

Introducción a Vacunología y Diseño de Vacunas



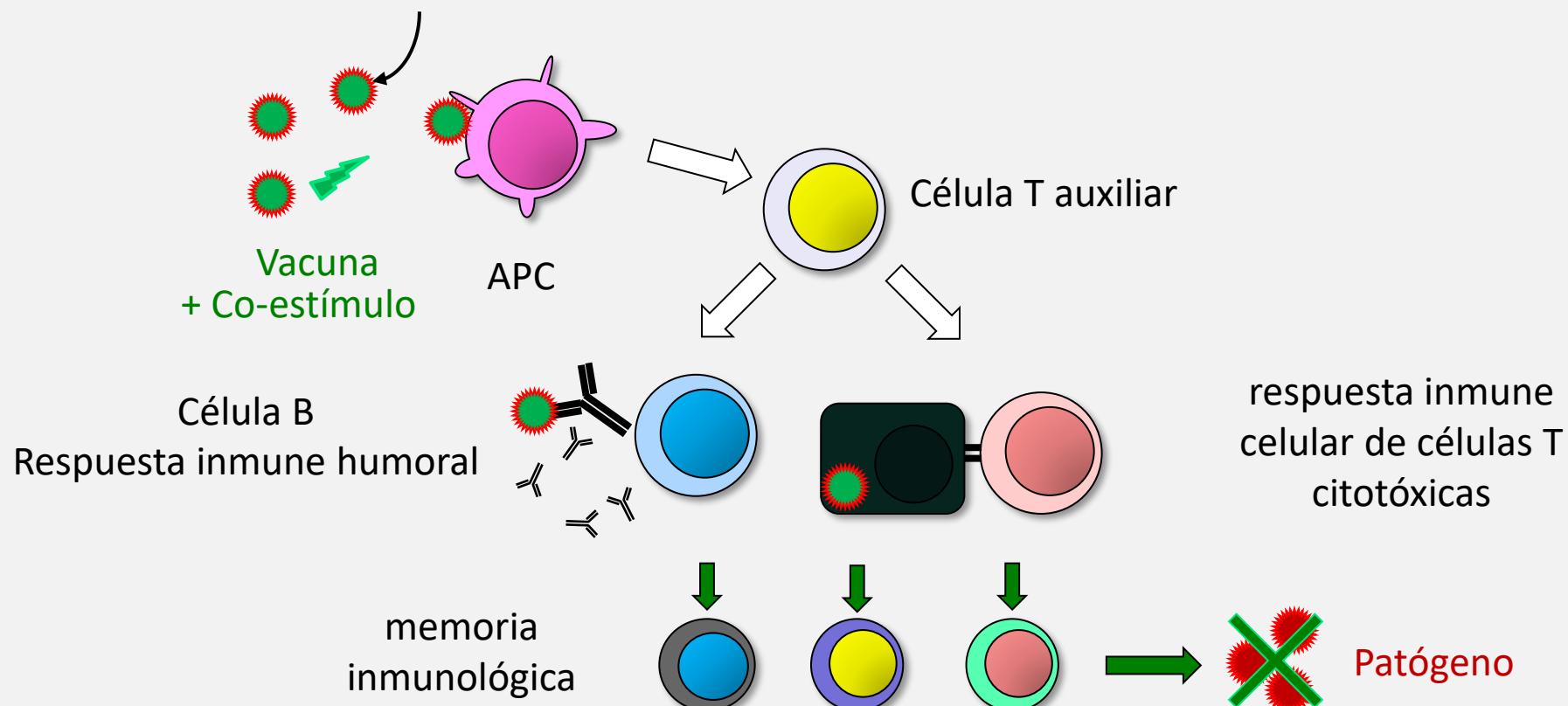
CARLOS ESTEVEZ, BI AH Global Innovation



¿Qué son las vacunas y cómo funcionan?

Las vacunas preparan el sistema inmunológico para el contacto con patógenos reales, idealmente sin causar daño.

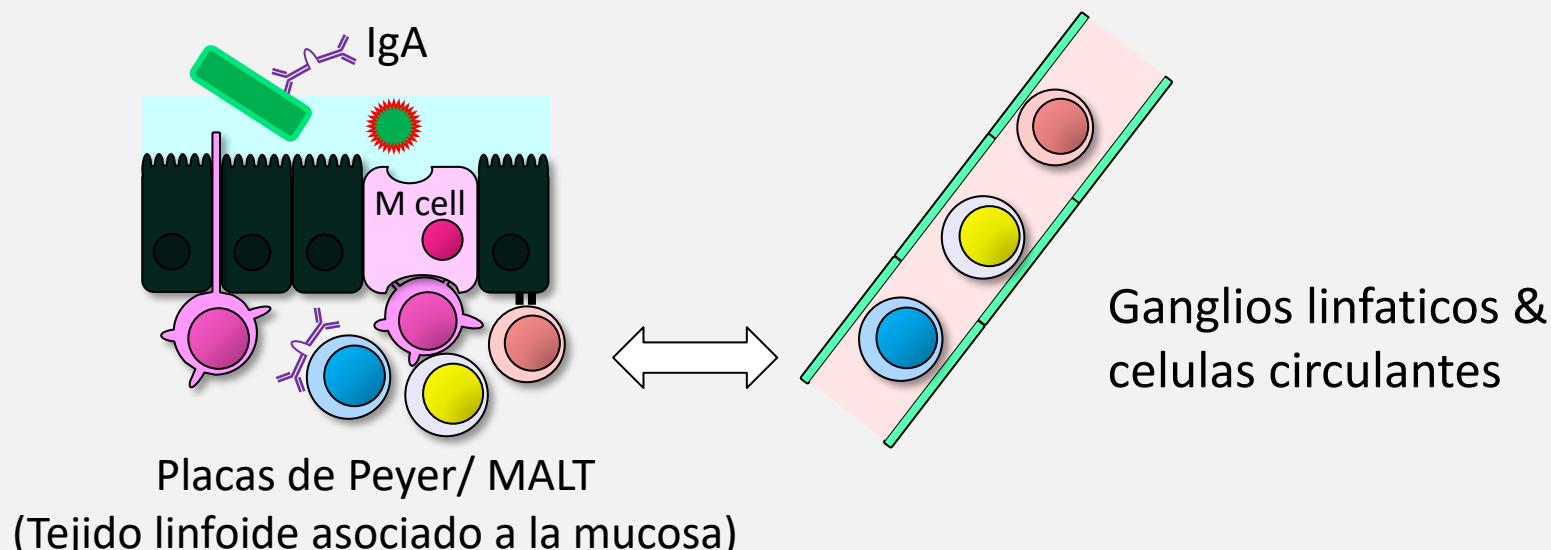
Las vacunas contienen partes inmunológicamente idénticas al patógeno.



Inmunidad de mucosa y sistémica

Inmunidad sistémica: protege el cuerpo de los patógenos circulantes

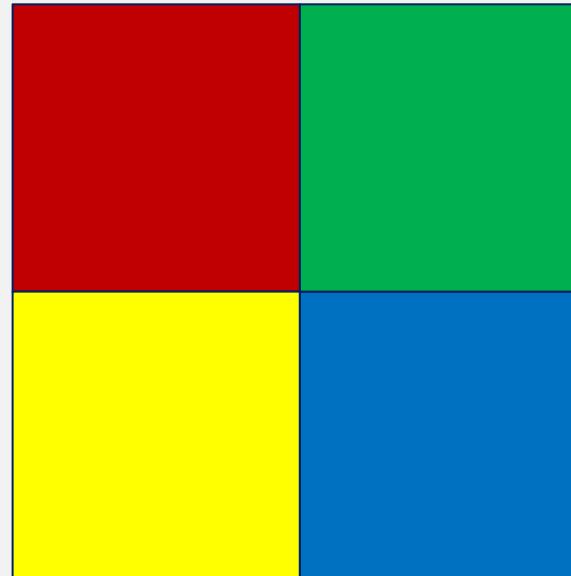
Inmunidad de la mucosa: protege las interfaces de huésped con el entorno local (eg. pulmón, sistema digestivo)



- Tolerancia al microbioma de la mucosa
- Limitación de infecciones respiratorias y entéricas
- Preparación y modulación de todo el sistema inmunológico

¿Qué principales tipos de vacunas hay en el mercado?

