

## “Científicos de verdad,.....en el campo. Segunda Parte”

### SISTEMA INMUNE Y VACUNOLOGIA EN EL CERDO

M.V.Z., M.C., Dr. Abel Ciprián Carrasco<sup>1</sup> y MVZ Adriana Ciprián Arratia<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Secretaria de Posgrado de la FES-Cuautitlán, UNAM, México. Correo electrónico: [mvzabelciprian@hotmail.com](mailto:mvzabelciprian@hotmail.com)

<sup>2</sup>Egresada de la FES-Cuautitlán, UNAM.

La Inmunología es la ciencia que estudia todos los mecanismos fisiológicos de defensa de la integridad biológica de un organismo. Un tipo de inmunidad es la no específica para el antígeno o microorganismo, que se conoce como inmunidad innata o natural, pero hay otro tipo de respuesta defensiva y es la que se le ha denominado específica o adaptativa.

1. Inmunidad Innata.
2. inmunidad Adaptativa.

Ambas respuestas defensivas: innata y adaptativa, dependen de las actividades de las células blancas o leucocitos. La inmunidad innata está mediada por los granulocitos y macrófagos; la adaptativa, por la acción de los linfocitos, además de proteger prolongadamente después de padecer una enfermedad infecciosa o vacunación. Los fagocitos del sistema inmune innato constituyen la primera línea defensiva contra muchos microorganismos comunes, pero no siempre pueden eliminar al agente infeccioso e incluso hay algunos patógenos que ellos no pueden reconocer. Los linfocitos de la inmunidad adaptativa han desarrollado medios más versátiles de defensa, que incrementan el nivel de protección ante la reinfección por el mismo agente.

#### **1. INMUNIDAD INNATA (INESPECÍFICA)**

La inmunidad innata ó inespecífica, es un sistema de defensa con el que uno nace y que lo protege contra los microorganismos. Este tipo de inmunidad, consiste en barreras que impiden que sustancias extrañas peligrosas ingresen a nuestro cuerpo. Estas barreras forman la primera línea de defensa en la respuesta inmunitaria.

##### **1.2. Mecanismos y elementos que componen la inmunidad innata**

La respuesta innata requiere la actuación de varios mecanismos y elementos:

**1.2.1. Barreras físicas, químicas y biológicas: tales como, la piel y las mucosas, diferentes enzimas de secreciones corporales (lisozima, lactoperoxidasa, otros) y la microbiota autóctona (intestinal, vaginal, otros), correspondiente a cada órgano o sistema son muy importantes para la resistencia a las enfermedades.**

Para que un agente biológico produzca infección, debe atravesar primeramente una importante barrera defensiva superficial, conformada por la piel y las mucosas del tracto gastrointestinal, respiratorio y genitourinario, la cual funciona siempre que los tejidos intactos del cuerpo se

enfrenten al ambiente externo. En la piel el pH ácido del sudor, como elemento defensivo, se debe al contenido en ácidos grasos, láctico y acético; inhibe el crecimiento microbiano y destruye a los agentes agresores.

La superficie epitelial produce sustancias químicas que son microbicidas e inhiben el crecimiento microbiano como la *lisozima* o *muramidasa* (enzima catiónica presente en las lágrimas, saliva, secreciones nasales y conjuntivales, leche materna, moco cervical e intestinal), que reduce la concentración local de agentes patógenos susceptibles al atacar el peptidoglican de sus paredes celulares, especialmente de bacterias Gram positivas. La *lactoferrina* es una proteína que enlaza el hierro y mantiene la concentración de éste por debajo de los niveles a los cuales crecen muchas bacterias. La saliva y la leche materna contienen un sistema de *lactoperoxidasa* con actividad antimicrobiana.

En el estómago, el ácido clorhídrico secretado es suficiente para destruir muchos agentes patógenos gastrointestinales; la acidez gástrica retarda, además, el acceso al intestino de la *Salmonella tiphy* y el *Vibrio cholerae*, así como también de los virus con cubierta. La *espermina* es una poliamina prostática potente, inhibidora de microorganismos Gram negativos, que se encuentra en el semen. El moco secretado por el cuello uterino tiene propiedades bactericidas; su viscosidad, por sí sola, representa una importante barrera defensiva están colonizadas por microorganismos no patógenos o débilmente patógenos, que constituyen la flora normal, los cuales "compiten" por los sitios de fijación y los nutrientes, además de elaborar sustancias antimicrobianas en las superficies mucosas. Si la flora normal altera por cualquier causa, entonces los agentes patógenos pueden multiplicarse e invadir los tejidos del hospedero.

El sistema innato actúa contra cualquier agente nocivo, pero su calificativo de inespecífico se ha modificado debido a que, también es capaz de reconocer específicamente un número limitado (aproximadamente 103) de estructuras moleculares que comparten los microorganismos. También se ha identificado una importante familia de moléculas que ayudan a formar una barrera química para limitar la infección en la superficie epitelial y que atacan a las bacterias invasoras por medio de estos *péptidos antimicrobianos* (*péptidos catiónicos*), de los cuales se han encontrado cerca de 750 en los eucariontes, y de ellos se han estudiado en los cerdos cerca de 14 con propiedades antibacterianas y algunos de ellos ya se han comercializado.

El sistema innato, utiliza una cantidad igualmente limitada de receptores, codificados por las células germinales y que están presentes en la superficie, vesículas y citoplasma de varios tipos celulares entre los que se incluyen: Macrófagos, neutrófilos, células cebadas, epiteliales, endoteliales, dendríticas, asesinas naturales (natural killer-NK). Los principales receptores que estas células expresan para detectar e interactuar con estructuras o patrones moleculares de microorganismos. Además de los señalados, existen familias de proteínas que actúan como receptores para atrapar microbios en la circulación: Colectinas, proteínas que unen carbohidratos de microorganismos; Pentraxinas, proteína amiloide sérica y proteína C reactiva, se unen fosforilcolina de bacterias y hongos y Ficolinas lectinas se unen ácidos lipoteicoicos y n-acetilglucosamina de bacterias Gram positivas.



