

Algunos conceptos sobre vacunas bacterianas y virales

Baraibar J.A.

RESUMEN

Se pretende dar un panorama conceptual de las vacunas, particularmente para aquellos colegas que no están involucrados directamente en el tema.

Esta revisión trata brevemente sobre algunos desarrollos claves en vacunología veterinaria y una nómina de tipos de vacunas que se utilizan frecuentemente en animales domésticos.

Se describen también los recientes desarrollos tecnológicos en esta área.

Las investigaciones futuras deben tener como objetivo el desarrollo de vacunas que se aproximen al ideal tanto como sea posible, y dirigidas a la prevención de enfermedades aún no controladas y de nuevas enfermedades emergentes.

Palabras clave: vacunas bacterianas, vacunas atenuadas, Técnicas de ADN recombinante.

SUMMARY

We intended to present a conceptual overview of vaccines particularly for those colleagues that are not directly involved in this subject

This review deals briefly with some key developments in veterinary vaccinology and lists the types of vaccines that are used for vaccinations commonly performed in domestic animals

The recent developments in vaccination technology are also described. Future research should be aimed at developing vaccines that approach the ideal as closely as possible and directed against diseases not yet controlled and newly emerging diseases.

Key Words: Bacterial vaccines, Attenuated vaccines, Recombinant DNA techniques.

INTRODUCCIÓN

Lo primero a considerar es que resulta muy difícil en vacunología establecer diferencias entre las vacunas de uso humano y de aplicación en veterinaria, si bien las hay.

Desde los primeros estudios llevados a cabo en enfermedades causadas por microorganismos, quedó demostrado que la infección con un organismo potencialmente patógeno seguida por la supervivencia del huésped, estaba asociada con el desarrollo de una respuesta inmune, que además protegía al individuo de enfermedades subsecuentes causadas por microorganismos similares. Cabe recordar que una de las características principales del sistema inmune adaptativo es la capacidad de generar "memoria inmunológica", aspecto importante que se busca potenciar con la aplicación de vacunas.

La historia de la vacunación es apasionante; las vacunas fueron introducidas por Edward Jenner en 1798^(15,16) para proteger al hombre contra la viruela y un siglo después Louis Pasteur demostró su

amplia aplicación y que el método podía ser usado para la prevención de la rabia.

Mientras E. Jenner llevaba a cabo sus prácticas como médico en Gloucestershire, le comentó una campesina que ella no padecía de smallpox (viruela) pero que había sufrido de cowpox.

Este comentario lo inspiró para comenzar posteriormente sus investigaciones. El comentario popular en aquella zona era que quienes habían enfermado de cowpox, no contraían posteriormente viruela.

Tan es así que un granjero de Dorsetshire llamado Benjamin Jesty inoculó a su esposa e hijos en 1774 con cowpox.

Todo esto generó una gran controversia que llegó incluso al Parlamento.

Al margen de todo lo anterior, fue crucial el experimento llevado a cabo por Edward Jenner en 1796 cuando inoculó cowpox en un niño llamado James Phipps y luego demostró que el niño era inmune a la inoculación con smallpox, lo cual publicó en 1798 en su obra *An Inquiry into the Causes and Effects of*

the Variolae vaccinae, lo que determinó por parte de la profesión médica la inclusión del término vacunación como procedimiento válido para la prevención del smallpox (viruela).

Seguidamente a los estudios de Jenner prosiguieron los del científico francés Louis Pasteur, quien fue el que introdujo el término "vacunación" en reconocimiento a los trabajos de Jenner para describir este procedimiento de protección artificial o inmunización activa.

Entre los tantos aportes que realizó^(4,16), se podría mencionar que fue quien demostró que la inoculación de pollos con una cepa de *Pasteurella* no patógena, protegía las aves de infecciones con cepas virulentas del microorganismo.

Otro desarrollo importante llevado a cabo por Pasteur fue el de la primera vacuna efectiva para la prevención del carbunco bacteriano. Para la primera dosis de la misma, utilizaba subcultivos de *B. anthracis* que habían sido incubados a 42-43°C por 15-20 días, después de lo cual el microorganismo disminuía su virulencia. Para la segunda vacunación (tipo II)

utilizaba subcultivos de sólo 10-12 días, por lo cual eran menos atenuados.

La vacuna fue aplicada experimentalmente con éxito en una granja (Pouilly-le-Fort) en Mayo de 1881.

Esta “vacuna doble” de Pasteur fue aplicada hasta la década del 30, en la cual fue sustituida por la cepa Sterne de *B. anthracis*.

Estas vacunas desarrolladas a fines del siglo XVIII y en el Siglo XIX, son el punto de partida de la Vacunología^(4,5), y por ende son consideradas como la “1ª generación” de vacunas (Cuadro 1).

Entrando directamente en el tema, recordemos que la inmunización activa^(10,12,15) es inducida cuando un huésped inmunocompetente desarrolla una respuesta inmune humoral y/o celular como resultado de la exposición a un antígeno dado.