Vacunas Inactivadas



Vacunas vivas
modificadas

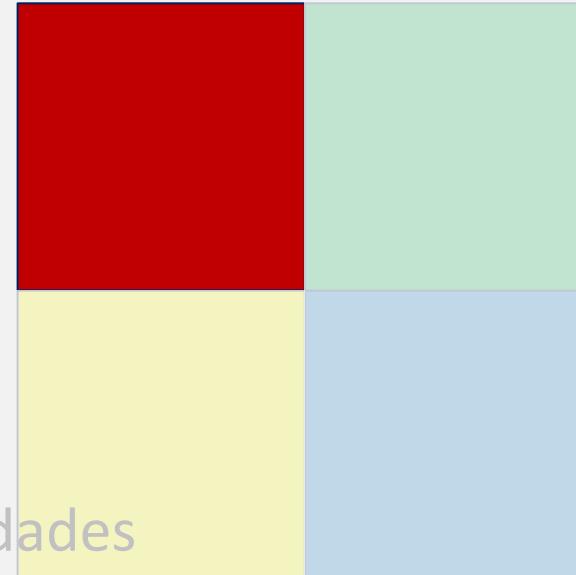
Vacunas de
subunidades

Vacunas
vectoriales

Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas

¿Cuáles son los principales tipos de vacunas que hay en el mercado?

vacunas Inactivadas

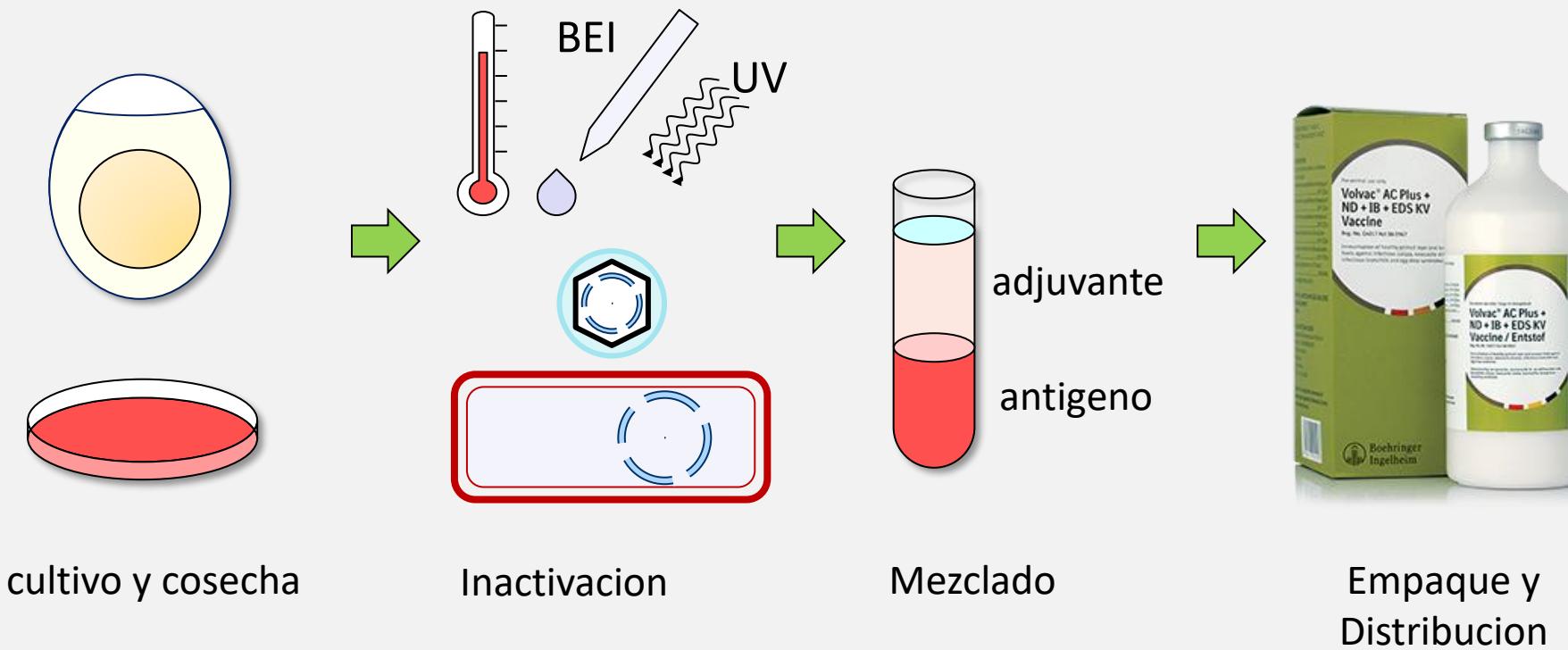


Vacunas vivas
modificadas

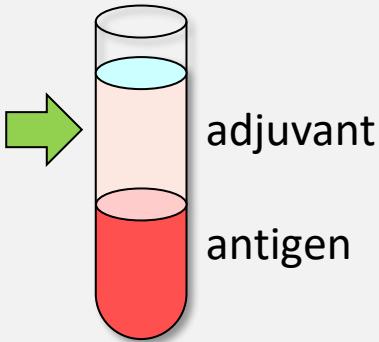
Vacunas vectoriales

Tipos de vacunas: vacunas Inactivadas

Los patógenos completos o sus toxinas se inactivan:



Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas



Adjuvantes (ayudantes):

- Compuestos químicos y biológicos
- Estabilización del antígeno
- Liberación más lenta del antígeno: presencia más prolongada
- Mejora de la inmunogenicidad mediante la activación de vías inmunoestimulantes (señales de peligro)

La elección del adyuvante más adecuado varía según el antígeno, la vía de administración y la especie

- **Sales de aluminio:** activan las células presentadoras de antígenos
- **Emulsiones agua/aceite; aceite/agua; aceite/agua/aceite:** permiten una liberación prolongada y protegen los antígenos
- **Saponinas:** facilitan la formulación de antígenos hidrofóbicos y estimulan la respuesta inmune innata
- **Productos biológicos inmunoestimulantes:** CpG, poli-I:C, fragmentos bacterianos y citoquinas — potencian la respuesta inmune mediante la activación de TLR y otros mecanismos celulares

Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas

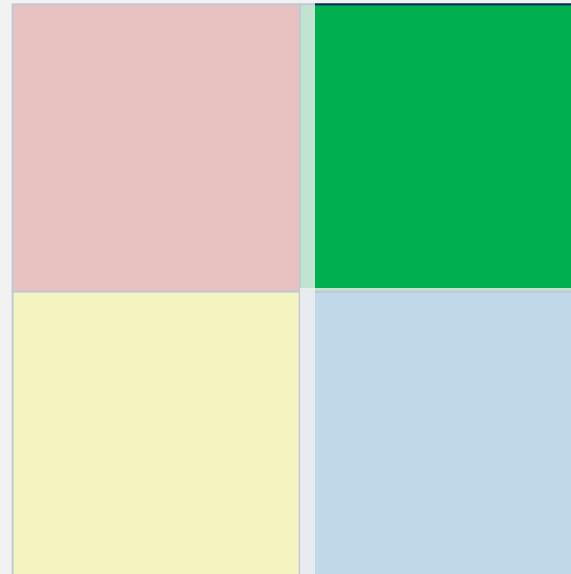
Los patógenos completos son inactivados:

- No infeccioso ➔ Seguro para su uso, sin diseminación
- Replicación incompetente ➔ No reversión a virulencia
- Antigenos multiples ➔ Eficaz
- No es necesario atenuar la cepa ➔ Posibilidad de prototipo rápido
- Estable en la formulación ➔ Vida útil larga, menor costo de producción
- Necesario aislar/cultivar el patógeno ➔ Poco práctico para las nuevas vacunas
- Se necesita adyuvante ➔ Peligroso y costoso de producir

¿Cuáles son los principales tipos de vacunas que hay en el mercado?

