



FACULTAD DE VETERINARIA (UEx)
TRABAJO DE FIN DE GRADO

“VACUNAS VETERINARIAS”

CÁCERES. JUNIO 2016

Alumna: María Mercedes Grande Preciado

Tutor: Dr. Jorge Valle Manzano
(**Sanidad Animal**)

A Adrián, con cariño

Agradecimientos:

Me gustaría dar las gracias en primer lugar a mi tutor, el Dr. Jorge Valle Manzano, por su total disponibilidad y compromiso, sin el cual me hubiera sido imposible realizar este trabajo.

A mis padres, por permitirme estudiar lo que desde que tengo memoria he querido, gracias a su apoyo tanto económico como moral.

A mi hermano, el mejor del mundo, el que me ha hecho reír cuando no tenía motivo.

A mis abuelos, que han respetado y apoyado siempre mi decisión de estudiar, pese a ser la primera de mi familia en salir de casa y hacerlo, de los que me siento muy orgullosa.

A María Corcho, Ana Victoria Jiménez, M^a Eugenia García, Fernando Pérez y Gema Rivero, y demás compañeros de clase y amigos que me han visto crecer como persona y como profesional todos estos años. Sin sus risas y consejos todo esto habría sido mucho más complicado.

Y finalmente, a Adrián, quien ha estado y me ha aguantado las veinticuatro horas del día de estos seis años, quien me ha salvado de mi lado más oscuro cuando no veía el final del camino y la desesperanza se apoderaba de mí y de mis sueños, la persona que me ha sacado una sonrisa cuando todo se me venía en contra, quien me decía que todo iba a salir bien y que iba a aprobar.

Muchas gracias a todos.

Abreviaturas

BRSV: Virus Respiratorio Sincitial Bovino.

BVDV: Virus de la Diarrea Vírica Bovina.

CaMV: Virus del Mosaico de la Coliflor.

CMH I: Complejo Mayor de Histocompatibilidad I.

CMH II: Complejo Mayor de Histocompatibilidad II.

CPA: Células Presentadoras De Antígeno.

GETC: Gastroenteritis Transmisibile de los Cerdos.

H5N1: Virus de la Influenza Aviar.

IBR: Rinotraqueítis Infecciosa Bovina.

IBR-1: Rinotraqueítis Infecciosa Bovina Tipo 1.

IL-1: Interleuquina 1.

IL-2: Interleuquina 2.

ISCOM: Complejos Inmunoestimulantes.

PPA: Peste Porcina Africana.

PPC: Peste Porcina Clásica.

PRRs: Receptores de Reconocimiento de Patrones.

PRRS: Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino.

VHB-1: Virus Herpes Bovino Tipo 1.

ÍNDICE

pág

1. Introducción: justificación y objetivos.....	1
2. Perspectiva histórica.....	4
3. Vacunas clásicas o convencionales.....	7
3.1 Vacunas vivas atenuadas.....	8
3.2 Vacunas muertas o inactivadas.....	10
3.3 Autovacunas.....	11
3.4 Adyuvantes e inmunoestimulantes.....	14
3.5 Sueroterapia.....	16
3.6 Problemática derivada de las vacunas convencionales.....	16
4. Nuevas estrategias en la elaboración de vacunas (Vacunas de nueva generación).....	19
4.1 Vacunas de subunidades.....	20
4.2 Vacunas de proteínas sintéticas.....	24
4.3 Vacunas de delección.....	25
4.4 Vacunas recombinantes.....	25
4.5 Vacunas de ADN.....	26
4.6 Vacunas en plantas.....	29
4.7 Vacunas de reversión génica.....	31
4.8 Ventajas e inconvenientes de las vacunas de nueva generación.....	33
5. A modo de conclusión: vacunas de nueva generación en veterinaria ¿realidad o mito?.....	35
6. Resumen/Abstract.....	39
7. Bibliografía.....	41
8. ANEXO I (Vacunas veterinarias de nueva generación comercializadas en España).....	45

1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción: justificación y objetivos

El sistema inmune puede “prepararse” frente a un determinado microorganismo de manera preventiva, para que si en algún momento apareciera el mismo microorganismo en forma virulenta, sea reconocido de forma rápida y pueda combatirse eficazmente.

Esta preparación preventiva, basada en la memoria del sistema inmune, en la que se consigue una respuesta adquirida, tanto humoral como celular, se denomina inmunización activa o vacunación. Otra forma de inducir inmunidad a un animal, en un momento determinado y con fines curativos más que preventivos, ya que es una inmunidad no duradera pero rápida, es la denominada inmunización pasiva o sueroterapia.

La sueroterapia consiste en transferir inmunoglobulinas específicas frente a un determinado antígeno de un animal a otro (generalmente de la misma especie para evitar reacciones adversas de rechazo). Estos anticuerpos se producen en el animal donante tras una respuesta activa mediante diferentes vacunaciones o estimulaciones antigénicas.

En la sueroterapia, se transfiere de forma inmediata una respuesta humoral al animal receptor, basada exclusivamente en anticuerpos, que no es muy duradera, debido al catabolismo de las inmunoglobulinas.

En general, la sueroterapia no se utiliza en la actualidad, aunque sí es de gran utilidad en algunas especies, como en la canina para el tratamiento del moquillo, en la felina para la panleucopenia y en la equina frente al tétanos (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004**).

El descubrimiento de los anticuerpos **monoclonales** hizo alentar grandes esperanzas en la sueroterapia, incluso frente a diferentes tipos de tumores; sin embargo, al sólo poder producirse hibridomas en ratón hasta la fecha, se ha limitado su utilización por problemas de rechazo inmunológico (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004**).

A diferencia de la sueroterapia, las vacunas son preparados antigénicos constituidos por microorganismos completos (vivos o muertos) o algunas de sus proteínas o toxinas, que son capaces de inducir una respuesta inmune protectora y duradera, frente al mismo microorganismo virulento, sin producir efectos secundarios.

Según el agente etiológico frente al que están preparadas, las vacunas pueden ser bacterianas, víricas, parasitarias o fúngicas. Atendiendo a la variedad de agentes frente a los que protegen se clasifican en monovalentes y polivalentes. Finalmente, según la metodología por la que hayan sido preparadas, se consideran vacunas convencionales (aquellas cuyos principios metodológicos se implantaron desde el comienzo de la vacunología), y vacunas de nueva generación, producidas utilizando las metodologías de ingeniería genética desarrolladas en los últimos años.

Los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y de los mecanismos de presentación antigénica, junto a los progresos conseguidos en las técnicas de biología molecular, identificación de las proteínas de interés inmunológico y la obtención de diferentes vectores para la expresión de las mismas, han permitido diseñar y obtener diferentes tipos de vacunas, algunas de las cuales permiten diferenciar el animal vacunado del animal enfermo. No obstante, la gran mayoría de las vacunas actualmente en uso, frente a un gran número de enfermedades bacterianas y víricas, todavía pertenecen a las denominadas vacunas convencionales.

Desde los trabajos de Louis Pasteur hasta la actualidad, han sido muchas las vacunas que se han desarrollado frente a diferentes enfermedades de origen bacteriano y vírico, utilizando distintos métodos, tanto para atenuar la virulencia de los agentes infecciosos y seleccionar cepas no virulentas (vacunas vivas atenuadas), como para inactivar totalmente los mismos (vacunas muertas o inactivadas). Las vacunas atenuadas y/o muertas han sido la base inmunológica principal para el control y erradicación de la gran mayoría de las enfermedades infecciosas animales hasta nuestros días.

En este Trabajo de Fin de Grado (TFG) nos planteamos realizar una revisión sobre el estado actual del conocimiento y desarrollo de la inmunoprofilaxis vacunal en el ámbito veterinario, así como comprobar cuál es el reflejo de este estado en el ámbito de la disponibilidad real de las denominadas vacunas de nueva generación en nuestro país.

2.PERSPECTIVA HISTÓRICA

2. Perspectiva histórica

La primera vacuna de la que se dispone de datos científicos la ideó Edward Jenner (1749-1823) en 1796 frente a la viruela humana. Jenner observó que las personas que habían sufrido la viruela vacuna (enfermedad mucho más benigna que la viruela humana) no padecían la viruela humana, por lo que decidió hacer un preparado, con las vesículas de vacas infectadas, que, inoculado a personas sanas, las protegía frente a la viruela humana. Por haber sido originada en una vaca, al proceso se le dio el nombre de vacuna, y al virus que se empleó “vaccinia” (**Plotkin, S.A., 2011**).

Alrededor de cien años después de esta primera vacuna, Louis Pasteur (1822-1895) demostraba que se podía inducir inmunidad, más o menos duradera, utilizando microorganismos homólogos (Jenner utilizó microorganismos heterólogos, virus de vacuno para prevenir la enfermedad en el hombre) modificados, en su virulencia, así como por su inactivación total. Así nacieron las vacunas inactivadas, ensayadas por Pasteur en el carbunco, y las vacunas atenuadas, producidas por primera vez por el mismo científico en 1885, frente al virus de la rabia. Aunque Pasteur no llegó a conocer los mecanismos de activación inmunitaria, ni de inducción de memoria inmune, su diseño de vacunas ha sido de gran importancia para el desarrollo de las mismas hasta la fecha. Estas vacunas, denominadas hoy día como convencionales, han tenido mucho éxito en el control y erradicación de un gran número de enfermedades animales y humanas, desde la viruela, iniciadora de estos estudios, a la rabia, pasando por enfermedades animales tan importantes como la fiebre aftosa o la peste porcina clásica (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004**)

El mecanismo inmunitario de la vacunación fue finalmente aclarado en 1957, cien años después de Pasteur, por Frank Burnet (1899-1985) quien enunció la **teoría de la selección clonal**, y por el posterior descubrimiento en 1965 del papel de los linfocitos **T** y **B** en la respuesta inmune.

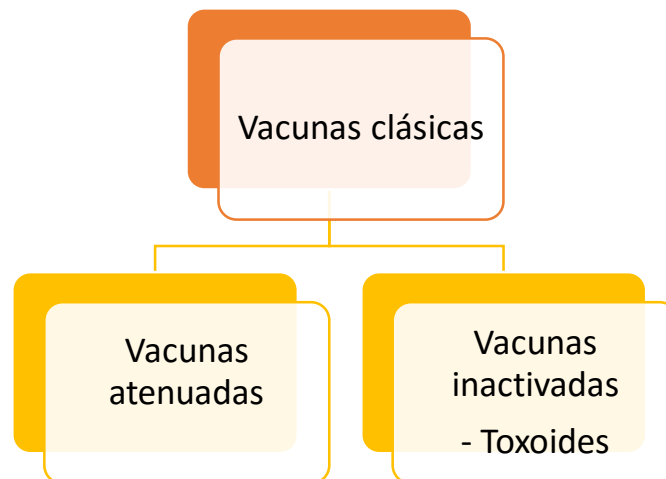
La base del éxito de la vacunación consiste en que la estimulación de los antígenos que componen una vacuna induce una respuesta primaria con estimulación o expansión clonal de linfocitos **T** y **B**, y la formación de células de memoria capaces de inducir una respuesta secundaria eficiente en el individuo

cuando entra en contacto con los mismos antígenos (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004**).

3.VACUNAS CLÁSICAS O CONVENCIONALES

3. Vacunas clásicas o convencionales

Las vacunas clásicas, también conocidas como convencionales, pueden ser vacunas inactivadas, formadas por bacterias, virus o partes de ellos, y vacunas vivas atenuadas, formadas por bacterias o virus cuya virulencia ha sido reducida (**López, M. et al., 2004**).



