

PRODUCCION DE BIOLOGICOS

Por: GUILLERMO PARRA L. DVM-MS

Director Científico de VECOL

2.-Entendemos por producto biológico a una preparación de laboratorio, que contiene antígenos, destinados para la inoculación en organismos, con el fin de estimular el desarrollo de inmunoglobulinas o anticuerpos específicos.

Usualmente las denominamos vacunas, pero es preciso definir los diferentes productos biológicos que existen.

Vacunas. Son preparados biológicos a base de bacterias vivas, virus vivos, o virus inactivos. (Cepa 19. Peste Porcina. Antiaftosa. Encefalomielitis Equina. New Castle. Bronquitis Infecciosa. Viruela, etc).

Esporovacunas. Son los preparados a base de esporos vivos y libres de formas vegetativas. (Esporovacuina contra el Carbón bacteriano).

Bacterinas. Preparados a base de bacterias inactivas, mantenidas íntegras en suspensión o como lisados. (Salmonellosis. Pasteurellosis).

Toxoides. Preparados a base de toxinas inactivas por acción del formol (Estafilotoxoides. Carbón Sintomático. Otros Clostridium. Difteria).

Agresinas. Preparados a base de extractos y filtrados de tejidos en las cuales se ha desarrollado una bacteria. Generalmente contienen toxinas y otros productos derivados del metabolismo bacteriano. Hoy día no se usan y han sido desplazados por otros métodos de producción.

Antígenos diagnósticos. Son preparaciones a base de virus o bacterias, generalmente inactivados, usados para reacciones in-vitro de antígeno anticuerpo. (Aglutinación (AG). Hemoaglutinación (HA). Inhibición de la hemoaglutinación (I H A). Fijación de Complemento (F.C) Inmunodifusión (I.D.) Anticuerpos fluorescentes (A F) etc.,) Tienen aplicación solamente desde el punto de vista diagnóstico de las enfermedades.

Sueros hiperinmunes. Se producen en animales por inoculación repetidas de virus, bacterias, toxinas y venenos. En el suero hay un alto nivel de anticuerpos y se usan con fines diagnósticos para el tratamiento de Enfermedades Infecciosas declaradas (Inmunidad adquirida pasiva) Peste Porcina. Rabia. Moquillo. Carbón bacteriano. Suero Antiofídico. Antitetánico, etc).

2.1 REQUERIMIENTOS PARA LA PRODUCCION DE VACUNAS A VIRUS

Además de disponer de instalaciones apropiadas, servicios y personal técnico especializado en el ramo, cuatro (4) aspectos son definitivos en la elaboración de vacunas inocuas e inmunogénicas: Cepas de producción, Procesos de producción, Formulación de las vacunas y Control de Calidad.

2.1.1 Cepas de producción.

Las vacunas elaboradas para inmunizar a los organismos contra las Virosis, se elaboran con cepas de virus vivos modificados, generalmente de referencia internacional o con virus patógenos propios de cada país. En ambos casos estudiados ampliamente desde el punto de vista de estabilidad, inocuidad y características inmunogénicas. El laboratorio productor de vacunas sólo deberá preocuparse porque estas cepas no sufran modificaciones, mantengan sus propiedades y se conserven libres de contaminantes bacterianos y virus extraños.

La mayoría de estas cepas se usan como vacunas vivas, otras como vacunas inactivas por acción de agentes físicos, químicos o combinación de los dos.

<u>Vacuna</u>	<u>Cepa de referencia.</u>	<u>Clase de Vacuna</u>
Encefalomielitis	Virus modificado Cepa TC 83	Viva.
Rinotraqueitis	Virus modificado	Viva.
Para influenza III.	Virus modificado	Viva.
New Castle	Virus modificado Cepa La Sota.	Viva.
New Castle	Virus modificado Cepa Asplin	Viva
Bronquitis Infecciosa	Virus modificado Tipo Massachusett	Viva
Bronquitis Infecciosa	Virus modificado Tipo Connecticut	Viva
Diftero Viruela	Virus modificado tipo paloma	Viva
Diftero viruela	Virus modificado Tipo gallina.	Viva.
Enf. Marek	Virus Herpes de pavo. HVT-F-126	Viva
Encefalomielitis Aviar	Virus sin modificar. Cepa Calnek	Viva.