vacunas
Inactivadas

Vacunas de
subunidades

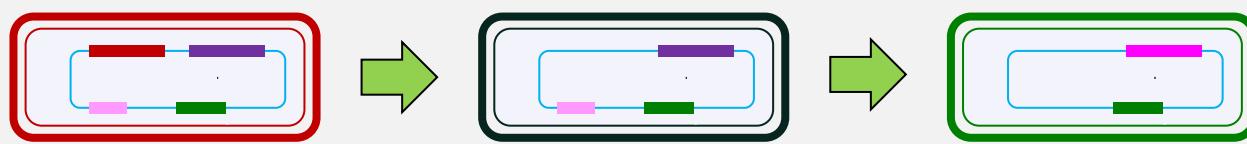
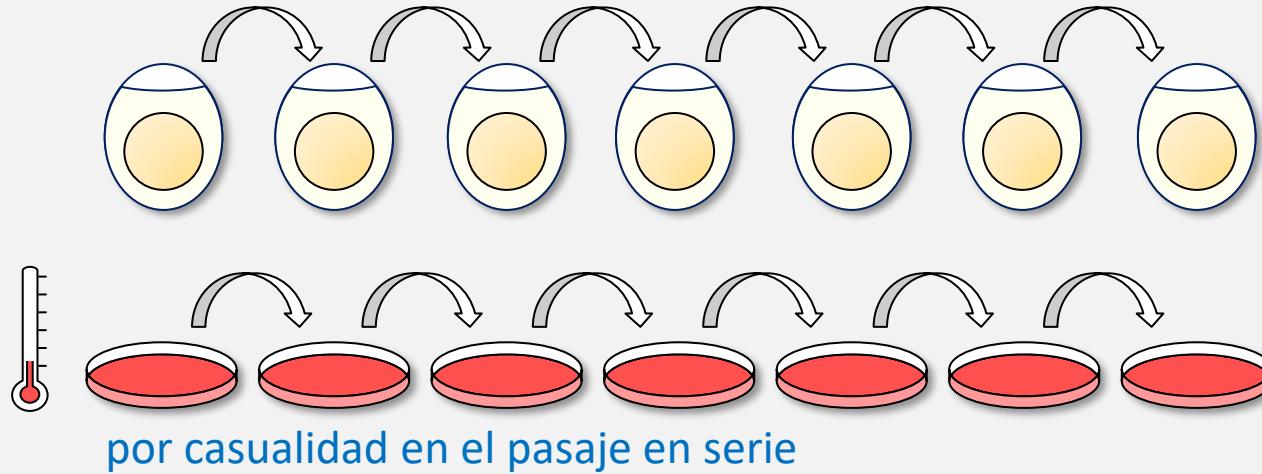


**Vacunas vivas
modificadas**

Vacunas vectoriales

Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Los patógenos completos se atenúan:



por mutación o delección de genes dirigidos



Empaque & Distribucion

Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas



La atenuación por pasaje es aleatoria: acumulación de mutaciones, selección mediante adaptación al sistema de cultivo

- Selección lejos de las condiciones *in situ* (reversión parcial durante pasajes en animales)
- Cada vacuna atenuada por pasaje tiene su propia historia e identidad
- ¡La producción se suma a los pasajes!

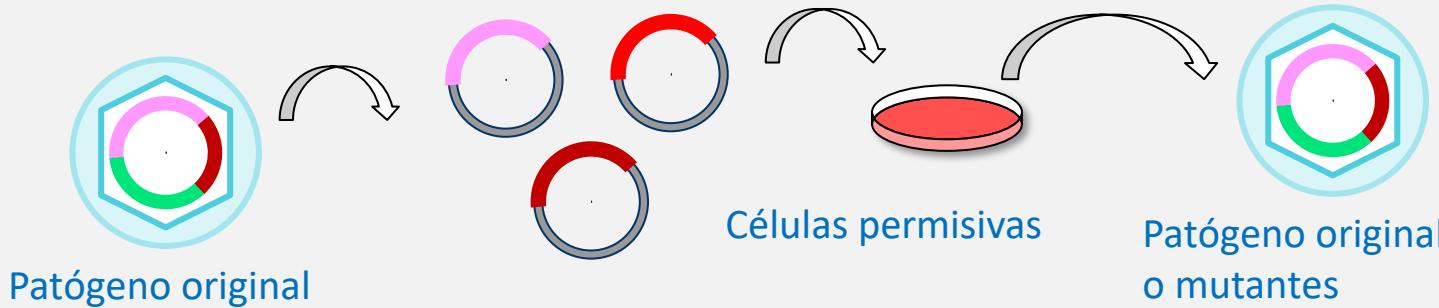
Ejemplos:

- Umbral de seguridad CVI988 p23-30, pérdida de eficacia por encima de p40 en CEF (investigación de BI)
- DEV (Duck Enterites Virus) adaptado a CEF es seguro para patos, patógeno para el pollo
- IBV H120 de diferentes fabricantes difieren enormemente en su secuencia y propiedades
- La vacuna contra la viruela MVA perdió el 10% de su genoma en delecciones pequeñas y grandes (Antoine et al 1998)
- Dos cepas de la vacuna ILTV se recombinaron en ILTV patógena debido a coinfección y la recuperación del material genético eliminado, de la otra cepa (Lee et al 2012)

Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Sistema de Genética Inversa

Clonación de patógenos en una forma segura: plásmido o cromosoma artificial bacteriano



Genoma del patógeno en un RGS=Posibilidad de manipulación

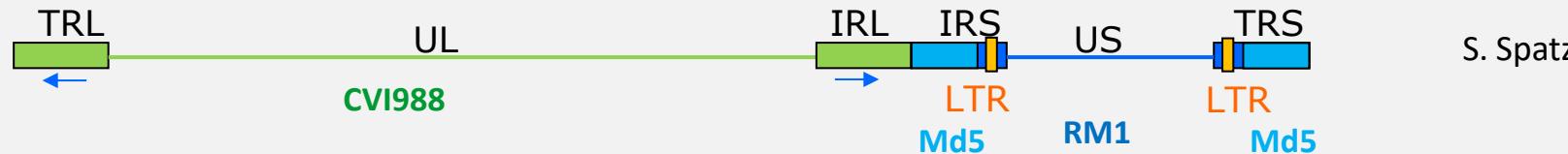
Secuencia estable: material estandarizado, por ejemplo, MDV Md5 BAC es idéntico en todos los laboratorios

Facilidad de manipulación: delecciones de meq, vIL8 en MDV vv+ 686 BAC (Liao et al 2021)

Ensamblaje de un virus vacunal combinado de diferentes fuentes, imposible con cultivo celular:

M41 IBV with 4/91 spike (van Beurden et al 2017, Min Stephan 2019)

- Prevexxion RN como combinación de fragmentos de varias cepas de MDV:



Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Cosecha de una semilla maestra candidata a vacuna en embrión de pollo



Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Los patógenos completos se atenúan:

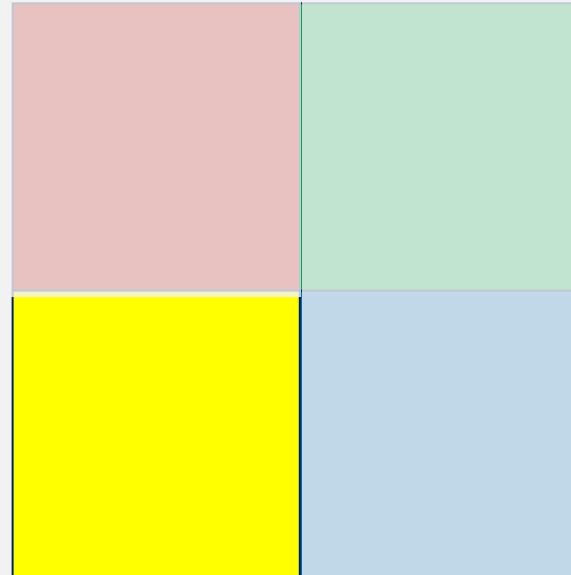
- Cepa apatógenica
 - No se necesita adyuvante
 - Adaptado al sistema de producción
 - muchos antígenos
 - Aislamiento necesario
 - Es necesario atenuar la cepa
 - Pérdida de antígenos en la atenuación
 - a menudo replicación competente
 - La cepa de la vacuna puede volver a la virulencia
- ➔ Seguro para la producción y el uso
 - ➔ Barato de producir
 - ➔ Eficaz
 - ➔ Poco práctico para vacunas novedosas
 - ➔ Prototipo lento
 - ➔ Sobreatenuación = pérdida de eficacia
 - ➔ Posible diseminación en campo, problema de seguridad

Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

¿Cuáles son los principales tipos de vacunas que hay en el mercado?