3.1 Vacunas vivas atenuadas

Una vacuna atenuada consiste en utilizar un agente infeccioso (vacunas monovalentes) o varios (vacunas polivalentes) vivo y homólogo al que produce la enfermedad, pero cuya virulencia haya sido atenuada, de manera que sin producir ninguna lesión secundaria al animal, induzca inmunidad duradera frente al agente homólogo virulento (**Salleras, L., 2002**).

Generalmente, este tipo de vacunas se realizan a partir, o bien de cepas homólogas a las virulentas, pero que se han atenuado de forma natural, o bien a partir de aislados virulentos, a los que mediante distintos métodos se consigue atenuarlos de forma estable.

En general, los métodos para atenuar la virulencia de los microorganismos pueden ser los siguientes:

1. Conseguir la adaptación a un hospedador alternativo: el microorganismo se adapta a un hospedador distinto mediante pases repetidos en el mismo, como es el caso de la vacuna para la viruela (**López, M. et al., 2004**).

2. Obtención de mutantes termosensibles: el microorganismo disminuye su patogenicidad al adaptarse a una temperatura de replicación que no es la óptima para él. Un ejemplo de este método es el de la vacuna desarrollada frente a la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (**IBR**) (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).
3. Variante natural por pases: se basa en realizar un gran número de pases del patógeno en condiciones adversas para él, de tal forma que debe adaptarse de manera forzada. Mantiene su capacidad de multiplicación en el animal pero su virulencia disminuye considerablemente. Un ejemplo de este tipo de vacunas sería la de la Tuberculosis (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).
4. Atenuación por métodos químicos: atenuación mediante agentes mutagénicos químicos (nitroso-guanidina) (**López, M. et al., 2004**).
5. Atenuación por reabsorción o recombinación: es la infección simultánea de dos virus con información genética diferente para formar un único virus con la información genética de ambos, es decir, un virus recombinado. El virus resultante estará formado mayoritariamente por genes del virus no patógeno para el animal y genes inmunizantes del virus patógeno, que expresan proteínas frente a las cuales se sintetizan anticuerpos, como es el caso de las nuevas vacunas frente a rotavirus (**López, M. et al., 2004**).

De todos ellos, el sistema de atenuación más utilizado en la actualidad se basa en realizar un gran número de pases o replications del virus o bacteria virulentos en líneas celulares (virus) o medios de cultivo (bacterias), de tal manera que los microorganismos pierdan virulencia, no produzcan ningún tipo de lesión en el animal, pero sigan teniendo la capacidad de replicarse o multiplicarse lo suficiente para que el sistema inmune pueda procesarlo (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).

El principal problema de las vacunas vivas atenuadas es que la mencionada atenuación por cualquiera de los métodos comentados no sea estable y pueda revertir a las formas virulentas. La estabilidad de la atenuación es el factor más crítico en estas vacunas (**Traavik, T., 2007**). Otro aspecto crítico de estas vacunas es que, al estar formada por microorganismos vivos, necesitan mantenerse en una cadena de frío permanentemente, para evitar que el microorganismo muera parcial o totalmente (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).

Finalmente, en general, las vacunas vivas atenuadas inducen una respuesta inmune superior a las vacunas inactivadas o muertas, siendo el caso más evidente el de

las vacunas víricas que inducen en las células huésped todos los mecanismos inmunitarios, tanto de presentación antigénica ligados a linfocitos **CD4+** y al **CMH II**, como de activación citotóxica ligados a linfocitos **CD8+** y al **CMH I**, así como la liberación de diversas citoquinas (**Pastoret, P.P.; Blancou, J.; Vannier, J. and Verschueren, J., 1997**).

3.2 Vacunas muertas o inactivadas

Las vacunas muertas o inactivadas están formadas por los microorganismos completos pero inactivados por algún método físico o químico. Estas vacunas, comparadas con las vacunas atenuadas, presentan como principales ventajas su estabilidad y seguridad, y su conservación inalterada durante más tiempo. Sin embargo, suelen inducir una respuesta inmunitaria menor que las vacunas atenuadas, fundamentalmente ligada a linfocitos **T CD4+** con producción de anticuerpos. Las vacunas inactivadas o muertas también se han producido a partir de exotoxinas bacterianas inactivadas, como es el caso del tétanos, mediante el empleo de toxina tetánica inactivada, con notable éxito. A estos componentes vacunales se les denomina **toxoides**.

Al contrario que las vacunas vivas atenuadas no requieren refrigeración y pueden transportarse a lugares donde no puedan permitirse este proceso. Confieren una mayor seguridad, pues no existe la amenaza de reconversión a la forma virulenta. El principal inconveniente es que su respuesta inmunitaria es menor que en las vacunas atenuadas, pues está únicamente basada en la respuesta humoral, por parte de los linfocitos **T CD4+**, lo que obliga, para una correcta inmunización, al uso de varias dosis de recuerdo que tiene que ser administradas en periodos de tiempo concretos, algo que puede ser dificultoso en determinados países. Para paliar esta "desventaja" se añaden adyuvantes que potencian la respuesta inmune (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). (**Tabla 1**).

Un inconveniente específico de las vacunas inactivadas de virus, es que no se replican en el animal, lo cual significa que se necesita más cantidad de antígeno y dosis de refuerzo para que la respuesta inmune sea duradera. Por el contra ventajosa, son menos sensibles a los cambios de temperatura que las vacunas víricas atenuadas (**Salleras, L., 2002**).

Los métodos, tanto físicos como químicos, utilizados para inactivar las vacunas tienen el objetivo de no modificar las proteínas del microorganismo en su capacidad inmunógena, lo cual podría provocar una alteración de la respuesta inmune del animal. Los productos químicos que más se utilizan son el formol y agentes quelantes como el óxido de etileno, propiolactona, etc. Entre los agentes físicos, el más empleado es el calor (Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007).

Ejemplo de este tipo de vacunas son aquellas frente a: **Actinobacillus pleuropneumoniae**, enfermedad de Aujeszky, enfermedad de Glässer, enterotoxemias, fiebre aftosa, influenza porcina, mal rojo, rinitis atrófica, parvovirus, Peste Porcina Clásica (PPC) , Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS), **Mycoplasma hyopneumoniae**, **Pasterella multocida** y **Serpulina** (Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004).

TABLA 1. Comparación entre vacunas atenuadas y vacunas inactivadas. (Modificado de Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004).

Vacunas atenuadas	Vacunas inactivadas
Estimulación CD 4+ y CD 8+	Fundamentalmente CD 4+
Citoquinas (interferón)	Menos citoquinas
Menor cantidad antígeno	Mayor cantidad antígeno
Menor estabilidad almacenamiento	Mayor estabilidad almacenamiento
Menos seguras (ver aptdo. 3.6)	Más seguras
Adyuvantes no críticos	Adyuvantes críticos

3.3 Autovacunas

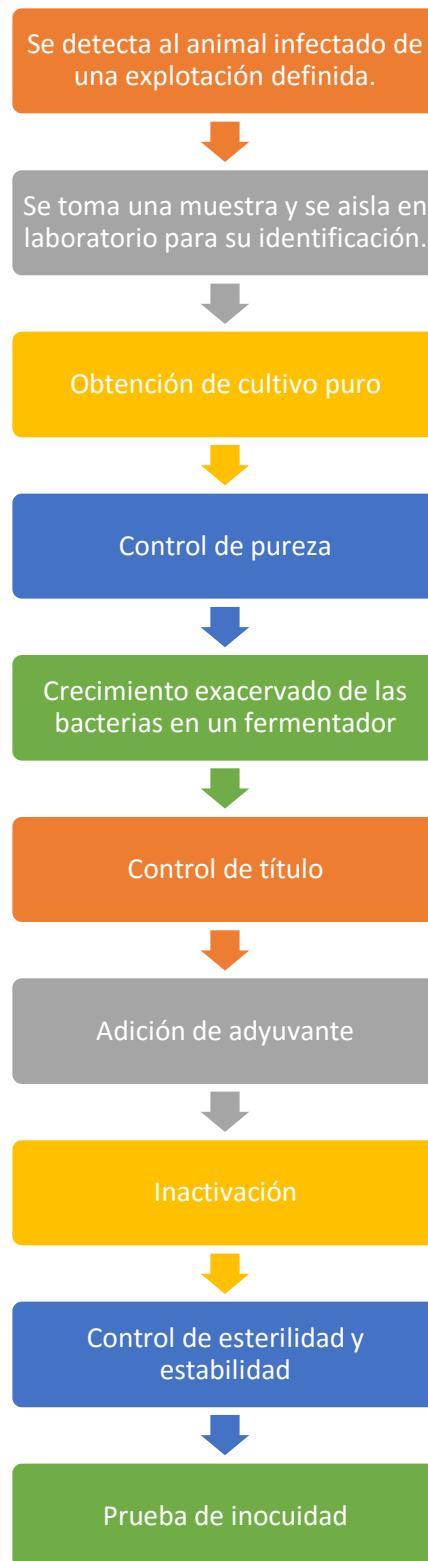
En veterinaria reciben este nombre los preparados elaborados a partir de cepas aisladas de uno o varios individuos enfermos y que son aplicados a animales de una explotación o área geográfica concreta. Pueden estar compuestas por uno o más microorganismos. Solo se elaboran cuando o bien no existe vacuna comercial, o habiendo vacuna hay diferencias antigénicas de serotipo entre el/los microorganismos que provocan la infección en los animales y los serotipos vacunales, y se pueden

emplear hasta que los animales se inmunicen y cese la enfermedad (**Gutiérrez Pabello, J.A., 2010**).

En España, sólo está permitido realizar autovacunas de bacterias, también denominadas bacterinas, y siempre inactivadas y no tóxicas (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). En otros países como EE.UU también pueden fabricarse autovacunas a partir de virus, micoplasmas o cualquier otro tipo de microorganismo.

Para elaborar una autovacuina se aísla la bacteria a partir de una muestra de un animal enfermo y procedemos a la identificación. Posteriormente se obtiene un cultivo puro que usaremos como cultivo iniciador para efectuar el crecimiento de grandes cantidades de bacteria. Una vez que la hemos obtenido, añadiremos adyuvantes, como el hidróxido de aluminio u otros de tipo oleoso. Finalmente se inactivarán con formol o aziridinas, y aplicaremos un tratamiento térmico (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). (**Figura 1**).

FIGURA 1. Diagrama de flujo de la obtención de autovacunas (modificado de Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007).



3.4 Adyuvantes e inmunoestimulantes

La palabra adyuvante viene del latín “*adjuvare*”, que significa ayudar, asistir. Los adyuvantes inmunológicos se empezaron a desarrollar a principios del siglo pasado, cuando Ramón Gastón y colaboradores observaron que los caballos que desarrollaban abscesos en el sitio de inyección del toxoide diftérico, generaban mayores títulos de anticuerpos específicos que aquellos que no los tenían. Posteriormente, se llegó a la conclusión de que los abscesos provocados por la inyección de sustancias extrañas junto con el toxoide, aumentaban la respuesta antitoxina en caballos (**Aguilar Rubido, J.C., Leal Angulo, M.J., 2000**).

Así, a estas sustancias que aumentaban la producción de anticuerpos y de la memoria de la respuesta inmune en los animales vacunados, se les denominó adyuvantes. Además, se vio que los adyuvantes actuaban favoreciendo la presentación de los antígenos del sistema inmune, mediante el secuestro de antígenos vacunales y la posterior liberación de manera lenta y prolongada, produciendo una ligera inflamación que activa la atracción de las células presentadoras de antígeno (**CPA**), y por tanto favoreciendo la quimiotaxis de las mismas (**Batista-Duharte, A., Lastre, M., Pérez, O., 2014**), al foco de infección.