La inmunogenicidad de un antígeno está determinada principalmente por sus características químicas.

La vacuna ideal⁽¹⁵⁾ es aquella que es altamente inmunogénica y que induce inmunidad a lo largo de la vida. Esta debe ser sencilla de administrar, preferentemente en una única dosis y que no produzca efectos adversos. Ninguna de las vacunas que se encuentran disponibles en el mercado posee todas estas características.

La vacunación es la forma más efectiva de prevenir enfermedades infecciosas. El control de muchas enfermedades de los animales a través de la vacunación, es probablemente el más prominente logro de la medicina veterinaria

Con el advenimiento de las técnicas de cultivos celulares a mediados del siglo pasado, se ingresó en la era de las vacunas de 2ª generación y muchas vacunas vivas atenuadas (modificadas) e inactivadas fueron desarrolladas.

En la década del 80, el campo de la vacunología a ingresado en la 3ª generación, a través de la aplicación de tecnologías de ADN recombinante (ADNr) y otras técnicas de manipulación genética.

Mientras que las vacunas atenuadas e inactivadas de 2ª generación siguen siendo las más utilizadas en la práctica veterinaria, se está ingresando ya en el área de nuevas vacunas a las que haremos referencia posteriormente^(18,20).

Hay algunas importantes diferencias entre las prácticas de vacunación en el hombre y en los animales⁽²⁰⁾.

Existe un gran acuerdo acerca de la seguridad y eficacia de las vacunas utilizadas en medicina humana comparado con las utilizadas en los animales. A nivel internacional la OMS ejerce un liderazgo persuasivo para el uso de vacunas humanas y mantiene un número de programas tales como el Programa Global para Vacunas e Inmunización. Este programa no está equiparado con las vacunas de uso veterinario por sus agencias hermanas en esta área como son FAO y OIE

Mientras que en medicina humana una vacuna que esté asociada a causa de enfermedad o muerte es objeto de reclamación, en medicina veterinaria si la vacuna es efectiva y el costo potencial del fracaso al control de la enfermedad es sufi-

cientemente alto, la manifestación de la enfermedad en forma sub aguda (y aún en el pasado causa de muertes ocasionales), es tolerado.

TIPOS DE VACUNAS

Las vacunas se pueden preparar como inmunobiológicos vivos o inactivados (muertos)^(4,5,15,16,29,36).

Vacunas bacterianas

Algunas vacunas vivas^(8,15) se preparan a partir de aislamientos de los agentes en los que de diferente forma se ha atenuado su virulencia, con lo cual el microorganismo inmuniza (induce protección) y no causa la enfermedad.

Ejemplos de este tipo son la vacuna para la prevención del carbunco bacteridiano o ántrax producida con la cepa Max Sterne 34F₂ o CN3472 (WRL) de *Bacillus anthracis*^(20,25), y las vacunas para la prevención de la brucelosis bovina producidas con las cepas de *Brucella bovis* Sterne S19 y la mutante rugosa Rb51^(20,24,26).

Las vacunas inactivadas^(15,30) pueden contener: 1) Cultivos de microorganismos que han sido inactivados por medios químicos o físicos. 2) Toxinas inactivadas (toxoides). 3) Subunidades o partes antigénicas de microorganismos que constituyen las vacunas obtenidas por ingeniería genética denominadas de 3ª generación.

Vacunas atenuadas por delección o delecionadas

Las vacunas atenuadas^(10,12,20,22) confieren mayor protección contra el desafío que las vacunas inactivadas.

Cuadro 1. Ejemplos de vacunas de 1ª generación.

Agente causal	Enfermedad	Especie vacunada	Tipo de vacuna	Observaciones
Smallpox	Viruela	Hombre	Viva	China. Siglo V
Cowpox	Viruela	Hombre	Virus heterólogo	E.Jenner (1798)
Rhabdovirus	Rabia	Hombre	Virus lapinizado	L. Pasteur. Siglo XIX
<i>B. anthracis</i>	Carbunco bacteridiano	Bovinos, ovinos, equinos	Pasteur I viva, atenuada	L. Pasteur. (1881)

Generalmente, las vacunas atenuadas confieren un mayor nivel de protección que las vacunas inactivadas^(10,12,20,22). La posibilidad de replicación del agente en el organismo inmunizado, permite una mayor estimulación del sistema inmune, lo que se refleja en una mayor respuesta inmunitaria.

Otra razón es que las vacunas atenuadas son capaces de estimular las células presentadoras de antígeno (APC) de una manera tal, que las vacunas inactivadas no lo pueden hacer.

Tienen la ventaja de que al ser microorganismos viables, tienden a reproducirse en el huésped provocando una estimulación continua del sistema inmune incluyendo linfocitos T, B y macrófagos⁽²¹⁾.