vacunas Inactivadas

**Vacunas de
subunidades**

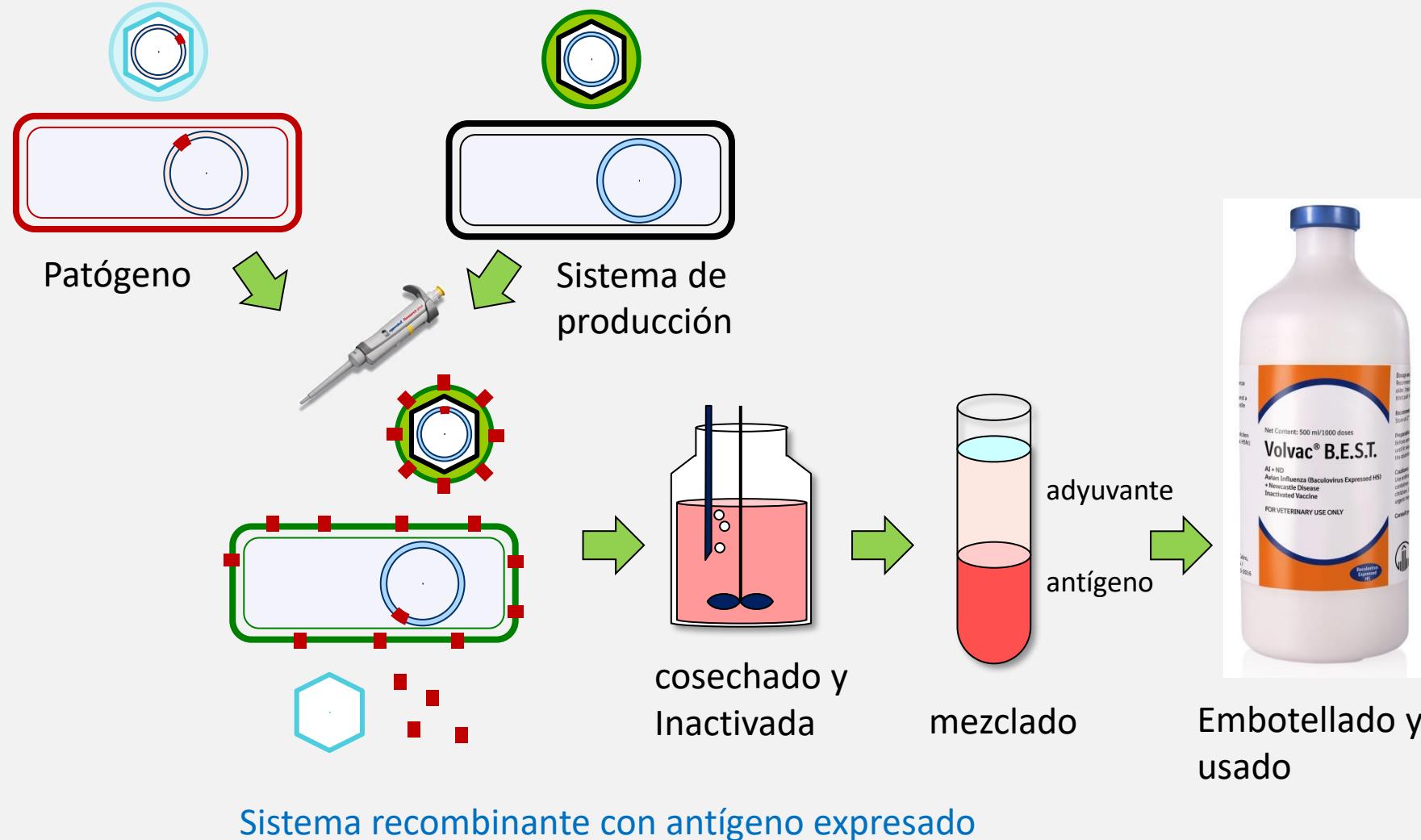


Vacunas vivas
modificadas

Vacunas vectoriales

Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

Los antígenos seleccionados se expresan:



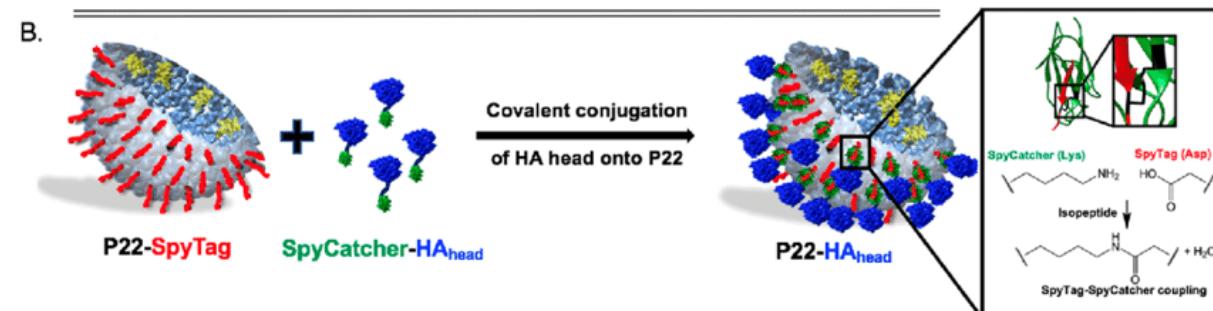
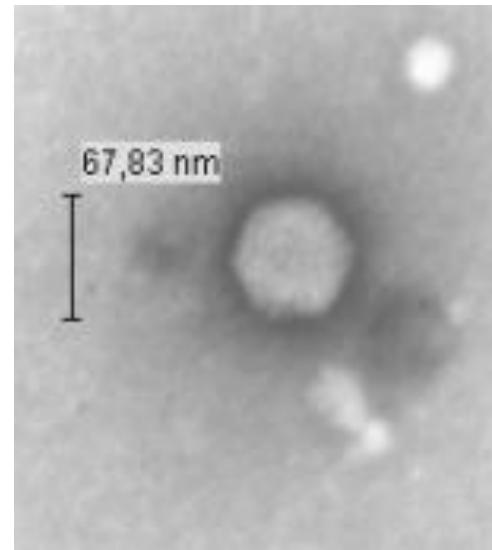
Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

Diseño de antígenos

Algunas vacunas de subunidades son simplemente perfectas, por ejemplo, IBDV VP2: altamente inmunogénica, conservada, forma fácilmente partículas similares a virus

Algunas vacunas de subunidades pueden no ser lo suficientemente inmunogénicas :

- Fusión de antígenos a proteínas inmunogénicas (por ejemplo, KLH)
- Fusión a proteínas efectoras, por ejemplo, mAb de unión a C83 para el reclutamiento de H9 a APC (Shrestha et al 2022), dominio de trimerización a H5 para una mejor conformación y presentación del antígeno (Krammer et al 2012)
- En el caso de la vacuna B.E.S.T. H5, sustitución de aminoácidos para una mejor estabilidad e inmunogenicidad del antígeno
- Residuo de ensamblaje de VLP fusionado con proteína HA (Sharma et al 2020), tecnología spyTag/spyCatcher altamente modular



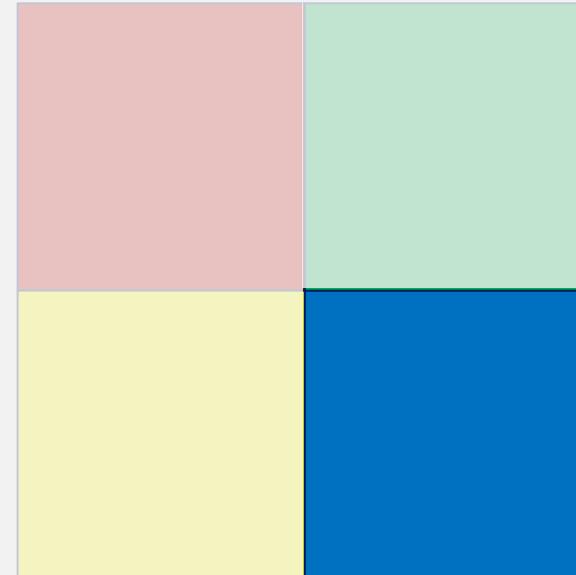
Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

Los antígenos seleccionados se expresan:

- Apatógeno
 - Sin reversión a la virulencia
 - Replicación incompetente
 - Secuencia necesaria
 - Recombinado en sistema de producción
 - Se necesita adyuvante
 - Antígenos únicos/pocos
 - Es posible que se necesite revacunación
- Seguro para la producción y el uso
 - Prototipo muy rápido
 - barato de producir
 - menor eficacia, mayor dosis necesaria
 - manejo más complicado

¿Cuáles son los principales tipos de vacunas que hay en el mercado?