Los primeros adyuvantes fueron compuestos de aluminio (hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio), cuya actividad demostró en 1926 Glenny, mediante el uso de una vacuna de toxoide diftérico en alúmina (óxido de aluminio). Mediante esta experiencia, pudo demostrarse que cuando el compuesto de aluminio entra en contacto con el antígeno, producen en el animal inoculado un ligero granuloma que favorece la lenta eliminación del antígeno (estimulación antigénica duradera), así como la atracción de las **CPA**, por lo que aumenta la capacidad de la respuesta inmune. En la actualidad estos adyuvantes son los más utilizados, sobre todo para antígenos altamente inmunógenos, como en las vacunas de parvovirus (**Aguilar Rubido, J.C., Leal Angulo, M.J. 2000**).

Más tarde, en 1936, Freund desarrolló una emulsión de agua en aceite mineral que contenía micobacterias muertas, actualmente denominado comúnmente “adyuvante completo de Freund” (adyuvante oleoso). Este adyuvante, es uno de los más inmunomoduladores, pero, al mismo tiempo, es muy reactogénico para ser usado con fines clínicos. Aun así, ha sido empleado en formulaciones vacunales en humanos (**Aguilar Rubido, J.C., Leal Angulo, M.J. 2000**).

El uso de la endotoxina lipopolisacáridica que se emplea como adyuvante para vacunas de uso humano, vino de la mano de Johnson en 1956, el cual demostró su capacidad inmunomoduladora. Casi dos décadas después, en 1974, Lederer y colaboradores utilizaron el muramildipéptido presente en micobacterias como adyuvante (**Pastoret, et al., 1997**). Posteriormente, se ensayaron otros tipos de adyuvantes, como los adyuvantes tensoactivos elaborados a partir de **Quil A**, una saponina extraída de la corteza de la *Quillaja saporaria*, un árbol procedente de Sudamérica, cuyas propiedades fueron descubiertas por Thibault y Richou en 1936. Aunque no se utiliza mucho por presentar algunos efectos secundarios, este adyuvante es una alternativa para la alúmina, pues confiere una respuesta celular más intensa. Como característica a destacar en cuanto a la respuesta que genera, debemos señalar que son un excelente adyuvante tanto para antígenos **T-dependientes** como **T-independientes**, y además, induce la activación de linfocitos **T CD8+**, asociado a vectores virales, y potencia las vacunas que se administran por las mucosas.

Otras saponinas también se han empleado en formulaciones como los denominados **ISCOM** (Immune Stimulating Complexes), adyuvantes lipídicos que se utilizan para conseguir una estabilidad física adecuada desde el punto de vista inmunogénico. Con una utilización comercial muy reducida, no obstante, resultan buenos estimulantes y no presentan efectos secundarios (**Umberos Fernández, J., 2013**). Los **ISCOM** administrados vía oral, respiratoria y vaginal, han conferido inmunidad sistémica y local en ensayos animales (**Anderson, D.J., 1996**). Además, controlan la respuesta del **MHC de clase II** y son capaces de estimular las células T CD8+ restringidas a moléculas del **MHC de clase I** (**Aguilar Rubido, J.C., Leal Angulo, M.J., 2000**).

Hoy en día, se está estudiando la asociación de antígenos vacunales y adyuvantes con algunas citoquinas como la **IL-1** e **IL-2** o con el interferón, por su potencial inmunoestimulador y probablemente serán en un futuro próximo más utilizados (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). En resumen, lo que se pretende con el desarrollo de nuevos adyuvantes es aumentar su seguridad y disminuir su gran problema, la toxicidad que producen. Las investigaciones en el campo de la inmunología están avanzando pero todavía no se ha conseguido paliar esta toxicidad de los adyuvantes.

3.5 Sueroterapia

La sueroterapia es otra forma de inducir inmunidad a un animal, en un momento determinado y con fines curativos más que preventivos, ya que es una inmunidad no duradera pero rápida, es la denominada inmunización pasiva.

En la sueroterapia, se transfiere de forma inmediata una respuesta humoral al animal receptor, basada exclusivamente en anticuerpos, que no es muy duradera, debido al catabolismo de las inmunoglobulinas. Estos anticuerpos se producen en el animal donante tras una respuesta activa mediante diferentes vacunaciones o estimulaciones antigénicas.

La sueroterapia fue descubierta por Behring y Kitasato en 1890, y constituyó la primera aportación al tratamiento de las enfermedades infecciosas y el inicio de la inmunoterapia. Esta técnica tiene ciertos inconvenientes como las reacciones adversas que se pueden dar en el animal receptor, por ello debemos tratar el suero eliminando el fragmento **Fc** y dejando el **Fab** para que reaccione con el antígeno. Otra medida que tenemos que tomar es la de realizar la transferencia con animales de la misma especie. Si no se adoptan estas precauciones, el animal puede desarrollar una reacción de hipersensibilidad de tipo III, llamada enfermedad del suero (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).

La sueroterapia no se suele utilizar en la actualidad, aunque sigue siendo de gran utilidad en algunas especies, como en la canina para el tratamiento del moquillo, en la felina para la panleucopenia y en la equina frente al tétanos (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).

3.6 Problemática derivada de las vacunas convencionales.

Las vacunas convencionales fueron las primeras descritas, y por lo tanto, las primeras que se emplearon para luchar contra las enfermedades infecciosas. Sin embargo, presentaban y presentan algunos inconvenientes, algunos de los cuales se han ido comentado anteriormente, tales como:

- ❖ Seguridad: la posible reversión a la virulencia de las vacunas vivas y los fallos en la total inactivación de las vacunas inactivadas, son los problemas que, aunque no frecuentes, se pueden detectar en las vacunas convencionales. Otros problemas que afectan también a la seguridad de las vacunas, están originados por las contaminaciones con agentes bacterianos o virales no detectados. En algunas ocasiones se pueden contaminar las líneas celulares donde se prepara el inóculo de la vacuna con virus que no producen efecto citopático, y que se replican en paralelo con el virus vacunal. Aunque los controles de calidad y seguridad de los diferentes lotes de vacunas deberían detectar estos problemas, no siempre ocurre.
- ❖ Efectos secundarios: los efectos secundarios originados por la vacunación con algunas vacunas convencionales son otros de los problemas observados. Generalmente, estos efectos secundarios se producen solamente a nivel local con inflamación o edema en el punto de inoculación, a veces aparece fiebre, y más infrecuentemente, aunque también ocurren, otros problemas más serios como reacciones de hipersensibilidad o de inmunosupresión pasajera.
- ❖ Cadena del frío: las vacunas convencionales, tanto inactivadas como atenuadas (en éstas es crítico), necesitan mantenerse durante su almacenamiento y transporte a temperaturas de refrigeración alrededor de los +4 a +6 °C. Estos requerimientos impiden en algunas ocasiones, sobre todo en países del tercer mundo o en zonas poco desarrolladas, que las vacunas se mantengan en buen estado antes de su utilización haciéndolas menos efectivas.
- ❖ No disponibles frente a todas las enfermedades: mediante estas tecnologías convencionales no se han podido desarrollar vacunas frente a todas las enfermedades animales. Así, frente al virus de la Peste Porcina Africana (**PPA**) no ha sido posible, hasta la fecha, desarrollar una vacuna efectiva frente a esta importante enfermedad que está generando grandes pérdidas económicas y sociales en un alto número de países africanos, impidiendo el desarrollo del sector porcino.
- ❖ No diferenciación entre animales vacunados y animales infectados: quizás el principal problema de este tipo de vacunas convencionales es la imposibilidad para diferenciar los animales vacunados de los animales enfermos. Dado que las vacunas convencionales están formadas por virus o bacterias completos (atenuados o inactivados), el sistema inmune detecta los mismos antígenos que

cuando se produce una infección y su respuesta por tanto es la misma. Este inconveniente ha impedido, por ejemplo, a los países de la Unión Europea utilizar vacunas frente a algunas enfermedades como la Peste Porcina Clásica (PPC), que aunque son muy efectivas, no permiten diferenciar al animal vacunado del enfermo o portador.

En la siguiente tabla (**Tabla 2**), se resumen las ventajas e inconvenientes de las vacunas clásicas o convencionales.

TABLA 2. Ventajas e inconvenientes de vacunas vivas atenuadas y muertas inactivadas (Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007).

	Ventajas	Inconvenientes
Vacunas atenuadas	<ul style="list-style-type: none"> -Estimulación de inmunidad humoral y celular -Infección similar a natural (multiplicación) -Inmunidad duradera y efectiva -Necesidad de pocas inoculaciones y dosis -Coste de producción relativamente bajo -Adyuvantes no tan necesarios 	<ul style="list-style-type: none"> -Virulencia residual y reversión a tipo virulento -Diseminación en la población -Enfermedad asociada a la vacuna -Presencia de microorganismos contaminantes -Problemas de almacenamiento
Vacunas inactivadas	<ul style="list-style-type: none"> -No virulencia residual -Más seguras -Menos efectos secundarios -Estables en almacenamiento -Coste de producción relativamente bajo 	<ul style="list-style-type: none"> -Estimulación de inmunidad humoral, no celular -Menor inmunidad (no hay multiplicación) -Mejor para infecciones sistémicas que en mucosas -Necesidad de inoculaciones repetidas y más dosis -Adyuvantes muy necesarios (reacciones locales y de hipersensibilidad)

4.NUEVAS ESTRATEGIAS EN LA ELABORACIÓN DE VACUNAS (VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN).

4. Nuevas estrategias en la elaboración de vacunas (vacunas de nueva generación).

Los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y en las técnicas de biología molecular conseguidos en los últimos años, han permitido identificar, en un gran número de agentes infecciosos, las proteínas de interés inmunológico y expresarlas en diferentes vectores de amplificación; o bien eliminar aquellas proteínas que no representan interés inmunológico y/o puedan estar relacionadas con la virulencia. De esta manera, se han desarrollado nuevas vacunas que no están formadas por el agente infeccioso completo, y que permiten, entre otras ventajas, la diferenciación serológica de los animales vacunados frente a los enfermos.

La tecnología de nuevas vacunas ha derivado en la elaboración de inmunopreparados basados en subunidades de proteínas o la transferencia de éstas mediante vectores, como plásmidos u hongos, procedentes del microorganismo en cuestión. Estas “partes” del patógeno, relacionadas con parte de los mecanismos de patogenicidad del mismo son las que nos interesan a la hora de elaborar la vacuna, ya que frente a ellas se puede iniciar la respuesta inmune protectora, sin los inconvenientes de utilizar microorganismos completos eliminándose algunos efectos adversos que provoca la utilización de los mismos.

Así, mediante ingeniería genética, podemos seleccionar de todo el entramado de piezas (antígenos) de las que está compuesto el microorganismo, las “partes” o genes que codifican para las mismas que nos interesen, y colocarlos en vectores para que se expresen o, por el contrario, podemos eliminar de forma concreta los que queramos.

Además de interaccionar con el microorganismo adicionando parte de él o eliminándolas, podemos incorporar proteínas de interés inmunológico para potenciar la respuesta inmune, tanto celular como humoral, para que esta sea más intensa y duradera, lo que nos permite no tener que administrar dosis de recuerdo en poco tiempo desde la primera administración de la vacuna (**Manoj, S., L.A. Babiuk and S. Van Drunen Littel-van den Hurk., 2004**).



