

10. Caracterización antigénica de cepas colombianas del Virus del Distemper Canino (CDV) para el desarrollo biotecnológico y validación in vivo de vacuna de nueva generación

Santiago Rendon-Marin^{1,2}, Francisco Javier Díaz³, Julián Ruíz-Saenz¹

INTRODUCCIÓN

El Virus del Distemper Canino (CDV), es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa que afecta perros domésticos, así como un amplio rango de especies silvestre. Existen 19 linajes reportados, incluidos Suramérica-3 y Norte/Suramérica-4, circulantes en Colombia. CDV contiene un genoma RNA de cadena sencilla con polaridad negativa que codifica 8 proteínas, incluida la Hemaglutinina (H), glicoproteína que posee la mayor variación genética y considerada el principal determinante antigénico. El CDV tiene alta tasa de sustitución genómica, donde las variantes circulantes en campo difieren en más del 10% a nivel aminoácido con cepas ancestrales utilizadas en vacunas. Esto implica consecuencias en el desarrollo de inmunidad y la constante aparición de enfermedad incluso en animales vacunados, además de la re-emergencia mundial de la infección en la fauna silvestre, para las cuales, las vacunas comerciales no pueden ser utilizadas. Se ha evidenciado que el uso de vacunas recombinantes puede ser útil en la inmunización de animales con presencia de inmunidad pasiva de origen maternal, siendo seguras para la inmunización de poblaciones animales domésticos y silvestres.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sabiendo que existen fallas vacunales a nivel mundial debido a la emergencia de nuevas variantes, junto con la carencia de una alternativa vacunal efectiva para la fauna silvestre, ¿Es posible desarrollar *in silico* e *in vitro* un péptido con gran potencial inmunogénico que pueda ser utilizado tanto en fauna doméstica y silvestre de forma segura con base en la información

genética y antigénica de las variantes circulantes en Colombia?

OBJETIVO

Desarrollar y evaluar *in vitro* e *in vivo* diferentes inmunógenos del CDV con base en cepas nativas colombianas que puedan ser utilizados en el desarrollo de vacunas de nueva generación para fauna silvestre y caninos domésticos.

METODOLOGÍA

Se realizará un estudio experimental prospectivo en cuatro fases. La primera fase de caracterización antigénica de cepas circulantes en Colombia. Una segunda fase de aproximación *in silico* e *in vitro* para el diseño y producción de inmunógenos peptídicos basado en variantes colombianas del CDV; una tercera fase de estudios *in vitro* e *in vivo* de seguridad de inmunógenos y una fase final de evaluación del potencial inmunogénico de dichos péptidos en un modelo *in vivo* en hurones, acorde con la Resolución 8430 de 1993 de Colombia.

En la primera fase se realizarán ensayos de neutralización cruzada con anticuerpos monoclonales con sueros de pacientes vacunados y hemaglutinación. En la segunda fase, se hará la construcción *in silico* de librería de péptidos conservados de la proteína H de variantes colombianas de CDV. Posterior a la selección de los mejores candidatos, se obtendrán, tanto péptidos recombinantes como por síntesis química, para evaluar seguridad *in vitro* de los inmunógenos mediante ensayo de citotoxicidad y hemólisis. En la tercera y cuarta fase, se desarrollará un sistema *in vivo* en hurones, para validar la seguridad e inmunogenicidad de péptidos que superen pruebas de seguridad *in vitro*. Además, se evaluará la inmunidad generada por un péptido altamente inmunogénico en el modelo *in vivo*. Se analizarán muestras de sangre en diferentes momentos posteriores al tratamiento mediante pruebas serológicas para determinar la seguridad. Finalmente, se comparará la respuesta inmune humoral y celular generada *in vivo* por un péptido inmunogénico con la inducida por una vacuna comercial.

RESULTADOS ESPERADOS

Determinar las características antigénicas de cepas circulantes en Colombia; establecer librería de pép-

¹ Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Medellín

² Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia

³ Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
Correspondencia: Julián Ruíz-Saenz: julian.ruizs@campusucc.edu.co

tidos que pueden ser utilizados como inmunógenos, elegir el que tenga el mayor potencial inmunogénico y sea seguro para finalmente, validar la seguridad e inmunogenicidad *in vivo* de este como alternativa vacunal. Además, la implementación de un modelo *in vivo* de infección para CDV que sirva en el desarrollo de vacunas de nueva generación.

