

**CONVENIO ESPECÍFICO DE COLABORACIÓN CIENTÍFICO ACADEMICO
ENTRE EL MINISTERIO DE SALUD DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA, LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y LA FACULTAD DE CIENCIAS
MEDICAS DE LA UNIVERSIDAD DE NACIONAL DE CÓRDOBA**

Entre el Ministerio de la Provincia de Córdoba, representado en este acto por el Dr. Ricardo Pieckestainer, D.N.I. N° 21.405.413 con domicilio en Av. Vélez Sarsfield 2311, ciudad de Córdoba - Complejo Pablo Pizzurno - Ciudad Universitaria, la Facultad de Ciencias Químicas, en adelante LA FCQ, representada por el Dr. Prof. Marcelo Mario Mariscal D.N.I. N° 24.627.114, en su calidad de Decano, actuando en el ejercicio de su cargo y conforme a lo establecido en la Resolución del Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Químicas, U.N.C., N° 618/21, con domicilio en Medina Allende y Av. Haya de la Torre, Ciudad Universitaria, y la Facultad de Ciencias Médicas, en adelante LA FCM, representada por el Dr. Rogelio D. Pizzi D.N.I. N° 24.615.343, en su calidad de Decano, actuando en el ejercicio de su cargo y conforme a lo establecido en la Resolución del Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Médicas, U.N.C., N° 326/21, con domicilio en Av. de la Reforma, Pabellón Perú, Ciudad Universitaria, acuerdan suscribir el presente Convenio de Colaboración Académico - Técnica:

PRIMERA. OBJETO. Es objeto del presente llevar adelante el Proyecto "PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN NO PATROCINADO CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE DESARROLLADA EN PERSONAS INMUNIZADAS CON LA VACUNA QDENG (TAKEDA)", en adelante el "PROYECTO", que como Anexo I se incorpora al presente acuerdo.

SEGUNDA. ACTIVIDADES. En virtud del presente LAS PARTES:

- Compartirán información académica en cuanto al estado de conocimiento del tema objeto del PROYECTO.
Se complementarán en la utilización de instrumentos y equipos de ambas instituciones que sean necesarios en el marco del PROYECTO. Para el supuesto en que una de las partes haga entrega de equipos a la otra, se comprometen a dejar plasmadas las condiciones en un contrato de comodato.
- Publicarán de común acuerdo entre los integrantes del PROYECTO los resultados obtenidos, las metodologías implementadas y las observaciones realizadas en las memorias técnicas y/o comunicaciones científicas que se consideren pertinentes, teniendo en cuenta aspectos de confidencialidad. En caso de que se expongan en publicaciones científicas o técnicas los resultados de los trabajos que se realicen como consecuencia de este convenio, deberá hacerse constar en ellas la participación de ambas instituciones. En toda otra publicación o documento editado en forma unilateral, la parte que lo haga deberá dejar constancia de la

colaboración prestada por la otra, sin que ello implique responsabilidad alguna para ésta respecto del contenido y costos de lo publicado.

TERCERA. APORTES DE LAS PARTES:

RECURSOS HUMANOS: Cada Parte compromete, para la ejecución de las actividades específicas del presente acuerdo, al personal especificado en el "PROYECTO".

RECURSOS MATERIALES: Las partes contribuirán al PROYECTO con los recursos materiales para la realización de las actividades relativas al objeto del presente, según lo especificado en el "PROYECTO". Además, los responsables del proyecto por parte de ambas partes, LA FCQ y LA FCM, podrán solicitar financiamiento a organismos de ciencia y técnica y otras entidades nacionales para la compra de insumos, materiales descartables y reactivos inherentes al desarrollo experimental del PROYECTO.

CUARTA. RESPONSABLES- En relación al presente Convenio, para su seguimiento, control y coordinación, LAS PARTES designan como Responsables Técnicos a:

Por LA FCM:

- DRA. VIVIANA RE
- DRA LORENA SPINSANTI

Por LA FCQ:

- DRA. MARIANA MACCIONI
- DR. GABRIEL MORÓN
- DRA BELKYS MALETTO
- DR. NICOLÁS NUÑEZ
- DRA. INÉS CRESPO
- DRA EVA ACOSTA-RODRIGUEZ
- DRA LUISINA ONOFRIO

QUINTA. PLAZO DE VIGENCIA. La vigencia del presente Convenio se extiende por la totalidad de la ejecución del PROYECTO y hasta un plazo máximo de un (1) año a partir de la fecha del efectivo inicio, pudiendo LAS PARTES prorrogar este plazo de común acuerdo.