4.1. Vacunas de subunidades

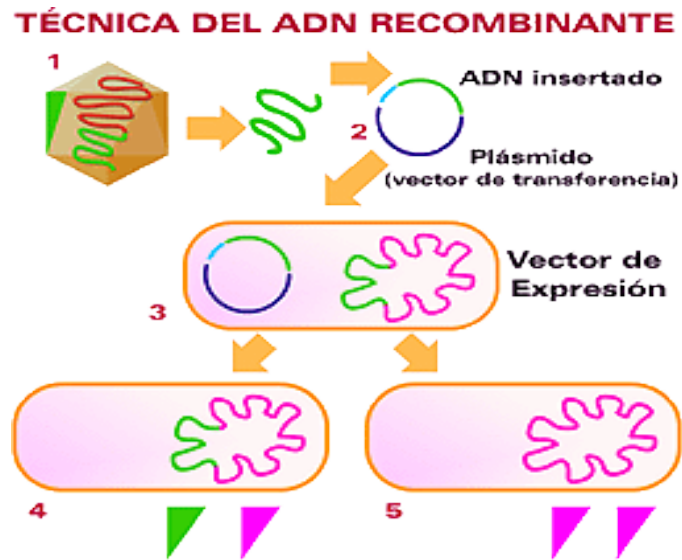
Los elementos como polisacáridos, proteínas o péptidos, que poseen los microorganismos patógenos en su superficie pueden intervenir negativamente en la respuesta inmune que se genera al entrar en contacto con el individuo, causando problemas de hipersensibilidad (Arnon R., Ben-Yedidia. T., 2003). Este fue el motivo inicial para el diseño de vacunas formadas por proteínas purificadas a las que se denominó vacunas de subunidades. Estas vacunas pueden estar formadas por una parte concreta del microorganismo o por las sustancias que excretan. (Cho, W.M., 2003).

Estas vacunas de subunidades se basan en técnica del ADN recombinante, que consiste en la producción de una proteína o proteínas de un agente infeccioso sin necesidad del propio microorganismo, mediante técnicas de ingeniería genética que fragmentan el ADN correspondiente, y lo expresan en diferentes vectores de expresión *in vitro*. Así, se producen grandes cantidades de una única proteína (subunidad) o de varias proteínas de un agente infeccioso, que pueden ser utilizadas como vacuna de subunidades. Los pasos, resumidos, de esta metodología (Figura 2) son los siguientes:

- 1) Identificar la/s proteína/s de interés inmunológico de un determinado agente causal, y la secuencia genética que lo codifica.
- 2) Aislar el fragmento de ADN que codifica la mencionada proteína e insertarlo en un plásmido, que hace de **vector de transferencia** (el tipo de plásmido utilizado dependerá del tipo de vector de expresión).
- 3) Introducir el plásmido (con el fragmento de ADN insertado) en un **vector de expresión**. No todos los vectores de expresión aceptarán el nuevo gen y producirán la proteína que codifica, por lo que habrá que diferenciar y seleccionar aquéllos que lo han incorporado, mediante distintos sistemas de marcaje.
- 4) Cultivar el vector de expresión en el laboratorio. Al expresar la proteína correspondiente al gen insertado, ésta se secreta al medio extracelular, de donde es purificada para su uso vacunal.

Los vectores de expresión más utilizados son bacterias, fundamentalmente **Escherichia coli**, las levaduras y, sobre todo, los **baculovirus**. Las bacterias no glucosilan adecuadamente los polipéptidos producidos, por lo que normalmente las proteínas obtenidas presentan menor capacidad inmunogénica (**Berriós Etchegaray, P., 2001**).

Figura 2. Esquema de obtención de proteínas de interés inmunológico mediante técnica de ADN recombinante.



Una vez conocido el fragmento de ADN, su secuencia y la proteína de interés inmunológico, se aísla el fragmento de ADN (1) y se inserta en un plásmido (2). Este plásmido se introduce en un vector de expresión (*E. coli*, *Baculovirus*) (3). Algunos aceptarán el gen y producirán el recombinante (4). Otros, la mayoría, no (5) (Modificado de Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2004)

Uno de los hitos más destacados de las vacunas de subunidades en veterinaria es que gracias a ellas se consiguió diseñar una vacuna frente a la fiebre aftosa. Mediante la técnica del ADN recombinante se consiguió la primera vacuna de subunidades frente al virus de la fiebre aftosa expresando el gen de la proteína **VP1** del virus en *E.coli*. Pero esta vacuna no llegó a implantarse en el mercado ya que la respuesta inmune que generaba era mucho menor que la vacuna convencional (Pastoret, et al., 1997).

También ha sido expresado en un **baculovirus** la glucoproteína **E2** de la Peste Porcina Clásica (PPC). Esta vacuna ha conseguido la producción de anticuerpos capaces de luchar contra el virus virulento, pero solo de forma experimental (Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007).

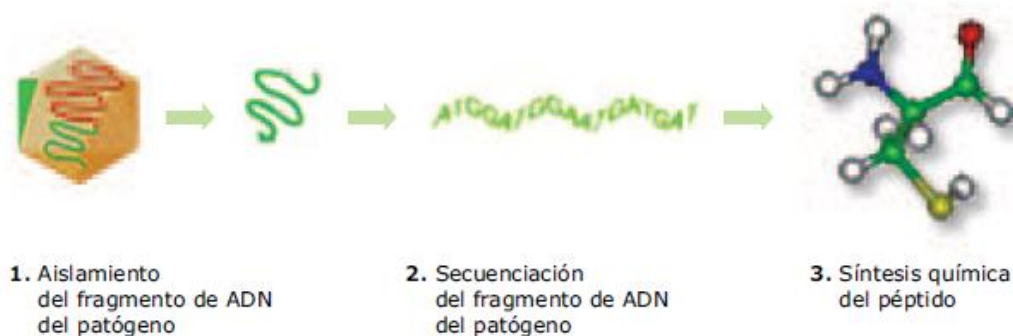
4.2 Vacunas de proteínas sintéticas

Si se logra identificar en la compleja estructura de una proteína los **epitopos o determinantes antigénicos** de interés inmunológico, se puede reproducir su secuencia mediante la síntesis química y obtener un péptido de síntesis idéntico al del virus. A esta metodología se la denomina obtención de una vacuna sintética (**Figura 3**).

No todos los epitopos dan lugar a una respuesta inmune eficaz, así que mediante técnicas de ingeniería genética y anticuerpos monoclonales se seleccionan las que sí tengan una buena respuesta y se sintetizan.

Esta técnica se ha empleado para sintetizar la proteína **VP1** del virus de la fiebre aftosa, en la que se conoce que entre los aminoácidos 140 y 160 se encuentra el epitopo para la inducción de anticuerpos neutralizantes. Desgraciadamente, la inmunidad celular que se produce en la respuesta inmune del individuo es muy escasa, por lo que la protección que confiere frente a esta enfermedad es muy poca (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). En la actualidad se está trabajando para identificar epitopos que pudieran estimular ambas ramas (humoral y celular) de la inmunidad (**López, M., et al., 2004**).

Figura 3. Esquema de obtención de proteínas sintéticas vacunales (López, M., et al. 2004).



Uno de los casos en los que estas vacunas han resultado exitosas ha sido contra el parvovirus canino, pues determinando los epitopos adecuados se ha conseguido obtener una respuesta inmune satisfactoria (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**). El futuro de estas vacunas está en identificar los epitopos correctos para obtener una buena respuesta inmune.

4.3 Vacunas de delección

La elaboración de estas vacunas se basa en eliminar ciertos genes que codifican para proteínas que no son necesarias para que se produzca la respuesta inmune protectora en el organismo vacunado, de manera que no generará anticuerpos frente a estas proteínas delecionadas, pero sí frente a las proteínas de genes no delecionados. Un ejemplo de vacunas de delección sería la obtenida contra el **virus de la enfermedad de Aujeszky**, en la cual ha sido delecionado del gen que codifica la **glicoproteína E**. El que los microorganismos vacunales carezcan de ciertas estructuras o no, y la respuesta que podemos observar en cada caso, es una particularidad muy útil para diferenciar entre animales vacunados y animales infectados, pues unos producirán anticuerpos y otros no frente a la proteína delecionada. Por este motivo, a las vacunas que tienen estas proteínas delecionadas se las denomina ‘‘vacunas marcadas’’. El mismo principio ha sido usado para la preparación de vacunas contra la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina causada también por un virus herpes (**VHB-1**) (**Berríos Etchegaray, P., 2001**) (**Casto Gálvez, D.A. et al., 2000**).

4.4 Vacunas recombinantes

Las vacunas recombinantes están basadas en la utilización de un microorganismo (virus o bacteria) que actuaría como vector para expresar genes de otro microorganismo diferente. De esta forma, este nuevo microorganismo recombinante podría utilizarse como vacuna frente a ambos, pero lo normal es su utilización sólo frente al microorganismo recombinado.

El microorganismo que más se ha utilizado como vehículo ha sido el **poxvirus** vacunal, pues su gran genoma permite insertar genes ajenos sin alterar su replicación. Este **poxvirus** por ejemplo, ha permitido que vehiculemos en él la **glicoproteína G** del virus de la rabia, siendo reconocida por el hospedador y generando inmunidad protectora. El problema de este virus es que puede afectar a muchas especies animales, incluido el hombre, y su efecto no ha sido bien estudiado. Actualmente también se están utilizando otros virus como vectores, entre ellos el **adenovirus** y el **canarypox** (virus de la viruela del canario), o plásmidos de DNA, que han conducido al desarrollo de varias vacunas nuevas (**Zanetti, F., et al., 2012**).

Otros ejemplos de estas vacunas son las conseguidas frente a la mixomatosis, la enfermedad hemorrágica del conejo y la enfermedad de Aujeszky. En esta última existe la ventaja de que el vector es específico no patógeno de especie (**Torres, J.M., et al., 2000**).

En cuanto a los vectores bacterianos, el más utilizado hasta la fecha ha sido una variante atenuada de **Salmonella**, que induce una buena respuesta inmune, incluso a nivel de las mucosas entéricas, pero que en el caso de la especie porcina podría presentar problemas de diagnóstico diferencial (**Rodas, J.D., 2006**). Lo que la tecnología recombinante pone sobre la mesa, que las vacunas convencionales no hacen, se puede describir como una respuesta inmune dirigida, eficaz y con una seguridad sin precedentes, que evita la necesidad de inyectar al paciente microorganismos completos, muertos o modificados (**Ford, R.B., 2004**).

Más aún, permiten la ausencia de adyuvantes, que es una característica de las vacunas recombinantes utilizadas en medicina veterinaria, aunque muchos expertos no lo consideren un factor que evite reacciones adversas comentadas en el capítulo de adyuvantes (**Ford, R.B. 2004**). Sin embargo, como veremos más adelante, no todas las vacunas recombinantes existentes se comercializan en nuestro país, como la que hay desarrollada frente a la enfermedad de Lyme para perros, contra el moquillo canino y moquillo del hurón, o la vacuna de la rabia para animales salvajes, como mapaches (catalogada actualmente como especie invasora en España).