vacunas Inactivadas



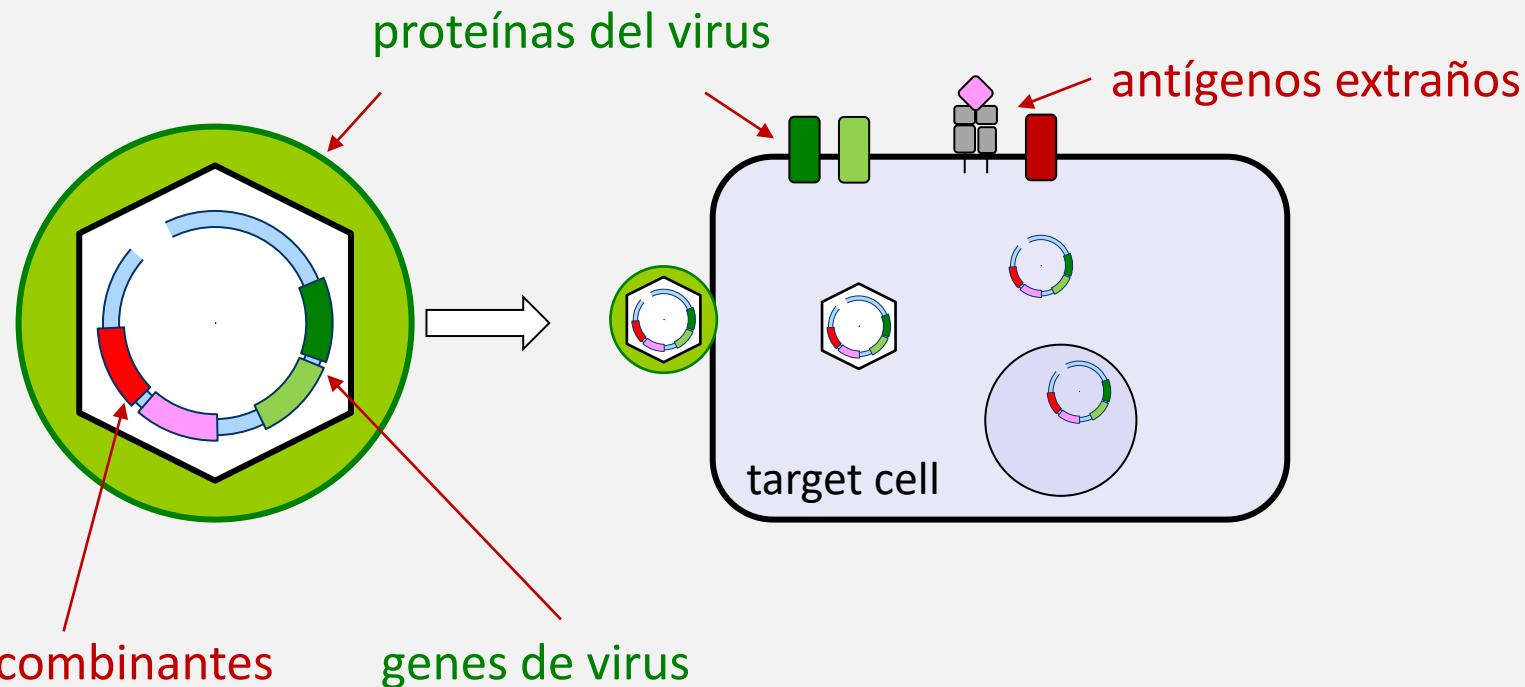
Vacunas vivas
modificadas

Vacunas de
subunidades

Vacunas Vectoriales

Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

- El virus lleva ADN codificando antígenos heterólogos, que se expresan en células infectadas
- Los antígenos no se expresan en el virus en sí
- El virus necesita infectar las células, pero sin mayor patogenicidad
- Se deben conocer los antígenos patógenos



Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

Replicación Incompetente

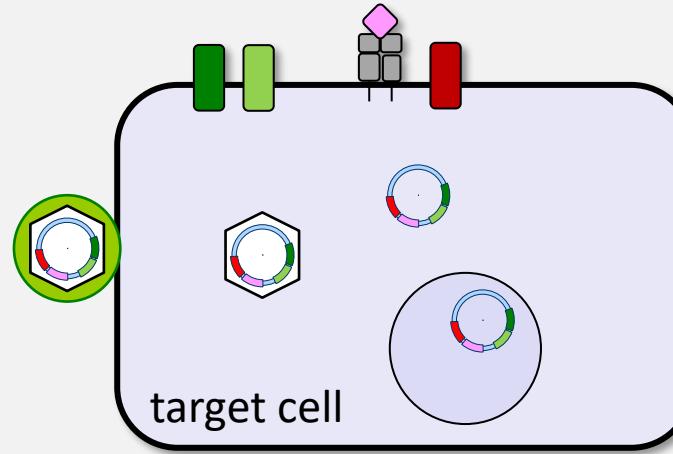
Ronda única de infección

sin diseminación

se necesita una dosis más alta

viruela canaria-FeLV

viruela canaria-rabia G



Replicación Competente

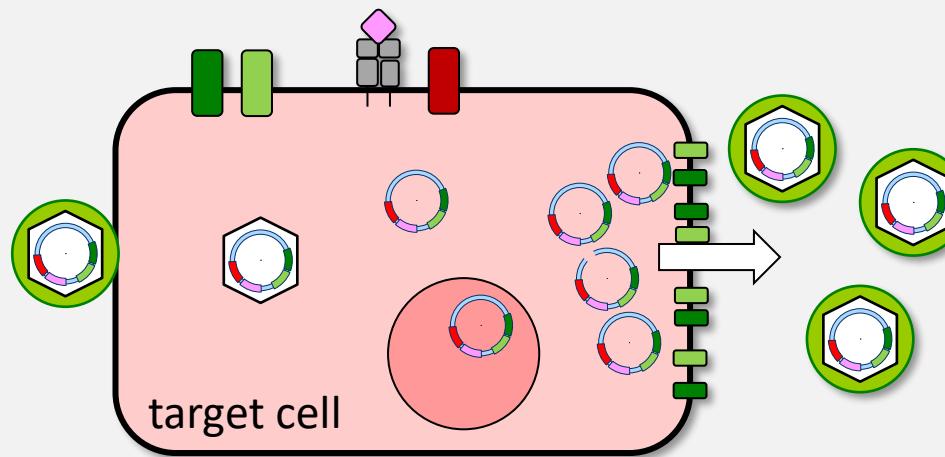
Múltiples rondas de infección por virus persistente

Shedding

dosis baja suficiente

HVT-IBD VP2 (e.g. Vaxxitek HVT+IBD+H5)

viruela aviar-IA H5



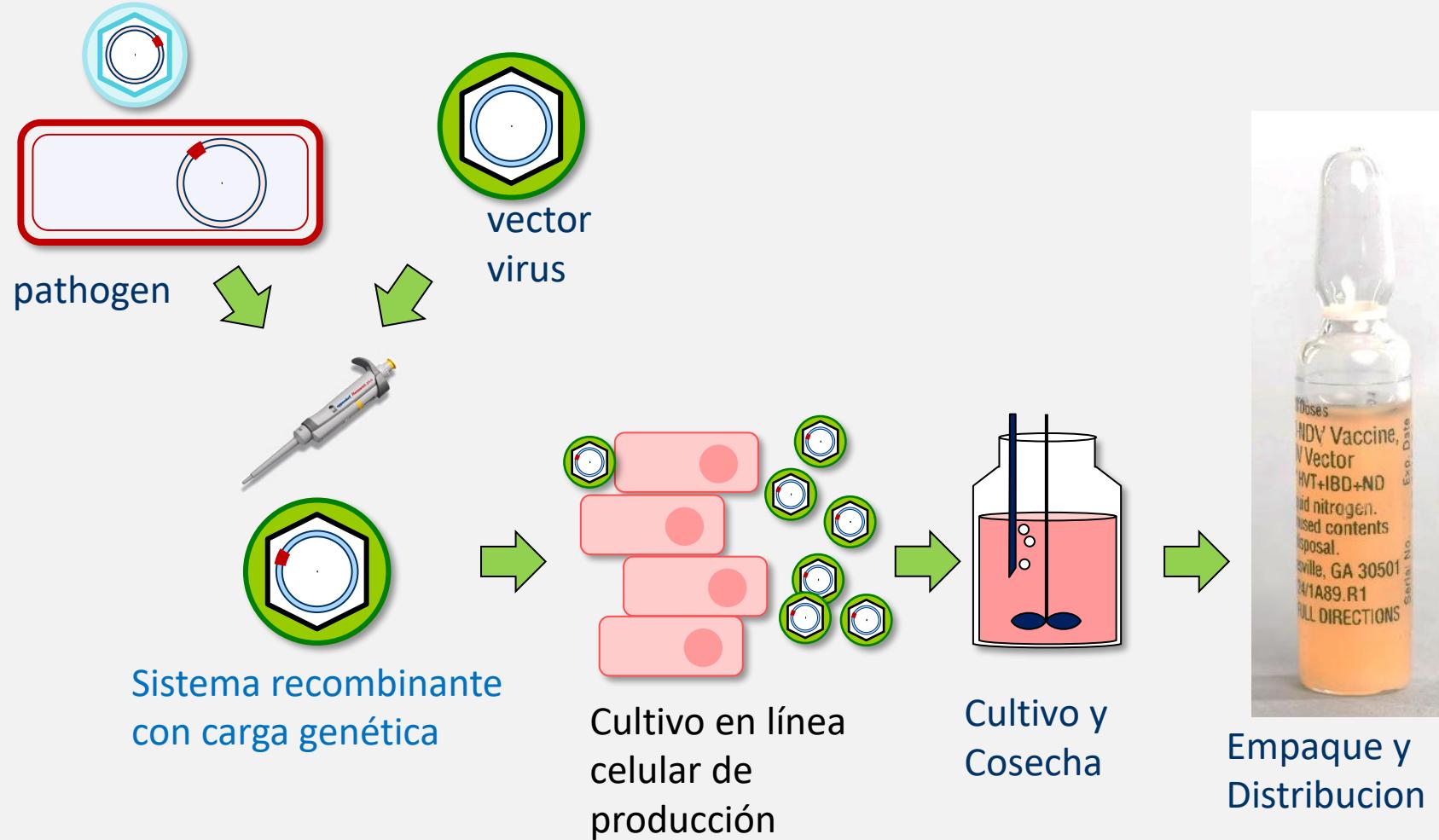
Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

¿Por qué vacunas vectoriales?