El desarrollo de vacunas atenuadas se basa principalmente en la generación de mutantes mediante el cultivo prolongado *in vitro*, cambios en la temperatura de crecimiento o modificación química que resultan en atenuaciones indefinidas, es decir que el microorganismo causal no retoma su virulencia original.

Ejemplos de este tipo de vacuna son la cepa Sterne de *Bacillus anthracis* la cual por cultivo *in vitro* a temperaturas digestivas perdió el plásmido pXO2 (pXO2') que codifica el ácido poli D glutámico capsular lo que determinó que esta cepa se tornó acapsulada y por ende avirulenta (Max Sterne 1937)^(20,25).

Un ejemplo más reciente es el de *Brucella bovis* identificado como Rb51^(26,31,37). Esta cepa mutó a partir de pasajes seriales *in vitro* de la cepa de *Brucella bovis* 2308 en concentraciones variables de rifampicina (Dr. Gerhardt Schurig 1986).

Después de 51 pasajes *in vitro* se comprobó que la misma había perdido la cadena O del lipopolisacárido de la pared celular (LPSO') lo cual determinó una atenuación de la virulencia y su consecuente uso como vacuna⁽³³⁾.

La cepa mutante de *Brucella bovis* Rb51 puede ser también considerada como una vacuna "marcada o marcadora" en virtud de que en las pruebas de aglutinación con fines diagnósticos diferencia las inmunoglobulinas G (IgG) vacunales de las inducidas por cepas salvajes^(31,32) (Cuadro 2).

Vacunas inactivadas

Dentro de esta consideraremos 3 tipos de vacunas:

Bacterinas

Son aquellas constituidas exclusivamente por el soma bacteriano^(6,15,16). En función de que en este caso el inmunógeno es una endotoxina es decir una proteína de la pared celular, una vez inactivado el cultivo se centrifuga o microfiltra, se elimina el sobrenadante (restos de medio de cultivo y productos metabólicos) y el mismo es sustituido por una solución tampón como puede ser fosfato buffer salino (PBS) o bien solución salina⁽¹³⁾.

Un ejemplo representativo de bacterinas es la vacuna para la prevención de la septicemia hemorrágica o "Fiebre de embarque" cuyo agente causal es la *Pasteurella multocida* y/o *Mannheimia haemolytica* (Cuadro 3).

Anacultivos

Los anacultivos^(4,14,19) son los cultivos integrales inactivados. En este caso la inmunidad es inducida tanto por endotoxinas (proteínas de pared celular) como

Cuadro 2. Ejemplos de vacunas vivas atenuadas.

Agente causal	Enfermedad	Especie vacunada	Tipo de vacuna	Observaciones
<i>Br.abortus</i>	Brucelosis	Bovinos	Viva, atenuada	Cepa 19
<i>Br.abortus</i>	Brucelosis	Bovinos	Viva, atenuada	Rb51 (1986)
<i>B. anthracis</i>	Carbunco bacteridiano	Bovinos, ovinos, equinos	Viva, atenuada acapsulada, avirulenta	M. Sterne (1935)

Cuadro 3. Ejemplos de vacunas a bacterinas.

Agente causal	Enfermedad	Especie vacunada	Tipo de vacuna
<i>Pasteurella multocida</i>	Pasteurellosis	Bovinos, ovinos, suinos	Inactivada
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Neumonía	Bovinos, ovinos, suinos	Inactivada
<i>Leptospira icterohaemorrhagiae</i>	Leptospirosis y aborto	Bovinos, ovinos, equinos	Inactivada

por exotoxinas liberadas al medio de cultivo.

Ejemplo típico de vacuna constituida por Anacultivos, es el caso de la vacuna para prevención del carbunco sintomático (*Cl. chauvoei*) la cual está constituida por un antígeno somático (de pared) identificado como antígeno O3, y las exotoxinas identificadas como α β δ y χ ⁽¹⁴⁾.

Si en este caso no se elabora la vacuna con el cultivo integral, no se obtendrá una buena protección a nivel de campo (Cuadro 4).

Toxoides

Son las toxinas bacterianas inactivadas (6,15,16,17,34).

Una vez finalizado el cultivo, se separan los cuerpos bacterianos ya sea por centrifugación o microfiltración, y lo que se utiliza como inmunógeno es el sobrenadante que contiene la toxina inactivada (toxoi-de), normalmente purificada por ultrafiltración y diafiltración⁽¹³⁾ (Cuadro 5).

En general se puede considerar que las vacunas inactivadas son seguras para su uso, pero la inmunidad que producen es relativamente corta en duración, en relación a la producida por vacunas vivas atenuadas^(2,11,16).

Sin embargo la respuesta inmune a vacunas inactivadas puede ser incrementada cuando el antígeno en la vacuna es com-

binado con ciertas sustancias conocidas como adyuvantes⁽³⁵⁾.

Los adyuvantes^(11,15,16,2021) son sustancias inertes que contribuyen a aumentar la respuesta inmunitaria.

