

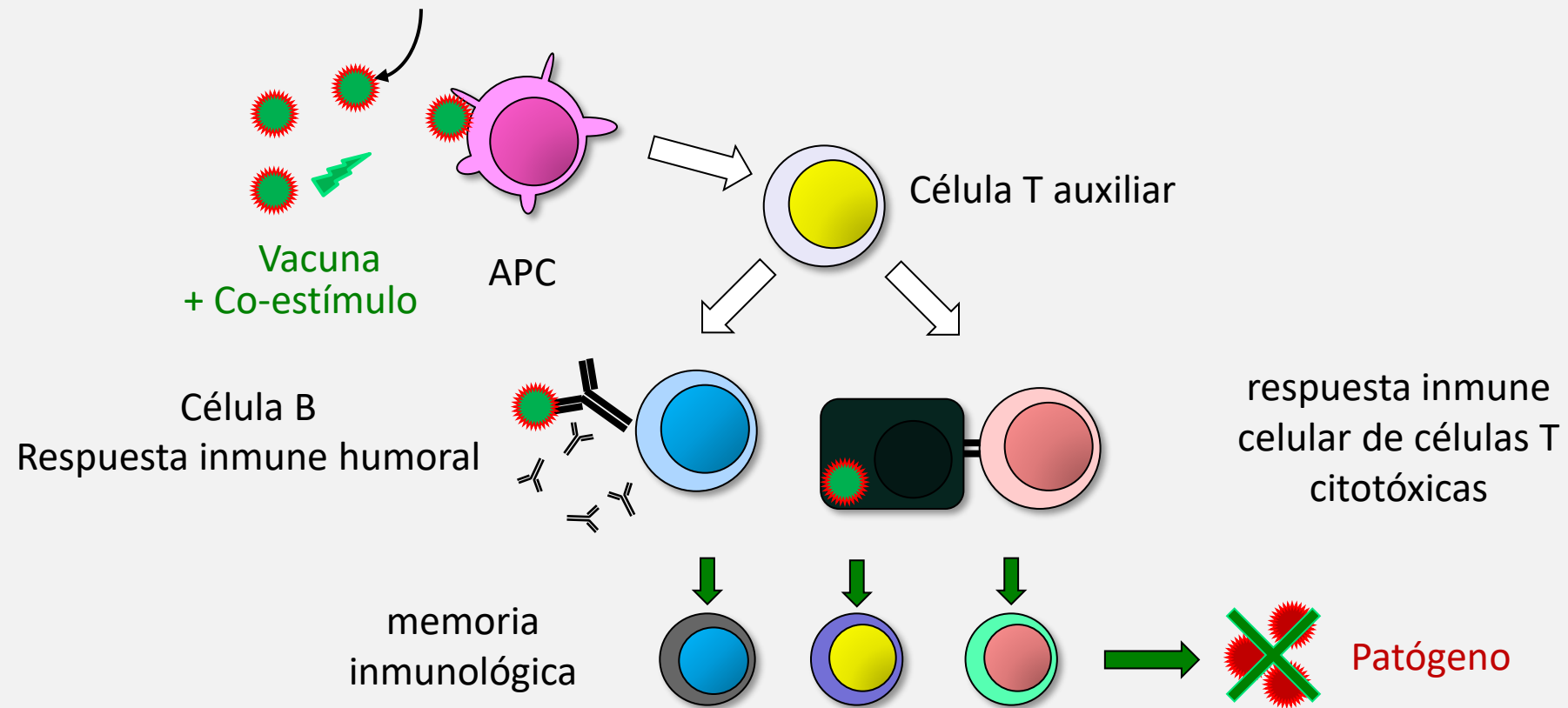
Introducción a Vacunología y Diseño de Vacunas



¿Qué son las vacunas y cómo funcionan?

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

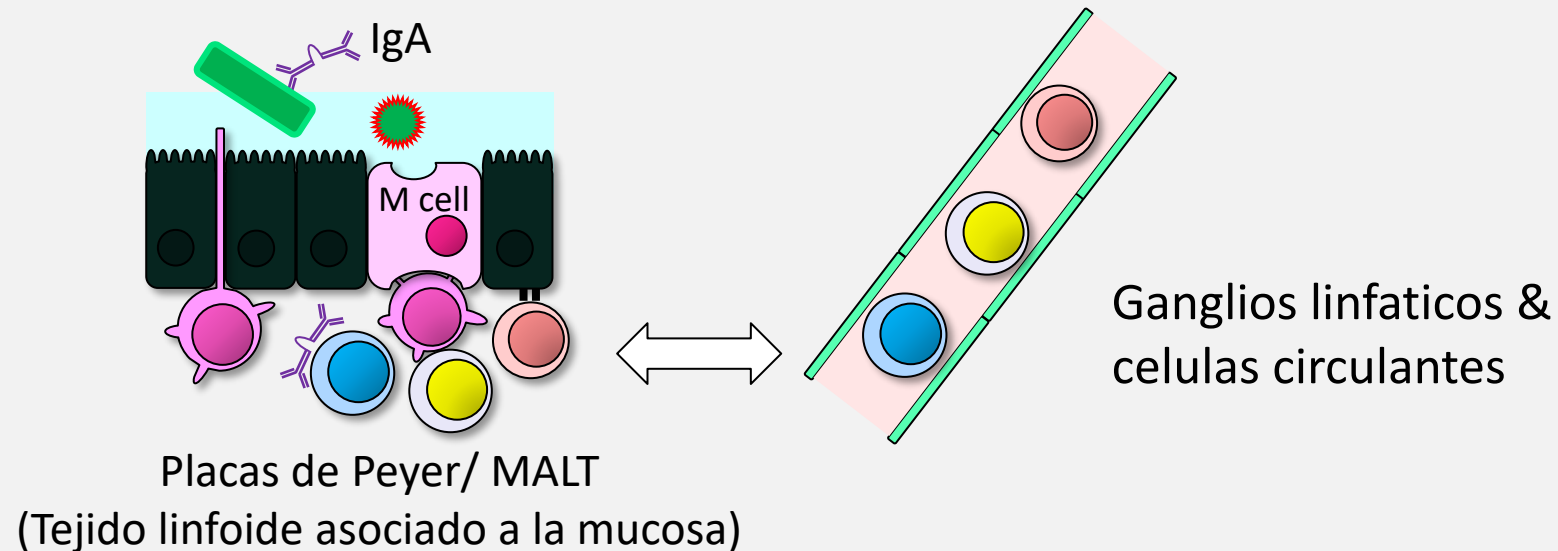
Las vacunas contienen partes inmunológicamente idénticas al patógeno.



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

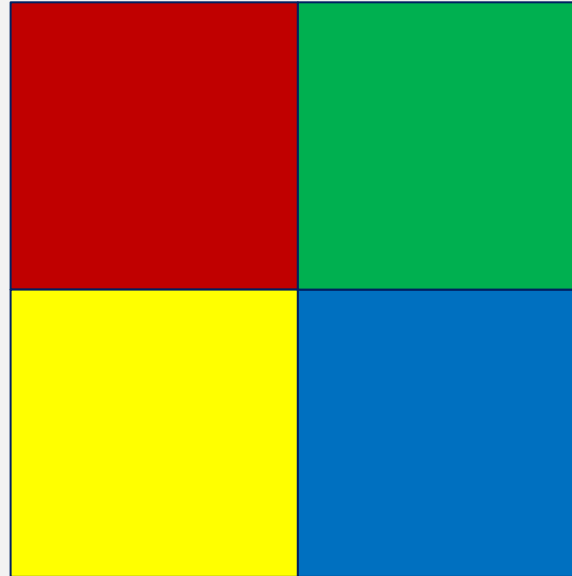
→ Preparación y modulación de todo el sistema inmunológico

Clasificación de las vacunas: una visión general

¿Qué principales tipos de vacunas hay en el mercado?