SEXTA. MODIFICACIÓN Y DENUNCIA. LAS PARTES podrán modificar el presente documento por mutuo acuerdo o denunciarlo, comunicándolo, por escrito, con tres (3) meses de antelación a la fecha en que vayan a darlo por terminado, sin que tal modo de conclusión contractual importe indemnización alguna para LAS PARTES, dejando a salvaguarda del derecho a percibir específicamente lo que se debiera por la otra parte, por la concreta actividad o conjunto de actividades desplegadas al momento de la resolución.




SÉPTIMA. DEL PERSONAL. En caso que personal dependiente de una de LAS PARTES realice tareas y ejecute acciones fuera en dependencias, instalaciones o en el ámbito de la otra, deberá cumplir y respetar todas las disposiciones internas en materia de confidencialidad, preservación de materiales, elementos y herramientas, uso exclusivo de herramientas y elementos, y ello no implicará existencia de relación de dependencia, empleo ni vínculo constitutivo de relación laboral de ninguna índole.

OCTAVA. RESPONSABILIDAD LABORAL Y ECONOMICA. El presente Convenio no implica para ninguna de LAS PARTES en forma directa obligación económica alguna fuera de las especificadas en el mismo, ni asunción de ningún tipo de responsabilidad laboral de una de LAS PARTES respecto del personal de la otra, comprometiéndose a mantenerse indemnes entre sí en tal sentido.

NOVENA. PUBLICACIÓN O DIFUSIÓN DE RESULTADOS. Previo a la publicación o difusión de cualquier resultado parcial o definitivo que se obtenga en el marco del presente Convenio, la Parte que pretenda publicar o difundir deberá contar con la autorización por escrito de la otra, y en la publicación se deberá manifestar claramente la colaboración prestada por cada Parte.

La titularidad de toda creación intelectual que pueda quedar comprendida en los regímenes legales relativos a la propiedad intelectual / industrial, y todo otro resultado de investigación no protegible y susceptible de adquirir valor económico por su explotación comercial generada en el marco de la investigación será convenida de mutuo acuerdo entre LAS PARTES, en función del grado de protagonismo intelectual del personal participante en EL PROYECTO.

DECIMA. SOLUCIÓN DE CONFLICTOS. LAS PARTES de común acuerdo se someten a un Tribunal Arbitral, integrado por un miembro de cada Parte y otro designado de común acuerdo, en caso de conflicto en la interpretación y/o aplicación de las disposiciones del presente Convenio, como así también de todas las obligaciones emergentes.

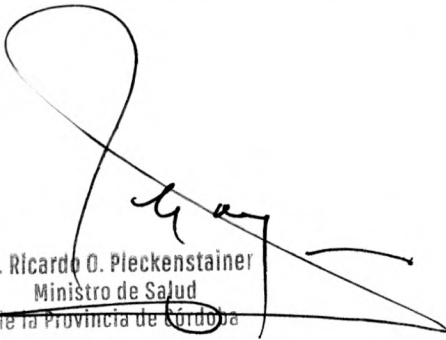



Dr. Ricardo O. Pieckenstainer
Ministro de Salud
de la Provincia de Córdoba

Para el caso de haberse agotado la instancia arbitral, sin que LAS PARTES hayan arribado a un acuerdo, deberán someter su diferendo por ante los Tribunales Federales de la Ciudad de Córdoba, renunciando a cualquier otro fuero de excepción que pudiese corresponderles.

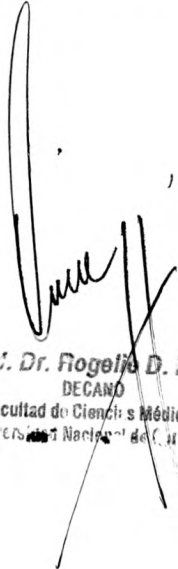
UNDECIMA. SALVAGUARDA AMBIENTAL. LAS PARTES se comprometen a tomar los recaudos necesarios relacionados a los residuos patógenos, para evitar deterioros ambientales que las actividades desarrolladas pudieran ocasionar. Los residuos patógenos serán descartados según los procedimientos vigentes aprobados para su de descarte.

DUODECIMA. DOMICILIOS. A todos los efectos del presente, las Partes constituyen domicilio especial en los domicilios detallados en el encabezado del presente.