Laringotraqueitis	Virus Modificado	Viva.
Fiebre Aftosa.	Virus virulento local.	Inactivada
Moquillo Canino	Virus modificado	Vivo
Peste Porcina	Virus modificado Cepa China.	Viva.

2.1.2 Procesos de Producción

No sólo es suficiente disponer de una buena Cepa para la producción de las vacunas, si el proceso de producción no asegura la integridad y calidad de las mismas.

En términos generales un proceso de producción comprende:

Semillas y Cultivos Industriales.

La obtención industrial de los antígenos se logra por multiplicación de semillas de virus muy bien controladas en un sustrato celular vivo, constituido por una generación de células uniformes, tejidos embrionarios o animales de laboratorio, altamente susceptibles al virus que se desea multiplicar.

Los cultivos de células son primarios, cuando no se replica su multiplicación sino por dos generaciones. Siempre es necesario partir del órgano que las origina (cerebro, embriones de pollo, riñón, testículo, etc), y someterlo a delicados procesamientos para lograr su separación y multiplicación.

Los cultivos en monoestrato o monocapa se preparan regularmente sobre la superficie de frascos o botellas rotantes y lo forman tapices celulares de morfología, propiedades metabólicas y susceptibilidad uniformes.

Son ejemplos de vacunas producidas en cultivos primarios los siguientes: Peste Porcina (Riñón de cerdo porcino), Rabia (Riñón de cerdo porcino), Merek (Fibroblastos de embrión de pollo), E.E.V. (Células de corazón de feto de curí), Aftosa (Células de Riñón de bovino), I.B.R. (Células de Riñón de Curí).

Hay cierto tipo de células (Línea Celular) que logra fijar su capacidad de reproducción in-vitro, pudiendo elementos de una generación multiplicarse indefinitivamente, sin cambiar sus propiedades metabólicas, de morfología o sensibilidad para los virus. Un cultivo de células se considera como línea, cuando durante 20 generaciones multiplica y reproduce, las propiedades de la célula madre que le dió origen.

LINEA VERO (Células de mono verde), LINEA PK-15 (Células Riñón porcino), LINEA B.H.K.21 (Células Riñón de Hamster joven).

Las líneas celulares se replican en monocapa como en el caso de los cultivos primarios o en suspensión a pequeña, mediana o gran escala. Los Fermentadores, equipos en donde se desarrollan los cultivos, cuentan con instrumentos para mantener bajo control, requerimientos de temperatura, agitación, Ph y necesidades de oxígeno gas carbónico, aire, etc.

Otro sistema de obtener antígenos sobre células vivas lo constituye la inoculación de tejidos embrionarios in vivo, tal como ocurre con la inoculación de los embriones de pollo S.P.F., según el virus puede multiplicarse en: la membrana corio alantoidea, cavidad alantoide, amnios, saco vitelino u órganos internos del embrión. Los virus que se modifican y multiplican en embriones de pollo se les denomina avianizados.

Son ejemplos de este tipo de producción de vacunas: Rabia, Encefalomiелitis Equina, Aftosa, Moquillo Canino. New Castle. Bronquitis Infecciosa. Viruela Aviar. Encefalomiелitis Aviar. Laringotrqueitis. Encefalomiелitis Equina Inactivada.

Finalmente hay vacunas, en donde la elaboración de los antígenos se consigue por la infección de animales. Los virus inoculados en pequeñas dosis, se propagan en el organismo animal y producen grandes cantidades de antígenos que se extrae de la sangre, durante la fase Virémica o de los órganos cuando su concentración es alta (cerebro y bazo, por ejemplo). Se denominan vacunas a virus lapnizados. Si los antígenos se han adaptado y multiplicado en el conejo. Cobayizado en el curi y murinizados en el ratón. La vacuna contra la Rabia por el método de Fuenzalida se produce en cerebro de ratón lactante, la de la Peste Porcina Cepa China, en el conejo.