### **1.2.2. Factores solubles: cuyos principales componentes son el complemento, las proteínas de inflamación y las citoquinas.**

En los vertebrados, las formas de defensa de aparición más temprana en la evolución son los factores humorales inespecíficos. Entre tales sustancias se destaca el *sistema de complemento*, constituido por proteínas plasmáticas, capaces de ser activadas, por la vía alterna, por determinadas estructuras microbianas, que una vez que entran en acción adquieren actividad enzimática, provocan la lisis de los microorganismos y liberan los péptidos, que contribuyen a facilitar la fagocitosis, estimular la quimiotaxis y propiciar la inflamación. Los componentes activados de mayor importancia en esta fase son: C3b, que opsoniza al patógeno y facilita su reconocimiento por el fagocito; y C3a como mediador de inflamación local.

La infección viral de las células promueve la producción de proteínas llamadas interferones (IFNs), capaces de interferir la replicación de los virus. Son de tres tipos: alfa, beta y gamma; los IFNs alfa y beta son elaborados por células infectadas y protegen a las sanas de las tres formas siguientes: Ofrecen resistencia a la replicación viral por activación de los genes que destruyen el RNA de doble cadena de los virus e inhiben, además su traslación. Inducen la expresión de los antígenos clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH-I), lo cual incrementa la posibilidad de la célula infectada del hospedero para presentar los péptidos virales y que éstos sean reconocidos por los linfocitos T CD8, que ejercerá una función citotóxica. Este aumento en la célula no infectada, la protege contra el ataque de las células NK (natural killer o asesinas naturales). Activan a las células NK, las cuales destruyen a las infectadas por virus de forma selectiva.

En el proceso de inflamación, participan principalmente las interleucinas (IL) 1 y 6, el factor de necrosis tumoral (FNT) y la quimiocina IL-8, principal quimioattractante celular. La producción de interferones (IFN) tipo I  $\alpha$  y  $\beta$ , es inducida de manera inmediata como respuesta a la infección viral, y el tipo II o IFN  $\gamma$ , principal activador de macrófagos, es secretado en grandes cantidades por las células NK y en menor proporción por los linfocitos TH1. Las interleucinas 12 y 18 inducen la respuesta de los linfocitos TH1 y la 15, activa y favorece el crecimiento de T, B, NK y macrófagos. La IL-10, que activa linfocitos B y favorece inicialmente la respuesta de las células TH2, regula la respuesta inmune al inactivar tanto a los linfocitos T, como a los macrófagos. El factor transformante de crecimiento beta (TGF $\beta$ ) inactiva también a los macrófagos y los linfocitos T, frena la inflamación e induce angiogénesis y cicatrización.

### **1.2.3. Células: incluyendo, las células fagocíticas, tanto polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), como mononucleares (macrófagos y células dendríticas), y células asesinas: K (*killer*), NK (*natural killer*) y LAK (*lymphokine activated killer*).**

#### **A) Células**

Una gran cantidad de células son capaces de participar en la defensa del organismo, ya sea porque formen parte de una barrera física-anatómica, o bien, porque a través de sus secreciones o funciones bioquímicas o fisiológicas ejerzan esta acción defensiva. Al respecto, vemos que células como el queratinocito, la cebada o la plaqueta, son capaces de fagocitar y más aún, las dos primeras pueden presentar antígenos y, a través de citocinas, dirigir la respuesta inmune facultativa hacia TH1 o TH2. Las células endoteliales, epiteliales y fibroblastos responden

inmediatamente a un agente extraño con la secreción de citocinas (IL-1, 6, FNT, TGF, entre otras). El adipocito, se perfila como una célula participante en el eje neuro-inmuno-endocrino, con la capacidad de secretar citocinas inflamatorias (IL-1, 6, FNT), adipocinas o diponectinas, reguladoras del apetito y el metabolismo de la glucosa (leptina). Participan, de manera relevante, en la inmunidad natural, las células NK, los linfocitos T intraepiteliales y los fagocitos. Las células NK o linfocitos granulados gigantes y las NKT (células NK que pasaron por el timo), secretan grandes cantidades de IF y ejercen citotoxicidad directa sobre los patógenos; las células NKTCD4 secretan IL-4, pero continúan con su actividad citotóxica. El linfocito T intraepitelial, se encuentra preferentemente en el tubo digestivo y la epidermis, es capaz de actuar directamente (sin ser presentado) y eliminar antígenos, a través de su acción citotóxica; si hay queratinocitos dañados, secreta factor de crecimiento de queratinocitos y favorece la reparación tisular. Los fagocitos, que a través del mecanismo de presentación del antígeno y liberación de citocinas, establecen un vínculo entre la inmunidad natural y la específica o facultativa, serán analizados con detalle en el tema correspondiente a fagocitosis.

## B) Fagocitosis

Mecanismo más elaborado y eficaz, que interviene cuando los patógenos o cualquier sustancia extraña ha sobrepasado la barrera epitelial. Es llevado a cabo por células especializadas, denominadas fagocitos: leucocitos poliform nucleares (PMN), monocitos circulantes y macrófagos fijos en los tejidos, que están capacitadas para ingerir partículas opsonizadas con anticuerpos o componentes del complemento y además pueden identificar e ingerir muchos microorganismos directamente; todo lo cual logran por poseer receptores en la superficie de sus membranas, que reconocen al fragmento Fc de las inmunoglobulinas, a componentes comunes de numerosos patógenos y a componentes activados del complemento.

Cuando el agente atraviesa la barrera epitelial, se produce inmediatamente una reorganización de fagocitos en el epitelio conectivo, con tres consecuencias importantes: El reconocimiento, la ingestión y la destrucción del patógeno por los macrófagos, así como migración de PMN hacia el área. Existen microorganismos que pueden protegerse de la acción de los fagocitos evadiéndolos, como lo hacen los de vida extracelular al recubrirse de polisacáridos capsulares que dificultan su identificación, o logrando sobrevivir dentro del fagosoma como las micobacterias intracelulares. Los macrófagos (no los neutrófilos) son células presentadoras del antígeno (CPA) y asumen el importante papel de inducir la respuesta inmune adaptativa, mediante la concentración y el procesamiento de los antígenos extraños, unidos a los propios (Complejo Mayor de Histocompatibilidad CMH de Clase I ó II), estimulando de esta forma a los linfocitos; en tanto la liberación de citocinas determina la forma o el tipo de respuesta adaptativa que se desarrollara.