En prueba de conformidad, las Partes suscriben tres (3) ejemplares del presente Convenio de igual tenor y a un mismo efecto, en la Ciudad de Córdoba a los 20 días del mes de septiembre de 2024


Dr. Ricardo O. Pleckenstainer
Ministro de Salud
de la Provincia de Córdoba


Prof. Dr. MARCELO M. MARISCAL
DECANO
Facultad de Ciencias Químicas - UNC


Prof. Dr. Rogelio D. Pizal
DECANO
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Córdoba

ANEXO I

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE DESARROLLADA EN PERSONAS INMUNIZADAS CON LA VACUNA QDENG (TAKEDA)

RESUMEN

Argentina está experimentando una grave situación epidemiológica ocasionada por el dengue. Entre las semanas epidemiológicas 31/2023 y 17/2024, se registraron 438,000 casos, principalmente durante el año 2024, con aproximadamente 1000 casos graves y una tasa de mortalidad del 0.07%, resultando en un aumento del 1133% en el número de casos en comparación con el año anterior. La provincia de Córdoba no escapó a esta tendencia, ya que el 62% de los casos ocurrieron en la región central, afectando principalmente a personas de entre 15 y 44 años (1,2). La Comisión Nacional de Inmunizaciones, en su informe del 11/04/2024 indicó como población objetivo las personas de 15 a 39 años en departamentos priorizados según situación epidemiológica y recomendó iniciar la vacunación en personas de 15 a 19 años, especialmente aquellos seropositivos, antes de un nuevo pico de circulación viral. Además, el Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba anunció la adquisición de la vacuna Qdenga (Takeda), destinada inicialmente a profesionales de la salud y personas de 15 a 59 años que hayan padecido dengue grave (<https://ministeriodesalud.cba.gov.ar/tag/vacuna-dengue/>). Aún si las campañas de vacunación no se concretan desde los respectivos Ministerios, la vacuna está disponible en distintos centros privados del país.

Este contexto sanitario único y dado los probables protocolos de inmunización que se llevarán a cabo por el Ministerio de Salud de la Provincia y/o de la Nación genera una oportunidad excepcional para obtener muestras de suero y células mononucleares de sangre periférica de individuos infectados-vacunados y no infectados-vacunados para analizar en detalle la respuesta inmune humoral y celular en cada caso. El contar con estas muestras biológicas, cuidadosamente seleccionadas y preservadas, permitirá analizar y comparar la respuesta inmune conferida por la vacunación y así generar conocimiento, que en base a la evidencia local obtenida, pueda asistir en la toma de decisiones sanitarias.

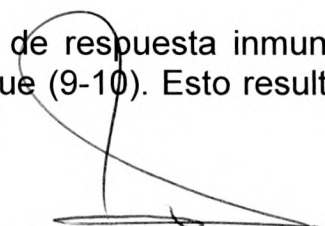
ANTECEDENTES, DIAGNÓSTICO Y PROBLEMA

El dengue es causado por el virus del dengue (DENV)-1, DENV-2, DENV-3 o DENV-4, y los cuatro serotipos ahora coexisten en muchas áreas endémicas, aunque en nuestra provincia circulan principalmente DENV-1 y 2 (4,5). La mayoría de los casos de dengue son asintomáticos o leves; sin embargo, aproximadamente el 5% progresa a dengue grave. Además, los cuatro serotipos del virus del dengue son genéticamente distintos y relacionados antigénicamente, pero, desafortunadamente la protección cruzada es limitada; por lo tanto, las

personas pueden tener múltiples infecciones por el virus del dengue con cada uno de los diferentes serotipos. Los anticuerpos IgG preexistentes de una infección primaria por un serotipo de DENV pueden unirse a un serotipo de DENV heterólogo durante una infección secundaria y mediar la potenciación de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE: *antibody disease enhancement*) a través de interacciones con células que portan receptores Fc γ . Esta interacción conduce a una mayor replicación viral intracelular y se ha asociado con enfermedad más grave. La potenciación dependiente de anticuerpos ha complicado los esfuerzos de desarrollo de vacunas contra el DENV, ya que los candidatos vacunales deben provocar respuestas inmunes protectoras de buena calidad duraderas y contra los serotipos 1 al 4 del DENV evitando la posibilidad de ADE. Estas características del virus han hecho que el desarrollo de vacunas haya sido complicado (4,5).

