

---

# OBJETIVO 4.3

---

Desarrollar nuevos métodos alternativos, eco-sostenibles de tratamiento y control de patógenos en acuicultura, tanto terapéuticos como profilácticos.

## Conexión con las líneas de actuación del plan nacional

**Líneas de actuación A2:** Acuicultura sostenible, inteligente y de precisión

**Actuación A2.15:** Establecimiento de medidas biosanitarias y diseño de protocolos y otras medidas de control específicas (vacunas, prebióticos, probióticos, tratamientos alternativos, etc.) para mitigar los efectos del cambio climático y la intensificación de los cultivos de peces sobre epizootias debida a patógenos recurrentes y emergentes.

## Descripción de tareas

**Tarea 4.3.1 (M6-M45) - Desarrollo de una vacuna de DNA frente a *Enteromyxum leei*** – Prueba de la capacidad protectora de candidatos vacunales para *E. leei* expresados en vectores de expresión específicos administrados mediante inyección o por vía oral en doradas.

**Responsable:** CSIC3

**Resultado:** CSIC3 ha clonado en pcDNA3 mediante Gibson assembly dos proteínas transmembrana del parásito que previamente demostraron su potencial antigénico. Durante la clonación se introdujeron en los constructos el péptido señal de la IgM de la dorada para asegurar la ruta secretora en células de pez, y una cola de histidina para poder detectar expresión. Los plásmidos se expresaron en células HEK293 y se comprobó la correcta expresión mediante inmunocitoquímica y citometría de flujo utilizando un anticuerpo anti-cola de histidina, y mediante western-blot con el mismo anticuerpo o con suero de pez resistente. Para asegurar una correcta inserción de la secuencia de interés, se decidió realizar síntesis comercial del plásmido pcDNA3 conteniendo la secuencia más prometedora con potencial antigénico. Se incluyó en la construcción una cola de histidina y la presencia de dos lugares de restricción para facilitar el traslado de la secuencia a otro plásmido en caso de necesitar hacer futuras pruebas de eficiencia de vacunación (eg. pVax1). Actualmente se está amplificando y purificando el nuevo plásmido. Los siguientes pasos incluirán la expresión en cultivos celulares de pez (EPC, RTGut) y pruebas de expresión por células musculares de la dorada tras inyección. En caso de mostrarse expresión en el tejido in vivo y reacción de anticuerpos, se procederá a realizar un reto para probar protección.

**Grado de consecución:** 35%

**Impacto:** La producción de vacunas frente a parásitos en acuicultura es un campo poco explorado y de alta relevancia. La identificación de un antígeno vacunal protector frente a *E. leei* permitirá el diseño de vacunas aplicables en acuicultura frente a una de las enfermedades parasitarias más relevantes.

**Tarea 4.3.2 (M6-M43) - Diseño de vacunas para vibrios zoonóticos** - Se diseñarán una vacuna subunitaria multi-hospedador y una vacuna oral para su aplicación en granjas.

**Responsable:** UV1

**Resultado:** 1) Vacuna oral subunitaria: UV1 ha optimizado el protocolo de expresión y purificación de las proteínas antigénicas seleccionadas, Ftrpr y Fpcrpr, para su obtención en forma de cuerpos de inclusión. Caracterizaron los cuerpos de inclusión comprobado su tamaño y morfología, así como su resistencia a altas temperaturas y pH ácido. Se ha realizado un experimento de inmunización de peces a escala piloto con estas formulaciones, obteniendo resultados prometedores en términos de protección y títulos de anticuerpos. 2) Vacuna oral producida en plantas: UV1 ha producido los fragmentos antigénicos seleccionados en *Nicotiana benthamiana* de forma transitoria, usando como vehículo la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Están poniendo a punto su producción inducible por cobre. En paralelo, se ha realizado un ensayo de vacunación para valorar el poder inmunógeno de extractos de triturados de la planta transgénica en animales por intubación oral. Todo este trabajo ha sido realizado en colaboración con el Instituto de Biología Celular y Molecular de Plantas CSIC-UPV.

**Grado de consecución:** 70%

**Impacto:** Dado que en ambos casos el objetivo es patentar las nuevas vacunas desarrolladas, los resultados no han sido presentados a congreso ni publicados, con la excepción de dos posters sobre la vacuna subunitarias presentados al congreso Aquaculture Europe-2023 y al CNA. Se han solicitado varias patentes para la protección de la vacuna subunitaria (proteína recombinante, cepa productora y vacuna final).