4.5 Vacunas de ADN

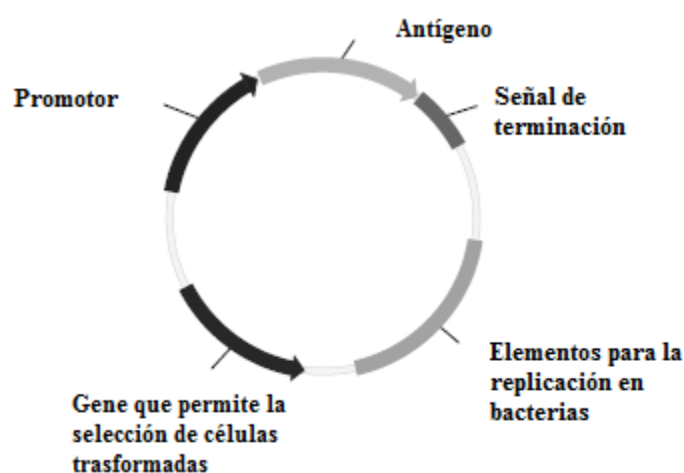
Las vacunas de ADN están formadas por un fragmento de ADN que contiene genes que han sido seleccionados del patógeno en cuestión, con capacidad de producir una respuesta inmune, que son insertados en un vector plásmido. (**Figura 4**).

Combinan muchas ventajas de las vacunas convencionales, pero también aportan mayor seguridad al no emplear microorganismos vivos, inducen tanto una respuesta humoral como celular, la capacidad de poder utilizar plásmidos como vectores para insertar genes, son más económicas de producir a gran escala y tienen una mayor estabilidad en lo que respecta al transporte y conservación en refrigeración, siendo posible su utilización en países del tercer mundo, donde tantos inconvenientes había en

exportar vacunas convencionales, sobre todo las atenuadas (**Mota-Sánchez, J., 2009**), (**Borja Zamfir, G.M., et al., 2014**).

Estos genes que han sido insertados al plásmido, están controlados por promotores que se unen a factores de transcripción que activan a las polimerasas. Seguido del promotor se encuentran el gen que nos interesa, y junto a él señales que lo estabilizan.

Figura 4. Tomado de Borja Zamfir, G.M., et col. 2014. Elementos básicos de un vector para vacuna basada en ADN.

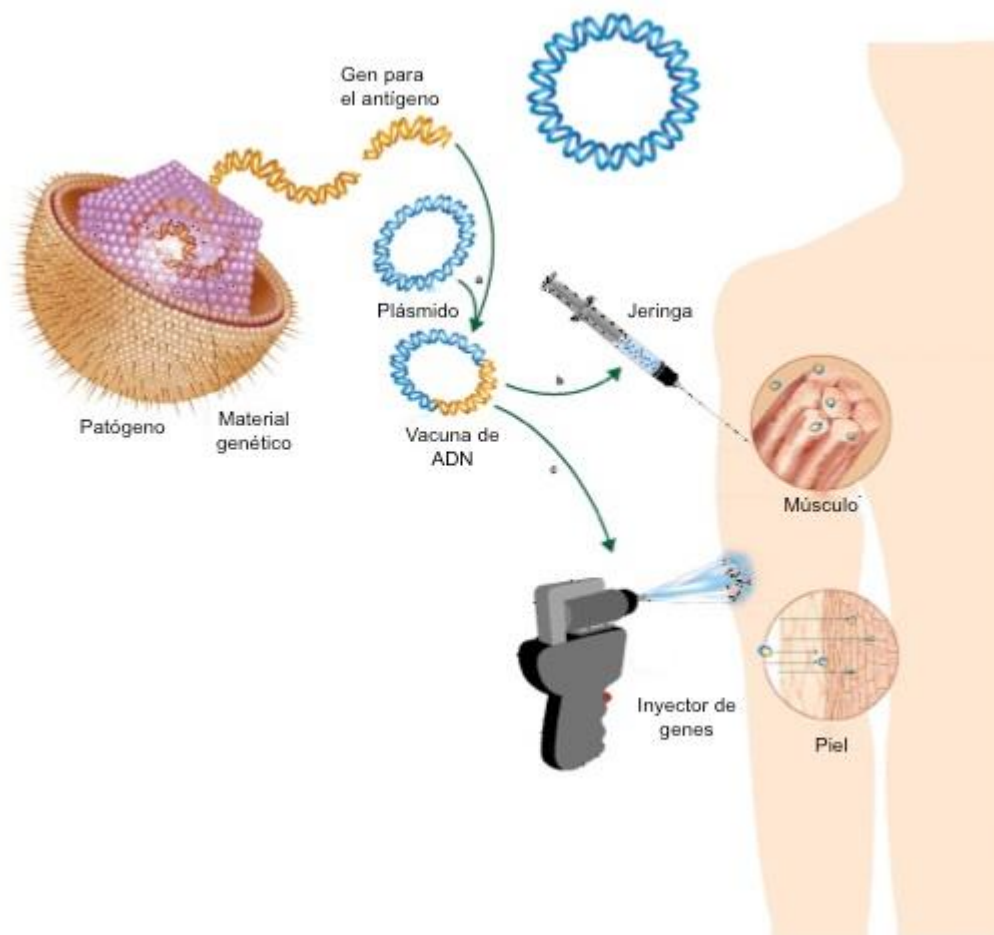


Además, los plásmidos tienen **motivos CpG**, que tienen propiedades inmunomoduladoras, que son reconocidos como patrones asociados al patógeno (**Mota-Sánchez, J., 2009**), que son reconocidos por Receptores De Reconocimiento De Patrones (**PRRs**) (**Garmory, S.G., et al. 2005**), (**Huygen, K., 2005**), (**Mutwiri, K.G., et al., 2004**). Estos receptores intervienen en la respuesta inmune, promoviendo que esta sea sostenida. Así se logra aumentar la proliferación, activación y maduración de células dendríticas, monocitos y macrófagos, sintetizar interleucinas y activar la expresión del MCH II, así como las células presentadoras de antígeno y proteínas coestimuladoras (**Garmory, S.G., et al. 2005**), (**Huygen, K., 2005**), (**Mutwiri, K.G., et al. 2004**).

Como parte de las ventajas que posee esta vacuna encontramos que son capaces de activar las dos ramas de la respuesta inmune, es decir, tanto la celular como la humoral, lo cual resulta muy útil para enfrentarnos a infecciones que requieran las dos vías. También destaca la activación de linfocitos **TCD 8+**, los cuales no se logran con casi ninguna de las vacunas que existen en la actualidad (**Flores-Mendoza, L., et al., 2010**).

Además, las vías de administración de las vacunas de ADN (**Figura 5**) pueden ser las mismas que las vacunas convencionales, intramuscular (IM), subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intravenosa; siendo la vía más utilizada la IM, aunque también existen otros métodos como los biobalísticos que tiene mayor eficacia que la intramuscular, ya que la vacuna queda expuesta directamente a las endonucleasas, necesitando menos dosis de antígeno que las intramusculares (**Van den Hurk et al., 2000**).

Figura 5. Vías de administración de vacunas de ADN (Weiner, D.B and Kennedy, R.C., 1999).



En Medicina Veterinaria, se han desarrollado algunas vacunas de ADN. En vacuno, se han constituido vacunas a partir del gen de la **glicoproteína D** de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina 1 (**IBR-1**), el gen que codifica para la **proteína G** del Virus Sincitial Respiratorio Bovino (**BRSV**) y para la **proteína E2** del Virus de la Diarrea Vírca Bovina (**BVDV**). En porcino, se han desarrollado a partir del gen de la glicoproteína D

del virus de la pseudorrabia, para la **glicoproteína E2** del virus de la Peste Porcina Clásica (**PPC**). Y en aves, vacunas de ADN frente al gen de la hemaglutinina viral para la influenza y para el gen que codifica la **proteína F** del virus de la enfermedad de Newcastle.

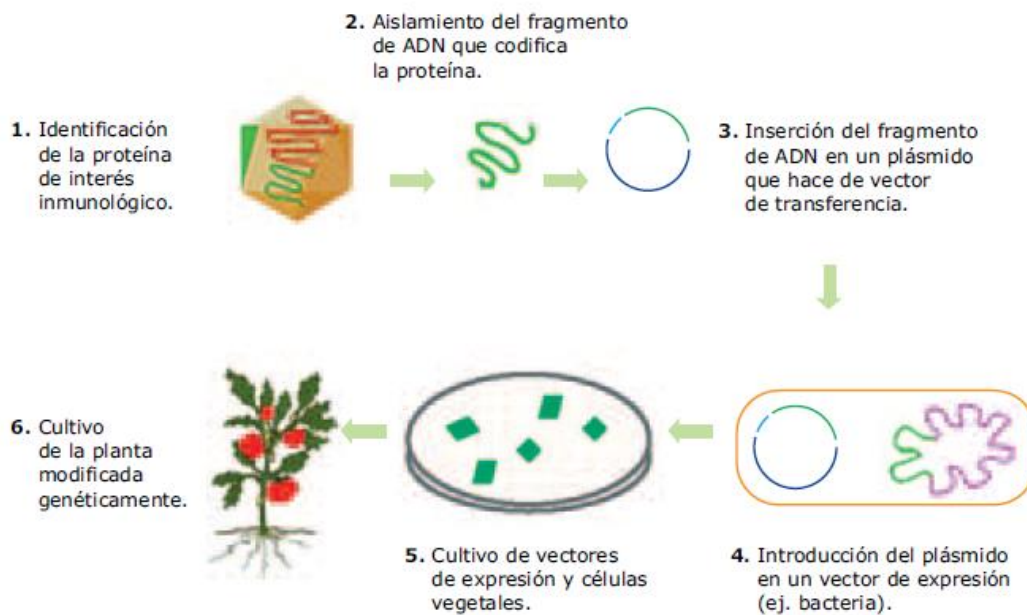
4.6 Vacunas en plantas

Según la Sociedad Española de Biotecnología, este término suele aplicarse al ‘‘uso como vacuna de las partes de las plantas (tubérculos, frutos, hojas, etc.) modificadas genéticamente (transgénicas) o infectadas con un virus vegetal, con el fin de que produzcan componentes específicos (antígenos) de un patógeno (virus, bacteria, etc.) contra el cual se desea proteger a una persona o animal’’.

El primer descubrimiento que permitió el desarrollo de la biotecnología de plantas es la capacidad que una sola de sus células posee para originar una planta completa con todas las características parentales; el segundo fue que es posible transferir un solo gen al genoma de una planta mediante la infección de **Agrobacterium tumefaciens**. **A. tumefaciens** porta al plásmido con el gen de interés, de manera que al momento de infectar a las células vegetales transfiere el gen al genoma de la planta. Otros métodos de transformación son el bombardeo de partículas (biobalística) y en menor grado el de electroporación. (**Figura 6**).

El principal promotor de expresión usado en plantas es el **35S** del Virus del Mosaico de la Coliflor (**35S CPMV**). El proceso de elaboración de estas vacunas consiste en insertar el gen de interés en el vector, que contiene el promotor y el terminador. El tejido vegetal que podemos usar puede ser tanto vegetativo como reproductor. Una vez que se produce la transformación, el tejido vegetal se incuba en un medio sintético para la generación completa (**Loza-Rubio, E. y Gómez-Lim, M.A., 2006**).

Figura 6. Esquema de obtención de vacunas en plantas (Imagen de López, M., et al., 2004)



Las principales ventajas de las vacunas comestibles es que las plantas son económicas y fáciles de mantener, ya que no requieren de materiales caros para su crecimiento; es difícil que se contaminen con patógenos que afectan a mamíferos; pliegan y ensamblan las proteínas recombinantes mediante chaperonas, que son homólogas a las de los mamíferos, y realizan modificaciones post-traduccionales; son una opción a considerar en los países en desarrollo, en los que es muy difícil mantener sistemas que mantengan la cadena de frío, la utilización de jeringas estériles y personal capacitado.