En la actualidad existen al menos dos vacunas aprobadas disponibles contra dengue: la vacuna CYD-TDV (Dengvaxia, Sanofi-Pasteur), y la vacuna TAK-003 o Qdenga (TAKEDA). Una tercera vacuna desarrollada por el Instituto Butantan en Brasil (TV003/Butantan-DV) está actualmente en fase III. Cada una de ellas ha presentado complicaciones, lo que sugiere que el conocimiento sobre la inmunidad al dengue utilizado para su desarrollo es incompleto (5-7). La eficacia de estas vacunas contra la infección sintomática por DENV varía para cada uno de los cuatro serotipos de DENV; además, las tres vacunas muestran una mayor eficacia en aquellos pacientes con infección previa por DENV (seropositivos al inicio) que en aquellos que no han sido infectados con al menos un tipo de DENV (seronegativos al inicio). En general, para cada una de ellas se conoce su capacidad de inducir anticuerpos neutralizantes para prevenir la enfermedad sintomática causada por el DENV. Sin embargo, los anticuerpos neutralizantes son solo un componente de la respuesta inmune adaptativa. La inmunidad celular, impulsada por las células T CD4+ y CD8+, también desempeña un papel importante en el control viral y la prevención de la enfermedad y el conocimiento sobre su inducción es sumamente escaso (11-13). Se sabe que las células T CD4+ cooperadoras apoyan a otros componentes del sistema inmune como las células B y los macrófagos, mediante la secreción de citoquinas como el IFN- γ , el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina-2 (IL-2), mientras que las células T CD8+ citotóxicas eliminan directamente las células infectadas por el virus. Por lo tanto, tanto los anticuerpos neutralizantes como la respuesta inmune celular desempeñan roles complementarios para controlar la infección y mitigar la gravedad de la enfermedad. El estudiar en profundidad la respuesta inmune a estas vacunas podría mejorar nuestra comprensión de la inmunidad al dengue, con la ventaja de que estos datos se obtienen en condiciones experimentalmente diseñadas y controlados. La posibilidad de obtener muestras de sangre de personas vacunadas permitirá en primer lugar evaluar la inmunidad humoral y su función neutralizante y luego en un futuro próximo evaluar exhaustivamente la inmunidad celular (3).

Existe una amplia carencia de datos sobre el tipo de respuesta inmune celular que genera las vacunas aprobadas contra el Dengue (9-10). Esto resulta



muy llamativo dada la importancia sanitaria que reviste la vacunación contra dengue ya sea para prevenir la aparición de casos de dengue severo y/o para prevenir una segunda infección heteróloga con el consecuente riesgo de severidad que ésta conlleva. Vale recalcar, que si bien la inmunidad humoral en general, y los anticuerpos neutralizantes en particular, son el primer correlato de protección evaluado, y de hecho sus niveles en los distintos protocolos de inmunización han sido publicados (5-10), no hay datos sobre la respuesta inmune celular que se genera. Esta inmunidad celular es imprescindible para mantener una respuesta humoral de calidad en el tiempo. El poder obtener células mononucleares de sangre periférica de la cohorte de nuestra población vacunada abre una ventana de oportunidades única y exclusiva para el conocimiento de la inmunidad en Dengue y para la toma de decisiones sanitarias en base a evidencia local.

Objetivo general

Caracterización de la respuesta inmune humoral y celular desarrollada en personas inmunizadas con la vacuna Qdenga (TAKEDA)

Objetivos específicos

Describir los objetivos específicos técnicos (y económicos y sociales en caso de corresponder).

1. Obtener células mononucleares de sangre periférica en personas vacunadas entre 18-59 años con toma de muestras en un ensayo longitudinal a saber: 1) pre-vacunación; 2) 1 día después de la primera dosis; 3) a los 90 días (antes de aplicar la segunda dosis); 4) a los 120 días después de la 1era dosis.
2. Obtener suero y plasma en personas vacunadas entre 18-59 años con toma de muestras en un ensayo longitudinal para a posteriori evaluar la respuesta inmune humoral generada midiendo inmunoglobulinas específicas contra dengue 1) pre-vacunación; 2) 30 días después de la primera dosis; 3) a los 90 días (antes de aplicar la segunda dosis); 4) a los 120 días después de la 1era dosis.
3. Realizar estudios de anticuerpos IgG contra DENV utilizando la técnica de ELISA para evaluar la respuesta humoral generada por la vacuna a los distintos tiempos especificados
4. Realizar estudios de actividad neutralizante del plasma contra los distintos serotipos de DENV
5. Caracterizar la respuesta inmune celular específica contra DENV
6. Valorar los parámetros citológicos y bioquímicos generales para correlacionarlos con los estudios anteriores

METODOLOGÍA

i. Método

Se realizará un estudio de investigación traslacional, observacional, prospectivo, longitudinal, descriptivo y analítico.

ii. Materiales

Se utilizarán muestras de sangre de punción venosa de individuos de ambos sexos 18-59 años de edad que trabajan como personal de salud en la Nueva

Maternidad Provincial “Brigadier Juan B. Bustos” de Córdoba durante los años 2024-2025 y que vayan a recibir la vacuna de Qdenga (Takeda). Se obtendrá una primera muestra (día 0) antes de la 1era dosis del esquema de inmunización y muestras longitudinales al día 1, 30, 90 (antes de la 2da dosis) y 120 (post primera dosis).