Vacunas Inactivadas

Vacunas de
subunidades



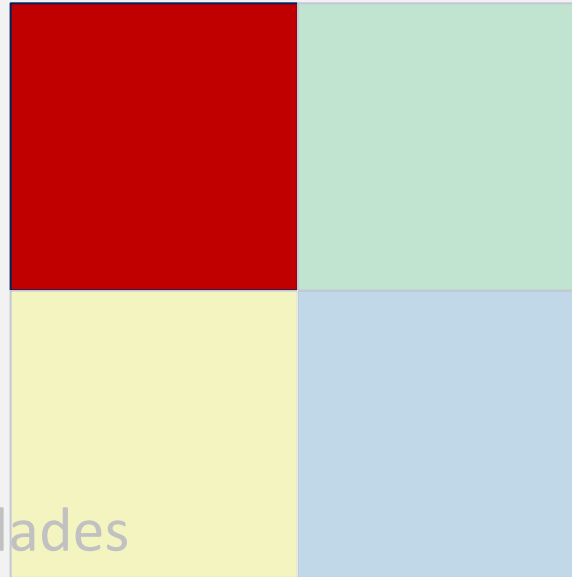
Vacunas vivas
modificadas

Vacunas
vectoriales

Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas

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

vacunas Inactivadas



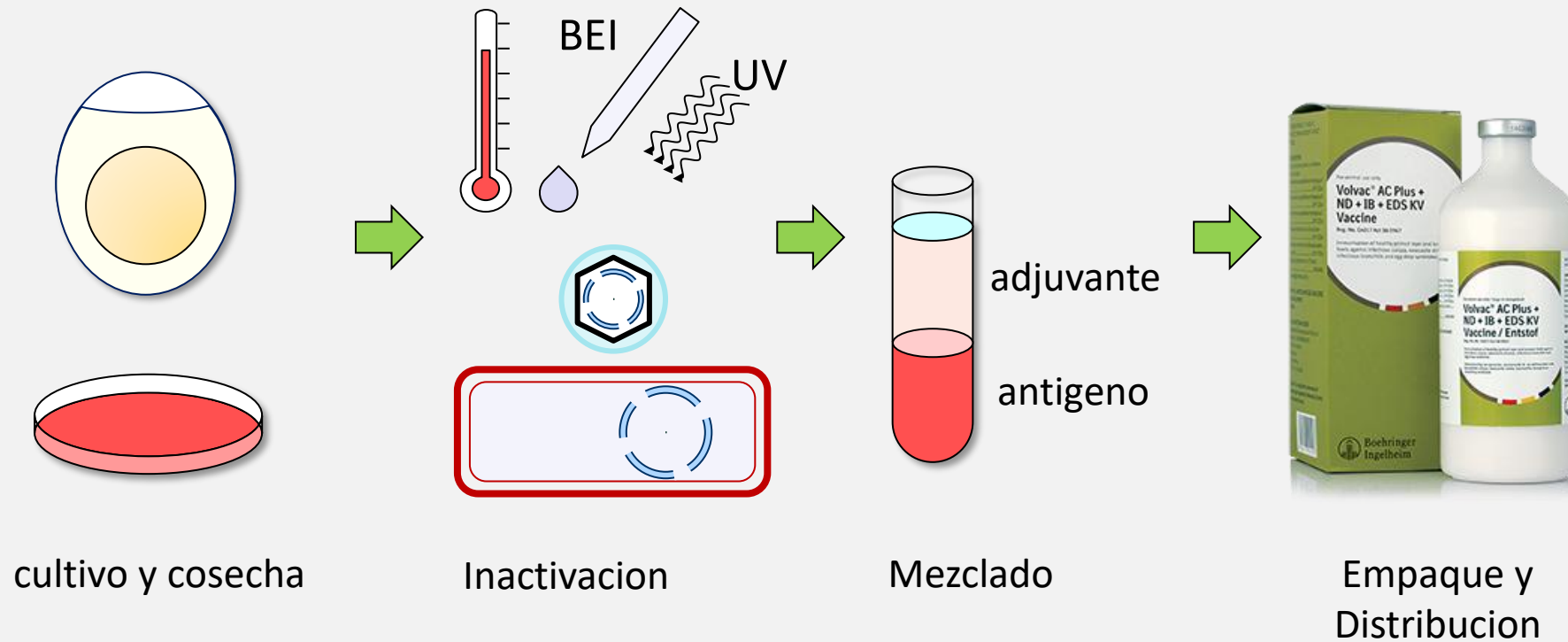
Vacunas vivas
modificadas

Vacunas de subunidades

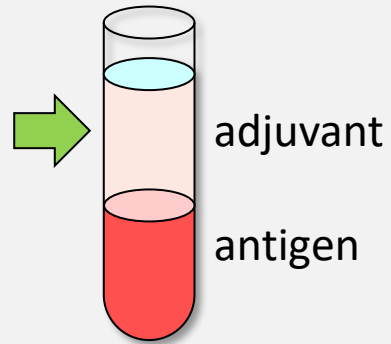
Vacunas vectoriales

Tipos de vacunas: vacunas Inactivadas

Los patógenos completos o sus toxinas se inactivan:



Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas



Adyuvantes (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

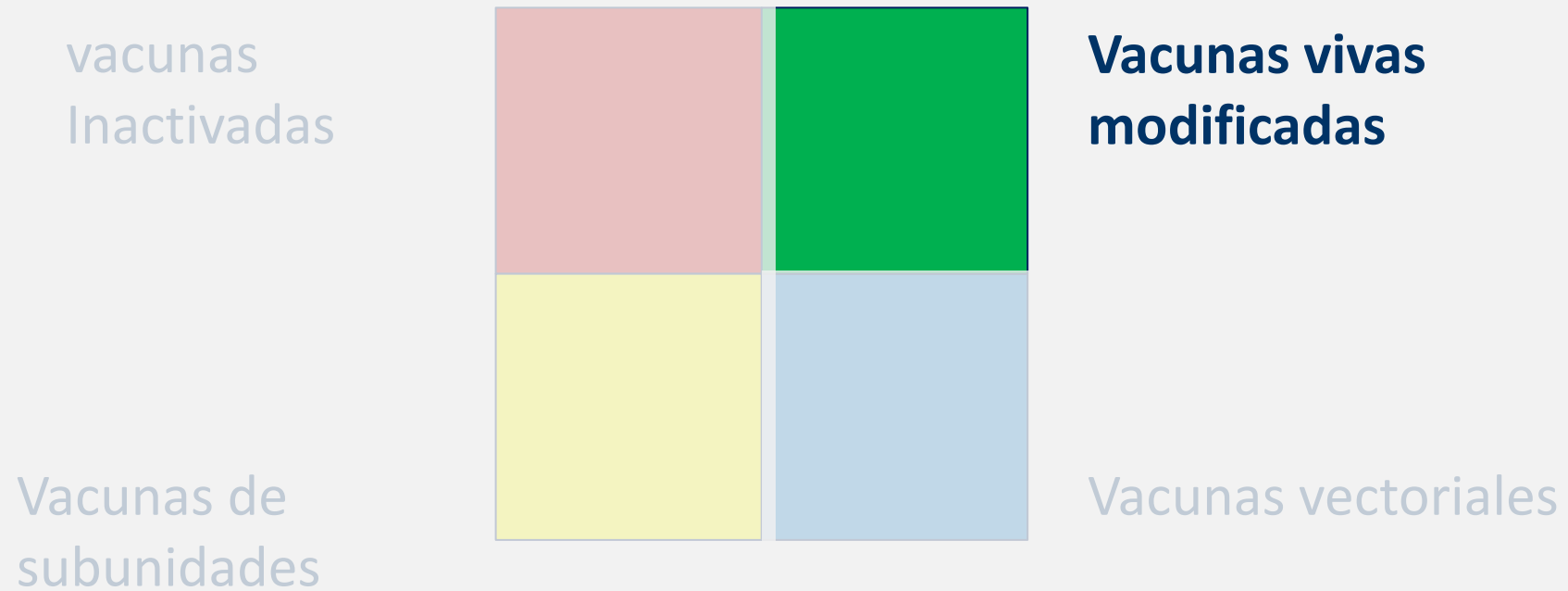
Tipos de vacunas: Vacunas Inactivadas

Los patógenos completos son inactivados:

- | | | |
|---|---|--|
| • No infeccioso | ➡ | Seguro para su uso, sin diseminación |
| • Replicación incompetente | ➡ | No reversión a virulencia |
| • Antígenos múltiples | ➡ | 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 |