La acción de las células natural killer (nk o células asesinas naturales), son en las etapas tempranas del proceso infeccioso causado por patógenos intracelulares como virus del herpes, *Listeria monocytogenes*, entre otros, y ejercen su acción citotóxica o destructiva sobre células infectadas y tumorales, que incluso se incrementa entre 20 a 100 veces por las influencias de los IFNs alfa y beta, así como de la IL-12, la cual en forma sinérgica actúa con el IFN-alfa y obliga a la célula NK a producir gran cantidad de IFN-gamma; fenómeno crucial para controlar la infección antes de que la célula T haya sido activada.

## 2. INMUNIDAD ADAPTATIVA (ESPECÍFICA)

El sistema adaptativo es capaz de reconocer una amplia gama de sustancias extrañas (millones), relacionadas o no con agentes microbianos, a través de receptores que generan particularmente en los linfocitos y que son el producto de reordenamientos genéticos complejos. Así, mientras la inmunidad natural distingue sólo diferentes clases de microbios, la inmunidad adaptativa distingue diferentes microbios de una misma clase o incluso, diferentes antígenos de un mismo microbio. La inmunidad adaptativa, que se desarrolla cuando los agentes infecciosos logran evadir los mecanismos innatos de defensa y está generada por la penetración de una dosis inicial de antígenos, se hace efectiva sólo después de varios días; tiempo requerido para que los linfocitos T y B reconozcan a dichos antígenos, se diferencien y se conviertan en células efectoras. Sus características, a diferencia de la inmunidad innata son: Especificidad; Memoria; Heterogeneidad o diversidad y Multifactorialidad.

### 2.1. Especificidad.

Debido a que este tipo de respuesta va dirigida específicamente a determinada molécula antigénica, la porción del antígeno que es reconocida por los linfocitos se denomina determinante antigénica o epítope. Esta fina especificidad existe porque los linfocitos contienen receptores de membranas capaces de identificar y distinguir sutiles diferencias entre diversos antígenos. Se plantea que todos los individuos tienen numerosos clones (conjunto de células derivadas de un precursor simple), cuya progenie cuenta con los receptores de superficie de la célula que les dio origen y pueden responder a determinantes antigénicos específicos para ellas. Así, el desarrollo de clones antígeno-específicos ocurre previo o independiente a la exposición del antígeno, el cual selecciona un clon específico preexistente y lo activa hasta provocar su proliferación y diferenciación.

### 2.2. Memoria.

Se refiere al incremento en la intensidad de respuesta ante los subsiguientes contactos con el mismo antígeno. Una de las consecuencias más importantes de la respuesta inmune adaptativa es el establecimiento del estado de memoria inmunológica, que estriba en la habilidad del sistema inmune para responder más rápida y eficazmente a microorganismos que han infectado previamente al hospedero y refleja la preexistencia de una población clonalmente expandida de linfocitos antígeno-específicos. La respuesta de memoria, conocida también como respuesta secundaria, terciaria, etc., en dependencia del número de exposiciones al mismo antígeno, difiere cualitativamente de la respuesta primaria.

La respuesta inmune primaria a aquella que da el organismo al ponerse en contacto por primera vez con un agente extraño y de la cual se deriva una serie de eventos que incluyen los mecanismos de defensa innatos inespecíficos y los de respuesta adaptativa, si el patógeno logra sobrevivir a los primeros. Comienzan los macrófagos, como células especializadas en reconocer, internalizar y exponer las determinantes antigénicas de los microorganismos en su superficie, unidas a antígenos propios del complejo mayor de histocompatibilidad; forma en que los antígenos extraños son identificados por los linfocitos TCD4, los cuales se van a diferenciar en 2 clases de células efectoras: TH1 y TH2. El modo como surgen ambas líneas celulares no ha sido

totalmente definido, pero si está clara la influencia de citocinas. Así tenemos que la IL-12 y el IFN-gamma, producidos por macrófagos y células NK, en fases tempranas de la infección y como respuesta a virus y bacterias intracelulares suelen desarrollar las células TH1. Si la célula TCD4 es activada en presencia de IL-4 e IL-6, tiende a diferenciarse en TH2 y se inhibe la elaboración de TH1.

Si los microorganismos agresores estimulan la vía humoral de defensa, la subclase TCD4 que predomina es la TH2, cuya función será activar a los linfocitos B, que entonces proliferarán y se diferenciarán en células plasmáticas productoras de anticuerpos. La producción de inmunoglobulinas durante la respuesta primaria será pobre, de baja afinidad con los antígenos correspondientes, con predominio de IgM, siendo su duración corta en el tiempo. Durante el primer contacto con el agente patógeno aparecerá una población de células B, que no llegarán a convertirse en células plasmáticas porque se diferenciarán parcialmente: son las llamadas células de memoria. Ahora bien, para que éstas logren su total diferenciación, se impone un segundo contacto con el mismo agente, que de no ocurrir, ellas quedan circulando, listas para completar su maduración.

Si los antígenos extraños desencadenan la respuesta celular, la subclase TCD4 predominante será la célula TH1, que actuará de dos formas: Produciendo linfocinas capaces de reclutar a las células fagocitarias en el lugar de agresión y de activarlas para que potencien su acción, por ejemplo: factor activador de macrófagos (MAF), factor inhibidor de migración (MIF), etc. Este proceso, conocido como reclutamiento celular, es crucial para la defensa del organismo contra virus, hongos, micobacterias y otros microorganismos con replicación intracelular. La acumulación y mantenimiento de todas las células reclutadas en el sitio de agresión, es uno de los fenómenos que intervienen en la aparición del granuloma. Las células TH1 pueden también activar a los linfocitos TCD8, que proliferan y se diferencian en TCD8 citotóxicos para actuar directamente en la destrucción de las células infectadas por patógenos intracelulares. De igual manera, a través del mecanismo de defensa celular se producen células de memoria que completan su diferenciación ante un nuevo contacto con el mismo agente patógeno. Cuando esto sucede, se inicia la respuesta de memoria o secundaria, con la cual se obtiene más rápidamente una mayor población de células efectoras y, en correspondencia, una respuesta más intensa.