Las muestras al día 0 serán evaluadas para la presencia de IgG anti Dengue y de esa manera se obtendrán dos grupos (Grupo I: vacunado no infectado previamente y Grupo II: vacunado-infectado previamente). Todos los voluntarios firmarán el Consentimiento Informado.

Estimamos iniciar este estudio con un mínimo estimado de 50 individuos por grupo. Este tamaño muestral permitirá detectar diferencias de al menos 20% en los niveles de anticuerpos neutralizantes entre grupos con un 80% de potencia estadística.

Origen institucional de los participantes (Centro Participante)

Este estudio se realizará con el personal de salud en la Nueva Maternidad Provincial “Brigadier Juan B. Bustos” de Córdoba.

Criterios de inclusión:

- Persona de ambos sexos, de 18-59 años.
- Con o sin infección previa de dengue.
- Ausencia de sospecha de dengue u otro proceso infeccioso agudo al momento de colocarse la vacuna.
- Persona que inicie su vacunación con Qdenga en el momento de inicio del presente estudio.
- Firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Personas que hayan recibido en algún momento previo cualquier tipo de vacunación contra dengue, incluida la vacuna Qdenga.
- Personas con clínica de infección crónica, enfermedades autoinmunes y autoinflamatorias diagnosticados y otras patologías tales como neoplasias hematopoyéticas, cáncer, o inmunocomprometidos (por enfermedad de base o por tratamiento inmunosupresor), embarazadas y en período de lactancia (éstas últimas no incluidas en la población objetivo de vacunación hasta el momento).
- Personas que hayan recibido otra vacuna dentro de los 30 días previo al día de recibir la vacuna Qdenga.
- Personas que hayan recibido una intervención quirúrgica mayor en los últimos 30 días.
- Personas con enfermedades viscerales que conducen a discapacidad (insuficiencias cardíacas, dializado renales, insuficiencias respiratorias, insuficiencias hepáticas, malformaciones intestinales, electrodependientes y trasplantados viscerales hasta 2 años posterior a su trasplante).

Reclutamiento de los participantes

Los participantes serán reclutados entre el personal de salud de los centros intervinientes. El reclutamiento será realizado vía comunicación institucional interna.

Número de muestras a ser colectadas

Serán colectadas 4 muestras a un número de 60 participantes/grupo. Se estima un desgranamiento de un 30% considerando aquellos que deserten del estudio y aquellos que se pudieran infectar con dengue durante el tiempo de estudio. Estimamos iniciar este estudio con un mínimo de 60 individuos/por grupo. Este tamaño muestral permitirá detectar diferencias de al menos 20% en los niveles de anticuerpos neutralizantes entre grupos con un 80% de potencia estadística.

Obtención de las muestras:

Se obtendrán dos tipos de muestra (volumen a extraer de sangre: 10 ml):

- Muestra de suero en tubo vacutainer de 5 ml (con gel separador).
- Muestra de sangre entera en tubo vacutainer de 10 ml (con K2EDTA como anticoagulante).

La toma de las muestras se realizará en la Maternidad Provincial mientras que las muestras serán procesadas en los laboratorios de las Facultades de Ciencias Químicas y en el Instituto Vanella de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNC.

A partir de la muestra de sangre entera se obtendrá plasma y células mononucleares de sangre periférica (PMBC) según técnicas convencionales de gradiente con Ficoll-Hypaque (3). Las muestras de suero, plasma y PBMC serán preservadas en N₂ líquido.

Almacenamiento de las muestras

Las muestras de PBMC serán almacenadas en termos de N₂ disponibles en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas.

Las muestras de plasma y suero serán almacenadas a -20°C en los laboratorios de las Facultades de Ciencias Químicas y en el Instituto Vanella de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNC.