Cualquiera que sea el sistema de producción de los antígenos es necesario, someterlos a un proceso de clarificación, para remover restos celulares, residuos protéicos, desechos metabólicos y medio no utilizado, presentes en los cultivos virales.

Lo anterior se logra por centrifugación, filtración y adsorción en hidróxido de aluminio.

Titulación de los antígenos y Concentración.

Consiste en determinar el número de partículas completas de virus que contiene una suspensión por unidad de volumen (1 ml.).

Se cuantifica en pruebas de titulación por inoculación de tejidos de células, embriones de pollo o animales de laboratorio. El contenido se calcula por el método de Reed y Muench y otros procedimientos. Se expresa en Dosis Infecciosa 50% (DI50%) Dosis Letal 50% (DL50%). Conocida la cantidad de virus existente en un cultivo, se determina el número de dosis que pueden prepararse.

Algunos cultivos de virus, pese a tener títulos altos, son malos inmunógenos, y requieren de concentración para suministrar más cantidad. Con la adición de sustancias como la Carboximetil celulosa, Polietilen Glicol o Gel de hidróxido de aluminio con remoción de sobrenadante, Se logra concentraciones de 10 a 1 ó más si fuere necesario.

Inactivación

Esta etapa es muy delicada e importante. Se aplica para las vacunas elaboradas con virus patógenos y que es necesario tratar con agentes químicos o físicos y en condiciones controladas de temperatura, tiempo y agitación, se destruye la parte del virus (RNA) responsable de producir la enfermedad, sin tocar con la envoltura protéica responsable de la inmunogenicidad.

Los antígenos con virus vivos modificados no requieren este tratamiento, por cuánto están exentos de capacidad para reproducir la enfermedad.

Preparación de las vacunas y conservación.

Elaborados los antígenos, conocida su concentración, controlada su esterilidad, pureza e inocuidad, se procede a adicionar los demás componentes de la vacuna como son: adyuvante, vehículo, indicaciones de pH, preservativos y a los que se liofilizan, estabilizador para liofilización. Todo lo anterior en las proporciones adecuadas para mantener dentro de la dosis las cantidades de antígeno y adyuvantes apropiados, suficientes para garantizar su capacidad inmunógena durante su conservación y vida útil que se ha fijado para cada vacuna.

Los biológicos se conservan mejor y por más tiempo cuando se desecan en frío y al vacío (Liofilización). Se usa particularmente para vacunas a virus vivo y es de amplio uso en la actualidad.

La Liofilización es delicada, según el procedimiento y estabilizadores empleados, la viabilidad de los antígenos puede ser afectada en forma insignificante o por el contrario inhabilitarlos como consecuencia de su inactivación.

Todos los biológicos deben conservarse en refrigeración y al abrigo de la luz. La mayoría entre 3° y 7°C., y unos pocos congelados, a -20°C (Encefalomiелitis Aviar) a -160°C., en Nitrógeno líquido (Vacuna contra la Enfermedad de Marek).

La refrigeración favorece la conservación, porque disminuye la actividad metabólica de los microorganismos vivos y porque frena la actividad degradante de los inactivantes sobre las proteínas antigénicas.

El efecto de la luz aunque es menos intenso también incide en la estabilidad y actividad de los antígenos, se evita con el uso de frascos de color ámbar o empaques de cartón.

2.1.3 Formulación de las vacunas.

El papel inmunizante de las vacunas depende de la composición de las mismas, que se rige a una fórmula de preparación, en la cual intervienen los distintos componentes en proporciones previamente establecidas, para que al ser inoculadas a un organismo inmuno competente y en condiciones favorables, desarrolle las inmunoglobulinas específicas contra los antígenos que contiene. Se dice que una vacuna es monovalente cuando contiene un tipo o subtipo de virus (Vacuna Antiaftosa Monovalente O) Bivalente cuando tiene dos (Vacuna Antiaftosa bivalente A O) Polivalente cuando tiene más de dos. Las vacunas combinadas llevan dos virus distintos: (Vacuna combinada New Castle. Bronquitis Infecciosa, Vacuna Rinotraqueitis. Para Influenza 3).

Las partes constituyentes de toda vacuna son:

Antígeno. Suspensión de virus en condiciones adecuadas (vivos o inactivados) y a concentraciones suficientes para generar anticuerpos.

