Vacuna recombinante contra la familia Pasteurellaceae de aplicación intradérmica para ganado porcino

Nishii-Encina, Eliane Aya; Talavera-Stefani, Liliana Noelia; Prendeski-Stolaruk, Carolina Elizabeth; Sapper-Lacy, Yanina Dionisia; Maluff-Ladan Yasmine; Zaracho-Paniagua,Nadia Denisse

aya@biosyntech.com.py, liliana@biosyntech.com.py , carolina@biosyntech.com.py , yanina@biosyntech.com.py, yasmine@biosyntech.com.py, nadia@biosyntech.com.py

Biosyntech S. A.

Proyectos Individuales de Innovación y Desarrollo – CONVOCATORIA 2022 – CÓDIGO DE PROYECTO DETI22-9

RESUMEN

La familia Pasteurellaceae comprende un grupo heterogéneo de bacterias, como ser: *Glaesserella parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica y Actinobacillus pleuropneumoniae*, patógenos de importancia veterinaria. Cepas patógenas de estas especies circulan en granjas productoras de la región, siendo responsables de pérdidas económicas importantes en el sector porcino. La vacunación es una de las estrategias preventivas utilizadas actualmente para controlar a estos patógenos. Biosyntech S.A., una empresa paraguaya instalada en la ciudad de Fram, Dpto de Itapúa, actualmente desarrolla vacunas autógenas que permiten controlar brotes de estos patógenos. Con el objetivo de generar un producto innovador, competitivo y que pueda comercializarse a nivel nacional e incluso internacional, se presentó este proyecto, por medio del cual se logró adquirir diversas capacidades técnicas, equipamientos y reactivos, que permitieron el desarrollo de un prototipo de vacuna recombinante contra la familia Pasteurellaceae de aplicación intradérmica para ganado porcino: "***Porcisafe***", así como la instalación de la capacidad en la empresa para el desarrollo de otros productos basados en esta tecnología.

INTRODUCCIÓN

Cepas patógenas de la familia Pasteurellaceae producen grandes pérdidas en el sector porcino. El método de prevención principal es la vacunación con vacunas inactivas, con la limitación de no contener todos los serovares virulentos que circulan en una región. El objetivo de este proyecto fue producir una vacuna recombinante compuesta por antígenos virulentos de la familia Pasteurellaceae, asegurando la efectividad de la misma frente a diferentes géneros asociados con enfermedades respiratorias del ganado porcino, generando un producto que pueda comercializarse a diferentes granjas, nacionalmente y con visión de exportación a largo plazo. Siendo la vacuna recombinante dirigida a la producción porcina un producto innovador, sin competencia en el mercado nacional. Su desarrollo implica la aplicación de tecnología moderna incluyendo tecnología de secuenciación NGS, diseño de genes, clonación, evaluación de la expresión génica, además de pruebas in vivo y serotipificación de anticuerpos. Presentándose un producto final con aplicación intradérmica que permita un fácil manejo dentro de la granja.

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo del producto implicó la adquisición de equipamiento especializado y la capacitación en áreas específicas. Se utilizaron cepas patógenas de las especies de la familia Pasteurellaceae que circulan en la región y que se encuentran en el cepario de la empresa, en la Figura 1 se detalla la metodología utilizada.

RESULTADOS

Se secuenciaron un total de 18 cepas patógenas de la familia Pasteurellaceae, permitiendo la identificación de variaciones en dichas secuencias y en las regiones antigénicas seleccionadas como posibles target.

Para el primer prototipo se seleccionó un gen que codifica para una proteína de unión al hierro de la especie *G. parasuis*, con homólogos en otras especies del género, fue optimizada su secuencia para expresión en *Escherichia coli* para el desarrollo del vector. Luego de la clonación se confirmó la expresión exitosa de la proteína por medio de Western blotting (Figura 2). Se realizó en base a esta bacteria recombinante la formulación de la vacuna (Figura 2) y se realizaron los ensayos de esterilidad e inmunogenicidad en el laboratorio.

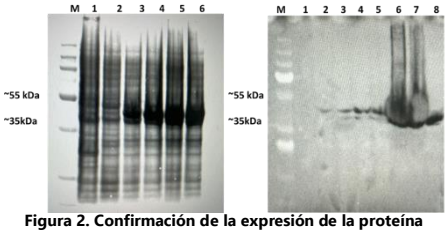

Figura 2. Confirmación de la expresión de la proteína recombinante. a) Electroforesis de poliacrilamida. b) Western blotting. M: Marcador de peso molecular, 1-8: Bacterias

Figura 3. Prototipo de vacuna recombinante envasado.

Figura 1. Flujo de trabajo realizado para la obtención del prototipo de vacuna

CONCLUSIONES

Se pudo desarrollar un prototipo de vacuna recombinante para brindan inmunidad frente a cepas de la familia Pasteurellaceae. Adquiriéndose capacidades técnicas y de infraestructura en una empresa nacional para el desarrollo de este tipo de productos innovadores. Se pretende continuar con la mejora del prototipo por medio del desarrollo de una proteína quimérica y avanzar con los trámites en la Comisión de Bioseguridad (COMBIO) para la liberación la vacuna recombinante.

REFERENCIAS

CoCCCCosta-Hurtado, M., Barba-Vidal, E., Maldonado, J., & Aragon, V. (2020). Update on Glässer's disease: How to control the disease under restrictive use of antimicrobials. In *Veterinary Microbiology* (Vol. 242). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108595