En ambos casos el tiempo de almacenamiento será por el término de 5 años. Una vez cumplido este plazo las muestras serán destruidas.



iii. Diseño experimental y estrategia de evaluación de la respuesta humoral y de las poblaciones celulares de sangre periférica de los diferentes grupos en estudio

a) Evaluación de la respuesta inmune celular

Las distintas poblaciones leucocitarias se analizaron por citometría de flujo multiparamétrica. La tinción superficial de las suspensiones de PBMC se realizará usando protocolos estándar indicados por el fabricante y utilizando paneles de anticuerpos semejantes a los utilizados en Nuñez et al., 2023 (3). Se realizarán pruebas funcionales ex vivo tales como ELISPOT para evaluar la producción de interferón γ frente a antígenos específicos del virus dengue (14).

b) Evaluación de la respuesta inmune humoral

Para verificar la seronegatividad a tiempo "0" (prevacunación), se utilizará un test de screening rápido que mide IgM e IgG anti DENV (a modo de ejemplo este es uno de los kits disponibles:

<https://www.globalpointofcare.abbott/ar/es/product-details/panbio-dengue-duo-cassette.htm> Esto permitirá ir clasificando los grupos I y II.

La presencia de anticuerpos IgG anti-DENV se evaluarán por ELISA siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Algunos de los kits disponibles en la actualidad que podrían ser utilizados son: Diapro <https://www.diapro.it/products/dengue-virus-igg-elisa/> o el de Abbot

(<https://www.globalpointofcare.abbott/ar/es/product-details/panbio-dengue-igg-capture-eli>

[sa.html#:~:text=La%20prueba%20Panbio%E2%84%A2%20Dengue,disponible%20en%20todo%20los%20pa%C3%ADses\)](https://www.globalpointofcare.abbott/ar/es/product-details/panbio-dengue-igg-capture-eli)

c) Evaluación de la actividad neutralizante

Se detectarán anticuerpos neutralizantes contra los cuatro serotipos de DENV por la técnica de neutralización de unidades formadoras de placas (ufp) en monocapa de células de riñon de mono (VERO), según protocolo de Early et al. (15) estandarizado en el Laboratorio de Arbovirus (Instituto de Virología "JM Vanella", Facultad de C. Médicas, UNC). Se realizará un screening de los sueros en la dilución 1:10 y posteriormente se titulará aquellos que resulten positivos.

d) Correlación entre todos los datos obtenidos

Se realizará un análisis integrado de todos los datos obtenidos de la respuesta inmune humoral y celular contra DENV en los grupos de individuos vacunados. Específicamente, se correlacionarán los niveles de anticuerpos IgG anti-DENV detectados por ELISA, los títulos de anticuerpos neutralizantes frente a los cuatro serotipos determinados por el ensayo de neutralización viral, con los datos fenotípicos y funcionales de las poblaciones linfocitarias obtenidos por citometría de flujo multiparamétrica y los ensayos de ELISPOT para detección de interferón gamma. Este abordaje integral permitirá definir posibles firmas o patrones inmunológicos asociados a una respuesta protectora de alta calidad inducida por la vacunación. Así como identificar potenciales correlaciones entre ciertos componentes de la respuesta humoral y celular que podrían ser valorados como biomarcadores de protección. La estrategia a seguir será similar a la empleada previamente por nuestro grupo en el estudio de las vacunas contra SARS-CoV-2,

donde se realizó un análisis multiparamétrico de alta dimensionalidad integrando datos fenotípicos, funcionales y de la respuesta de anticuerpos para definir firmas inmunológicas asociadas a una mayor inmunogenicidad en los distintos regímenes de vacunación evaluados (Nuñez et al., Nat Immunol 2023).

IMPORTANCIA Y RELEVANCIA DEL PROYECTO

El desarrollo de vacunas contra el dengue se ha centrado principalmente en inducir altos títulos de anticuerpos neutralizantes para prevenir la enfermedad grave causada por el DENV. Sin embargo, los anticuerpos neutralizantes son solo un componente de la respuesta inmune adaptativa. La inmunidad celular (no evaluada en personas vacunadas con Qdenga hasta el momento) también desempeña un papel importante en el control viral y en la prevención de la enfermedad. Las células T CD4+ cooperadoras apoyan a otros componentes del sistema inmune como las células B y los macrófagos, mediante la secreción de citoquinas como el IFN- γ , el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina-2 (IL-2), mientras que las células T CD8+ citotóxicas eliminan directamente las células infectadas por el virus. Por lo tanto, tanto los anticuerpos neutralizantes como la respuesta inmune celular desempeñan roles complementarios para controlar la infección y mitigar la gravedad de la enfermedad. El estudiar en profundidad la respuesta inmune a estas vacunas, correlacionando los datos de la inmunidad celular y la humoral, podría mejorar nuestra comprensión de la inmunidad al dengue, con la ventaja de que estos datos se obtienen en condiciones experimentalmente diseñadas y controladas.

ANTECEDENTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN Y GRUPO DE VINCULACIÓN

En el año 2021, investigadores del Departamento de Bioquímica Clínica, CIBICI-CONICET (Facultad de C. Químicas, UNC), junto con colegas del Instituto de Virología "JM Vanella" (Facultad de Cs. Médicas, UNC), del Ministerio de Salud de la Pcia. de Córdoba, Laboratorio Central y Epidemiología de la Provincia generaron un equipo multidisciplinario cuyo objetivo fue describir sistemática y exhaustivamente las poblaciones de la inmunidad celular (innata y adaptativa) y la funcionalidad de las células inmunes de sangre periférica de individuos no infectados con SARS-CoV-2 y vacunados con las vacunas Sputnik V, Sinopharm, Moderna, Oxford-AstraZeneca y Cansino y sus combinaciones, a los fines de ampliar el estudio de la inmunogenicidad humoral y capacidad neutralizante de estos regímenes de vacunas que estaban incluidos en el estudio clínico aprobado por el MSAL-Cba (3). Dicho equipo estableció un biobanco de muestras de suero, plasma y PBMC de aproximadamente 900 muestras de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Ese biobanco fue utilizado para ensayos de funcionalidad de PBMC y una extensiva caracterización fenotípica de las poblaciones linfocitarias. La correlación de esta información con la inmunogenicidad humoral, la descripción clínica y la colección de información de los efectos adversos permitió definir distintos grupos de pacientes respondedores y firmas inmunológicas en función de la combinación de vacunas recibidas, que

permitió validar el uso de combinación de vacunas empleado en Córdoba y la Nación. Estos resultados fueron informados a la comunidad científica internacional a través de una publicación científica con muy alto impacto:

“High-dimensional analysis of 16 SARS-CoV-2 vaccine combinations reveals lymphocyte signatures correlating with immunogenicity. Nat Immunol, 24(6), pp.941-954. doi: 10.1038/s41590-023-01499-w.”

INVESTIGADORES PARTICIPANTES

1. LABORATORIO DE LA NUEVA MATERNIDAD PROVINCIAL BRIGADIER JUAN BAUTISTABUSTOS

BIOQ. ESPECIALISTA SILVIA ZAMORY BIOQ. ESPECIALISTA VANINA MARINI

BIOQ. ESPECIALISTA FERNANDA GIORGINI

2. DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA. CIBICI-CONICET

DRA. MARIANA MACCIONI

DR. GABRIEL MORÓN

DRA BELKYS MALETTO DR. NICOLÁS NUÑEZ

DRA. INES CRESPO

3. INSTITUTO DE VIROLOGIA J.M VANELLA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

DRA. VIVIANA RE

DRA LORENA SPINSANTI

PRINCIPIOS ÉTICOS Y DE CONFIDENCIALIDAD

Este trabajo cumplirá con los principios éticos que indica la declaración de Helsinki; las pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos, tanto como los principios éticos básicos: el respeto por las personas, la beneficencia y la justicia. Se priorizará la salud, el bienestar y los derechos de los pacientes involucrados Se promoverá y asegurará el respeto hacia los pacientes Se protegerá la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de

las personas que participan en la investigación

Se informará a los representantes legales de los pacientes, el objetivo del estudio, los beneficios y posibles riesgos de la realización del mismo, por medio de consentimientos firmados, priorizando su decisión voluntaria sin necesidad de justificación.

Se resguarda la intimidad de las personas que participen del estudio, y toda información personal brindada por los mismos, siendo información confidencial que no se utilizara con otros fines. Todos los datos e información personal brindada por los participantes del estudio, serán utilizados solo con el fin de establecer los intervalos de referencia, serán datos confidenciales, y no serán utilizados para fines de maleficencia, según indica la ley 25.326.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Ministerio de Salud de la Nación. 2024. DENGUE, Presentación de situación epidemiológica: Acciones y Planificación. [online] Available at: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/plan-de-bordaje-integral-dengue-2024-2025.pdf> [Accessed 20 May 2024].
- 2.-Comisión Nacional de Inmunizaciones. 2024. Vacunación contra el dengue: proceso de análisis para la implementación como estrategia integrada de salud pública. [online] Available at: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2024/03/conain_presentacion_07-03-2024.pdf [Accessed 7 March 2024].
- 3.-Nuñez, N.G., et al., 2023. High-dimensional analysis of 16 SARS-CoV-2 vaccine combinations reveals lymphocyte signatures correlating with immunogenicity. *Nat Immunol*, 24(6), pp.941-954. doi: 10.1038/s41590-023-01499-w.
- 4.-St John, A.L. and Rathore, A.P.S., 2019. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol*, 19(4), pp.218-230. doi: 10.1038/s41577-019-0123-x.
- 5.-Ooi, E.E. and Kalimuddin, S., 2023. Insights into dengue immunity from vaccine trials. *Sci Transl Med*, 15(704), p.eadh3067. doi: 10.1126/scitranslmed.adh3067.
- 6.-Biswal, S., et al., 2019. Efficacy of a Tetravalent Dengue Vaccine in Healthy Children and Adolescents. *N Engl J Med*, 381(21), pp.2009-2019. doi: 10.1056/NEJMoa1903869.
- 7.-Kallás, E.G., et al., 2024. Live, Attenuated, Tetravalent Butantan-Dengue Vaccine in Children and Adults. *N Engl J Med*, 390(5), pp.397-408. doi: 10.1056/NEJMoa2301790.