### **2.3. Heterogeneidad o diversidad. Selección clonal.**

El número total de linfocitos con diferentes especificidades en un individuo ha recibido el nombre de repertorio linfocítico, cuya extraordinaria diversidad es el resultado de la variabilidad en la estructura de los sitios donde se unen los antígenos en los receptores linfocíticos.

Las células protagonistas del sistema inmune adaptativo son el linfocito B y el linfocito T y su especificidad se basa en la especificidad de los Ac, receptor del linfocito B (BCR) y receptor de linfocito T (TCR). La cantidad de antígenos (Ags) que pueden ser reconocidos es alta porque hay linfocitos reconocedores de cualquier Ag en un porcentaje muy bajo. Cuando estas células reconocen el Ag, se induce una proliferación hasta conseguir células suficientes para desarrollar una respuesta adecuada, el antígeno selecciona los clones celulares capaces de fijarlo específicamente.



a) Las células B están preparadas para producir un sólo tipo de anticuerpo específico a partir de un antígeno, que se sitúa en la superficie celular como receptor del Ag. La función principal del linfocito B es la secreción de anticuerpos. Los anticuerpos o inmunoglobulinas son glicoproteínas que tienen sitios de unión al antígeno y una región constante vinculada a las funciones efectoras de los mismos. A través de su unión los anticuerpos a) bloquean o neutralizan directamente al antígeno que reconocen, b) reclutan células efectoras (como macrófagos, neutrófilos, células NK, etc) debido a la existencia de receptores que se unen a su región constante, o c) disparan la vía clásica del complemento. El Ag se une al BCR y provoca la proliferación de las células B para producir: Las células plasmáticas productoras de Anticuerpos y las células de memoria de larga vida que no producen Ac.

b) Los linfocitos T tiene una función central en la regulación de la respuesta inmune y participan además directamente en la destrucción de los agentes agresores. Reconocen al antígeno a través de su receptor de membrana (TCR) que no se secreta. A diferencia de las inmunoglobulinas que pueden unirse a un amplio espectro de estructuras químicas, los linfocitos T con receptores ba solo reconocen péptidos asociados a receptores de membrana (denominadas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, MHC) presentes en células propias del individuo. Cuando un linfocito T virgen reconoce a su antígeno (si se cumplen una serie de condiciones) es estimulado a proliferar y diferenciarse. Esta diferenciación puede dar lugar a tres tipos de células efectoras: a) linfocitos T citotóxicos (CTL) que actúan por ej. en las infecciones virales destruyendo la célula infectada, b) linfocitos T inflamatorios (TH1) que colaboran con el macrófago aumentando su capacidad de destruir los patógenos fagocitados, c) linfocitos T colaboradores (TH2) que colaboran con el los linfocitos B en la producción de anticuerpos, favoreciendo los procesos de maduración de la afinidad, cambio de clase y generación de linfocitos B de memoria.

#### **2.4. Multifactorialidad.**

La respuesta inmune depende de múltiples factores, tanto del agente biológico que la origina como del hospedero que responde. Así, por ejemplo, el tipo, la virulencia, la cantidad o la dosis del agente agresor y su vía de penetración pueden generar varios tipos de respuestas; pero también la edad y conformación genética del hospedero pueden ser elementos determinantes. La respuesta inmune adaptativa se desarrolla mediante dos mecanismos fundamentales: respuesta inmune humoral, donde los linfocitos B juegan un papel preponderante; y respuesta inmune celular, donde los linfocitos T son las células fundamentales. Ambas respuestas comienzan con la activación de los linfocitos en los órganos periféricos, causada por la CPA, que alcanza a estos órganos a través de la circulación linfática.

### 3. VACUNOLOGÍA

El adelanto de la tecnología y ciencia, aunado al conocimiento detallado de la inmunología, de la biología molecular, de la microbiología, y de la bioquímica, entre otras disciplinas de la ciencia básica ha definido las nuevas direcciones y estrategias para el desarrollo de nuevas vacunas. La aplicabilidad de la ingeniería genética junto con otras nuevas tecnologías ha desempeñado papeles fundamentales en mostrar nuevas ideas en la vacunología, y ha dado lugar al desarrollo de nuevas vacunas y a mejora en la calidad de las ya existentes.

Las vacunas subunitarias, las vacunas recombinantes, las vacunas a base de DNA y las vacunas en vectores están ganando rápidamente la aceptación científica y pública como la nueva generación de vacunas y se consideran seriamente como alternativas a las vacunas convencionales actuales. La vacunación se reconoce extensamente como una de las herramientas más eficientes de la salud animal, demostrando las ventajas del costo/beneficio para todas las poblaciones animales involucradas. Las vacunas en veterinaria pueden contribuir grandemente al bienestar de animales domésticos y salvajes, e indirectamente, a la protección del medio ambiente.

La vacunología veterinaria es un campo muy interesante que se ha desarrollado muy rápido. De hecho las vacunas veterinarias no sólo se utilizan para la prevención de enfermedades infecciosas en la salud de los animales, sino que también ayudan a solucionar problemas de la salud pública, a reducir las consecuencias perjudiciales para el medio ambiente por el uso de algunas drogas veterinarias y a prevenir la aparición de la resistencia de microorganismos o de parásitos.

Las vacunas han demostrado ser un adelanto científico importante para la gente y los animales con más de un siglo. La vacunación es de los medios más eficientes, más prácticos y rentables para controlar enfermedades infecciosas vía la profilaxis.

Las vacunas, incluyendo productos polivalentes, deben ser seleccionadas para incluir solamente esos antígenos apropiados para necesidades específicas de los animales, de tal modo que se eliminan los estímulos innecesario del sistema inmune y bajando así riesgos potenciales adversos. Los veterinarios deben estar conscientes del riesgo de un " shock" por la endotoxina, cuando se utilizan vacunas de bacterias Gram negativas múltiples.

El conocimiento de la inmunología y de la vacunología, incluyendo ventajas y riesgos asociados, y el patobiología de enfermedades infecciosas, son necesarios ejecutar un programa de vacunación eficaz. Considerando la exposición, susceptibilidad, severidad y potencial de la enfermedad, eficacia y seguridad vacunal, son componentes esenciales de un programa de vacunación



### A century of veterinary vaccinology: the Mérieux initiative

Ph. Desmettre

#### A young chemist, disciple of Louis Pasteur ...

In 1894 Marcel Mérieux, a young chemist who had graduated from the Ecole de Chimie de Lyon (Lyon's School of Chemistry), entered the Institut Pasteur in Paris as an assistant to Doctor Emile Roux (Fig. 1). Emile Roux, who was himself assistant of Louis Pasteur, had just presented his work on the use of serum from horses immunized against diphtheria in the treatment of this disease in man in Budapest (in September 1894), following the initial observation made by Behring and Kitasato in 1890 on the diphtheria and tetanus toxins and antitoxins.