El principal problema o desventaja de estas vacunas es que los antígenos que están en los alimentos pueden degradarse en el estómago e intestino antes de inducir la respuesta inmune. Para proteger los antígenos de la degradación se han desarrollado cepas recombinantes de microorganismos como **Salmonella**, o de vehículos de bioencapsulación, como liposomas, y finalmente la utilización de plantas transgénicas. La especie ideal para expresar los antígenos debería consumirse de manera fresca y tener altos niveles de proteína soluble; en este sentido, frutos como el plátano y el tomate o los cereales son sistemas convenientes para este fin; aunque en los primeros trabajos con vacunas derivadas de plantas se usó tabaco y patatas, debido a la facilidad

de su manipulación. Además, se necesita una gran cantidad de antígeno para que la vacunación sea efectiva y que no sea necesario consumir grandes cantidades de alimento.

También hay que tener en cuenta que estas vacunas pueden contaminar otros cultivos que son utilizados solo como alimentos, por lo que se deberían restringir los cultivos modificados para producir vacunas (**Toledano Fonseca, M., 2013**) (**Loza-Rubio, E. y Gómez-Lim, M.A., 2006**).

En el campo de la Medicina Veterinaria, algunas de las vacunas comestibles obtenidas en plantas han sido: la **glicoproteína S** y péptidos protectores del *coronavirus*, que produce la Gastroenteritis Transmisible de los Cerdos (**GETC**); los péptidos de la **VP2** del *parvovirus* canino, la **VP1** de la fiebre aftosa; la **VP60** del virus que produce la enfermedad hemorrágica de los conejos, un péptido lineal de la hemaglutinina del *Virus de la Peste Bovina* y un gen que codifica para un factor de virulencia (F18) de **E. coli** que produce el edema de los cerdos. (**Loza-Rubio, E. y Gómez-Lim, M.A., 2006**).

4.7 Vacunas de reversión génica

La tecnología de estas vacunas se ha desarrollado recientemente para combatir el subtipo **H5N1** del *Virus de la Influenza Aviar*, cepa de gran virulencia y difusión que se mantiene en continua expansión desde 1996, habiendo afectado a países asiáticos, europeos y africanos. Todavía no se han obtenido resultados de campo, pero los resultados derivados de ensayos experimentales son muy prometedores al no detectarse infección ni difusión del virus en los animales vacunados tras el desafío con H5N1 virulento.

En la actualidad, la vacuna que se ha ensayado formada por los seis genes de replicación del virus **H1N1** con el gen de la hemaglutinina, procedente del H5N1 aislado en Vietnam en 2004, más el gen de la neuroaminidasa procedente de un aislado **H2N3**. La vacuna resultante presenta una capacidad de protección frente al actual H5N1 de alrededor del 95% según los datos experimentales.

La tecnología de esta vacuna consiste en acoplar los genes de las proteínas del virus que nos interesan desde el punto de vista inmunológico: la hemaglutinina **H5** que se

encuentra en la envuelta del virus, que es la “pieza” que permite la infección vírica y que induce la producción, por parte del animal, de anticuerpos neutralizantes que son el principal mecanismo de protección frente a esta enfermedad, que procede del virus de campo (H5N1 de Vietnam, 2004) y desde el punto de vista epidemiológico: la neuroaminidasa **N3** procedente de un virus aislado en Alemania en 1973 y que no está circulando en este momento, que interviene en el proceso de ensamblaje vírico y liberación del virus. Finalmente, estos dos genes se unen a otros del virus **H1N1** no patógeno adaptado al laboratorio.

Los animales vacunados se podrán distinguir de los infectados, pues los primeros tendrán anticuerpos frente a **N3** y los segundos solo frente a **N1**. Los pasos esquemáticos para el desarrollo de esta vacuna son:

- Selección de genes que codifican los antígenos de superficie (H5) del virus de campo (virulento) y **N3** de un virus diferente y no circulante en la actualidad, para permitir la diferenciación entre vacunados e infectados.
- Selección de los genes responsables de la replicación de otra cepa vírica que haya mostrado no ser patógena. En la actualidad se ha partido de un aislado **H1N1**.
- Recombinación genética de los 8 genes (el gen de la hemaglutinina, el de la neuroaminidasa y los seis necesarios para la replicación) en 8 plásmidos, uno para cada gen.
- Transfección de una línea celular de laboratorio (de la misma especie que el animal a vacunar) con los 8 plásmidos, lo que permite que los genes de los plásmidos se repliquen en las células animales, produciendo la cepa de influenza deseada.

La rapidez de preparación es una de las ventajas que destaca de este tipo de vacunas, ya que no hay que cultivar el virus, y por tanto tener que adaptarlo a cultivos. Por otro lado, este procedimiento permite combinaciones según las condiciones epidemiológicas del momento, e incluir la neuroaminidasa que permita diferenciar los animales vacunados de los infectados (**Sánchez-Vizcaíno, J.M., 2007**).

4.8 Ventajas e inconvenientes de las vacunas de nueva generación

Las vacunas de nueva generación actúan de forma semejante a las vacunas convencionales, pero presentan algunas e importantes ventajas con respecto a ellas. Las vacunas de nueva generación actúan sobre el sistema inmune de forma distinta según el tipo de vacuna de que se trate. Así, las vacunas de subunidades o de proteínas sintéticas presentan un patrón de respuesta similar al de las vacunas inactivadas convencionales, aunque requieren en general más cantidad de antígenos (tienen menos capacidad inmunógena) para inducir respuestas semejantes.

La gran ventaja es que, al no estar formadas por la totalidad de la estructura del agente infeccioso, es posible diferenciar serológicamente a los animales vacunados de los animales enfermos. Esta particularidad es aún más importante en las vacunas vivas delecionadas o en las vacunas recombinantes que, al ser vacunas vivas, presentan una mejor respuesta inmune que las de proteínas, debido a que expresan el antígeno de forma más prolongada y estimulando a la inmunidad celular, con patrones semejantes a los de las vacunas atenuadas convencionales.

Las vacunas de nueva generación resuelven algunos de los problemas que se producen con las vacunas convencionales. Entre ellos, cabe destacar los siguientes:

- ❖ Seguridad: las vacunas de subunidades o de proteínas sintéticas solucionan el problema de la falta de inactivación total que se pueden presentar en las vacunas inactivadas convencionales. Estas nuevas vacunas no necesitan ser inactivadas ya que sólo constan de proteínas. De igual manera, las vacunas de deleción o recombinantes resuelven casi totalmente el problema de la posible reversión a la virulencia.
- ❖ Cadena de frío: las vacunas de subunidades o sintéticas presentan menores requisitos de frío, por lo que son muy adecuadas para vacunar en zonas con deficiencias en infraestructuras o en la fauna silvestre.
- ❖ Diferenciación entre animales vacunados y enfermos: ésta es probablemente una de las mayores ventajas de las vacunas de nueva generación en comparación con las convencionales. Por ejemplo, en el caso de la enfermedad de Aujeszky la

utilización de las vacunas **gE** negativas está permitiendo llevar a cabo programas de erradicación frente a la enfermedad, pudiendo diferenciar los animales portadores y/o enfermos de los vacunados, gracias a que los animales vacunados presentan solamente anticuerpos frente a **gB** (no frente a gE), mientras que los animales enfermos o portadores presentan anticuerpos frente a gE y gB.

**5.A MODO DE CONCLUSIÓN: VACUNAS DE NUEVA
GENERACIÓN EN VETERINARIA ¿REALIDAD O MITO?**

5. A modo de conclusión: vacunas de nueva generación en veterinaria ¿realidad o mito?

Durante el transcurso del planteamiento de este trabajo de revisión, -cuyo objetivo inicial era el realizar una puesta al día del avance y desarrollo de uno de los campos más importantes en Veterinaria para la prevención y control de las enfermedades infecciosas de los animales (incluidas aquellas que se transmiten al hombre), como es el uso de vacunas-, nos preguntamos si el estado del conocimiento respecto de las nuevas estrategias de obtención de preparados vacunales tendría su reflejo en la vida real profesional con su traslado al mercado y por tanto, cuántas de las denominadas vacunas de nueva generación estaban disponibles comercialmente en nuestro país.

Según el catálogo de **Veterindustria** (2015-2016) (**ANEXO I**) que divide sus vademécums en animales de compañía y animales de producción, se comercializan un total de 287 productos biológicos (vacunas y sueros) de los cuales el 10,45% (30 productos) después de su análisis sobre catálogo, podrían incluirse como producto vacunal de nueva generación. (**Figura 7**). De éstos treinta productos, **18** se dirigen a animales de producción (7,7% de todos los de animales de producción) y **12** a animales de compañía (14,2% de todos los de animales de compañía).

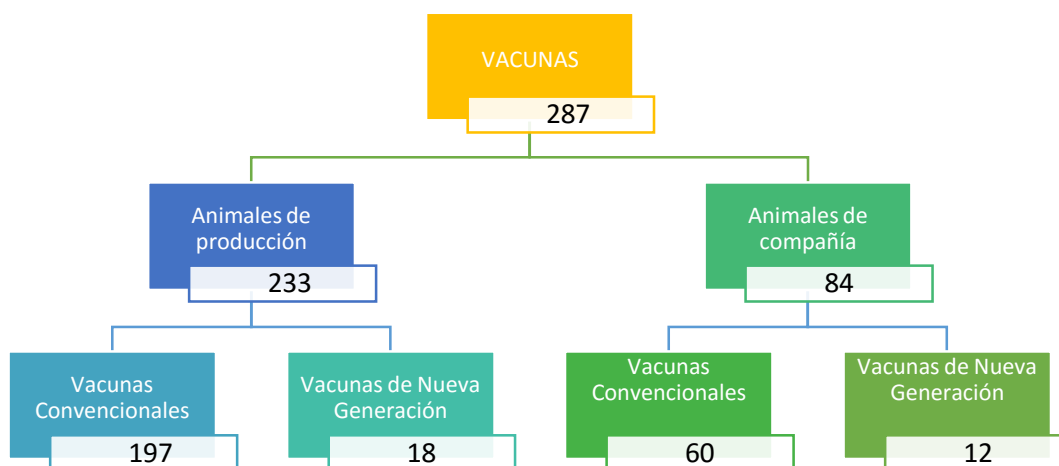
A pesar de la escueta información del vademécum, respecto de las características técnicas de estos productos (**ANEXO I**), se puede extraer que los tres tipos de vacunas de nueva generación presentes en el mismo son: subunidades (7), recombinantes (10) y de delección (13), no habiendo ninguna de proteínas sintéticas, de ADN, obtenidas en plantas o de reversión génica.

Así mismo, realizamos un análisis similar del vademécum **Veterindustria** (2011-2012) para tener un punto de referencia temporal y observamos que en aquel catálogo se citaban 331 productos biológicos de los cuales 24 (7%) podrían ser considerados como “nueva generación”.

No pretendemos extraer conclusiones a partir de estos escasos datos pero sí nos atrevemos a apuntar que, aparentemente, como en otros ámbitos de la ciencia, todas estas tendencias en el campo de la nuevas vacunas, algunas de las cuales llevan hasta 15 años expuestas y sustentadas, marcando las investigaciones en la temática, son casi una excepción en la producción y comercialización en el mercado de los biológicos

veterinarios, como si existiera una disociación entre la producción científica y la producción industrial, y que aunque no disponemos de datos en otros países, no creemos que ocurra sólo en el nuestro.

Figura 7.- Productos biológicos veterinarios de nueva generación disponibles en España (Veterindustria, 2015-2016, elaboración propia).