8.-Biswal, S., et al., 2020. Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in healthy children aged 4-16 years: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial.

9.-Rivera, et al., 2022. Three-year Efficacy and Safety of Takeda's Dengue Vaccine Candidate (TAK-003). Clin Infect Dis, 75(1), pp.107-117. doi: 10.1093/cid/ciab864.

10.-Tricou, V., et al., 2024. Long-term efficacy and safety of a tetravalent dengue vaccine (TAK-003): 4.5-year results from a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet Glob Health, 12(2), pp.e257-e270. doi: 10.1016/S2214-109X(23)00522-3.

11.-Robinson, M.L. Magnitude and kinetics of the human immune cell response associated with severe dengue progression by single-cell proteomics.

12.-Waickman, A.T., et al., 2022. Evolution of inflammation and immunity in a dengue virus 1 human infection model. Sci Transl Med, 14(668), p.eabo5019. doi: 10.1126/scitranslmed.abo5019.

13.-Ioannidis, L.J., et al., 2023. Integrated systems immunology approach identifies impaired effector T cell memory responses as a feature of progression to severe dengue fever. J Biomed Sci, 30(1), p.24. doi: 10.1186/s12929-023-00916-4.

14.-Gathsaurie Neelika Malavige 2028. Ex Vivo ELISpot Assay to Investigate Dengue Virus Specific T-Cell Responses. Methods Mol Biol . 2018:1808:173-179. doi: 10.1007/978-1-4939-8567-8_15.

15.-EARLEY, E., P. H. PERALTA & K. M. JOHNSON. 1967. A plaque neutralization method for arboviruses. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 125(3), 741-747

FACILIDADES DISPONIBLES

El proyecto se ejecutará en el CIBICI (CONICET-UNC). El CIBICI cuenta con 2500 metros cuadrados de edificación y con infraestructura y equipamiento básico para la ejecución del proyecto. Se dispone de instalaciones para la realización de estudios en biología celular, molecular y genética. Se cuenta con un laboratorio de microscopía óptica equipada con microscopios confocales, de fluorescencia, micromanipuladores y microinyectores de células. Se cuenta con servicios centralizados de microscopía (<http://cibici.fcq.unc.edu.ar/es/microscopia>), de citometría de flujo (<http://cibici.fcq.unc.edu.ar/es/citometria> con un FACS canto, FACSaria (cell sorter donde es posible aislar hasta 4 poblaciones celulares evaluando 9 parámetros), Attune y Fortessa donde se pueden evaluar 8 y 18 parámetros de manera simultánea, respectivamente), cultivo celular (<http://cibici.fcq.unc.edu.ar/es/cultivo>) y un bioterio

(<http://cibici.fcq.unc.edu.ar/es/bioterio>).

A su vez, este instituto cuenta con una sala de cultivo celular la cual posee cabinas de flujo laminar de seguridad tipo I donde pueden manipularse muestras no patológicas y de seguridad tipo II para muestras potencialmente patológicas. Además, cuenta con un bioterio que permite el desarrollo experimental de los proyectos de investigación (modelos tumorales, modelos de infección, etc).

FINANCIACIÓN

El presente proyecto está siendo presentado para lograr financiación a distintas reparticiones públicas tales como el Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se adjunta en documento aparte.

Este estudio fue evaluado por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud del Adulto del Hospital Córdoba.

(<http://hospitalcordoba.com.ar/comite/comite-institucional-de-etica-de-la-investigacion-en-salud-del-adulto>),

Correo electrónico: cieisdeldulto@gmail.com / cieisdeldulto@yahoo.com.ar,
Teléfono: 0351- 452-4476 / 0351-452-9000 (INT. 370).