Fig. 1. Marcel Mérieux (standing, third from left) joined the Institut Pasteur in 1894 as assistant of Emile Roux (sitting, third from left) who was himself the assistant of Louis Pasteur (sitting in the middle)

### 3.1. Profilaxis

El principio general detrás del uso de vacunas es introducir una versión modificada y segura de un patógeno dado en un hospedero animal, que induce una inmunorepuesta que es protectora para el animal en el futuro siempre y cuando se encuentre con una exposición natural a este patógeno. Hay dos métodos básicos por los cuales un animal puede ser estar inmune a una enfermedad infecciosa:



### 3.2. Inmunización pasiva (Antitoxinas)

Un primer método es la inmunidad pasiva, que produce resistencia inmediata pero temporal cuando se transfieren los anticuerpos de un animal resistente a un animal susceptible (inmunidad pasiva). Los ejemplos de este tipo de inmunidad incluyen el colostro de la madre al recién nacido, y el uso de las antitoxinas del tétanos y de *Clostridium perfringens* C y D. El papel más importante de antisueros está en la protección contra organismos toxigénicos tales como *Clostridium tetani* o *Clostridium perfringens*. Los antisueros hechos de esta manera son producidos comúnmente en caballos jóvenes por una serie de inmunizar inyecciones. Las toxinas de estos clostridios son proteínas desnaturalizadas que se atoxican por el tratamiento con formaldehído. Este tipo de vacuna se conoce como toxoide. Los caballos donadores son primeros en darles los toxoides, pero una vez que se producen los anticuerpos, las inyecciones subsecuentes de la toxina purificada son ahora utilizadas y así los caballos donadores producen altos niveles de anticuerpos. Se sangran los caballos cuando sus niveles de anticuerpos son suficientemente altos y la fracción del suero se separa de la sangre, se procesa y distribuye en viales para su uso en animales susceptibles.

Los anticuerpos séricos se pueden introducir a un animal receptor por medio de una inyección subcutánea e intramuscular, dependiendo del producto, y en algunos casos por vía intravenosa. Una vez más la ventaja principal a la inmunidad pasiva (anticuerpos del suero) es una inmunidad inmediata a las enfermedades particulares. La desventaja de la inmunidad pasiva es que solamente dura 10-14 días en el receptor, así que las dosis de la repetición pueden ser necesarias. Los anticuerpos del suero tienen un papel importante en el tratamiento de los animales que sufren ya la enfermedad y que los microorganismos son vulnerables a los anticuerpos del antisuero. Un ejemplo sería el tratar un caballo que sufre de tétanos con la antitoxina del tétanos.

### 3.3. Inmunidad activa (vacunas)

El segundo método de inmunización se llama la inmunización activa, que implica el administrar los antígenos (sustancia-vacuna extraña) a un animal de modo que responda desarrollando su propia inmunorespuesta protectora. La re-inmunización o la exposición a la infección dará lugar a una inmunorespuesta secundaria. La desventaja de la inmunización activa es que no confiere una protección inmediatamente. La ventaja de la inmunización activa es que una vez que se establezca, es duradera y capaz de re-estimularse. La inmunización pasiva requiere que los anticuerpos sean producidos por la inmunización activa en un animal donador y que estos anticuerpos sean dados a los animales susceptibles para conferir protección inmediata pero de corta duración. El suero que contiene estos anticuerpos (a veces llamados los anticuerpos séricos, antisueros o antitoxinas) se puede producir contra una amplia variedad de patógenos.

#### 3.3.1 Ventajas:

La inmunización activa tiene varias ventajas si las comparamos con la inmunidad pasiva. Éstos incluyen: El período de la protección prolongado y, memoria a la revacunación y esta respuesta protectora por las inyecciones repetidas de la vacuna, o por la exposición a la infección. La vacuna ideal perfecta debe producir una alta inmunorespuesta protectora, con la ausencia de efectos secundarios adversos. Aquí es donde viene el desafío para los fabricantes de biológicos, porque estos dos requisitos previos tienden para ser incompatibles en muchos de los casos.

### 3.4. Principios en la vacunación

Las decisiones médicas referentes a la selección y administración de programas de vacunación son de las decisiones médicas más complicadas para los veterinarios hoy en día. Las razones son numerosas e incluyen, pero no se limitan necesariamente a:

- 1) A los cambios continuos en nuestro entendimiento del sistema inmune;
- 2) A cambios de la población locales/regionales en cuanto a la susceptibilidad a varias enfermedades;
- 3) Al incremento de la valuación animal con responsabilidades relacionadas;
- 4) A las esperanzas de vida animal más largas;
- 5) A sistemas mejorados de reportes médicos que permiten dar un mejor seguimiento de los efectos a corto, mediano, y largo plazo del uso/de la administración de biológicos.

Otros factores que contribuyen se incluyen:

- 1) Entendimiento de las enfermedades infecciosas;
- 2) Conocimiento de la autorización reguladora biológica/que etiquetaba, y 3) el conocimiento de riesgos potenciales se asociaron a uso/a la administración vacvíneos.

### 3.5 Tipos de vacunas

#### 3.5.1. Vacunas vivas y vacunas vivas atenuadas.

Las vacunas vivas contienen bajas dosis o dosis de formas leves del microorganismo que produce la enfermedad. Las vacunas vivas contienen organismos vivos que han sido tratados por algún método, para disminuir o reducir la habilidad de producir enfermedad y estimular la respuesta inmune. En ambos casos los microorganismos vivos tienen la habilidad de infectar y multiplicarse en el hospedero e incrementar una fuerte respuesta inmune larga y duradera.