1. Vacunación contra patógenos sin cepas atenuadas (por ejemplo, WNV, HPAI H5/H7).
2. Vacunación posible a pesar de la presencia de inmunidad de origen materno (HVT-IBD).
3. Combinación de varios antígenos diferentes en una sola vacuna (HVT-IBD-AI).
4. El vector puede conferir funciones adicionales (señales de coestímulo/peligro, citoquinas)
5. Combinación de respuesta inmune humoral (MLV, KV) y celular (MLV).
6. Producción de una vacuna contra varias enfermedades (costo de produccion↓)
7. Inducción de inmunidad de por vida, dependiendo del vector.
8. Las vacunas vectoriales son bien toleradas (en comparación con KV).

Tipos de vacunas: Vacunas Vectoriales

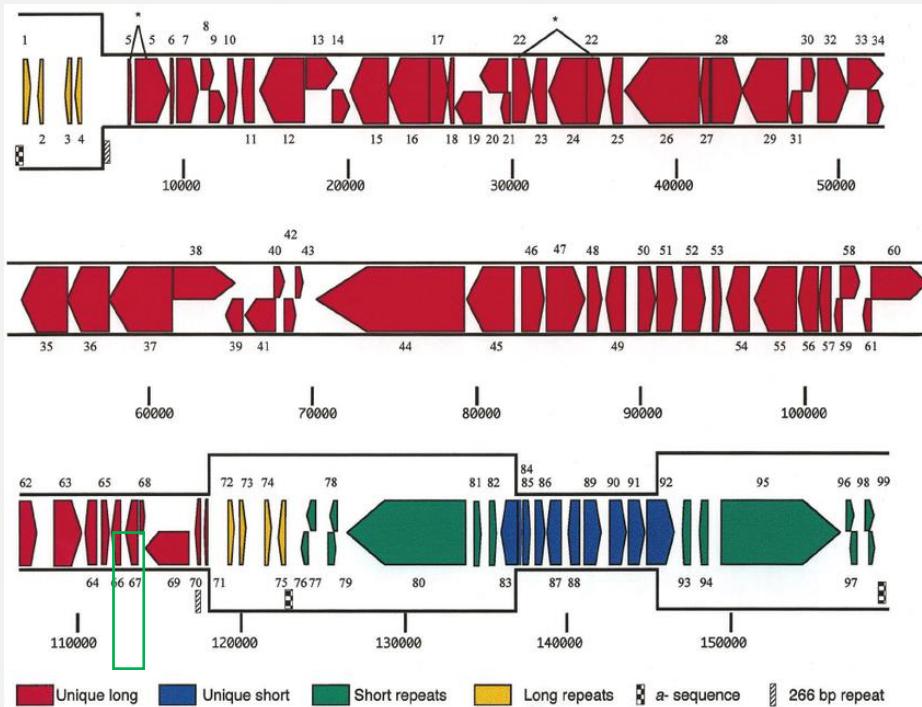
Los genes de antígenos seleccionados se insertan en el genoma del vector:



Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

VAXXITEK® HVT+IBD+ND

El genoma del herpesvirus HVT es GRANDE:



C Afonso 2001

¿Cuál es el mejor casete??

Elección del antígeno: Vaxxitek VP2 + secuencia optimizada NDV F VII, modificado para una mejor seguridad y una mejor presentación del antígeno

Elección de la disposición del casete: ¿un casete con conector o dos casetes independientes?

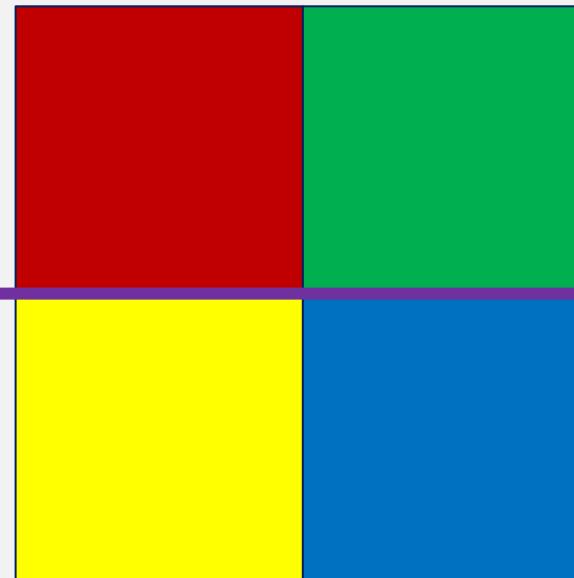
Elección del promotor: fuerza vs estabilidad

Tipos de vacunas: una comparación

¿Cuáles son las principales diferencias?

muchos antígenos presentados, cepa necesaria

vacunas Inactivadas



Vacunas vivas
modificadas

Vacunas de
subunidades

Vacunas vectoriales

Se presentaron pocos antígenos, se necesita secuencia genética

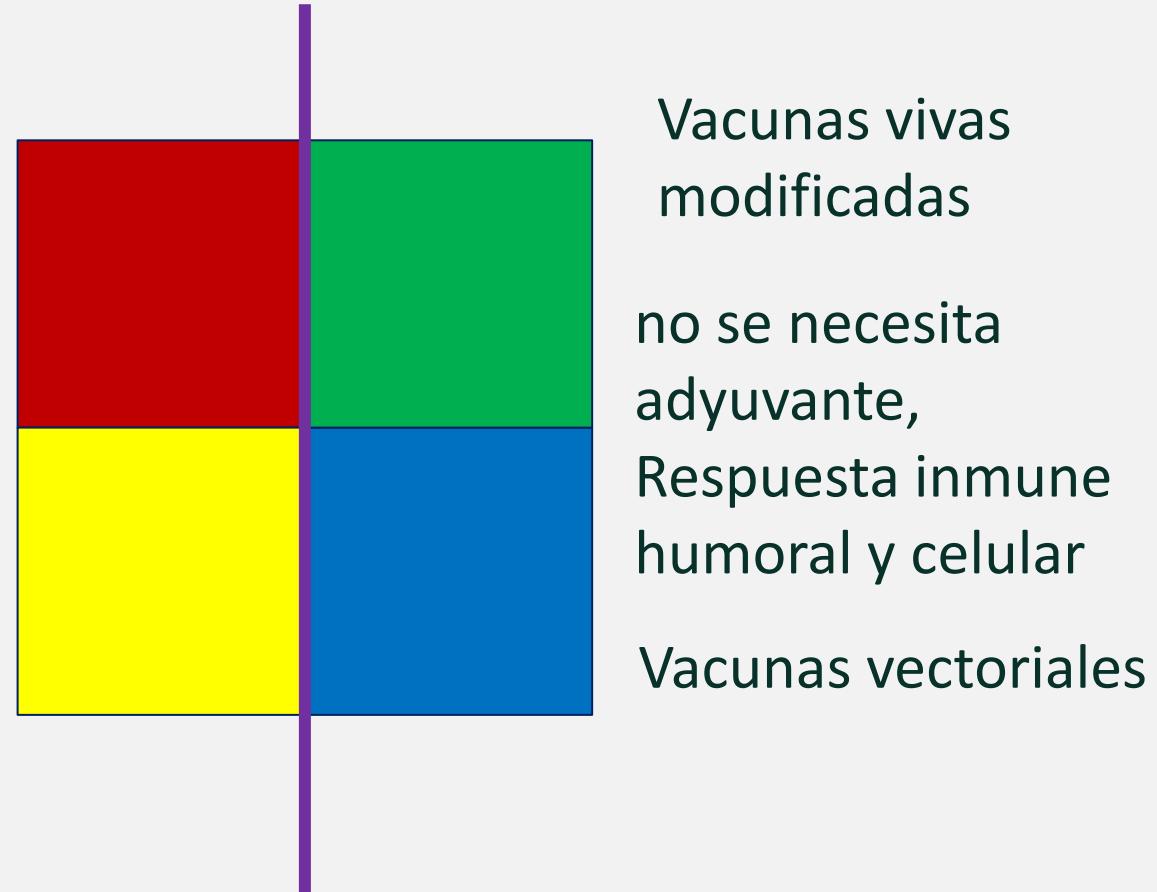
En estos días, la mayoría de las personas no aíslan cepas, ¡secuencian metagenomas completos!