Ejemplos clásicos de adyuvantes son las sales metálicas de aluminio, tales como el fosfato de aluminio (el primero que se utilizó en medicina humana como adyuvante de la vacuna para prevención de la difteria), alumbre de potasio, e hidróxido de aluminio⁽³⁾.

Posteriormente se desarrollaron otros adyuvantes tales como los oleosos ya sea para la formulación de emulsiones simples de tipo agua en aceite (w/o) o emulsiones dobles del tipo agua en aceite en agua (w/o/w)^(23,38).

Cuadro 4. Ejemplos de vacunas a anacultivos.

Agente causal	Enfermedad	Especie vacunada	Tipo de vacuna
<i>Clostridium chauvoei</i>	Carbunco sintomático	Bovinos, ovinos	Cultivo integral inactivado
<i>Clostridium novyi</i> tipo D. (<i>Cl.oedematiens</i> D)	Hemoglobinuria bacilar	Bovinos	Cultivo integral inactivado
<i>Clostridium sordellii</i>	Muerte súbita	Bovinos, ovinos	Cultivo integral inactivado

Cuadro 5. Ejemplos de vacunas a toxoides.

Agente causal	Enfermedad	Especie vacunada	Tipo de vacuna
<i>Cl. botulinum</i>	Botulismo	Bovinos, equinos	Toxoi-de
<i>Cl. septicum</i>	Gangrena gaseosa	Bovinos, ovinos	Toxoi-de
<i>Cl. novyi</i> tipo B	Enfermedad negra	Bovinos, ovinos	Toxoi-de
<i>Cl. tetani</i>	Tétanos	Equinos, ovinos, bovinos, suinos	Toxoi-de
<i>Cl. perfringens</i> B	Disentería de los corderos	Ovinos	Toxoi-de
<i>Cl. perfringens</i> C	Enterotoxemia	Ovinos	Toxoi-de
<i>Cl. perfringens</i> D	Riñón pulposo	Ovinos	Toxoi-de

Se elaboran vacunas incorporando alguno de estos toxoides (vacunas mixtas o polivalentes).

Ejemplos de vacunas con adyuvantes de sales metálicas de aluminio, son el caso de las vacunas clostridiales ^(1,19,30) y las vacunas para prevención de la septicemia hemorrágica ^(2,4,15).

Vacunas oleosas a emulsión simple (w/o), son las vacunas antiaftosa actualmente en uso y algunas para la prevención de la leptospirosis ^(23,38).

Vacunas oleosas a emulsión doble (w/o/w) ⁽³⁸⁾ son generalmente las vacunas para cerdos y otro caso típico es el de la vacuna para la prevención de la enfermedad de Johne (paratuberculosis) producida por *Mycobacterium johnei*, de gran importancia en Australia ^(10,20).

Vacunas virales

La clasificación tradicional de vacunas virales ^(7,15) incluye: a) vacunas a virus inactivado o sus componentes purificados y b) vacunas vivas atenuadas ^(15,16).

Vacunas a virus inactivado ^(6,16,18,20)

Las mismas pueden consistir en la partícula vírica integral (virión) proteínas de superficie purificadas o epitopes constituidos por péptidos de cadena pequeña.

Las vacunas inactivadas a partículas víricas integrales, son producidas por la multiplicación o replicación viral en otra

especie animal (Ej. rabia en cerebro de ratón) o en líneas celulares eucariotas, al igual que la vacuna para prevención de fiebre aftosa, que se multiplica *in vitro* en una línea celular (BHK₂₁ Clona₁₃) ⁽⁹⁾ seguida por la purificación e inactivación del virus ⁽²³⁾.

Normalmente en vacunas virales se utilizan inactivantes de primer orden, como es el caso de las aziridinas (Acetil etilen imina, Bromo etilen imina etc.) a efectos de evitar los denominados “efectos de cola” (toxicidad residual).

Las vacunas inactivadas con la partícula vírica integral, tienen la ventaja de producir una respuesta inmune no sólo a la proteína de superficie, sino también a los componentes internos, lo cual puede contribuir a la eliminación de la infección viral.

En el caso de fiebre aftosa, se ha intentado producir una vacuna a proteína de superficie purificada (VP1) pero en los ensayos llevados a campo, no ha dado los resultados esperados (Cuadro 6).

Vacunas a virus vivo modificado ^(20,22)

Las vacunas a virus vivo modificado o atenuado, usualmente se pueden producir de dos maneras:

- Por el método jenneriano que consiste en utilizar un virus heterólogo pero con determinantes antigénicos similares.

Tal es el caso de la vacuna contra la viruela humana, en que utilizó un virus bovino (cowpox) para inmunizar contra el virus humano (smallpox).

- Por pasajes seriados a través de organismos vivos o de una o más líneas celulares.

Ejemplo de lo primero, es la vacuna anti-rábica desarrollada por Louis Pasteur, quien logró la atenuación del virus rábico salvaje por pasajes a través de conejos (lapinización).