Algunas de las razones, sin pretender ser exhaustivo, que explicaría esta disociación serían que en el campo de la medicina veterinaria de producción (también en pequeños animales) es fundamental la eficacia en el campo. Cualquier vacuna de alto valor tecnológico agregado, solo será viable si su efectividad preventiva supera ampliamente a las de uso tradicional y sus inconvenientes. Otra razón principal, que se entrelaza con todas las demás, es el costo económico que debe ser del orden de los existentes ya en el mercado. Se insiste en el bajo costo que pudieran tener los productos derivados de la ingeniería genética, sin embargo estos análisis en muchos casos no toman en cuenta la inversión previa en investigación o en el pago de patentes. Esta viabilidad económica, como se comentó, sólo sería asumible si las vacunas de nueva generación fueran más efectivas y seguras que las clásicas, en ámbitos como la clínica de campo, o clínica de pequeños animales.

Curiosamente, los valores añadidos como son la de poder marcar el animal protegido para poder distinguirlo del enfermo a través de técnicas de delección de genes

de extraordinario valor epidemiológico, la mayor seguridad de elaboración, menor inocuidad, mayor y mejor seguimiento del proceso, menos instalaciones y la posibilidad de prescindir del frío, no parecen ser, en el presente, factores determinantes en la decisión de entrar o no en la producción de vacunas de nueva generación.

En resumen, las ventajas de las vacunas de nueva generación con respecto a las clásicas no parece ser un factor determinante a la hora de tomar la decisión de fabricar y comercializar una nueva vacuna.

Finalmente, en nuestra modesta opinión, y a pesar del escaso número de productos biológicos disponibles, basados en tecnologías del ADN en sus múltiples variantes, este escenario solo presenta un camino posible hacia el futuro: la biotecnología en la profilaxis veterinaria está en escaso pero pleno uso y desarrollo, algunos de sus hallazgos ya se utilizan y los más radicales aparecerán en un breve intervalo de tiempo. La industria y los biotecnólogos deberán asociarse y establecer cuál es el camino para lograr que la producción de los biológicos veterinarios de nueva generación sea una realidad plena y no sólo parcial.

6. RESUMEN/ ABSTRACT

Resumen:

Los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y de los mecanismos de presentación antigénica, junto a los progresos conseguidos en las técnicas de biología molecular, identificación de las proteínas de interés inmunológico y la obtención de diferentes vectores para la expresión de las mismas, han permitido diseñar y obtener diferentes tipos de vacunas, denominadas de **nueva generación**, algunas de las cuales permiten diferenciar el animal vacunado del animal enfermo. No obstante, la gran mayoría de las vacunas actualmente en uso, frente a un gran número de enfermedades bacterianas y víricas, todavía pertenecen a las denominadas vacunas convencionales. En nuestro país del total de productos biológicos comercializados sólo el 10,45% son vacunas de nueva generación.

Palabras clave: *vacunas, ADN recombinante, revision*

Abstract:

Advances in the understanding of immune responses and mechanisms of antigen presentation, with progress in the techniques of molecular biology, identification of proteins of immunological interest and obtaining different vectors for expression thereof, are allowed to design and get different types of vaccines, called new generation, some of which differentiate the vaccinated animal sick. However, the vast majority of vaccines currently in use, against a number of bacterial and viral diseases still belong to so-called conventional vaccines. In our country of all products sold only 10.45% are new-generation vaccine products.

Key words: *Vaccine, recombinant DNA, rewiew*

7.BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía

- **Aguilar Rubido, J.C., Leal Angulo, M.J. (2000).** “Adyuvantes vacunales: estado actual y nuevas tendencias”.
- **Anderson, D.J. (1996).** “The importance of mucosal immunology to problems in human reproduction. J. Rep. Immunol. 31:3-19.
- **Arnon, R. y Ben-Yedidia, T. (2003).** “Old and New Vaccine Approaches, International Immunopharmacology”. ELSEVIER. Revista internacional de inmunofarmacología. Vol. 3. Pág. 1195-1203.
- **Batista-Duharte, A., Lastre, M., Pérez, O. (2014)** “Inmunological adjuvants. Determinant factors in the efficacy-toxicity ratio of the contemporary vaccines”. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Elsevier. Vol: 32. Nº 2. Febrero 2014.
- **Berriós Etcheagaray, P. (2001).** “Vacunas no tradicionales y nuevas tecnologías en su preparación”. Revista TecnoVet. Vol.3, Nº2.
- **Borja Zamfir, G.M., Ramírez, O.T., y Lara, A.R. (2014).** “Vacunas de ADN Plasmídico: Una Herramienta Terapéutica Emergente. Bio Tecnología”, 17 (3), 87-109.
- **Casto Gálvez, D.A. et al. (2000).** “Inmunogenicidad y contagiosidad de una vacuna de virus vivo atenuado contra la enfermedad de Aujeszky en cerdos”. Vet. Mex., 31 (3).
- **Cho, W.M. (2003).**” Subunit Protein Vaccines: Theoretical and Practical Considerations for HIV-1”. Current Molecular Medicine. Vol. 3, Nº 3. Pág. 243-263.
- **Flores-Mendoza, L., Silva-Campa, E., y Hernández, J. (2010).**Ed. 1. Cap. 21. Pag.259-269. Manual Moderno. “Inmunología Veterinaria”.
- **Ford, R.B. (2004).** “La tecnología de vacunas recombinantes”. InfoMerial. Información técnica para el médico veterinario.
- **Garmory S.G., Perkins D.S., Philpot J.R. and Titball W.R. (2005).**”DNA Vaccines for Biodefense”. Advanced Drug Delivery Reviews.57: 1343-1361.
- **GUI@VET® 2011-2012 (2011).** Ed: 12ª. “GUÍA DE PRODUCTOS ZOOSANITARIOS PARA ANIMALES DE PRODUCCIÓN”.
- **GUI@VET® 2011-2012 (2011).** Ed: 12ª. “GUÍA DE PRODUCTOS ZOOSANITARIOS PARA ANIMALES DE COMPAÑÍA.

- **GUI@VET® 2015-2016 (2015).** Ed: 14ª. “GUÍA DE PRODUCTOS ZOOSANITARIOS PARA ANIMALES DE PRODUCCIÓN”.
- **GUI@VET® 2015-2016 (2015).** Ed: 14ª. “GUÍA DE PRODUCTOS ZOOSANITARIOS PARA ANIMALES DE COMPAÑÍA.
- **Gutiérrez Pabello, J.A. (2010).** Manual Moderno. “Inmunología Veterinaria”.
- **Huygen, K. (2005).** “Plasmid DNA vaccination”. *Microbes and Infection.* 7: 932-938.
- **López, M., et al. (2004).** Ed: Genoma España. Spainfo, S.A. “Vacunas de nueva generación. Informe de vigilancia tecnológica”
- **Loza-Rubio, E. y Gómez-Lim, M.A. (2006).** ” Producción de vacunas y otros compuestos biológicos en plantas transgénicas”. *Vet.Mex.* N°37. Vol 4.
- **Manoj, S., L.A. Babiuk y S. Van Drunen Littel-van den Hurk (2004).** Approaches to enhance the efficacy of DNA vaccines. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.,* 41 (1): 1-39.
- **Mota-Sánchez, J. (2009).** “ Vacunas de ADN: inducción de la respuesta inmunitaria”. *Salud Pública Mex;* 51 (3), 463-469.
- **Mutwiri K.G., Nichani K.A., Babiuk S. and Babiuk A.L. (2004).** “Strategies for Enhancing the Immunostimulatory Effects of CpG Oligodeoxynucleotides”, *Journal of Controlled Release.* 97: 1-17.
- **Pastoret, P.P; Blancou,J; Vannier, J; Verschueren (1997).** *Veterinary Vaccinology.* Elsevier Ed.
- **Plotkin, S.A. (2011).**” History of Vaccine Development”. Springer New York.
- **Rodas, JD. (2006).** “Vacunas antivirales de última generación”. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.,* Vol.19:1.
- **Salleras, L. (2002).** “ Tecnologías de producción de vacunas I: vacunas vivas atenuadas”. *Revista ELSEVIER.* Vol: 3. N° 1. Pag 233-248.
- **Salleras, L. (2002).** “Tecnologías de producción de vacunas II: vacunas inactivadas” *Revista ELSEVIER,* Vol: 3. N°2. Pag 78-84.
- **Sánchez-Vizcaíno, J.M (2004).** Ed: 2ª. Cap. 9. “ Curso de introducción a la inmunología porcina”.
- **Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2007).** Cap. 25. Pág. 513-535. Pearson Prentice Hall. ”Manual de Inmunología Veterinaria”.
- **Toledano Fonseca, M. (Diciembre 2013).** “Vacunas comestibles”. *Revista de Química de la Universidad Pablo de Olavide.* N° 12.

- **Torres, J.M., Ramirez, M.A., Morales, M., Barcena, J., Vazquez, B., Espuna, E., Pages Mante & Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2000).** “Safety evaluation of recombinant myxoma-VEHC virus inducing horizontal trasmissible protection against mixomatosis and rabbit heamorrhagic disease”. *Vaccine*, 19, 174-182.
- **Traavik, T (2007).** ”GE Vaccines: Benefits and Risks”. Conference. TromsØ Biosafety Course.
- **Umberos Fernández, J. (2013).** “Adyuvantes en vacunas”. Sociedad de Pediatría de Andalucía Oriental. <http://ibvacunas.com/2013/09/30/859/>
- **van Drunen Littel-van den Hurk, S.; Gerdtts, V.; Loehr, B.I.; Pontarollo, R.; Rankin, R.; Uwiera, R. and Babiuk, L.A. (2000).** “Recent advances in the use of DNA vaccines for the treatment of diseases of farmed animals”. *Advanced Drug Delivery Reviews*.43: 13-28.
- **Weiner, D.B and Kennedy, R.C. (Julio 1999).** “Genetic Vaccines”. *Scientific American*’s. http://members.tripod.com/~Methos_5000/geneticvaccines.html
- **Zanetti, F., Rudak, L., Micucci, M., Conte Grand, D., Luque, A., Russo, S., Taboga, O., Pérez, O., Calamante, G. (2012).** “Obtención y evaluación preliminar de un virus canarypox recombinante como candidato a una vacuna antirrábica”. *Revista Argentina de Microbiología.*, 44: 75-84.

