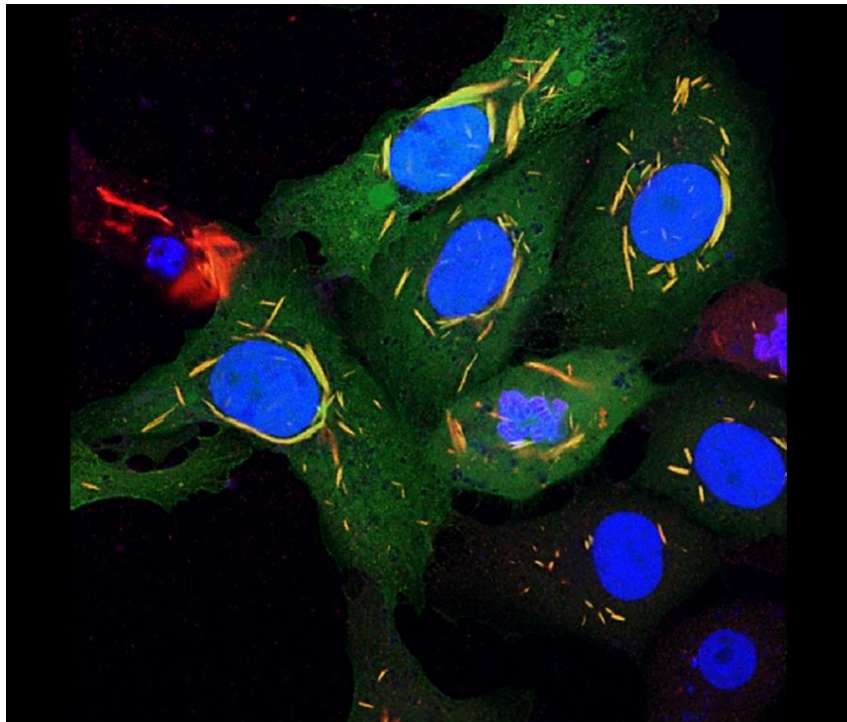


Investigadores del CISA-INIA-CSIC desarrollan un método para la determinación rápida y precisa de la presencia en sangre y órganos del virus de la lengua azul

- Mediante genética reversa, han generado virus de lengua azul recombinantes replicativos que expresan una proteína fluorescente o luminiscente
- Ello permite rastrear la infección a través de técnicas de imagen, lo que facilita realizar estudios *in vitro* e *in vivo* no invasivos y evaluar la eficacia y potencia de nuevas vacunas



Cultivo de células Vero infectadas con virus recombinante de la lengua azul que expresa la proteína verde fluorescente Venus. Núcleos teñidos con DAPI (azul). Proteína NS1 marcada en rojo

22 de febrero de 2024

La lengua azul es una enfermedad viral infecciosa que afecta a los rumiantes, provocada por un arbovirus (familia *Sedoreoviridae*, género *Orbivirus*) que se transmite mediante la picadura de mosquitos del género *Culicoides* infectados por el virus. Muchas especies de virus del género *Orbivirus* causan enfermedades graves en mamíferos. Sin embargo, tres arbovirus transmitidos por *Culicoides* han atraído más atención debido a su considerable impacto no sólo sobre la salud de los animales, sino porque suponen graves pérdidas económicas para los ganaderos y son de notificación obligatoria: el virus de la lengua azul (BTV), el virus de la peste equina africana (AHSV) y el virus de la enfermedad hemorrágica epizootica (EHDV). En el año 2023 se han notificado nuevos brotes de lengua azul de serotipo 3 y 8 en Europa, además de los casos de serotipo 4 en la península ibérica.

Recientemente se han notificado por primera vez en Europa brotes de EHDV-8, virus frente al que no se dispone de una vacuna licenciada en Europa.

Un equipo co-liderado por los Dres. Javier Ortego y Aitor Nogales en el Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) del INIA-CSIC, ha generado virus de la lengua azul recombinantes (rBTV) que expresan proteínas fluorescentes o luminiscentes que permiten rastrear la infección por BTV tanto en cultivos celulares como en infecciones experimentales en animales. El uso de estos virus con capacidad de replicación que expresan una proteína fluorescente o bioluminiscente ha contribuido significativamente al estudio *in vitro* e *in vivo* de infecciones virales y al desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos.

“A pesar de la disponibilidad de vacunas, el BTV y otros orbivirus relacionados todavía tienen un impacto significativo en la salud animal, y tienen importantes consecuencias económicas en todo el mundo. Estos estudios contribuirán al avance de la investigación sobre orbivirus y a facilitar el rápido desarrollo de nuevos tratamientos, incluidas vacunas, frente a estos virus”, explica Javier Ortego.

Mediante genética reversa, los investigadores han diseñado y rescatado rBTVs de los serotipos 1, 4 y 8 que expresan la proteína NanoLuc luciferasa (NLuc) o la proteína fluorescente Venus. “Eso significa que la señal fluorescente o luminiscente sólo se detecta si se produce replicación del virus y se expresan las proteínas no estructurales”, aclara Ortego.

La cinética de crecimiento de los virus rBTV/NLuc y rBTV/Venus en cultivos celulares mostró tasas de replicación similares a las del virus silvestre. Los estudios de infectividad de estos virus recombinantes en modelos de ratones sensibles a la infección por orbivirus mostraron que los virus que expresan los genes indicadores están atenuados *in vivo*. Curiosamente, se detectó actividad luciferasa en el plasma de ratones virémicos infectados con rBTV/NLuc, estando la señal luminiscente relacionada cuantitativamente con los niveles de ARN viral en la sangre de los ratones infectados durante toda la infección. Esta característica permitió utilizar rBTV-8/NLuc para estudiar la eficacia de una vacuna comercial frente a BTV-8.

El análisis de la replicación viral mediante RT-qPCR u otros ensayos convencionales es laborioso y caro, o como en el caso del aislamiento del virus, suele llevar días. “La posibilidad de cuantificar la bioluminiscencia directamente a partir de muestras de sangre y poderla correlacionar con los niveles de viremia de los animales evita pasos de manipulación de las muestras que requieren mucho tiempo. Esto permite una determinación rápida y precisa de la presencia del virus en sangre, lo que facilita la evaluación de la eficacia y potencia de nuevas vacunas frente al virus de la lengua azul”, añade Aitor Nogales.

Por último, estos virus recombinantes que expresan la luciferasa NLuc han permitido por primera vez estudiar la dinámica de la infección viral en el mismo animal durante la progresión natural de la misma utilizando sistemas de imágenes *in vivo* no invasivos (tecnología IVIS). “Los estudios descritos en este trabajo serán de gran utilidad para evaluar la patogenicidad de estos orbivirus de gran relevancia en sanidad animal y contribuirán al desarrollo de novedosas alternativas terapéuticas, como nuevas vacunas o antivirales”, concluye Javier Ortego.

Referencia bibliográfica: **Sergio Utrilla-Trigo, Luis Jiménez-Cabello, Alejandro Marín-López, Miguel Illescas-Amo, Germán Andrés, Eva Calvo-Pinilla, Gema Lorenzo, Piet A. van Rijn, Javier Ortego, Aitor Nogales (2024)**. Engineering recombinant replication-competent bluetongue viruses expressing reporter genes for in vitro and non-invasive in vivo studies. [DOI: 10.1128/spectrum.02493-23](https://doi.org/10.1128/spectrum.02493-23)

Comunicación INIA