Otro ejemplo es el caso de la vacuna contra fiebre amarilla en la cual la atenuación se logra por pasajes del virus salvaje a través de ratones y luego en embriones de pollo.

En los casos de Lengua Azul y Aborto Enzootico Bovino, se han obtenido excelentes vacunas por pasajes seriados en huevos embrionados (vacunas avianizadas).

Existen muchos casos de vacunas a virus vivo modificado por pasajes a través de huevos embrionados, pero son básicamente para animales de compañía tales como caninos y felinos (Cuadro 7).

Cuadro 6. Ejemplos de vacunas a virus inactivados.

Enfermedad	Grupo	Replicación	Tipo de vacuna
Fiebre aftosa	Rhinovirus	Líneas celulares	Adyuvante oleoso
IBR	Herpesvirus	Líneas celulares	Adsorbida en gel de Al(OH) ₃
Rabia	Rhabdovirus	Líneas celulares	Adsorbida en gel de Al(OH) ₃

Cuadro 7. Ejemplos de vacunas a virus vivo modificado.

Enfermedad	Grupo	Replicación	Tipo de vacuna
Lengua azul	Orbivirus	Huevo embrionado	Liofilizada
Viruela ovina y caprina	Capripoxvirus	Líneas celulares	Liofilizada

Vacunas obtenidas por técnicas recombinantes

Este tipo de vacunas también son llamadas de "Tercera generación" u obtenidas por "Ingeniería genética".

Se pueden dividir en tres grandes categorías ⁽²⁰⁾:

Categoría I: formada por productos no viables o muertos que no representan problemas para el medio ambiente.

Dichos productos incluyen microorganismos inactivados ya sean completos o como subunidades creadas mediante técnicas de ADNr.

Categoría II: este grupo incluye microorganismos vivos modificados mediante la inserción o eliminación de uno o más genes.

Esta modificación trae como consecuencia la producción de "antígenos marcadores" a los cuales nos referiremos.

Categoría III: usan vectores vivos para transportar genes foráneos obtenidos por tecnología recombinante que codifica antígenos inmunizantes.

El uso de vacunas de ADN con genes obtenidos por técnicas recombinantes que codifican agentes inmunizantes (vacunas de ADN plasmídico) constituyen un nuevo enfoque para el desarrollo de vacunas.

Vacunas marcadoras por delección; ejemplos de éstas son las de Seudorabia (enfermedad de Aujeszky) ⁽²⁰⁾ y Rino Traqueítis Infecciosa Bovina (IBR).

Se dispuso de la primera vacuna para la prevención de la Seudorabia en cerdos, mediante el desarrollo de una cepa atenuada del virus que presentaba una delección espontánea en el gen que codifica para la glicoproteína E (gE).

El criterio a aplicar en un plan de control si se emplea una vacuna marcada o marcadora, define que un animal que sea seropositivo a la proteína no transcripta, se debe considerar infectado y eliminado.

En el caso de Seudorabia o enfermedad de Aujeszky causada en suinos por un alphaherpesvirus en las que en su control en algunos países se usan vacunas convencionales (a virus vivo modificado o antígenos inactivados) se están desarrollando vacunas vivas recombinantes, cuyo ADNr presenta genes eliminados por manipulación genética, o bien por delecciones naturales.

Estas nuevas vacunas ⁽²⁰⁾ que como se dijo anteriormente se denominan "vacunas marcadoras" están producidas con un virus que carece de una glicoproteína específica (normalmente la gE aunque también se han descrito vacunas carentes de gG ó gC).

Estas vacunas marcadoras con genes eliminados, tienen la ventaja de que posibilitarán distinguir los animales vacunados no infectados de aquellos otros con una infección natural.

Esto se hace mediante ensayos para anticuerpos dirigidos contra la proteína codificada por el gen eliminado que estará ausente en cerdos no infectados inmunizados con estas vacunas marcadoras, pero que sí estará presente en cerdos con infección natural.

A título de ejemplo, si se aplica un enzimoimmunoensayo en que la fase fija del mismo está constituida por la glicoproteína E (gE) o bien por gG ó gC, todo suero que dé positivo en el ensayo indica que estamos en presencia de una infección natural ya que si se vacunó la pira con esta vacuna marcadora, no debería detectar anticuerpos (IgG) contra estas glicoproteínas.

Un caso semejante es el de la vacuna para la prevención de la Rino Traqueítis Infecciosa Bovina (IBR).

En esta enfermedad se está en vías de desarrollo de una vacuna producida con una cepa de un mutante deleccionado en el gen para glicoproteína D (gD) ⁽²⁰⁾.

El uso de esta vacuna al igual que en el caso de enfermedad de Aujeszky, permitirá distinguir entre animales vacunados y animales con infección natural.

*Vacuna antiaftosa altamente purificada ⁽²⁰⁾

Es importante hacer una breve reseña a esta vacuna, en virtud de la importancia estratégica y económica que tiene esta enfermedad infecto contagiosa tanto para nuestro país como para la región.