REFERENCIAS

- Buczkowski H, Muniraju M, Parida S, Banyard AC. Morbillivirus vaccines: recent successes and future hopes. *Vaccine*. 2014;32(26):3155-3161.
- Carpenter JW, Appel MJ, Erickson RC, Novilla MN. Fatal vaccine-induced canine distemper virus infection in black-footed ferrets. *J Am Vet Med Assoc*. 1976;169(9):961-4.
- Chinnakannan SK, Nanda SK, Baron MD. Morbillivirus γ proteins exhibit multiple mechanisms to block type 1 and type 2 interferon signalling pathways. *PLoS One*. 2013;8(2):e57063.
- de Vries RD, Ludlow M, de Jong A, Rennick L, Verburgh RJ, van Amerongen G, et al. Delineating morbillivirus entry, dissemination and airborne transmission by studying *in vivo* competition of multicolor canine distemper viruses in ferrets. *PLoS Pathog*. 2017;13(5):e1006371.
- Haig DA, Alexander RA, Clark R, Louw JG, de Kock VE. Canine distemper-immunization with avianised virus. *Journal of Veterinary Research*. 1956;27(1).
- Halbrooks RD, Swango LJ, Schnurrenberger PR, Mitchell FE, Hill EP. Response of gray foxes to modified live-virus canine distemper vaccines. *J Am Vet Med Assoc*. 1981;179(11):1170-4.
- Hartley WJ. A post-vaccinal inclusion body encephalitis in dogs. *Vet Pathol*. 1974;11(4):301-312.
- Ke GM, Ho CH, Chiang MJ, Sanno-Duanda B, Cheng-Shu C, Maw-Yeong L, et al. Phylodynamic analysis of the canine distemper virus hemagglutinin gene. *BMC Vet Res*. 2015;11:164. Published 2015 Jul 25.
- MacLachlan N, Dubovi E, Fenner F, editores. *Paramyxoviridae*. EE. UU: Fenner's *Veterinary Virology*;2011.
- Martella V, Cirone F, Elia G, Lorusso E, Decaro N, Campolo M, et al. Heterogeneity within the hemagglutinin genes of canine distemper virus (CDV) strains detected in Italy. *Vet Microbiol*. 2006;116(4):301-309.
- Martinez-Gutierrez M, Ruiz-Saenz J. Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Vet Res*. 2016;12:78. Published 2016 May 12.
- McInnes EF, Burroughs RE, Duncan NM. Possible vaccine-induced canine distemper in a South American bush dog (*Speothos venaticus*). *J Wildl Dis*. 1992;28(4):614-617.
- Noyce RS, Delpeut S, Richardson CD. Dog nectin-4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus that facilitates virus entry and syncytia formation. *Virology*. 2013;436(1):210-220.
- Pardo MC, Tanner P, Bauman J, Silver K, Fischer L. Immunization of puppies in the presence of maternally derived antibodies against canine distemper virus. *J Comp Pathol*. 2007;137 Suppl 1:S72-S75.
- ROCKBORN G. An attenuated strain of canine distemper virus in tissue culture. *Nature*. 1959;184(Suppl 11):822.
- Schuhmann KM, Pfaller CK, Conzelmann KK. The measles virus γ protein binds to p65 (RelA) to suppress NF-kappaB activity. *J Virol*. 2011;85(7):3162-3171.
- Schultz RD. Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Vet Microbiol*. 2006;117(1):75-79.
- Stephensen CB, Welter J, Thaker SR, Taylor J, Tartaglia J, Paoletti E. Canine distemper virus (CDV) infection of ferrets as a model for testing Morbillivirus vaccine strategies: NYVAC- and ALVAC-based CDV recombinants protect against symptomatic infection. *J Virol*. 1997;71(2):1506-13.
- Thomas-Baker B. Vaccination-induced distemper in maned wolves, vaccination-induced corneal opacity in a maned wolf. Paper presented at the Proc. Am. Assoc. Zoo Vet. 1985.
- von Messling V, Zimmer G, Herrler G, Haas L, Cattaneo R. The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity. *J Virol*. 2001;75(14):6418-6427.
- Wimsatt J, Biggins D, Innes K, Taylor B, Garell D. Evaluation of oral and subcutaneous delivery of an experimental canarypox recombinant canine distemper vaccine in the Siberian polecat (*Mustela eversmanni*). *J Zoo Wildl Med*. 2003;34(1):25-35.