

PRODUCCIÓN E INMUNOGENICIDAD DE PORINAS DE *Salmonella Typhi* EN BIORREACTOR: HACIA LA PRODUCCIÓN DE UNA VACUNA ANTITIFOIDEA

Jessica Sánchez-Vargas, Tania Rivera-Hernández, Nestor D. Ortega-de la Rosa, Dariana Hernández-Olivares, Constantino López-Macías. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Ciudad de México, 06720. jessica.sanchezvarg@gmail.com

Palabras clave: *Salmonella Typhi*, vacuna antitifoidea, porinas

Introducción. Las infecciones por *Salmonella Typhi* (*S. Typhi*) persisten como un importante problema de salud en el mundo y representan ~11 millones de casos anualmente (1). El número de vacunas autorizadas disponibles contra *S. Typhi* es limitado y con eficacia variable. Las porinas (OmpC y OmpF) son blanco en la respuesta protectora contra la infección (2); una vacuna diseñada con estas porinas demostró ser segura en un ensayo clínico de fase 1, con una respuesta duradera (3). Un desafío para producir esta vacuna es la necesidad de un sistema de producción escalable. En este trabajo se cultivó a *S. Typhi* en biorreactor airlift (BAL), se purificaron las porinas y se evaluó su capacidad inmunogénica, en comparación con la producción en matraces.

Metodología. *S. Typhi* se cultivó en matraces y en BAL, utilizando el mismo k_{LA} , con glucosa y sulfato de amonio como fuentes de C y N. El crecimiento se monitoreó y se utilizaron modelos matemáticos para ajustar a los datos y obtener los parámetros cinéticos y comparar entre cultivos. Para el crecimiento, se utilizó el logaritmo natural de la biomasa medida entre la inicial. Se cuantificaron las porinas por citometría de flujo, utilizando anticuerpos anti-porina producidos en ratón. La glucosa residual se midió por DNS. El oxígeno y pH se midieron con sensores. Se cuantificaron anticuerpos IgG por ELISA de forma cinética en suero de ratones BALB/c inmunizados con las porinas. Se evaluó la capacidad protectora en ratones BALB/c inmunizados con porinas y retados con una dosis infectiva de *S. Typhi*.

Resultados. El modelo de Gompertz reparametrizado ajustó bien a los datos experimentales. No se encontró diferencia en el crecimiento de *S. Typhi* entre los sistemas matraz y BAL, estimado a través de los parámetros cinéticos. Posteriormente se caracterizó el cultivo en el biorreactor (Fig. 1). Se observó una posible limitación simultánea de sustrato y oxígeno. Se llevó a cabo el ajuste de modelos matemáticos para representar los datos experimentales y se obtuvieron parámetros cinéticos para biomasa, oxígeno y glucosa. En la Fig. 1 a) se grafica la intensidad media de fluorescencia con respecto al tiempo, para una cantidad estandarizada de biomasa; ésta se mantiene constante durante todo el cultivo. Las porinas producidas en ambos sistemas promueven la activación del sistema

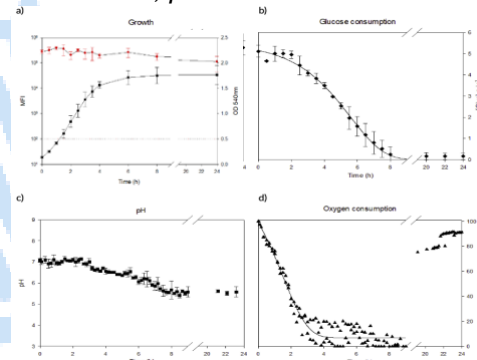


Fig. 1. Cinética del cultivo de *S. Typhi* en el BAL. a) Biomasa (negro) y porinas (rojo), b) glucosa, c) pH, d) oxígeno.

inmune adaptativo, la generación de anticuerpos IgG en mismas cantidades (Fig. 2 a) y son capaces de proteger contra un reto contra *S. Typhi* (Fig. 2 b) sin diferencias significativas.

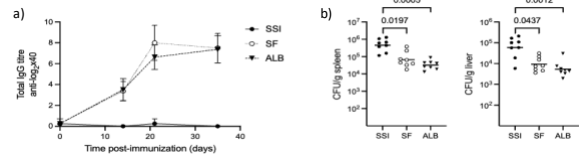


Fig. 2. a) Cinética de anticuerpos IgG totales de cultivo en matraz y biorreactor. b) Carga bacteriana en bazo e hígado 24h post-infección con *S. Typhi* de ratones inmunizados con porinas producidas en matraz o BAL. n=8.

Conclusiones. No se encontró diferencia entre las cinéticas de biomasa y capacidad protectora entre las porinas producidas en matraz y BAL. Las porinas de ambos sistemas indujeron la producción de anticuerpos y portegieron contra un reto con *S. Typhi*.

Agradecimiento. BactiVac Vaccine Network projects: BVNCP-07, BVNCP3.21. IMSS: FIS/IMSS/PROT/EMER/1890, FIS/IMSS/PROT/IT19/1881.

Bibliografía.

- Stanaway, J. D. *et al.* (2019) The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *The Lancet Infectious Diseases*, 19, 369–381.
- Isibasi, A., Ortiz-Navarrete, V., Paniagua, J., Pelayo, R., González, C. R., García, J. & Kumate, J. (1992) Active protection of mice against *Salmonella Typhi* by immunization with strain-specific porins. *Vaccine*, 10, 811–813
- Perez-Shibayama, C., Gil-Cruz, C., Pastelin-Palacios, R., Cervantes-Barragan, L., Hisaki, E., Chai, Q., Onder, L., Scandella, E., Regen, T., Waisman, A., Isibasi, A., Lopez-Macias, C. & Ludewig, B. (2014) IFN- γ -producing CD4+ cells promote generation of protective germinal center-derived IgM+b cell memory against *Salmonella Typhi*. *The Journal of Immunology*, 192, 5192–5200.