La Vacuna antiaftosa altamente purificada puede ser considerada como una vacuna marcadora, pero no necesariamente obtenida por delección o alguna técnica recombinante.

Esta vacuna carece de proteínas no estructurales (NSPs) debido a su alto grado de purificación.

Como las NSPs se producen durante la replicación viral, estas no están presentes

en los viriones extracelulares que se utilizan para la producción e inactivación de vacunas altamente purificadas.

Por lo tanto si se lleva a cabo un enzimoimmunoensayo (ELISA) en sueros en que se detectan proteínas no estructurales (NSPs) se puede asumir que se está en presencia de animales que han padecido la enfermedad.

*Vacunas con vectores víricos ⁽²⁰⁾

Muchas especies víricas tales como herpesvirus, poxvirus y adenovirus se están ensayando como vectores de trasmisión para antígenos foráneos.

Los vectores más comúnmente ensayados han sido los poxvirus.

Estos tienen una serie de características que les hacen adecuados como vectores, como ser:

- La estabilidad y facilidad para producir vacunas
- La vacuna se puede administrar por varias vías
- Tienen una buena capacidad inductora de respuesta inmunitaria

Uno de los ejemplos en que se está trabajando es en la vacuna recombinante vaccinia/rabia (VRG) para la vacunación oral de zorros contra la rabia.

La inocuidad de esta vacuna se está tratando de incrementar mediante delecciones múltiples, a efectos de minimizar la posibilidad de reversión (Cuadro 8).

Hasta aquí un panorama muy general de una temática tan apasionante como es el de VACUNAS, con la finalidad de aclarar conceptos y dar una idea muy somera de las líneas de desarrollo que están en marcha en esta área.

PRESENTE Y FUTURO EN EL DESARROLLO DE VACUNAS

Si bien la utilización de vacunas recombinantes o de ingeniería genética en medicina veterinaria tendría grandes ventajas como la Seguridad (Inocuidad), aún no se han logrado inmunógenos de alta calidad (a excepción de las vacunas deleccionadas) por lo cual las revacunaciones deben ser frecuentes a efectos de obtener una protección de masa lo cual aumenta el costo sanitario (precio de la vacuna, movimiento de los rodeos para las revacunaciones etc.).

Cuadro 8. Ejemplos de vacunas modificadas genéticamente.

Enfermedad	Grupo	Replicación	Tipo de vacuna	Observaciones
Pseudorabia	Alphaherpesvirus	Líneas celulares	Deleción génica, Liofilizada	gE ⁻
IBR	Herpesvirus	Líneas celulares	Deleción génica, Liofilizada	gD ⁻

Sobre las vacunas actualmente en uso hay mucho por hacer; si comparamos los conocimientos de los años 50-60 en que hubo un desarrollo real de las vacunas (ejemplo son las vacunas clostridiales, vacuna antirrábica etc.)^(4,5,15), con el conocimiento actual, el advenimiento de la biología molecular en la década del 80 ha permitido saber y ahondar más en esta temática.

Hoy existen también herramientas tecnológicas a escala industrial, que permiten enriquecer preparaciones de composición compleja en subfracciones que contengan los componentes de interés .

Como ejemplo se podrían mencionar⁽¹³⁾ las centrifugas de uso industrial, sistemas de microfiltración que permiten separar partículas a nivel de 0,22 µm y 0,1 µm , equipos de ultrafiltración para poder separar componentes de la preparación en relación a la masa molecular etc.

La utilización de técnicas de separación por cromatografía ha aportado enorme información tal como cuál es la proteína

inmunogénica y cómo purificarla a efectos de lograr una mejor respuesta inmunitaria.

Para finalizar, con los conocimientos que se poseen actualmente y en función de la aplicación de nuevas herramientas y tecnologías de que se dispone hoy , se plantea el desafío de lograr una mejora significativa en las vacunas que se están actualmente aplicando en nuestros rodeos, lo cual implica para el productor no pagar el costo de desarrollo de nuevos productos que a la fecha son muy onerosos y de las cuales sólo se tienen resultados preliminares.

CONSIDERACIONES FINALES

Se han descrito brevemente los tipos de vacunas desde sus orígenes en China hasta nuestros días y las áreas de desarrollo en que se está trabajando al poseer nuevas herramientas como la biología molecular.

De todas formas se debe recordar que “*por buscar la excelencia no debemos perder lo mejor*”; se debe tener conciencia de las

limitaciones económicas en el área de la investigación en nuestro medio.

Si bien se elaboran o producen buenas vacunas en nuestro país, estas son mejores mediante la aplicación de nuevas tecnologías y conocimientos que ya han sido lo suficientemente ensayados.

El gran desafío que se presenta en lo inmediato es lograr productos de mejor calidad, lo cual sin lugar a dudas se verá reflejado en el *status* sanitario de nuestra población animal.