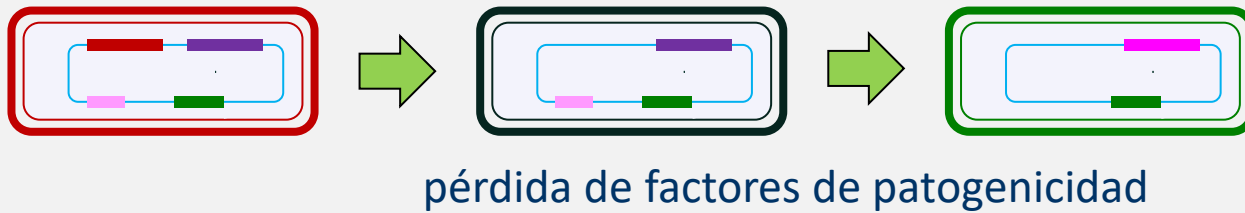
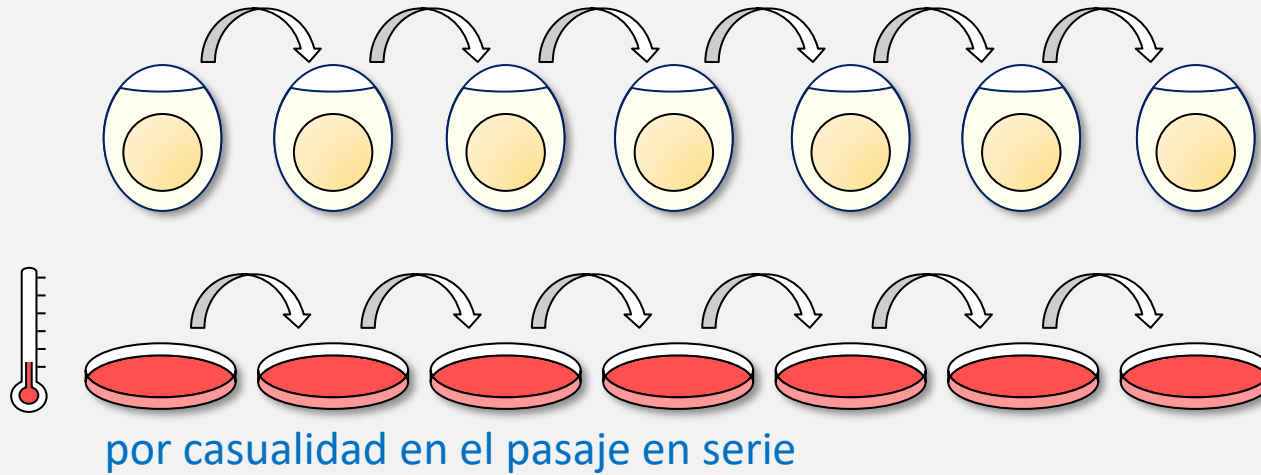
Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

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

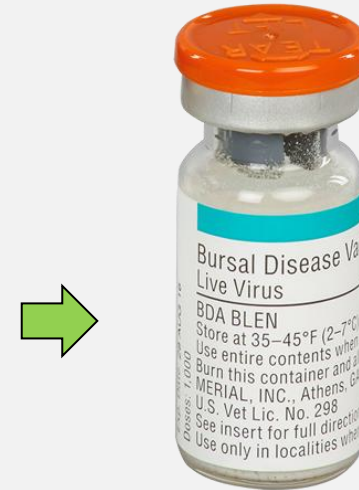


Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Los patógenos completos se atenúan:

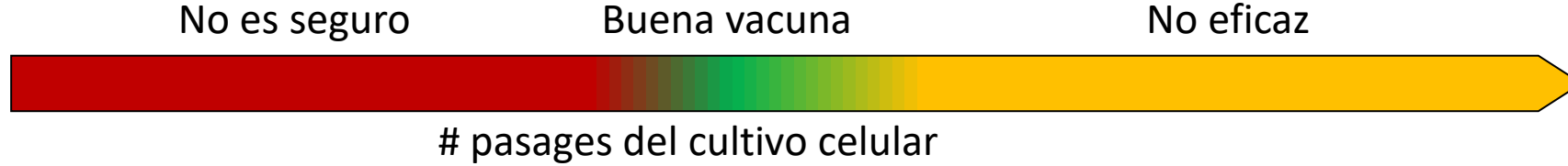


por mutación o delección de genes dirigidos



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!

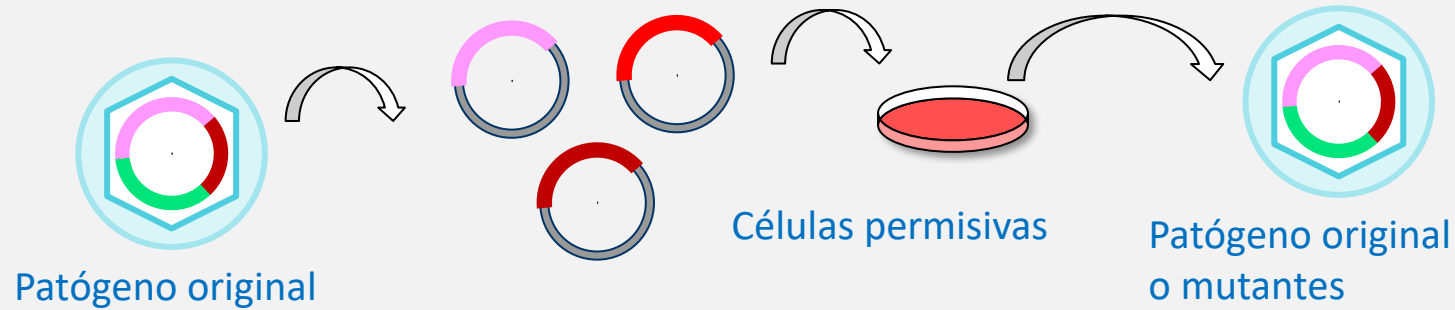
Ejemplos:

- 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 deleciones pequeñas y grandes (Antoine et al 1998)
- Dos cepas de la vacuna ILTV se recombinaron en ILTV patógena debido coinfección y la recuperación del material genético eliminado, de la otra cepa (Lee et al 2012)

Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Sistema de Genetica Inversa

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



Genoma del patógeno en un RGS=Posibilidad de manipulación

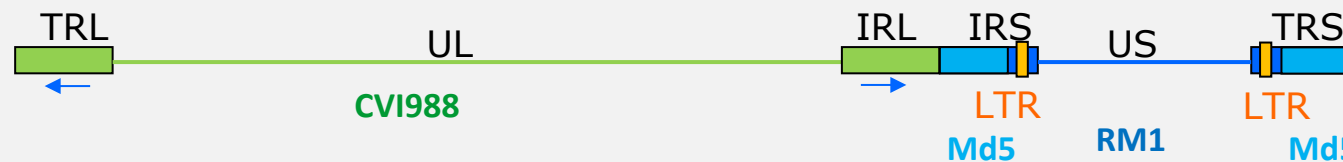
Secuencia estable: material estandarizado, por ejemplo, MDV Md5 BAC es idéntico en todos los laboratorios

Facilidad de manipulación: deleciones 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:



S. Spatz

Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

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



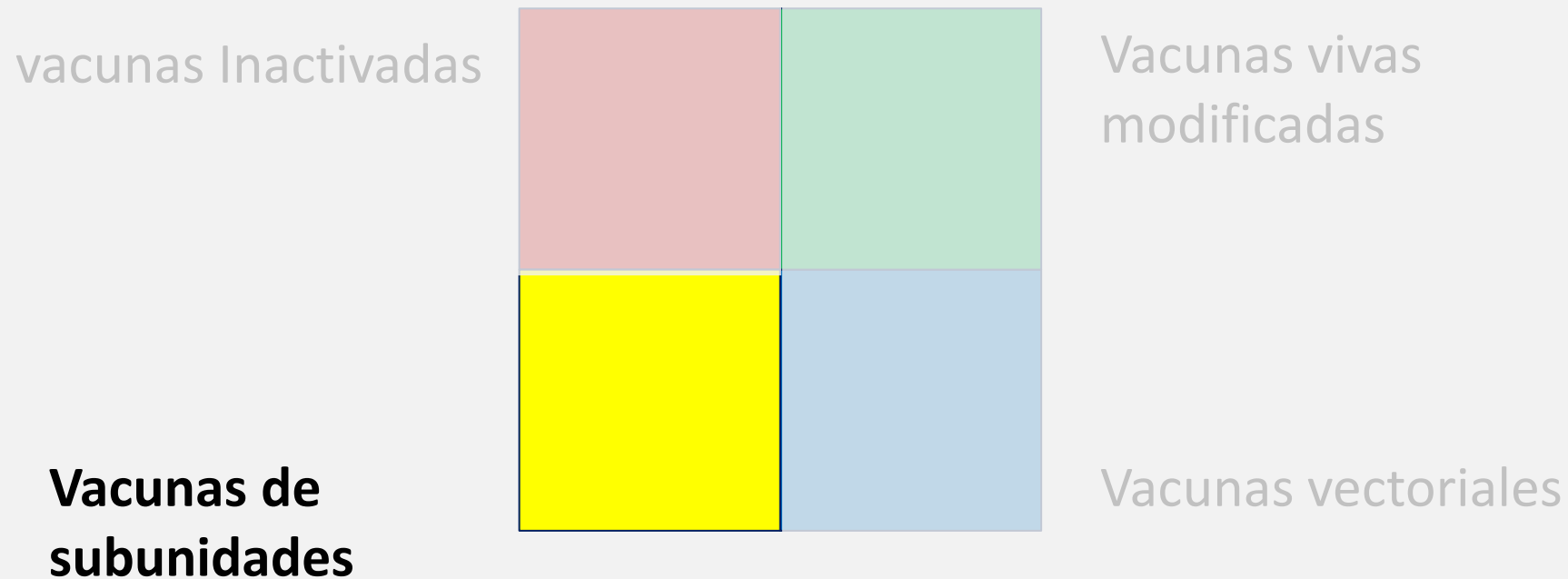
Tipos de vacunas: vacunas vivas modificadas

Los patógenos completos se atenúan:

- Cepas apatógenicas
 - 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

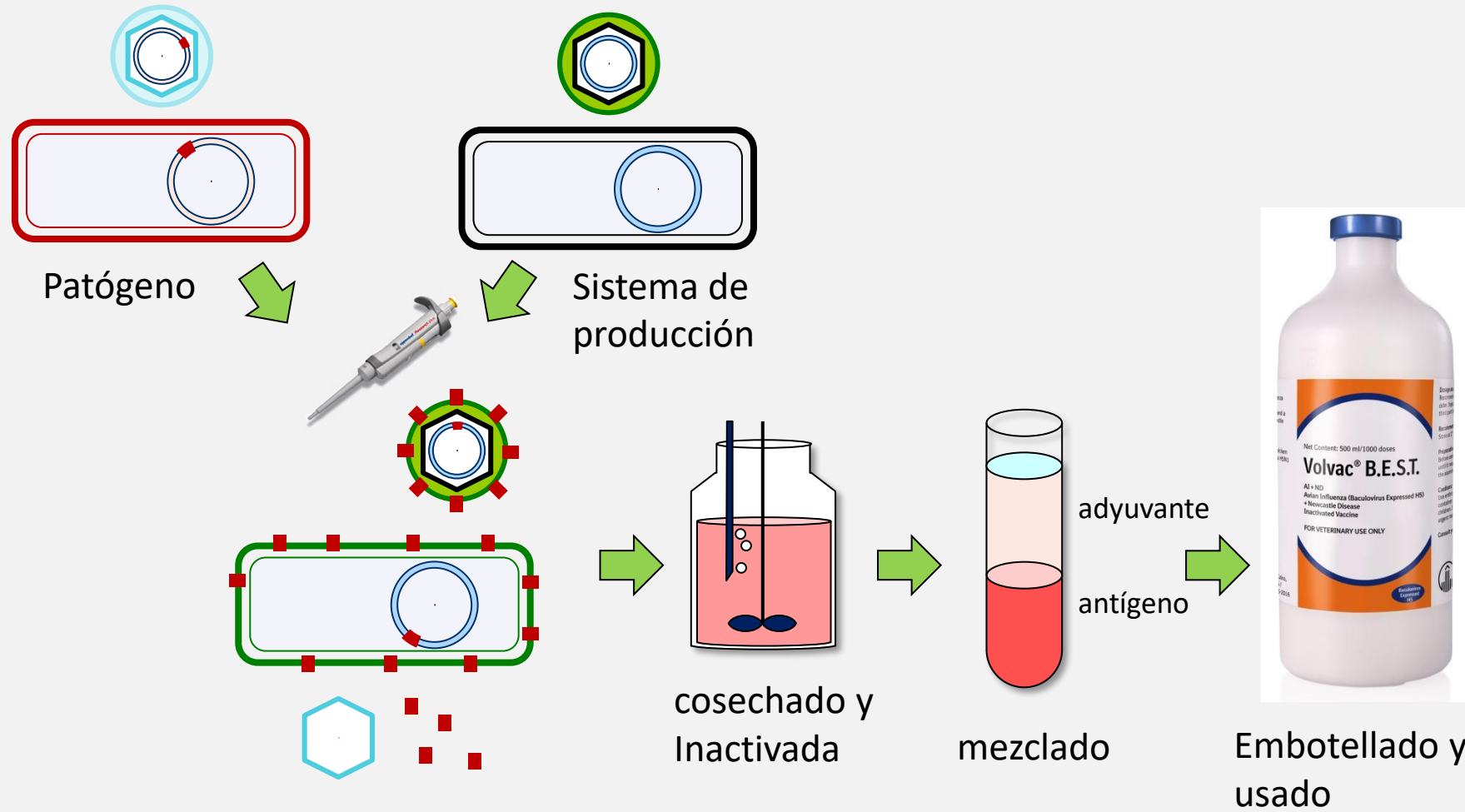
Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

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



Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

Los antígenos seleccionados se expresan:



Tipos de vacunas: vacunas de subunidades

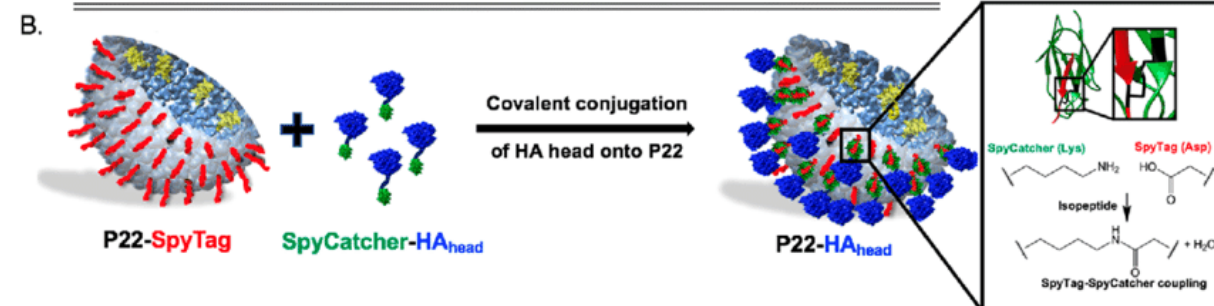
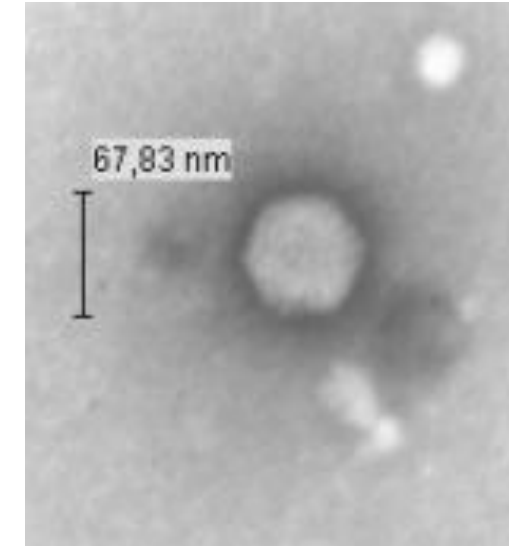
Diseño de antígenos

