs derivadas de un cultivo en biofilm (OMVsBiof) es capaz de reducir significativamente la colonización (no se detectaron colonias) en los pulmones de los animales inmunizados. Además se observó que la reducción en la colonización de los pulmones es aún mayor que la obtenida en pulmones de ratones inmunizados con OMVs planctónicas. Los títulos de anticuerpos inducidos hasta ahora analizados están en acuerdo con los niveles de protección inducido.