Una herramienta que haría una gran contribución en un futuro sería el desarrollo de vacunas marcadoras tales como la vacuna a Rb51 para prevención de brucelosis bovina y las actualmente en desarrollo tales como las vacunas para prevención de enfermedad de Aujeszky e IBR.

Las vacunas que permitan diferenciar anticuerpos vacunales de anticuerpos producidos por la infección, serían una gran contribución a los programas de Control y Erradicación de enfermedades infecciosas ya que facilitarían enormemente la eliminación de los animales infectados.

Referencias Bibliográficas

- Bahl, H.; Dürre, P.** (2001). Clostridia. *Biotechnology and Medical Applications*. Mörlenbach, Germany Ed. Wiley-UCH. 279 p.
- Brown, K.K.; Parizek, R.E.; Stewart, R.C.** (1976). Prevention of clostridial disease in cattle and sheep by vaccination with a multivalent bacterin toxoid. *Veterinary Medicine / Small Animal Clinician*, 71, 1717-1721.
- Bunn, T.O.; Nervig, R.M. and Pemberton, J.R.** (1982). *Metallic Salts as Adjuvants for Veterinary Biologics*. National Veterinary Services Laboratories. APHIS. USDA. AMES. pp 105-113.
- Buxton, A.; Fraser, G.** (1977). *Animal Microbiology*. (Volume 1). Edinburgh. Ed. Blackwell Scientific Publications Ltd. 357 p. Chapters 1:History and development of microbiology. 3:Immunology. 5: Control and prevention of infectious diseases. 9: Pasteurella, Yersinia and Francisella. 10: Brucella. 19: Bacillus. 20: Clostridium.
- Buxton, A.; Fraser, G.** (1977). *Animal Microbiology*. (Volume 2). Edinburgh. Ed. Blackwell Scientific Publications Ltd. pp 359-830. Chapters 37: Fundamental characters of viruses. 39: Virus-cell relationships. 41: Inactivated agents, chemotherapy and vaccines. 52: Poxviruses. 56: Herpesviruses.
- Coetzer, J. A .W.; Thomson, G.R.; Tustin, R.C.** 1994 . Infectious Diseases of Livestock with special reference to Southern Africa. *Cape Town Oxford New York. Oxford University Press*. p.1291- 1322.
- Collier, L. A.** (1999). Short history of research on viruses en Topley & Wilson. Volume 1. *Microbiology and Microbial Infections* VIROLOGY. Ninth edition. Ed. Brian WJ Mahy-Leslie Collier. USA. pp 4-10.
- Corbel, M.J. and MacMillan, A.P.** (1999). Brucellosis en Topley &