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 |

Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

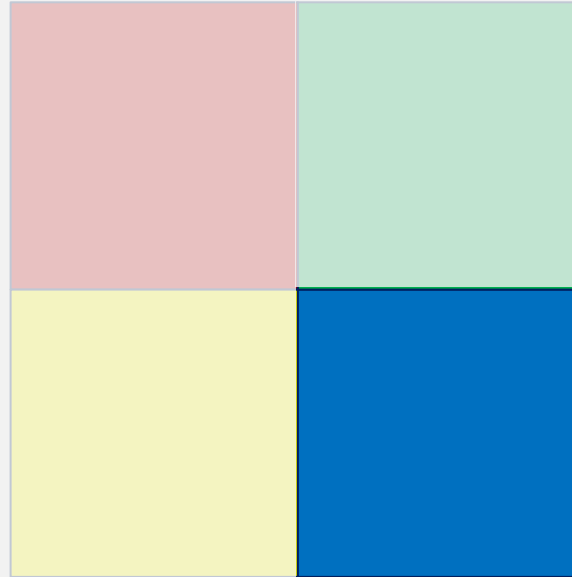
¿Cuáles son los principales tipos de vacunas que hay en el mercado?

vacunas Inactivadas

Vacunas vivas
modificadas

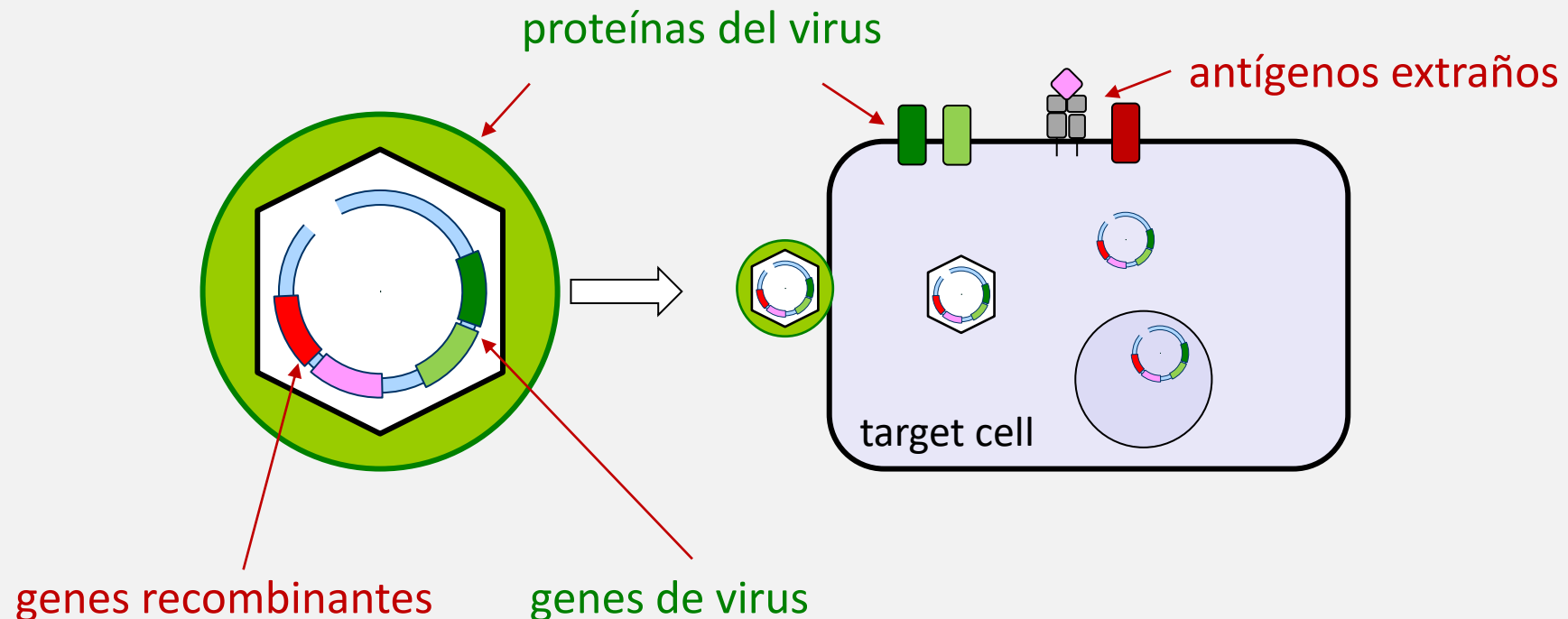
Vacunas de
subunidades

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

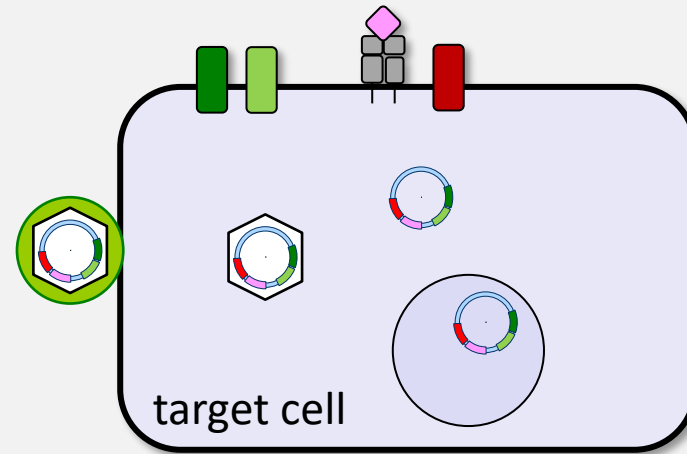
Ronda única de infección

sin diseminación

se necesita una dosis más alta

viruela canaria-FeLV

viruela canaria-rabia G



Replicación Competente

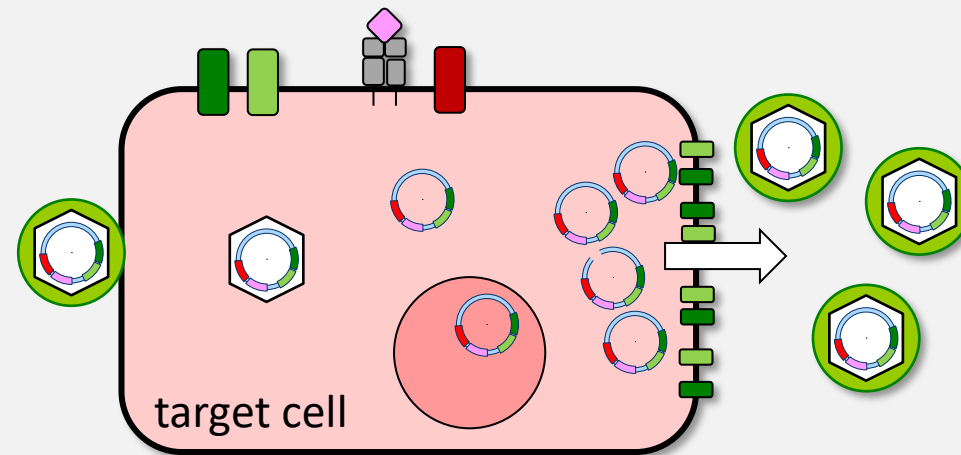
Múltiples rondas de infección por virus persistente

Shedding

dosis baja suficiente

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

viruela aviar-IA H5



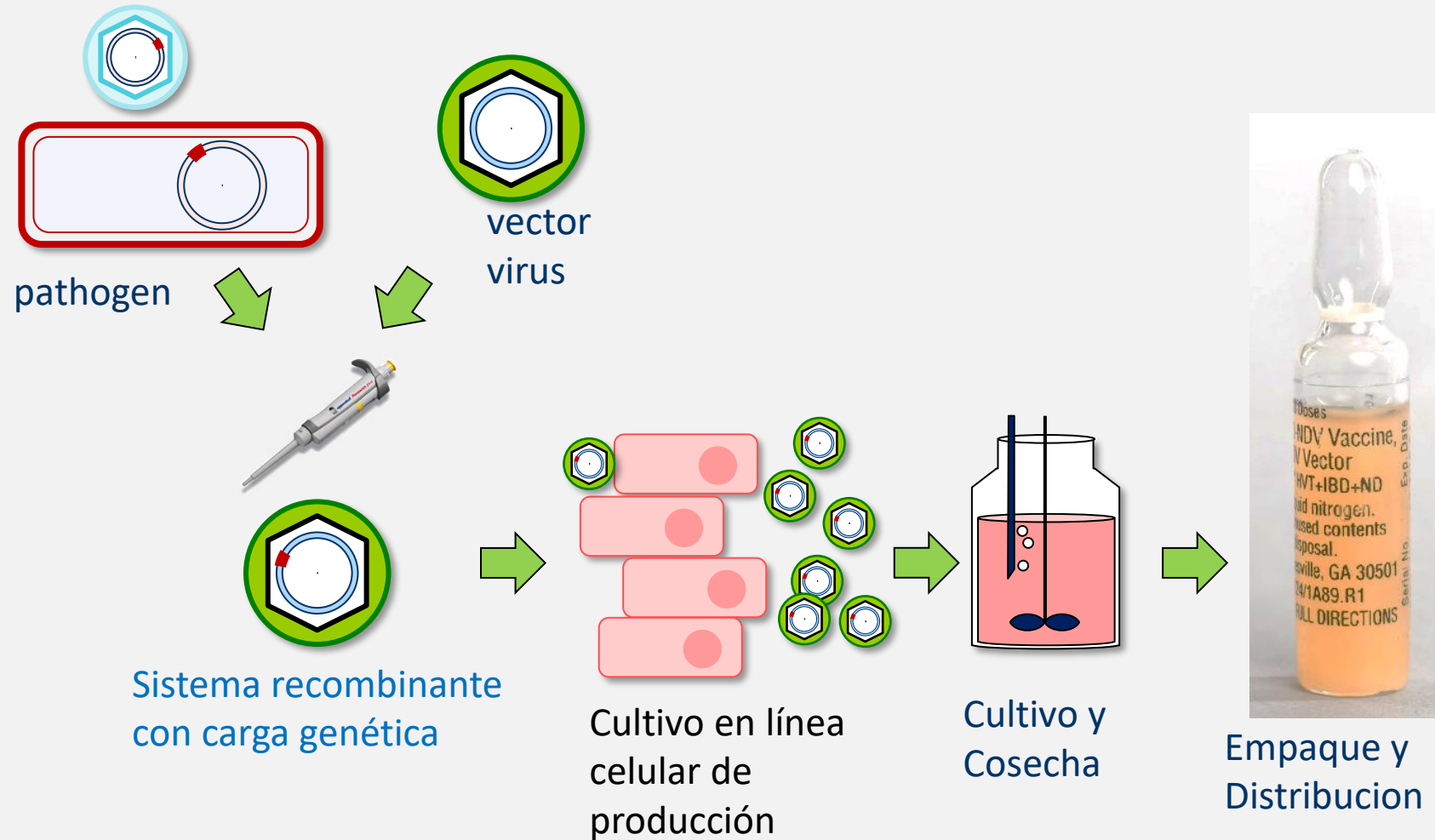
Tipos de vacunas: vacunas vectoriales

¿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 producción ↓)
7. Inducción de inmunidad de por vida, dependiendo del vector.
8. 8. Las vacunas vectoriales son bien toleradas (en comparación con KV).

Tipos de vacunas: Vacunas Vectoriales

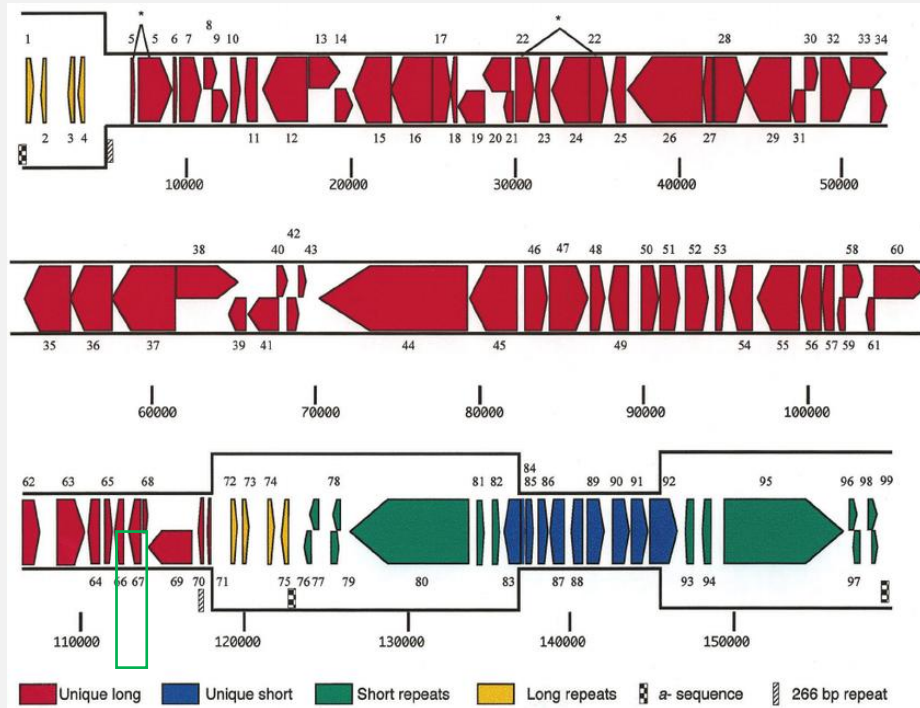
Los genes de antígenos seleccionados se insertan en el genoma del vector:



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:

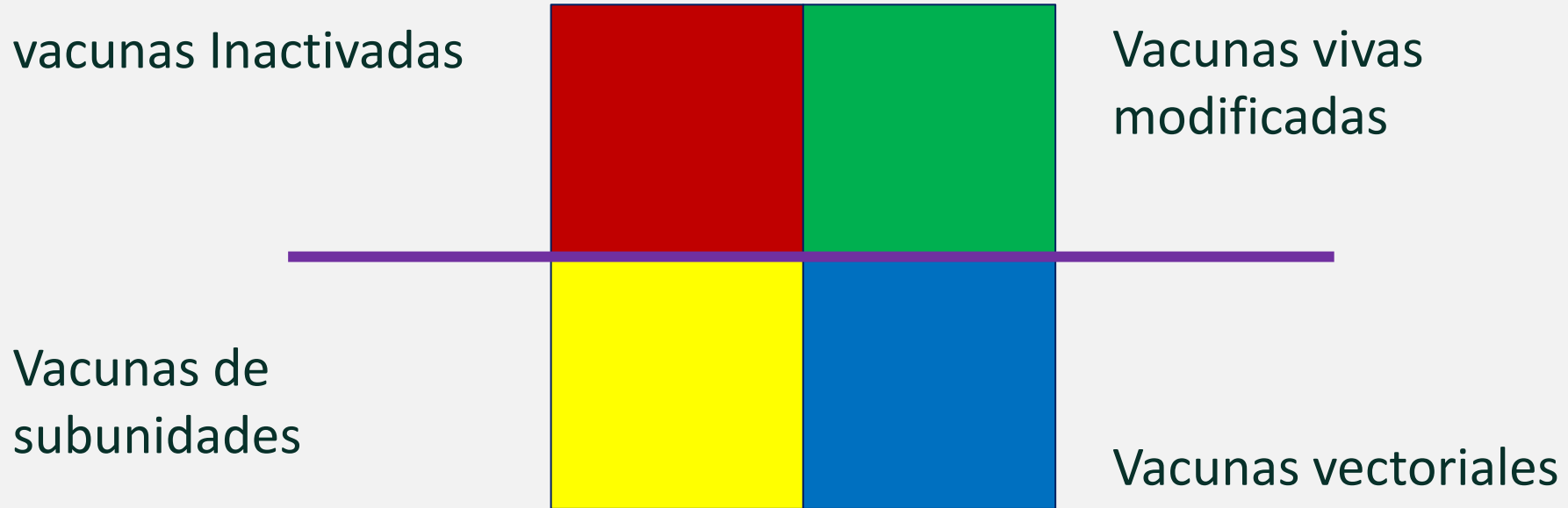
¿un casete con conector o dos casetes independientes?

Elección del promotor: fuerza vs estabilidad

Tipos de vacunas: una comparación

¿Cuáles son las principales diferencias?

muchos antígenos presentados, cepa necesaria



Se presentaron pocos antígenos, se necesita secuencia genética

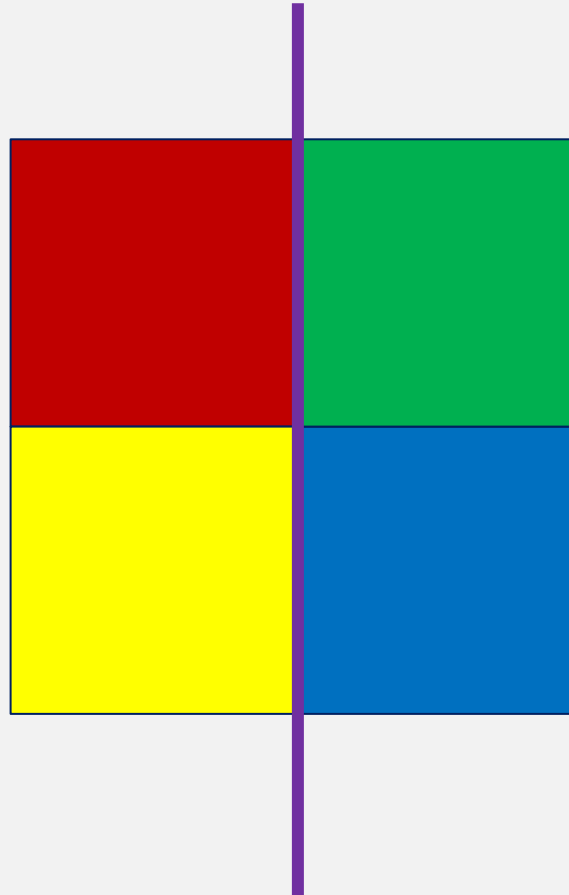
Tipos de vacunas: una comparación

¿Cuáles son las principales diferencias?

vacunas Inactivadas

adyuvante necesario,
inmune humoral
respuesta

Vacunas de
subunidades



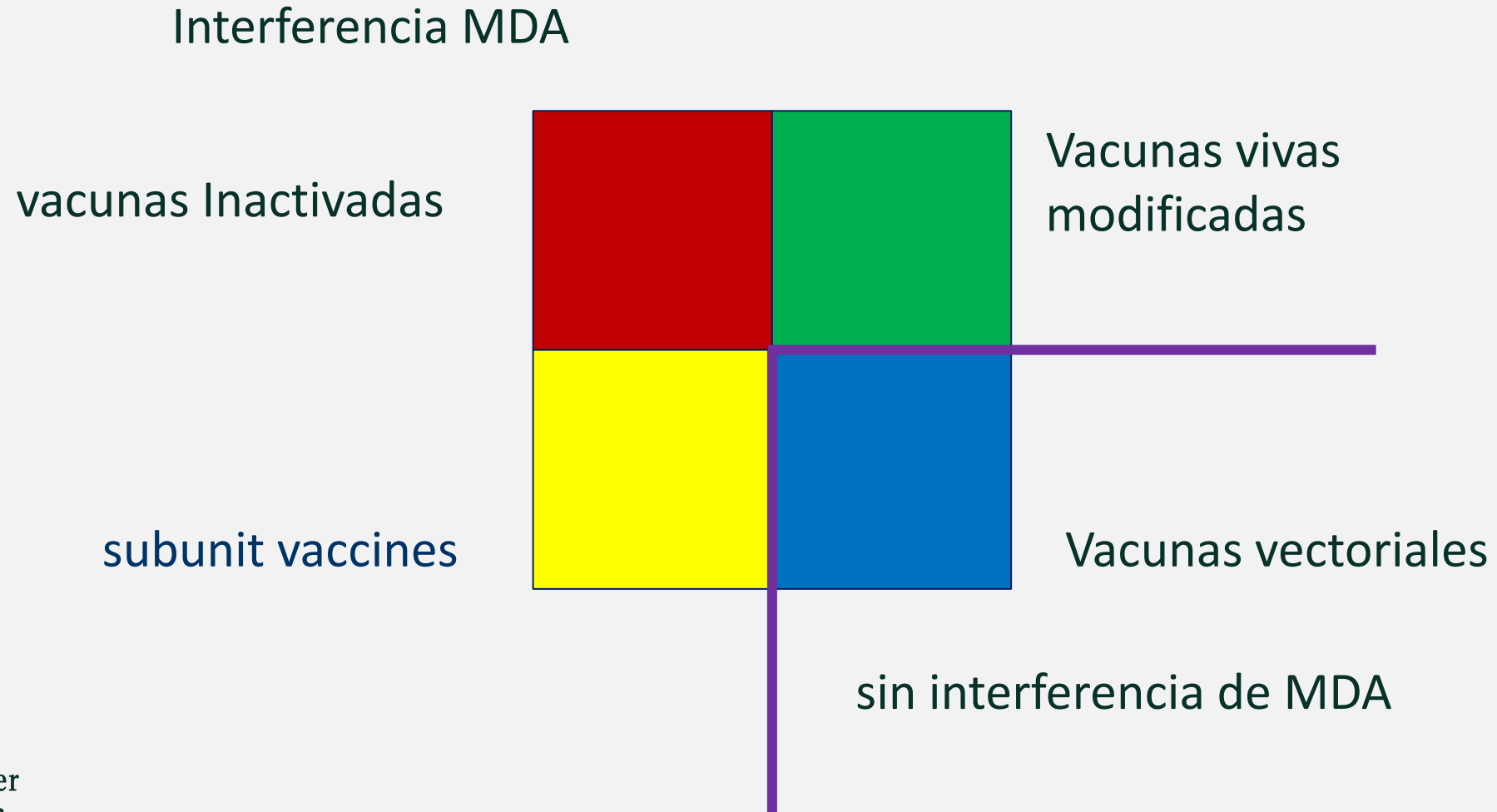
Vacunas vivas
modificadas

no se necesita
adyuvante,
Respuesta inmune
humoral y celular

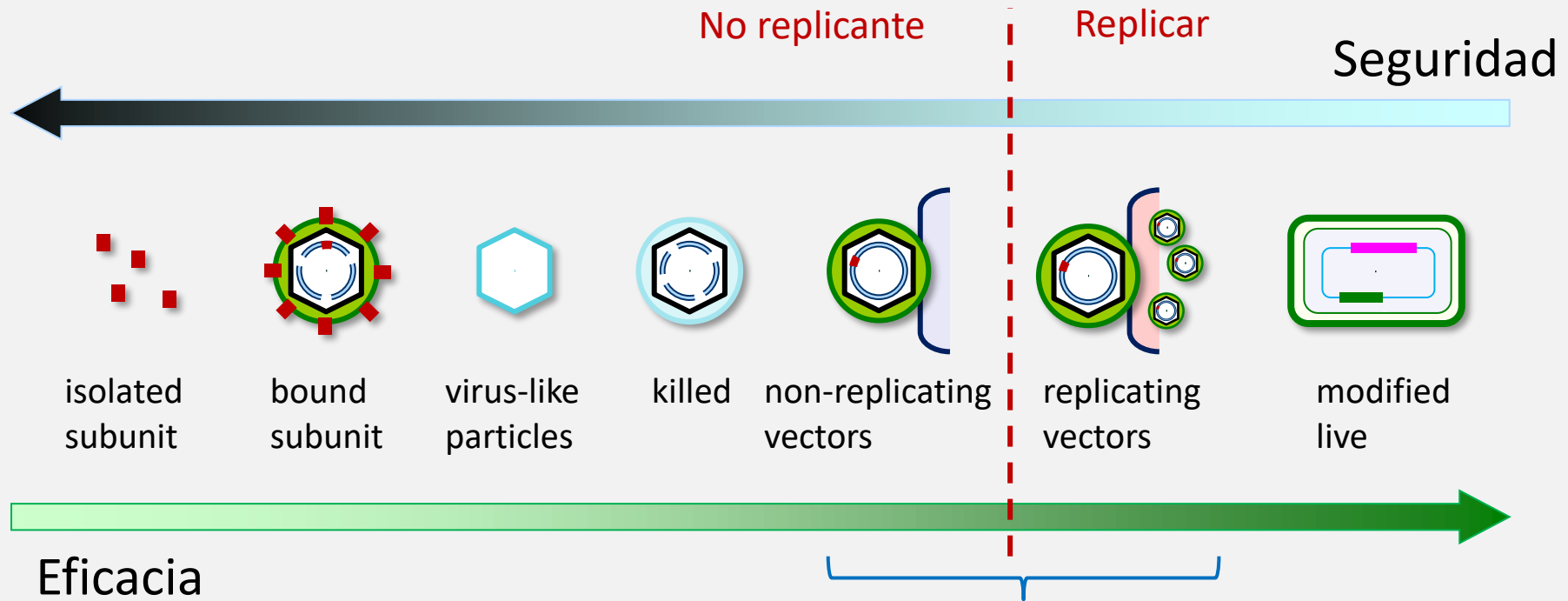
Vacunas vectoriales

Tipos de vacunas: una comparación

¿Cuáles son las principales diferencias?



Tipos de vacunas: conclusión



VAXXITEK® HVT+IBD+H5

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

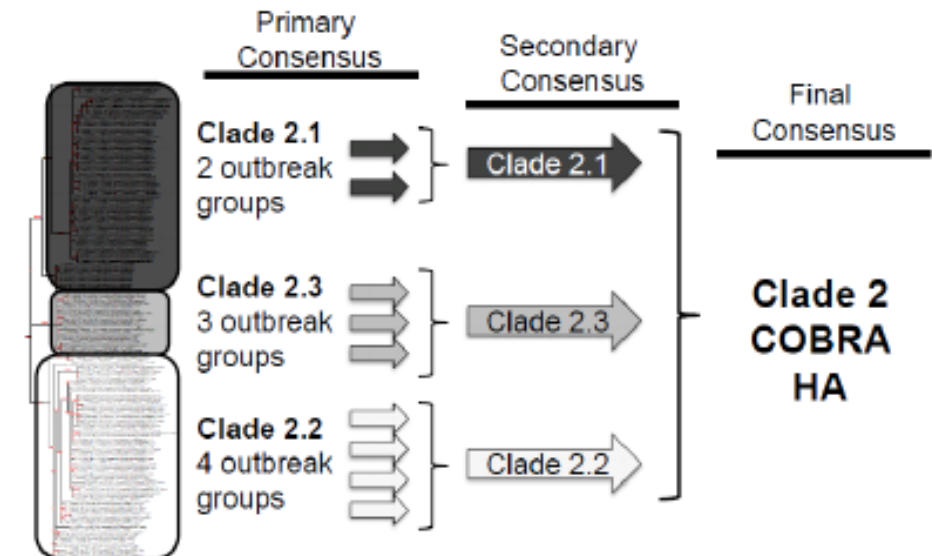


Antígeno ampliamente reactivo optimizado computacionalmente

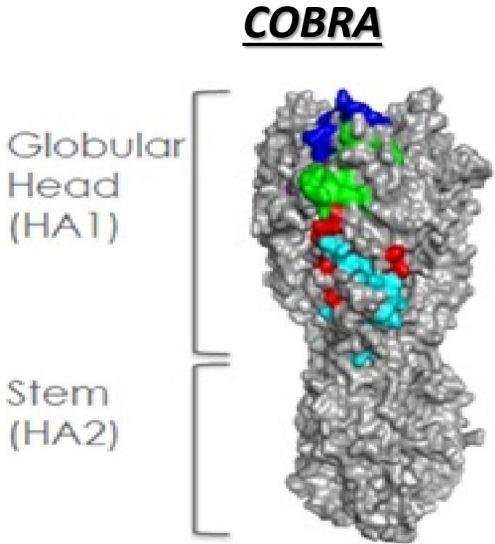
Alinear secuencias de aminoácidos de aislados del clado 2

Ensamblar 'layered consenso'

- Limitar el sesgo de muestreo
- Confirmar la presencia de epítomos 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	CLEVAGE	
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

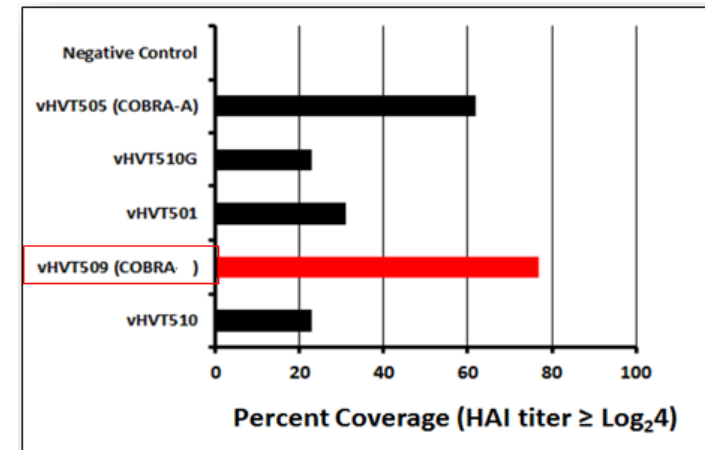
S – Serine
D – Aspartic Acid
N – Asparagine
K – Lysine
A – Alanine
M – Methionine
R – Arginine

RECOMBINANTES HVT-COBRA – PRUEBA HI DE REACCIÓN CRUZADA

Amplia gama de cladas (HAI $\geq \log_2 4$)

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



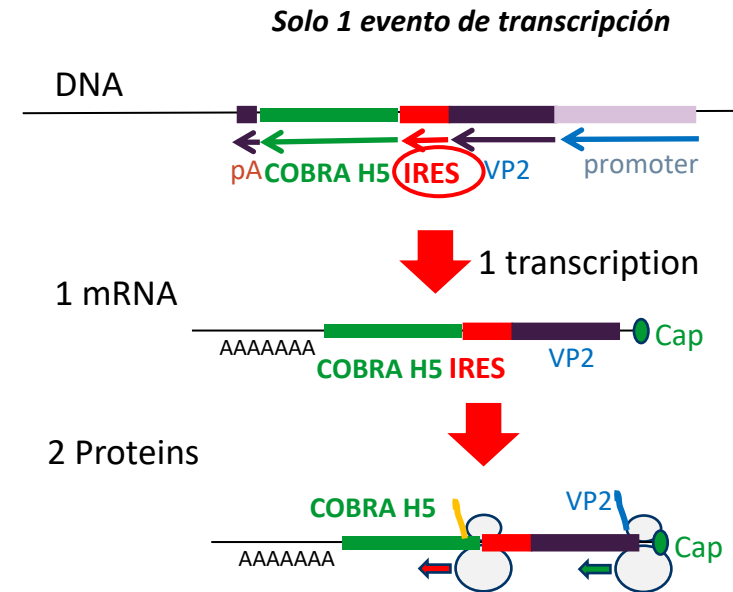
A/turkey/Minnesota/1282 (H5N2) [2.3.4.4]

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

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

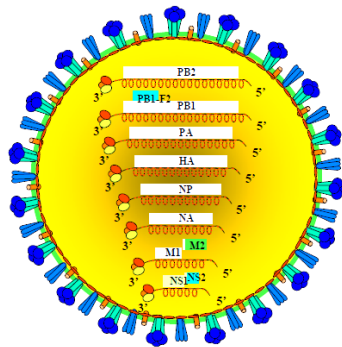
100% Protección

- 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.

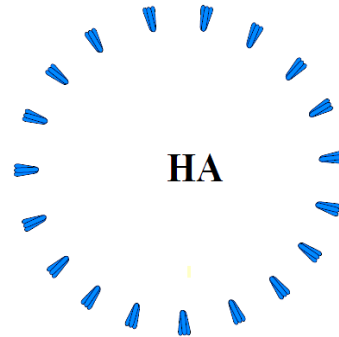


Vacunas avícolas ENFOQUE DIVA

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

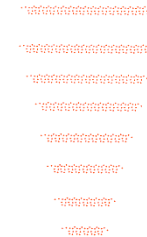


Después de la vacunación con HA (vacuna de vector o subunidad), el huésped desarrolla **solo anticuerpos HA**

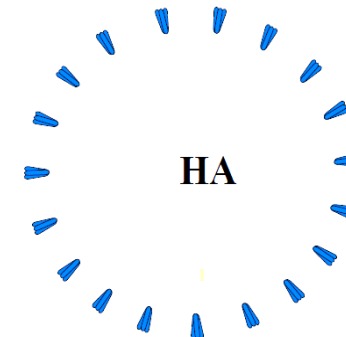


Después de la infección o la vacunación con el virus completo, el huésped desarrolla **una fuerte respuesta de anticuerpos contra el antígeno NP**

NP protein



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



MUCHAS GRACIAS!!!