Vale la pena aquí destacar las palabras del Dr. Pedro N. Acha de la O.P.S. que decía "El problema de las vacunas a virus vivo es que están muertos y el de las vacunas con virus muerto que están vivos."

En cuanto a la concentración de antígeno, se han establecido límites mínimos tanto para las inactivadas como para las vivas. Menciono algunos ejemplos: Rabia : La vacuna debe tener $10^{3.3}$ de DL50% por dosis. New Castle: La vacuna debe tener $10^{6.0}$ DI50% por ml. Bronquitis: La vacuna debe tener $10^{4.0}$ DI50% por ml. Peste Porcina: La vacuna debe tener $10^{3.0}$ DI50% por ml. Vacuna Marek: Una dosis debe tener de 1.000 - 1.500 U.F.P. Viruela: La vacuna debe tener $10^{4.0}$ DI50% por ml. Aftosa: Una dosis debe tener $10^{7.3}$ de unidades víricas. E.E.V: Una vacuna debe tener $10^{4.0}$ DI50% por ml.

Adyuvante. La potencia inmunogénica de las proteínas solubles (antígenos), es mayor cuando se inoculan asociados con adyuvantes, que cuando se inoculan diluidos en solución salina únicamente.

Los adyuvantes como el alumbre, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y otros, adsorben los antígenos solubles, los liberan lentamente, los mantienen por tiempo más prolongado en el organismo y hacen que la respuesta inmunitaria sea más duradera.

Probablemente los adyuvantes oleosos recientemente introducidos a la producción de los biológicos, sean los más adecuados, una vez se superen algunos inconvenientes que presentan.

Otras sustancia empleada como adyuvante es la Saponina, gracias a la acción irritante que posee

Los adyuvantes generalmente actúan:

- a). Retardando la destrucción de antígenos
- b) Prolongando su permanencia en los tejidos
- c) Probocando reacciones inflamatorias en el lugar de inoculación, ejerciendo papel importante en la formación de anticuerpos.

Concentraciones usadas: Hidróxido de aluminio entre el 20 y 30%. Oleoso en un 50%. Saponina entre 5 y 10 miligramos por dosis. DEAE-D entre 100 250 mg por dosis.

Inactivantes. Existen muchos agentes físicos y químicos que destruyen la actividad patógena de los virus sin alterar las fracciones protéicas, responsables de la inmunogenicidad. En relación a los inactivantes químicos tenemos los de primer orden: Beta Propio - lactona, Hidroxilamina, Glicilaldehído y Acetil etilen-imina (AEI), que actúan directamente sobre el RNA, sin lesionar la parte externa protéica. La curva de inactivación siempre es de tipo lineal y se conoce con exactitud el tiempo cuando todas las partículas víricas de la suspensión está totalmente inactivadas.

Los inactivantes de segundo orden, (formol), actúan indiferentemente sobre el RNA y la envoltura protéica. Siempre es dudosa porque se desconoce el estado de inactivación y la degradación del antígeno que produce. La concentración de formol (inactivante) puede estar por encima de la línea de inactivación y por tanto la vacuna no es inocua por el contrario, puede estar por debajo de ésta en perjuicio de la antigenicidad.

Entre los inactivantes físicos, se tiene el calor y la luz ultravioleta. Es también usado, la combinación de un agente físico (calor) con agentes químicos (formol , AEI).

Vehículo y Preservativos. El vehículo de una vacuna lo constituye el soporte en el cual están en suspensión los componentes. Puede ser solución salina o soluciones tamponadas, con agregados de glicerina, azúcares y proteínas para conservar mejor los antígenos.

Los preservativos, usados en pequeñas cantidades, evitan la contaminación con agentes bacterianos y hongos. Son muy usados los antibióticos (penicilina, Dihidroestreptomicina, Neomicina, Polimixina B, Nistatina y Anfotericina). Otras sustancias (Timersal) pueden usarse para algunos virus, pero en otros tiene papel degradante y esterilizante.

2.1.4 Control de Calidad.

Las Cepas, procesos y formulación de las vacunas, deberán ser controladas paso a paso, para asegurar su calidad.