- Wilson. Volume 3. *Microbiology and Microbial Infections*. BACTERIAL INFECTIONS. Ninth edition. Ed. William J Hausler Jr-Max Sussman. USA. pp 819-847.
- 9) **ECACC.** (2005-2006) *European Collection of Cells Cultures*. pp 36 - 37.
- 10) **Fiordalisi, M.N.; Lim, L.C.L.; Kane, K.L. and Folds, J.D.** (1999). Active and passive immunization en Topley & Wilson. Volume 3. *Microbiology and Microbial Infections*. Bacterial infections. Ninth edition. Ed. William J Hausler Jr-Max Sussman. USA. pp 107-119.
- 11) **Green, D.S.; Green, M.J. ; Hillyer, M.H.; Morgan, K.L.** (1987). Injection site reactions and antibody responses in sheep and goats after the use of multivalent clostridial vaccines. *The Veterinary Record*, 120, 435-439.
- 12) **Hadler, S.C.; Redd, S.C. and Sutter, R.W.** (1999). Immunoprophylaxis of viral diseases en Topley & Wilson. Volume 1. *Microbiology and Microbial Infections Virology*. Ninth edition. Ed. Brian WJ Mahy-Leslie Collier. USA. pp 973-988.
- 13) **Harris, E.L.V. & Angal, S.** (1989). *Protein Purification Methods*. Oxford. Ed. Oxford University Press. 317 p. Chapters 2: Clarification and Extraction. 3: Concentration of the Extract . 4: Separation based on structure. 6: Separation on the basis of size: gel permeation chromatography.
- 14) **Hatheway, Charles L.** (1990). *Toxigenic Clostridia. Clinical Microbiology reviews*. Vol 3. N°1. pp 66-98.
- 15) **Herbert, W.J.** (1974). *Veterinary Immunology*. Reprinted. London. Ed. Blackwell Scientific Publications. 347 p.
- 16) **Hunter, P.** (1997). *Vaccination. The Control of Animal Diseases in South Africa*. Promedia Publications. 112 p. pp 1-11; 23-24; 34-35; 38-40; 42-43; 64; 66-67; 74; 76-78.
- 17) **Jansen, B.C.; Knoetze, P.C. and Visser F.** (1976) .The antibody response of cattle to *Cl. botulinum* Types C and D toxoids *Onderstepoort J. vet. Res.* 43 (6), 165 - 174.
- 18) **Kahrs, Robert F.** (2001). *Viral Diseases of Cattle*. Second Edition. Iowa State University Press / Ames. p 324. pp:1-15; 39-49; 271-280.
- 19) **Knott, G.K.L.; Erwing, B.G.; Classick, L.G.** (1985). Benefits of a clostridial vaccination program in feedlot cattle. *Veterinary Medicine*, 80, 95-97.
- 20) **MANUAL de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres.** Quinta Edición, (2004). Tomo 1 (OIE). p 634. Cap. 1.1.7. Principios de Producción de Vacunas Veterinarias pp:62-74. Cap.2.1.1. Fiebre Aftosa pp:123-141. Cap.2.2.1. Carbunco pp:307-319. Cap. 2.2.2. Enfermedad de Aujeszky pp:320-333. Cap. 2.2.5. Rabia pp: 356-376. Cap. 2.2.6. Paratuberculosis (Enfermedad de Johne) pp:377-390. Cap. 2.3.1. Brucelosis Bovina pp: 445-476. Cap. 2.3.5. Rinotraqueítis bovina infecciosa pp: 514-525.
- 21) **Manual de Vacunas de Latinoamérica.** Edición 2005. Asociación Panamericana de Infectología. RR Donnelley Moore. p 620. pp:1-32.
- 22) **Murphy, Frederick A. et al.** (1999). *Veterinary Virology*. Third Edition. Academic Press. USA. p 629. Chapter 13: Vaccination Against Viral Diseases. pp: 225-244.
- 23) **OPS.** (1987). Producción, control de calidad y uso de vacunas con adyuvante oleoso contra la fiebre aftosa. Programa de adiestramiento en Salud Animal para América Latina. Ed. Terra Nova S.A. p 260.
- 24) **Programa Oficial de Erradicación de Brucelosis Bovina.** (2004). Informativo Técnico N° 3. PE3B/IT2. 13 de Diciembre. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura. SAG.
- 25) **Quinn, C.P. and Turnbull, P.C.B.** (1999). Anthrax en Topley & Wilson. Volume 3. *Microbiology and Microbial Infections*. Bacterial infections. Ninth edition. Ed. William J Hausler Jr-Max Sussman. USA. pp 799-818.
- 26) **Rb51. Brucelosis Vaccine.** (1996). USDA, APHIS, Brucelosis Eradication Staff.
- 27) **Repisso, M. et al.** Prevalencia de las Enfermedades que afectan a la Reproducción de los Bovinos de Carne en el Uruguay. Proyecto INIA – DILAVE.
- 28) **Repisso, M. et al.** (2001). Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR). Conferencias Expo Uruguay. Prado.
- 29) **Riet-Correa, F.; Schild, A.L.; Méndez, M.** (1998). *Doenças de Ruminantes e Equinos*. Pelotas: Ed. Universitária / UFPEL. p 659.
- 30) **Rood, J.; Mc Clane, B.** (1997). The Clostridia. Molecular Biology and Pathogenesis. Academic Press. Great Britain. p 533.
- 31) **Samartino, L.E.** (2003). INTA. Castelar (Argentina). *Concepto sobre brucelosis Bovina*. Jornadas de Actualización de Brucelosis Bovina. Rocha.
- 32) **Samartino, L.E.; Salustio, E. & Gregoret, R.** (2003). *Evaluación de la vacuna Rb51 de Brucella abortus en hembras bovinas preñadas*. Jornadas de Actualización de Brucelosis Bovina. Rocha.
- 33) **Schurig, G.G.; Roop, R.M.; Bagchi, T.; Boyle, S.; Buhrman, D.; Sriranganathan, N.** (1991). *Biological properties of Rb51. A stable rough strain of Brucella abortus*. Veterinary Microbiology. Jul;28 (2) 171-88.
- 34) **Smith, Louis DS. PhD. (?) BOTULISMO. El microorganismo, sus toxinas, la enfermedad.** *Editorial ACRIBIA. Zaragoza. España.* p 214.
- 35) **Sterne, M.; Batty, I.; Thomson, A. & Robertson, J. M.** (1962). Immunisation of Sheep with Multi-component Clostridial Vaccines. *Vet. Record*, 74 (34) 909-913.
- 36) **Sussman, M.; Borriello, S.P. and Taylor, D.J.** (1999). Gas gangrene and other clostridial infections en Topley & Wilson. Volume 3. *Microbiology and Microbial Infections*. Bacteria Infections. Ninth edition. Ed. William J Hausler Jr-Max Sussman. USA. pp 669-691.
- 37) Vacuna Rb51 en la Erradicación de la Brucelosis Bovina en Chile. (1997). TecnoVet año 3 N°3, Diciembre.
- 38) **XXI World Buiatrics Congress.** (2000). *Seppic Adjuvants*. 4 –8 Diciembre. Punta del Este. Uruguay.