¿Cuáles son las principales diferencias?

vacunas Inactivadas

adyuvante necesario,
inmune humoral
respuesta

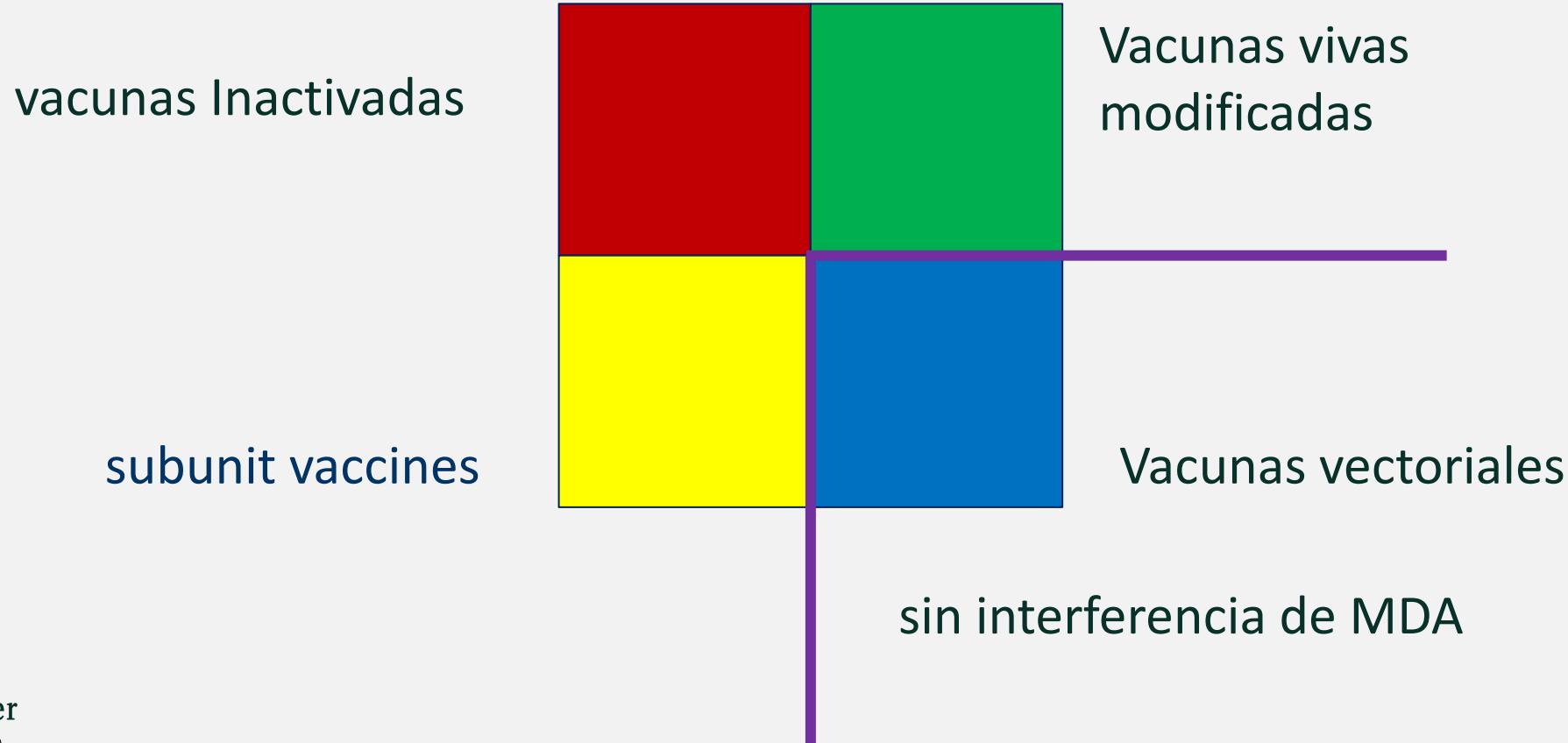
Vacunas de
subunidades



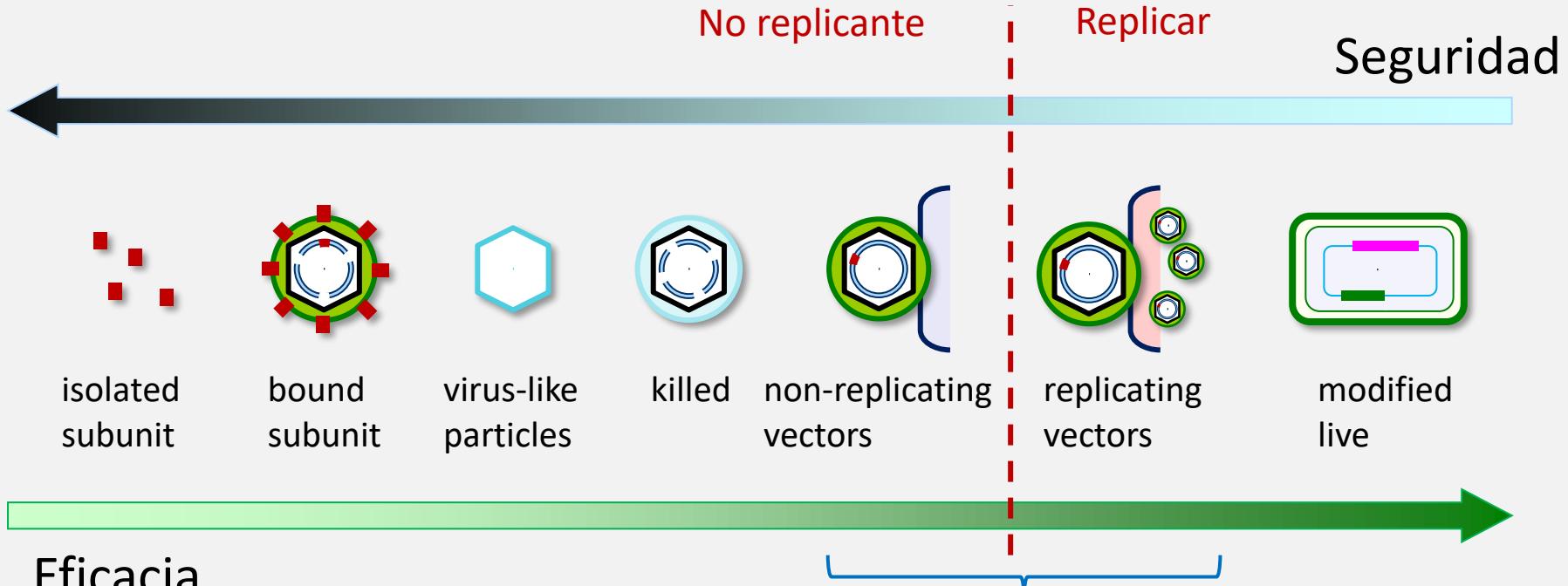
Tipos de vacunas: una comparación

¿Cuáles son las principales diferencias?

Interferencia MDA



Tipos de vacunas: conclusión



Las vacunas vectoriales son un buen compromiso entre seguridad y eficacia.