Todo laboratorio de producción debe tener un Departamento interno de Control, con laboratorios y autonomía, encargado de velar por la : Calidad de materias primas, envases y

y empaques, procesos de producción, formulación y composición de las vacunas y especificaciones del producto terminado.

Materias Primas, Envases y Empaques.

El laboratorio de Control indica las especificaciones técnicas y características, para su uso en producción. No hay duda que trabajando con materias primas aprobadas desde el punto de vista físico-químico y biológico, se producen buenos antígenos y como consecuencia buenas vacunas.

Las materias primas de producción nacional, salvo contadas excepciones, ofrecen grados de pureza y especificaciones satisfactorias. En su mayoría son importadas, de Casas especializadas.

Además de la fuente de origen, selección y certificación de su calidad, es importante el almacenamiento y manejo, para evitar deterioro por humedad, luz, temperatura, aire, polvo y contaminación.

Los frascos y tapones elaborados con vidrio y caucho neutro, evitan alteraciones de las vacunas que en ellos se envasan. El vidrio ideal es el de tipo I-II-III, para inyectables y el caucho 100% de butilo. Vidrios y tapones de mala calidad, son atacados por los productos, liberan sustancias tóxicas, modifican el pH y deterioran la calidad inmunógena de las vacunas, durante el tiempo de su conservación.

Las cajas, etiquetas y folletos, deben indicar fielmente la literatura que se presentó a la oficina de registro de drogas de ICA, en el momento de solicitar el registro y autorización para producción y venta.

Controles de Proceso, Formulación y Composición.

Si bien el proceso de producción es constante, conviene verificar al término de cada operación la calidad que el producto ofrece. Son básicos los controles de: Especificidad para identificar el virus de trabajo. Esterilidad que comprueba la ausencia de contaminantes. La medición del pH y su corrección a los límites tolerados. El título, asegura rendimiento y cantidad de antígeno. El control de inocuidad constata la inactivación y descarta modificaciones producidas en los antígenos. La prueba de eficacia mide la antigenicidad de los cultivos.

Un proceso estrictamente controlado, permite al producto terminado superar los requerimientos de calidad fijados y como consecuencia su aplicación en los animales.

Control de Producto terminado.

Si bien la técnica de producción de la vacuna fué correcta, no asegura que la vacuna producida inmunice. El hecho que un lote ofrezca excelentes condiciones, no quiere decir que todas las partidas son lo mismo.

Es el momento definitivo, para autorizar o rechazar el producto, según supere o nó especificaciones establecidas por el laboratorio productor o exigidas por el Instituto Colombiano Agropecuario.

El dictamen se produce en base a los resultados de análisis físico-químicos y biológicos, comprobados mediante técnicas estandarizadas. Las pruebas Físico-químicas demuestran las condiciones que tienen las vacunas en este sentido y los ensayos biológicos eliminan el riesgo de presentación de reacciones patológicas en los animales inoculados y el grado de protección conferidos frente a los virus actuantes en el campo.

En las pruebas biológicas se aplican métodos directos cuando se utilizan animales de la especie para la cual está fabricada la vacuna (aves- bovinos - equinos etc). y los resultados se obtienen directamente sobre éstos.

Métodos Indirectos Relativos. Utilizando animales de la especie para la cual se prepara la vacuna. Los resultados se determinan por el estudio de anticuerpos en el suero (IS - ISP).

Métodos Indirectos Absolutos. Índice "C" (I.C.). Dosis infectante intraperitoneal 50% (DIP 50%), Dosis protectora intra-peritoneal 50% (DPIP 50%). Si los animales de prueba son diferentes de la especie para la cual se recomienda la vacuna.)cobayos, ratones, conejos, hamster, etc).

Controles a los que debe someterse una vacuna.

Especificidad del antígeno: Consiste en verificar que la vacuna contiene el virus y la cepa apropiada para la inmunización activa contra la Enfermedad. La identificación se hace por métodos serológicos: Fijación de complemento (Aftosa). Inhibición de la hemoaglutinación (Encefalomiélitis Equina), Hemoaglutinación (New Castle), Sero-neutralización (Bronquitis infecciosa). