

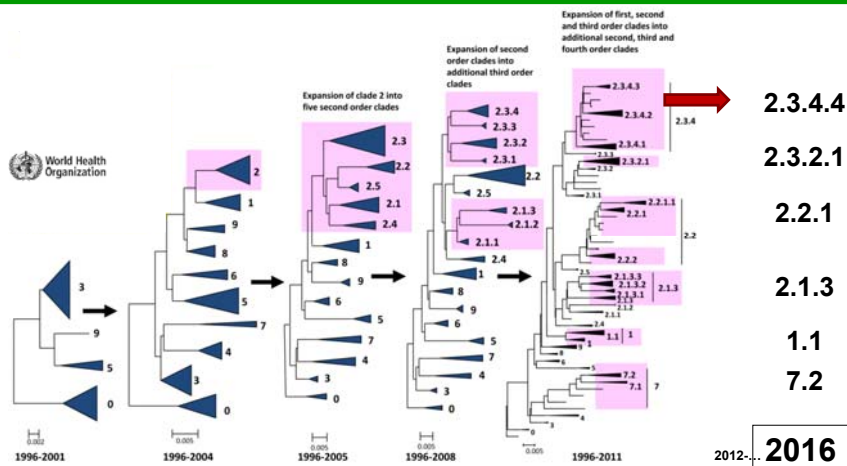
# Desarrollo de vacuna, preparación, y disponibilidad en base a cepas de IAAP

David L. Suarez, Director del Laboratorio  
Laboratorio Sudeste de Investigación de Aves de Corral  
Centro de Investigación Nacional EE.UU. de Aves de  
Corral



1

## Clados del H5 Ganso/linaje Guangdong



- Desde 1996 – Cambios en hemaglutinina de H5N1 – por ej. **DERIVACIÓN** (similar a una gripe humana estacional)
- Desde 2008 – reordenamiento de genes NA (N5, N6, N8, N2, N3)

2

## Vacunación contra la Influenza Aviar

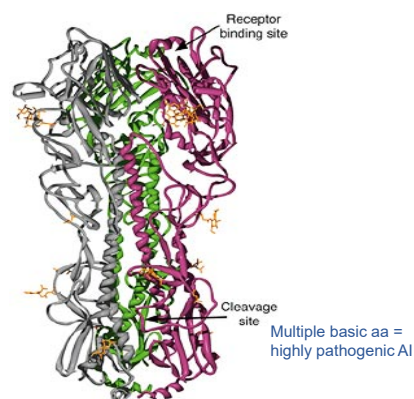
- La vacunación protege contra enfermedades pero no contra infecciones (sin inmunidad esterilizante)
- Protección primaria contra anticuerpos de la proteína de la hemaglutinina
- Protección limitada contra anticuerpos de la proteína de la neuraminidasa (no tiene que ser compatible con un subtipo N)
- Inmunidad celular mediada de las vacunas con virus vectorizado pueden brindar protección adicional
- Sin protección de anticuerpos contra proteínas internas
- Sin protección cruzada entre subtipos, es decir, las vacunas H5 solo protegen contra el virus H5.



3

## Proteína de la Hemaglutinina (HA)

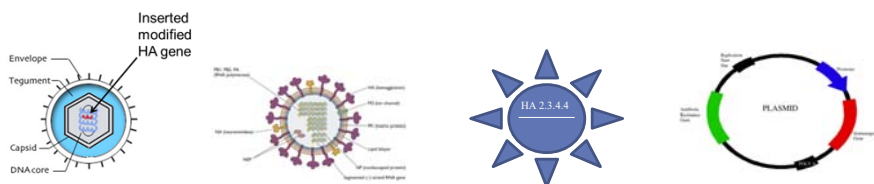
- Homotrímero
- 16 HA diferentes identificadas hasta el momento
- Funciones:
  - ligada a la célula huésped
  - fusión de la membrana
- Punto de escisión = determinante de virulencia
- Proteína antigénica principal del VIA
- Objetivo de los anticuerpos neutralizantes
- Experimenta derivación antigénica



[www.accessexcellence.org](http://www.accessexcellence.org)