VAXXITEK® HVT+IBD+H5

Innovadora vacuna recombinante contra la gripe aviar H5, Gumboro y la enfermedad de Marek

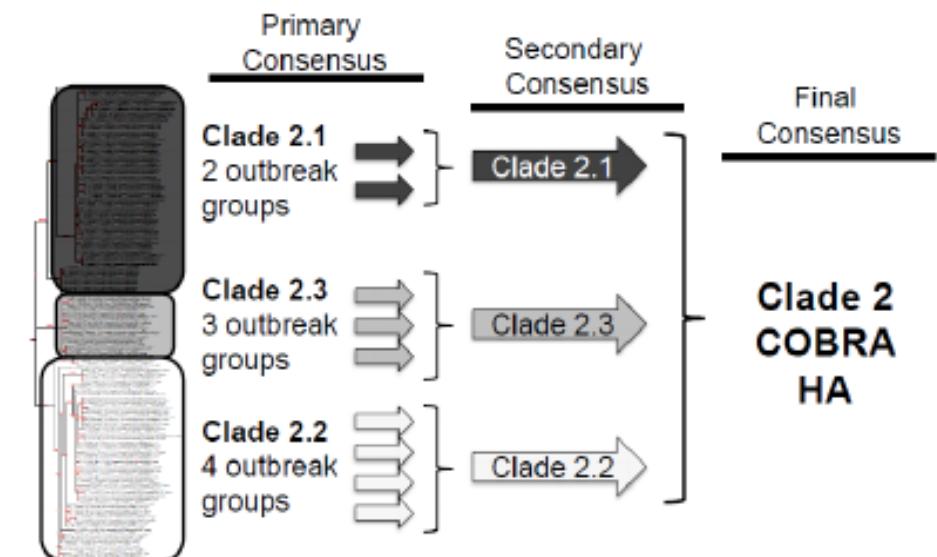


Antígeno ampliamente reactivo optimizado computacionalmente

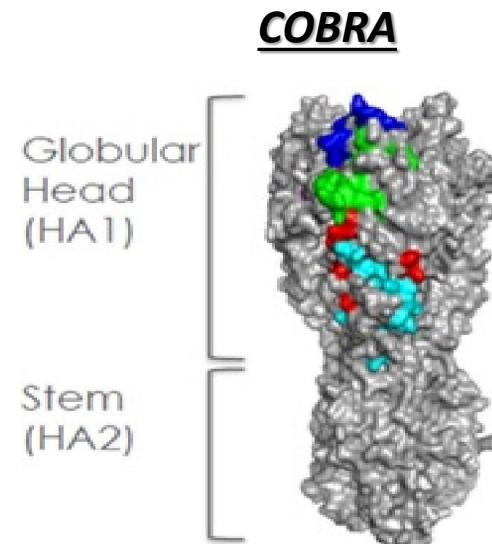
Alinear secuencias de aminoácidos de aislados del clado 2

Ensamblar 'layered consenso'

- Limitar el sesgo de muestreo
- Confirmar la presencia de epítopos lineales conservados



| Identificador de secuencia | Asignación de clado |
|----------------------------|---------------------|
| COBRA | 1-2-5-6-8-9 like |



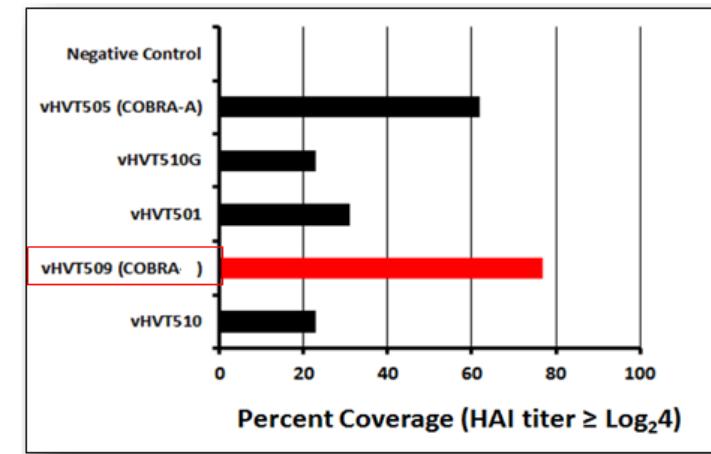
| Anigenic Sites | - | E | B | A | A | B | B | B | C | CLEavage | |
|------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|-----|
| AA Position (H5) | 34 | 54 | 124 | 140 | 141 | 155 | 156 | 189 | 282 | 325 | 329 |
| COBRA | S | D | N | K | S | S | A | K | M | R | K |

S – Serine
 D – Aspartic Acid
 N – Asparagine
 K – Lysine
 A – Alanine
 M – Methionine
 R – Arginine

Amplia gama de cladas (HAI \geq log₂4)

| Virus | Clade |
|--|------------------|
| A/Vietnam/1203/2004 | 1 ★ |
| A/chicken/Vietnam/NCVD-016/2008 | 7.1 |
| A/IN/05/05 | 2.1.3 ★ |
| A/Whooper Swan/244/2005 | 2.2 ★ |
| A/Egypt/N03072/2010 | 2.2.1 ★ |
| A/Egypt/321/2007 | 2.2.2 ★ |
| A/Anhui/01/2005 | 2.3.4 |
| A/Hubei/1/2010 | 2.3.2.1a ★ |
| A/Guizhou/1/2013 | 2.3.4.2 ★ |
| A/chicken/Egypt/CAL3-RLQP/2017 | 2.2.1.2 ★ |
| A/duck/Egypt/S78-RLQP/2017 (H5N8) | 2.3.4.4 ★ |

★ Cobra



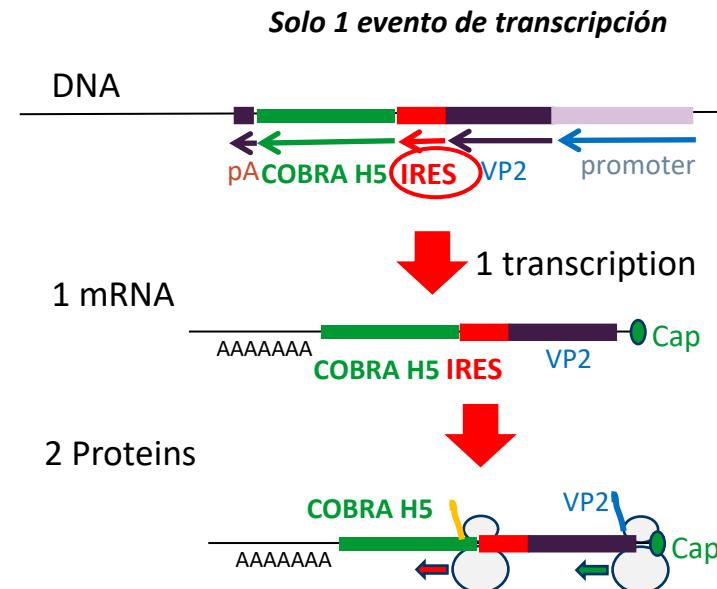
A/turkey/Minnesota/1282 (H5N2) [2.3.4.4]

A/Egypt/N04915 (H5N1) [2.3.2.1c]

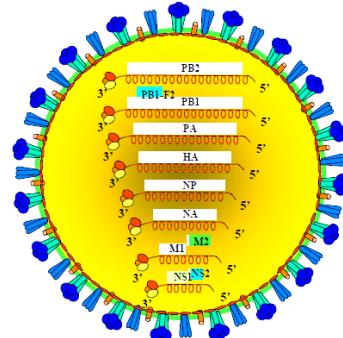
A/Hungary/N053433 (H5N8) [2.3.4.4b]

100% Protección

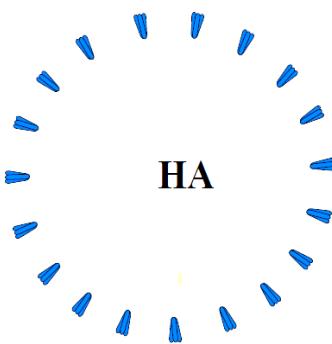
- El HVT recombinante con COBRA está diseñado en un contexto trivalente: HVT-IBD-H5
- In vitro, se confirma la expresión de antígenos, la estabilidad y la integridad del antígeno.



Después de la infección o la vacunación con el virus completo, el huésped **desarrolla anticuerpos contra todas las proteínas del virus**

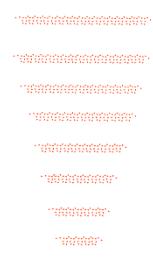


Después de la vacunación con HA (vacuna de vector o subunidad), el huésped desarrolla **solo anticuerpos HA**

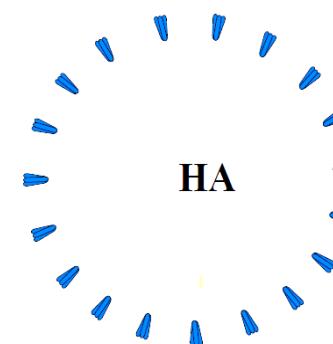


Después de la infección o la vacunación con el virus completo, el huésped desarrolla **una fuerte respuesta de anticuerpos contra el antígeno NP**

NP protein



Después de la vacunación con HA (vacuna de vector o subunidad), el huésped desarrolla **solo anticuerpos HA**





MUCHAS GRACIAS!!!



Boehringer
Ingelheim

VAXXITEK®
HVT+IBD+H5