**3.5.2. Vacunas muertas (bacterinas) o inactivadas (virales).** Estos biológicos contienen altas dosis del microorganismo inactivado. Generalmente estas vacunas producen una respuesta inmune débil y de corta duración comparado con las vacunas vivas debido a que no son capaces de infectar y multiplicarse en el hospedero. En estos biológicos se incluyen compuestos que aumentan la respuesta inmune como son los adyuvantes.

**3.5.3. Vacunas de subunidades.** Estas vacunas contienen dosis de antígenos purificados que fueron extraídos de los microorganismos que producen la enfermedad.

**3.5.4. Vacunas recombinantes.** Estas vacunas son producidas por la incorporación de material genético (DNA) para los antígenos que estimulan la respuesta inmune de los microorganismos que producen la enfermedad, en un vector (ó acarreador) como algunos virus que son utilizados para vacunas vivas.

**3.5.5. Vacunas de DNA.** Estas vacunas contienen ADN purificado a partir de los antígenos que estimulan la respuesta inmune del microorganismo que produce la enfermedad. Las vacunas de ADN constituyen una promisoriosa herramienta en vacunología moderna. Al tratarse de una



tecnología fácil de aplicar y de gran versatilidad, capaz de estimular una respuesta inmune humoral y celular, esenciales en la lucha contra infecciones virales, constituye una línea primordial de investigación y desarrollo. Esta revisión aborda las características de un vector de ADN y los mecanismos propuestos para la generación de la respuesta inmune mediante este tipo de vacunación. Igualmente, se discuten algunos regímenes de vacunación, ejemplos de respuestas inmunes protectoras obtenidas en especies de interés veterinario, y se hace referencia a las cuestiones de inocuidad inherentes a este tipo de vacuna. Los avances biotecnológicos recientes han permitido la secuenciación del genoma de numerosos microorganismos, revolucionando el enfoque en el desarrollo de vacunas, en donde la genómica entra a jugar un papel preponderante. Este nuevo enfoque ha sido denominado Vacunología Inversa y comienza por el análisis de las secuencias del genoma, mediante el uso de herramientas de bioinformática que permiten identificar los antígenos más probables a ser candidatos vacunales.

**3.5.6. Vacunas conjugadas. Estas vacunas son usadas para provocar una** respuesta inmune hacia un antígeno que normalmente tiene la habilidad de evadir el sistema inmune. Las vacunas contienen el antígeno unido a un compuesto como una proteína y así formar un complejo que pueda ser detectado por el sistema inmune.

### 3.6. Adyuvantes

Los adyuvantes (del Latín, adjuvare = ayudar) han sido utilizados para mejorar la eficacia de las vacunas en los años 1920's Se han encontrado un sin número de sustancias con actividad de adyuvantes y en la literatura se describen sus usos y se han expandido enormemente y su modo de acción en muchas de ellas son un misterio o son empíricas.

#### 3.6.1 Modo de acción de los adyuvantes (ver Cuadro 1).

1. Inmunomodulación
2. Presentación del antígeno
3. Inducción de la respuesta de linfocitos T citotóxicos (CTL)
4. Células blanco
5. Generación de depósitos

Inmunomodulación. Se refiere a la habilidad de muchos adyuvantes que tiene la propiedad de ser pequeñas moléculas o proteínas que modifican las citocinas. La inmunomodulación puede resultar en general una regulación por encima de del sistema inmune, pero muchos comúnmente resultan en una regulación por encima de ciertas citocinas de dos grupos principales de linfocitos T CD4+ como los TH1 y TH2.

Presentación del antígeno. Se refiere a la habilidad de un adyuvante a preservar la integridad conformacional del antígeno, para presentarlo apropiadamente a las células efectoras del sistema inmune. Incrementa la respuesta de anticuerpo neutralizantes y la respuesta esta aumentada y de larga duración.

Inducción de linfocitos CTL. Las partículas pueden unirse o acoplarse con el inmunógeno y se fusiona con las membranas celulares. La inducción de la respuesta CTL generalmente

requiere que el antígeno sea procesado en el citosol de la célula (vía endógena), para ser presentado al complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I).

**Células blanco.** Se refiere a la habilidad de ciertos adyuvantes de liberar el inmunógeno en las células efectoras del sistema inmune, generalmente por la vía de las células profesionales presentadoras de antígeno (APCs). Existe poca información sobre la mayoría de las vacunas que se liberan y se pierden por la degradación de la proteasas del suero o por un primer paso por el hígado. Eficiente uso de adyuvante e inmunógenos.

**Generación de depósitos.** Este tipo de adyuvantes se liberan en forma continua o pulsada. Pueden alcanzar un depósito denominado-corto (emulsiones aceite/agua) que son eficientes o denominado-largo (microesferas o nanoesferas) potencialmente para vacunas de dosis únicas.

Cuadro 1. Características de adyuvantes particulados.

ADYUVANTE	INMUNOMODULACION	BLANCO	PRESENTACION	INDUCCION CTL	DEPOSITO
Sales de aluminio	Fuerte Th2, IgE	+	-	-	+ efecto corto
Emulsiones agua en aceite	Débil Th1 y Th2	-	-	- o +++ (algunos péptidos)	+++ efecto corto
Emulsiones aceite en agua	Débil Th1 y Th2	+	+++	-	-
ISCOM's Complejos inmune estimulantes	Fuerte Th1 y Th2	+++	++++	++++	-
Liposomas	-	++	++	++	-
Microparticulas:					
<10 m	-	++++	-	-	-
>10 m	-	-	-	-	+++ efecto prolongado
Sales de calcio	-	+	-	-	+ efecto corto
Proteosomas/virosomas	-	++	+++	-	-
Estearil-tirosinalulina	Modifica Th1 y Th2	-	-	-	+ efecto corto
Inulina	Modifica Th1	-	-	-	-
Algamulin	Modifica Th1 y Th2	+	-	-	+ efecto corto

En muchas vacunas se añaden adyuvantes para aumentar su inmunogenicidad y eficacia. Se han utilizado mucho como adyuvantes las sales de aluminio (alumbre) y se consideran generalmente inocuas. Sin embargo, las propiedades adyuvantes de las sales de aluminio presentan limitaciones y está evaluándose ahora una amplia gama de adyuvantes nuevos para su uso en vacunas nuevas o mejoradas. Son ejemplos de estos adyuvantes los estimuladores del sistema inmunitario, los vehículos formados por micropartículas y las emulsiones, así como diversas combinaciones de estos. Se espera que estos adyuvantes permitan el desarrollo de vacunas inocuas y eficaces contra enfermedades para las que aún no hay vacunas, como la malaria y el VIH, así como mejorar la eficacia de otras vacunas. Dado que es probable que muchos de los adyuvantes nuevos se utilicen por primera vez en vacunas contra enfermedades endémicas en países en desarrollo, será preciso disponer de sistemas de vigilancia de la seguridad de estas vacunas nuevas en estos países.