**8.ANEXO I (VACUNAS VETERINARIAS DE NUEVA
GENERACIÓN COMERCIALIZADAS EN ESPAÑA)**

I. VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN ANIMALES DE COMPAÑÍA (12) (*)

<i>Vacuna</i>	<i>Descripción</i>	<i>Composición</i>	<i>Clase</i>
<i>EURICAN® HERPES 205 MERAL</i>	Vacuna frente a la herpesvirosis canina en emulsión inyectable	Antígenos del herpesvirus canino (cepa F205) 0.3 a 1.75 microgramos (expresados en microgramos de glicoproteína B); aceite ligero de parafina; trazas de gentamicina sulfato; trazas de tiomersal	Subunidades
<i>PROTEQ WEST NILE MERAL</i>	Vacuna de West Nile en suspensión inyectable para caballos	Virus canarypox recombinante West Nile (Vcp2017) 6.0 a 7.8log10 DICC50. Adyuvante: Carbomero 4mg	Recombinante
<i>PROTEQFLU MERAL</i>	Vacuna de influenza en suspensión inyectable para caballos	Virus canarypox recombinante influenza A/eq/Ohio/03 (H3N8) (vCP2242) $\geq 5,3 \log_{10}$ DIIF50*; virus canarypox recombinante influenza A/eq/Richmond/1/07 (H3N8) (vCP3011) $\geq 5,3 \log_{10}$ DIIF50*. Adyuvante carbómero 4 mg.	Recombinante
<i>PROTEFLU-TE MERAL</i>	Vacuna de influenza y tétanos en suspensión inyectable para caballos	Virus canarypox recombinante influenza A/eq/Ohio/03 (H3N8) (vCP2242) $\geq 5,3 \log_{10}$ DIIF50*; virus canarypox recombinante influenza A/eq/Richmond/1/07 (H3N8) (vCP3011) $\geq 5,3 \log_{10}$ DIIF50*; toxoide <i>Clostridium tetani</i> $\geq 30\text{UI}^{**}$. Adyuvante carbómero 4 mg.	Recombinante
<i>PUREVAX® FeLV MERAL</i>	Vacuna frente a la leucemia felina en suspensión inyectable	Virus canarypox recombinante FeLV (vCP97) $\geq 107,2$ DICC50 (dosis infecciosa en cultivo celular 50 %)	Recombinante
<i>PUREVAX®RABIES MERAL</i>	Inmunización activa de gatos de 12 semanas y más para prevenir la mortalidad debida la infección por rabia en suspensión inyectable	Virus canarypox recombinante de la rabia (vCP65) $\geq 106,8$ DIAF50*	Recombinante
<i>PUREVAX®RCP FeLV MERAL</i>	Inmunización en gatos frente a la rinotraqueítis, calicivirus, panleucopenia y leucemia felina en suspensión inyectable.	Liofilizado: Herpesvirus de la rinotraqueítis felina atenuado (cepa FVH F2) $\geq 104,9$. DICC50*; antígenos de la calicivirosis felina inactivados (cepas FCV 431 y G1) $\geq 2,0$ Unidades. ELISA; virus de la panleucopenia felina atenuado (PLI IV) $\geq 103,5$ DICC50*. Excipiente: Gentamicina, como máximo 23 μg . Disolvente: Virus canarypox recombinante FeLV (vCP97) $\geq 107,2$ DICC50	Recombinante

<i>PUREVAX®RCP FeLV MERIAL</i>	Immunización frente a la panleucopenia felina, calicivirosis felina, rinotraqueítis felina y clamidiosis felina en suspensión inyectable	Liofilizado: Herpesvirus de la rinotraqueítis felina atenuado (cepa FVH F2) $\geq 04,9$ DICC50*; antígenos de la calicivirosis felina inactivados (cepas FCV 431 y FCV G1) $\geq 2,0$ Unidades. ELISA; Chlamydomphila felis atenuada (cepa 905) $\geq 103,0$ DIE50**; virus de la panleucopenia felina atenuado (PLI IV) $\geq 103,5$ DICC50*. Excipiente: Gentamicina, como máximo 34 μ g. Disolvente: Virus canarypox recombinante FeLV (vCP97) $\geq 107,2$ DICC50*.	Recombinante
<i>NOBIVAC® MYXO-RHD Liofilizado y Disolvente para Suspensión Inyectable para Conejos MSD</i>	Vacuna viva frente a la mixomatosis y la enfermedad hemorrágica del conejo en liofilizado y disolvente para suspensión inyectable	Sustancia activa: Virus de mixoma vectorizado con RHD vivo cepa 009 ≥ 103 y $\leq 106,1$ UFF*. *Unidades formadoras de placas.	Recombinante
<i>CANILEISH VIRBAC</i>	Liofilizado y disolvente para suspensión inyectable para perros	Proteínas Secretadas y Excretadas (PSE) por Leishmania infantum , mínimo 100 μ g; extracto purificado de Quillaja saponaria (QA-21): 60 μ g.	Subunidades
<i>LEUCOFELIGEN FeLV/RCP VIRBAC</i>	Vacuna viva frente a la calicivirosis, panleucopenia y rinotraqueítis felina y vacuna de ingeniería genética frente a la leucemia felina	liofilizado: Calicivirus felino vivo (cepa F9) 104,6-106,1 DICC50*. Virus vivo de la rinotraqueítis felina (cepa F2) 105,0-106,6 DICC50*. Virus vivo de la panleucopenia felina (cepa LR 72) 103,7-104,5 DICC50*. Disolvente: Cantidad mínima del antígeno p45 de la envuelta del FeLV purificado 102 μ g.	Subunidades
<i>LEUCOGEN VIRBAC</i>	Vacuna de ingeniería genética frente a leucemia felina en suspensión inyectable	Cantidad mínima del antígeno p45 de la envuelta del FeLV purificado 102 μ g.	Subunidades

(*) Elaboración propia.

II. VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN ANIMALES DE PRODUCCIÓN (18) (*)

<i>Vacuna</i>	<i>Descripción</i>	<i>Composición</i>	<i>Clase</i>
INGLEVAC CIRCOFLEX BOEHRINGER INGELHEIM	Vacuna inactivada de subunidades circovirus porcina en suspensión inyectable	Proteína ORF2 de circovirus porcino tipo 2: PR* 1,0-3,75. Adyuvante: Carbómero.	Subunidades
AD LIVE SUIVAX FATRO	Vacuna viva atenuada frente a la enfermedad de Aujeszky en liofilizado inyectable	Virus atenuado gE (=gI) negativo de la enfermedad de Aujeszky, cepa LomBart: No menos de 105,5 DICT50. Máximo 106,5 DICT50.	Delección
HIPRABOVIS IBR MARKER LIVE HIPRA	Vacuna viva virus IBR doble deleciónado gE-/tk- en liofilizado inyectable	Herpesvirus bovino tipo 1 vivo con doble deleción genética gE-/tk- (BHV-1), cepa CEDDEL: 106,3-107,3 DIC50.	Delección
IBRAXION MERIAL	Vacuna inactivada marcadora (gE-) frente al IBR en emulsión inyectable	Virus IBR con deleción gE inactivado, al menos 0,75 U.VN*; aceite ligero de parafina 449,6-488,2 mg	Delección
VAXXITEK® HVT+I BD MERIAL	Vacuna viva frente a las enfermedades de Marek y Gumboro en suspensión inyectable	Virus vivo recombinante vHVT013-69, como mínimo 3,6 log ₁₀ UFP; excipiente c.s.p. 1 dosis; disolvente c.s.p. 1 dosis.	Recombinante
BOVILIS® IBR MARKER INAC MSD	Vacuna inactivada frente a herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1) en suspensión inyectable	Principio activo: Antígeno inactivado de BHV-1 (gE-) cepa GK/D 60 unidades ELISA, para inducción de 6,1-11,1 log ₂ unidades VN* en el test de potencia en ratón. Adyuvante: Al ³⁺ (como fosfato e hidróxido de aluminio) 6,0-8,8 mg. Excipiente: Formaldehído 0,03-0,05 %.	Delección
BOVILIS® IBR MARKER VIVA MSD	Vacuna viva frente a herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1) en liofilizado y disolvente para suspensión	Principio activo: BHV-1 cepa GK/D (gE-) 105,7-107,3 DICT50.	Delección
NOBIVAC® MYXO- RHD Liofilizado y Disolución para Suspensión Inyectable para Conejos MSD	Vacuna viva frente a la mixomatosis y la enfermedad hemorrágica del conejo en liofilizado y disolvente para suspensión inyectable	Sustancia activa: Virus de mixoma vectorizado con RHD vivo cepa 009 ≥103 y ≤106,1 UFF*.	Recombinante
PORCILIS® AR-T DF Suspensión Inyectable para Cerdos MSD	Vacuna inactivada frente a rinitis atrófica en suspensión inyectable	Sustancias activas: Proteína dO (derivado no tóxico por deleción de toxina dermonecrótica de Pasteurella multocida) ≥6,2 log ₂ título TN*; células inactivadas de Bordetella bronchiseptica ≥5,5 log ₂ título Agl. Adyuvante: Acetato de dl-α-tocoferilo 150 mg. Excipientes: Formaldehído ≤1 mg.	Delección
PORCILIS® BEGONIA DF Liofilizado y Disolvente para Suspensión Inyectable Intramuscular en Cerdos MSD	Vacuna viva frente a la enfermedad de Aujeszky en liofilizado y disolvente para suspensión inyectable intramuscular	Sustancia activa (fracción liofilizada): Virus vivo de la enfermedad de Aujeszky cepa Begonia (gE-, tK-): 105,5-106,5 DICT50*. Adyuvante (disolvente): Acetato de dl-α-tocoferilo 75 mg/ml.	Delección
ORCILIS® BEGONIA A IDAL Liofilizado y Disolvente para Suspensión	Vacuna viva frente a la enfermedad de Aujeszky en liofilizado y disolvente para suspensión inyectable	Sustancia activa (fracción liofilizada): Virus vivo de la enfermedad de Aujeszky cepa Begonia (gE-, tK-) 105,5-106,5 DICT50*.	Delección

<i>Inyectable Intradérmica en Cerdos MSD</i>	intradérmica	Ayudante (disolvente): Acetato de dl- α -tocoferol: 75 mg/ml.	
<i>PORCILIS® PCV Emulsión Inyectable para Cerdos MSD</i>	Vacuna inactivada de circovirus porcino en emulsión inyectable	Sustancia activa: Circovirus porcino tipo 2 (PCV2) subunidad antigénica ORF2 al menos 4,5 log ₂ unidades ELISA*. Ayudantes: Acetato de dl- α -tocoferilo 25 mg, parafina líquida ligera 346 mg. *Título de anticuerpos obtenido de acuerdo al ensayo de potencia in vivo en pollos.	Subunidades
<i>SYVAYESKY® -2 SYVA</i>	Vacuna viva atenuada Aujeszky en liofilizado y disolvente para suspensión inyectable	Virus vivo Aujeszky, cepa Bartha K-61 gE- ³ 106 DIC50.	Delección
<i>SYVAYESKY® ACUOSO SYVA</i>	Vacuna viva atenuada Aujeszky en liofilizado y diluyente para suspensión inyectable	Virus Aujeszky, cepa Bartha K-61 gE- \geq 106 DIC50. Diluyente acuoso 2 ml.	Delección
<i>POULVAC® E. coli Liofilizado para Suspensión para Vacunación por Nebulización para Pollos ZOETIS</i>	Vacuna bacteriana viva atenuada de E. coli en liofilizado para suspensión en aerosol	Escherichia coli viva atenuada, delección en el gen aroA, tipo O78, cepa EC34195: 5,2 \times 10 ⁶ -9,1 \times 10 ⁸ UFC.	Delección
<i>RISPOVAL IBR-MARKER INACTIVATUM zoetis</i>	Vacuna marcada inactivada frente a la IBR bovina en suspensión inyectable	Herpesvirus bovino tipo 1 (BHV1), cepa Difivac (gE-negativo), para inducir una media geométrica del título seroneutralizante de, al menos, 1:160 en bovino.	Delección
<i>RISPOVAL IBR-MARKER VIVUM Liofilizado y Disolvente para Suspensión Inyectable para Bovino ZOETIS</i>	Vacuna marcada viva frente a la IBR bovina en suspensión inyectable	Virus del herpes bovino tipo 1 (VHB1), cepa Difivac (gE-negativo), virus vivo modificado (atenuado) min. 105,0DIC50, máx. 107,0 DIC50	Delección
<i>SUVAXYN® PCV Suspensión Inyectable para Cerdos ZOETIS</i>	Vacuna viral inactivada frente al circovirus porcino tipo 2	Circovirus porcino recombinante inactivado tipo 1 expresando la proteína ORF2 del circovirus porcino tipo 2: 1,6 \leq PR* \leq 5,3.	Subunidades

(*) **Elaboración propia.**