4

## Antigüedad de la Ingeniería Genética para las Vacunas contra la Influenza Aviar



Vector Vivo Recombinante	Ingeniería Inversa	Partícula ARN	Expresión Proteica
HVT, FPV, NDV	Ingeniería genética inversa con virus adyuvante inactivo	Alfavirus RPH5	Baculovirus
Mediación celular y protección con anticuerpos	Protección con anticuerpos	Mediación celular y protección con anticuerpos	Protección con anticuerpos

- Es más fácil corresponder la hemaglutinina con nuevos brotes del virus mediante el uso de la actual ingeniería genética
- Es más rápido obtener una licencia condicional para las vacunas no replicantes
- Las vacunas de vectores virales son más difíciles de analizar



5

## Predicción de la Protección de la Vacuna

- Niveles de anticuerpos, medidos con pruebas de inhibición de hemaglutinina (IH), determinación más común de la respuesta inmune
  - Mejor usar virus de desafío como antígeno como medida de protección
  - Es común usar en las vacunas antígenos para la IH para mostrar una mejor respuesta
- Los títulos de IH iguales o superiores a 40 al desafiar el virus proporcionan una protección confiable y una reducción consistente de la liberación del virus
  - Los títulos IH inferiores a 40 son predictores inconsistentes de protección
  - Para las vacunas de virus vivo vectorizado, los títulos son con frecuencia inferiores a 40 pero aún se puede observar una buena protección
- También se puede comparar la secuencia de aminoácidos en la hemaglutinina
- La inmunidad celular mediada contribuye a la protección, pero es difícil determinar la respuesta inmune celular mediada
- Los estudios de desafío que determinan la liberación viral miden mejor



6

## Comparación de las Secuencias de Aminoácidos

- La comparación de las secuencias de aminoácidos proporciona una comparación rápida entre las vacunas y las cepas de campo
- Aunque sea un predictor de la protección, los cambios relativamente pequeños en los aminoácidos puede potencialmente afectar de forma significativa la antigenicidad
- Las vacunas homólogas (99%+) proporcionan la mejor protección
- Recomendar una similitud de 95%+ en la secuencia
- Un 90-95% puede indicar protección, pero probablemente se deba combinar con otras vacunas
- No recomendar virus con una similitud inferior al 90% en su secuencia



7

## Comparación de la secuencia de aminoácidos del H5

	TKIA	GsGu	DKCh	SwHu	GyWA	GWEg	TKIr	DKPo	CKHI	CKQU	TKIA
pavos/lowa/010094/2022 CI 2.3.4.4b		91.0	93.1	91.0	95.1	98.4	87.0	87.8	83.3	79.7	85.2
Gansos/Guangdong/1/96 CI 0	91.0		91.0	94.2	90.5	92.1	90.9	94.2	87.7	81.9	90.0
pavos/China/E319-2/2003 CI 2.3.2	93.1	91.0		96.5	92.6	94.4	89.4	91.9	87.0	81.5	88.7
Cisne/Hungría/4999/2006 CI 2.2	91.0	94.2	96.5		91.9	92.1	90.1	92.6	88.0	83.4	89.2
gerifalte/Washington/2014 CI 2.3.4.4c	95.1	90.5	92.6	91.9		96.1	87.3	88.7	85.3	80.7	87.1
Cerceta de alas verdes/Egipto/2016 CI 2.3.4.4	98.4	92.1	94.4	92.1	96.1		87.1	88.4	84.3	80.8	86.2
pavos/Irlanda/1378/1983	87.0	90.9	89.4	90.1	87.3	87.1		93.5	87.5	82.7	89.2
pavos/Potsdam/1402-6/86	87.8	94.2	91.9	92.6	88.7	88.4	93.5		90.3	83.7	92.2
A/pollos/Hidalgo/28159-232/1994	83.3	87.7	87.0	88.0	85.3	84.3	87.5	90.3		88.1	93.6
pollos/Queretaro/CPA-04673-1/2019	79.7	81.9	81.5	83.4	80.7	80.8	82.7	83.7	88.1		86.0
pavos/Wisconsin/1968	85.2	90.0	88.7	89.2	87.1	86.2	89.2	92.2	93.6	86.0	



8

## Comparación de la secuencia de aminoácidos del H5

	TKIA	GsGu	DKCh	SwHu	GyWA	GWEg	TKIr	DKPo	CKHI	CKQU	TKIA
pavos/lowa/010094/2022 CI 2.3.4.4b		91.0	93.1	91.0	95.1	98.4	87.0	87.8	83.3	79.7	85.2
Gansos/Guangdong/1/96 CI 0	91.0		91.0	94.2	90.5	92.1	90.9	94.2	87.7	81.9	90.0
patos/China/E319-2/2003 CI 2.3.2	93.1	91.0		96.5	92.6	94.4	89.4	91.9	87.0	81.5	88.7
Cisne/Hungría/4999/2006 CI 2.2	91.0	94.2	96.5		91.9	92.1	90.1	92.6	88.0	83.4	89.2
gerifalte/Washington/2014 CI 2.3.4.4c	95.1	90.5	92.6	91.9		96.1	87.3	88.7	85.3	80.7	87.1
Cerceta de alas verdes/Egipto/2016 CI 2.3.4.4	98.4	92.1	94.4	92.1	96.1		87.1	88.4	84.3	80.8	86.2
pavos/Irlanda/1378/1983	87.0	90.9	89.4	90.1	87.3	87.1		93.5	87.5	82.7	89.2
patos/Potsdam/1402-6/86	87.8	94.2	91.9	92.6	88.7	88.4	93.5		90.3	83.7	92.2
A/pollos/Hidalgo/28159-232/1994	83.3	87.7	87.0	88.0	85.3	84.3	87.5	90.3		88.1	93.6
pollos/Queretaro/CPA-04673-1/2019	79.7	81.9	81.5	83.4	80.7	80.8	82.7	83.7	88.1		86.0
pavos/Wisconsin/1968	85.2	90.0	88.7	89.2	87.1	86.2	89.2	92.2	93.6	86.0	



9

## Comparación de la secuencia de aminoácidos del H5

	TKIA	GsGu	DKCh	SwHu	GyWA	GWEg	TKIr	DKPo	CKHI	CKQU	TKWI
pavos/lowa/010094/2022 CI 2.3.4.4b		91.0	93.1	91.0	95.1	98.4	87.0	87.8	83.3	79.7	85.2
Gansos/Guangdong/1/96 CI 0	91.0		91.0	94.2	90.5	92.1	90.9	94.2	87.7	81.9	90.0
patos/China/E319-2/2003 CI 2.3.2	93.1	91.0		96.5	92.6	94.4	89.4	91.9	87.0	81.5	88.7
Cisne/Hungría/4999/2006 CI 2.2	91.0	94.2	96.5		91.9	92.1	90.1	92.6	88.0	83.4	89.2
gerifalte/Washington/2014 CI 2.3.4.4c	95.1	90.5	92.6	91.9		96.1	87.3	88.7	85.3	80.7	87.1
Cerceta de alas verdes/Egipto/2016 CI 2.3.4.4	98.4	92.1	94.4	92.1	96.1		87.1	88.4	84.3	80.8	86.2
pavos/Irlanda/1378/1983	87.0	90.9	89.4	90.1	87.3	87.1		93.5	87.5	82.7	89.2
patos/Potsdam/1402-6/86	87.8	94.2	91.9	92.6	88.7	88.4	93.5		90.3	83.7	92.2
A/pollos/Hidalgo/28159-232/1994	83.3	87.7	87.0	88.0	85.3	84.3	87.5	90.3		88.1	93.6
pollos/Queretaro/CPA-04673-1/2019	79.7	81.9	81.5	83.4	80.7	80.8	82.7	83.7	88.1		86.0
pavos/Wisconsin/1968	85.2	90.0	88.7	89.2	87.1	86.2	89.2	92.2	93.6	86.0	



10

## Principios de Vacunas Inactivadas contra la IA

- La liberación del virus es consistente con los niveles de anticuerpos y los antígenos de la vacuna se relacionan con la cepa de desafío
- Los títulos elevados de IH se relacionan con una menor liberación del virus
- Una mayor afinidad antigénica se relaciona con una menor liberación del virus
  - Determinada por la similitud de los aminoácidos
  - Determinada por neutralización cruzada de la IH
- Ejemplos
  - Título IH de 40 con una compatibilidad del 100% de la vacuna con el desafío – Buena protección
  - Título IH de 320 con una compatibilidad del 94% de la vacuna con el desafío – Buena protección
  - Título IH de 40 con una compatibilidad del 94% de la vacuna con el desafío – protección deficiente