El Comité Consultivo Mundial sobre Seguridad de las Vacunas ha debatido la cuestión de la seguridad de los adyuvantes en general en varias ocasiones. Concretamente, ha analizado una posible asociación entre las vacunas que contienen aluminio y la miofascitis macrofágica y la seguridad del escualeno en adyuvantes que contienen esta sustancia.

Las sustancias inmunomoduladoras constituyen una familia muy heterogénea si se toman en consideración su origen, naturaleza química y actividad biológica específica. Dentro de ellas ocupan un lugar muy importante los agentes inmunopotenciadores, a los cuales se les atribuyen 2 funciones fundamentales: la estimulación de la resistencia no específica del huésped contra las enfermedades infecciosas y el cáncer; y, por otra parte, la potenciación de la inmunogenicidad de las vacunas comerciales y de la respuesta de los animales de laboratorio durante la inmunización experimental con vistas a la producción de antisueros. Los avances experimentados en la última década en la síntesis de péptidos, la secuenciación de nucleótidos y la ingeniería genética han posibilitado el desarrollo de las denominadas "vacunas de nueva generación"; sin embargo, la utilización exitosa de estas nuevas tecnologías requiere de un esfuerzo investigativo sostenido para hallar sustancias con actividad inmunopotenciadora (adyuvantes), eficaces en la estimulación de la respuesta inmune y desprovistas de propiedades biológicas adversas.

Los adyuvantes son sustancias o preparados químicos que, incorporados al antígeno o inyectados simultáneamente con él, hacen más efectiva la respuesta inmune. Con su empleo se logra una economía de antígeno y de tiempo, así como un mayor nivel de anticuerpos específicos.

El mecanismo de acción de estas sustancias ha sido objeto de numerosos estudios y, al parecer, existen diversos factores que explican su modo de acción. El antígeno libre normalmente difunde con mucha rapidez desde los tejidos locales que rodean el sitio de inoculación, y una de sus funciones importantes es crear un reservorio o depósito del antígeno de larga vida. Las investigaciones realizadas han demostrado que virtualmente todos los adyuvantes activan o estimulan los macrófagos;<sup>6</sup> éstos cuando son activados estimulan la respuesta inmune por un incremento de la cantidad de antígeno expresado en la membrana celular y de la eficiencia de su presentación a los linfocitos. El macrófago también libera factores solubles estimulantes, que amplifican la proliferación de los linfocitos.

Por otro lado, algunos adyuvantes poseen la capacidad de actuar específicamente sobre los linfocitos; pero, en general, éstas funcionan mejor si facilitan la liberación simultánea del antígeno y de sustancias inmunomoduladoras al tejido linfoide. En el nivel internacional, la lista de productos naturales y derivados de la síntesis química, con propiedades adyuvantes/inmunopotenciadoras, es cada vez mayor; sin embargo, sólo un reducido número se utiliza en la formulación de vacunas veterinarias y humanas, existiendo una tendencia relacionada con la evaluación de nuevas sustancias con esta finalidad. En función del campo de aplicación y de la relación eficiencia/seguridad se pueden reconocer diferentes categorías de adyuvantes (tabla), que serán examinadas a continuación con más detenimiento.

### **3.6.2. Selección de un adyuvante en el campo de la salud veterinaria**

En este campo, la eficacia es un elemento de gran importancia y se toleran ciertos niveles de efectos colaterales. Los adyuvantes más ampliamente utilizados en las vacunas veterinarias son

las emulsiones de aceite mineral (del tipo aceite en agua o agua en aceite) y los adsorbentes (hidróxido y fosfato de aluminio). En algunos casos, se emplean liposomas, saponinas, vitamina E, complejos inmunoestimulantes (ISCOM<sub>s</sub>), así como diferentes emulsiones de aceites de origen vegetal o animal. Las emulsiones de aceite mineral, especialmente las del tipo agua en aceite, si bien inducen una fuerte respuesta inmune, pueden provocar riesgos y efectos no deseados, a causa posiblemente de su limitada biodegradabilidad y biocompatibilidad. Por tal razón, se han realizado numerosos intentos para desarrollar adyuvantes eficaces y a la vez seguros. Ejemplo de ello es la formulación compuesta por sulfolipopolisacáridos sintéticos, con características hidrofóbicas, incorporados a una emulsión de escualeno en agua, desarrollada por la compañía belga Solvay SA. Este adyuvante ha sido validado exitosamente en animales de laboratorio con antígenos proteicos y virales, y resulta, al menos, tan efectivo como los adyuvantes basados en aceite mineral, empleados hoy día en diversas vacunas veterinarias.

### 3.6.3. Propiedades inmunopotenciadoras de polisacáridos naturales

Las propiedades inmunomoduladoras han sido demostradas en numerosos polisacáridos naturales y algunos derivados obtenidos por hidrólisis o modificación química. La actividad estimulante de la hematopoyesis y de la respuesta inmune humoral y celular es uno de los rasgos más significativos de los glucanos aislados de la pared celular de levaduras. Ha sido mostrado por diferentes autores que la administración simultánea del glucano y un antígeno estimula la formación de anticuerpos específicos contra el antígeno en cuestión; prueba de ello es la estimulación por los glucanos de la respuesta humoral y mediada por células contra *Francisella tularensis* y *Pseudomonas pseudomallei*. Además, se ha descrito la estimulación de la síntesis de anticuerpos contra *Entamoeba histolytica* en curieles después de la administración del glucano<sup>19</sup> y se ha reconocido el efecto adyuvante en *Leishmania major*, *Mycobacterium leprae*, *Candida albicans*, *Herpes simplex* y el virus de la hepatitis murina.

Durante los últimos años se han dado importantes pasos en la utilización de polisacáridos como adyuvantes inmunológicos. A modo de ejemplo podemos mencionar la formulación Adjuvax<sup>TM</sup> (*Alpha-Beta Technology*, Worcester, MA, USA), cuyo componente con actividad inmunomoduladora es un polisacárido de la clase de los glucanos, donde el antígeno se incorpora a la matriz polisacáridica con una breve retención; y el polímero acetilado de la manosa, registrado comercialmente como Acemannan (*Carrington Labs. Inc.*, TX, USA), que se emplea en la vacuna contra el virus de la enfermedad de Marek en las aves.

### 3.6.4. Vacunas con adyuvantes que contienen escualeno

El escualeno es una sustancia de origen natural presente en plantas, animales y seres humanos. Se elabora en el hígado de todas las personas y circula por la sangre. El escualeno está también presente en diversos alimentos, productos cosméticos, medicamentos que se dispensan sin receta y complementos alimenticios. El escualeno se extrae del aceite de pescado y, en concreto, del aceite de hígado de tiburón. Tras su purificación, se utiliza en productos farmacéuticos y vacunas.

Desde 1997, una vacuna antigripal (FLUAD, fabricada por Chiron Corporation), que contiene aproximadamente 10 mg de escualeno por dosis, ha sido aprobada por los organismos con competencias en salud de diversos países europeos. El escualeno está presente en forma de



emulsión y se añade a las vacunas para aumentar su inmunogenicidad. El escualeno se añade para mejorar la eficacia de varias vacunas experimentales, incluidas las vacunas contra la gripe pandémica y contra la malaria, que están en desarrollo. El escualeno es un componente de ciertos adyuvantes que se añaden a las vacunas para mejorar la respuesta inmunitaria.

Un ejemplo es el MF59, un adyuvante fabricado por Novartis que se agrega a la vacuna antigripal FLUAD. El escualeno no es en sí mismo un adyuvante, pero las emulsiones de escualeno con sustancias tensioactivas mejoran la respuesta inmunitaria. Desde 1997, se han administrado 22 millones de dosis de vacunas antigripales (FLUAD) de la empresa Chiron. Esta vacuna contiene aproximadamente 10 mg de escualeno por dosis. No se han asociado acontecimientos adversos graves con la vacuna, aunque se ha observado cierta reactogenicidad local leve. Se han realizado estudios clínicos de vacunas que contienen escualeno con lactantes y recién nacidos y no se han encontrado motivos de preocupación por su seguridad.

#### 4. Literatura consultada.

1. Abbas K. A., Andrew, L.H., Jordan, P.S. (1999). *Inmunología Celular y Molecular*. Ed. McGraw Hill. p.p. 397-398.
2. Azuma I. Synthetic immunoadjuvants: application to nonspecific host stimulation and potentiation of vaccine immunogenicity. *Vaccine* 1992;10:1000-6.
3. Carter G. R., and Wise J. D. (2004). *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. Blackwell Publishing Company. Sixth Edition. Pp. 175.
4. Castellanos Martínez, R., Guevara Rosales, M., Robinson Rodríguez, R. y Vázquez Ríos, Loida. (2000). Respuestas inmunes innata y adaptativa. *MEDISAN* 4(2):64-74.
5. Collado, V.M., Porras, R., Cutuli, M<sup>a</sup> T. y Gómez-Lucía, E. (2008). El sistema inmune innato: sus mecanismos, the innate immune system: its mechanisms. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2 (1) 2008: 1-16.
6. Cox, J.C. and Coulter, A.R. (1997). Adjuvants-a classification and review of their modes of action. *Vaccine* 15 (3):248-256.
7. DiLuzio NR. Update on the immunomodulating activities of glucans. *Springer Semin Immunopathol* 1985;8:387-400
8. Guerrero J, Gattas CR. Immunomodulating substances: an overview. *Rev Microbiol* 1982;13(2):110-5.
9. Hilgers LAT, Platenburg PLI, Luitjens A, Groenveld B, Dazelle T, Ferrari-Laloux M, et al. A novel nonmineral cil-based adjuvant. I. Efficacy of a synthetic sulfolipopolysaccharide in a squalene-in water emulsion in laboratory animals. *Vaccine* 1994;12:653-60.



10. McGhee, J. Mestecky, J., Dertzbaugh, M., Eldridge, J., Hirasawa, M., Kiyono, H. (1992). The mucosal immune system: from fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine*, Volume 10, Issue 2, Pages 75-88.
11. Mendoza, E.S., Barrios, E.P., Ciprián, C.A., Hernández-Baumgarten, E. (2005). *Vaccinología Veterinaria*. Primera Edición. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
12. Muirhead S. Solvay introduces new immune stimulant product. *Feedstuffs* 1992;64:2.
13. Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J.C., Leonard, F.C. and Maghire, D. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. First Edition. Blackwell Science Ltd, a Blackwell Publishing, Oxford, UK.
14. Straw BE, Maclachlan NJ, Cobertt WT, Carter PB, Schey HM. comparison of tissue reactions produced by *Haemophilus pleuropneumoniae* vaccines made with six different adjuvants in swine. *Can J Comp Med* 1985;49:149-51.
15. Rodríguez Zapata, M. y Álvarez de Mon Soto, M. (2005). Respuesta inmune frente a la infección. En: *Enfermedades del sistema inmune(VII). Inmunofisiología e implicaciones patológicas del sistema inmune (II)*. *Medicine*, ISSN 0304-5412, Serie 9, N°. 34:2239-2248.
16. Roth, J.A. and Thacker, E.L. (2006). Immune System. In: *Diseases of Swine*. Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire, S. and Taylor, D.J. Edts. Blackwell Publishing. Ames Iowa, USA. P. 15-35.
17. Takx-Kohlen BC. Immunomodulators. Future prospects. *Pharm Weekbl Sci* 1992;14:24-52.
18. Vega, R.G.B. (2008). Inmunidad natural o innata: Inmunología para El médico general. *Rev Fac Med UNAM* Vol. 51 No. 4 Julio-Agosto.
19. Veien NK, Hattel T, Justesen O, Norholm A. Aluminium allergy. *Contact Dermatitis* 1986;15:295-7.
20. Walker, P.D. (1992). Bacterial vaccines: old and new, veterinary and medical. *Vaccine* 10:977-986.