11

## Vacunas Vivas Recombinantes

- En la actualidad, existen diversas vacunas vivas recombinantes en diferentes países
  - Fowlpox
  - HVT
  - NDV
  - RNA replicon (alfavirus)
- Las vacunas vivas estimulan la inmunidad celular mediada así como la inmunidad humoral (y posiblemente la inmunidad mucosa)
- Los títulos HI son en general bajos con estas vacunas y los niveles de protección son difíciles de predecir
- Es difícil determinar de forma cuantitativa la inmunidad celular mediada



12

## ¿Es una mala vacuna peor que no administrar ninguna vacuna?

- Una vacuna marginal puede reducir o prevenir signos clínicos pero no reducir la liberación del virus
- Las aves clínicamente normales que liberen grandes cantidades de virus incrementarán el riesgo de transmisión del virus
  - Las aves enfermas son menos probables de ser movilizadas
  - Puede aumentar la exposición humana a aves infectadas
  - Perder signos de enfermedades como herramienta de vigilancia epidemiológica

## Vacunas Óptimas

- **¡Cuanto más compatible es la vacuna a la cepa desafío, mayor será la protección (vacuna autógena)!**
- Son importantes las vacunas inmunogénicas que producen altos niveles de anticuerpos contra adyuvantes de la proteína de la HA
- Persistencia a la respuesta inmune
- ¿Es una vacuna con un costo aceptable para la industria de las aves de corral?
- No existen opciones para una vacunación en masa una vez que se colocan las aves en las granjas

## Aplicación Práctica

- Es poco probable que la vacuna de única dosis provea protección a largo plazo
- Se requieren múltiples dosis de vacunas para las aves ponedoras y los pavos
- Los refuerzos iniciales de las vacunas en general proporcionan una protección más amplia (cebador viral vivo vectorizado con refuerzo inactivo)
- La combinación de vacunas (diferentes antígenos) puede proporcionar una respuesta inmune más amplia.

## DIVA

- **Diferenciación entre Animales Infectados y Vacunados**
- La aplicación principal de la estrategia **DIVA** es garantizar a los socios comerciales que el Ganado no estuvo expuesto a un virus infeccioso, es decir, **diferenciar las aves de corral que están solo vacunadas de las que están vacunadas y luego se infectaron**
- Se requiere análisis serológicos diferenciales económicos, confiables y con un alto rendimiento para considerar un análisis de vigilancia DIVA viable
- Para países que no exportan aves de corral, las vacunas DIVA probablemente no sean una prioridad



## Acercamientos de DIVA

- Aves centinela
- Estatus de parvada
- Estrategia de Neuraminidasa Heteróloga
- Proteína 1 No Estructural (NS1)
- Proteína de Matriz 2 (M2)
- Vacunas con marcadores positivos
- Acercamiento de Vacunas con Subunidades
- Aumento de aves de corral y productos de aves de corral con rRT-PCR

## Vacunas con subunidades y DIVA

- Para las vacunas que solo expresan proteínas HA y/ o NA (vacunas de virus vectorizados)
- Uso de pruebas AGID o ELISA existentes en la actualidad permite una diferenciación DIVA
- Se ha demostrado experimentalmente que funcionan
- Deberían funcionar con muchas de las vacunas de la siguientes generaciones.

## Problemas con las Actuales Estrategias DIVA

- No se completó la validación o la determinación de idoneidad de ningún método
  - No existen pruebas DIVA complementarias de reconocimiento internacional
  - Aves de corral con niveles elevados de anticuerpos HI puede que no realicen una seroconversión adecuada ante el desafío
    - Requerirá esto una vigilancia sobre un mayor número de muestras
  - Debido a que la respuesta inmune no es uniforme, el estándar será la tolerancia cero del anticuerpo
  - La determinación de la respuesta serológica tiene una demora mínima de una semana – Será esto suficiente para garantizar el estado libre de infección.



19

## Conclusiones

- El objetivo es la vacunación homóloga
- Existen muchos tipos de vacunas disponibles en el mercado
- Se requiere vacunas de calidad y métodos de administración de calidad
- Se requieren múltiples dosis de vacunas
- Los anticuerpos maternos afectarán la calidad de la vacuna
- La vigilancia DIVA es posible, pero aún se requiere la aprobación del socio comercial
- La vacuna no debería usarse en reemplazo de buenas prácticas de bioseguridad y otras medidas de control



20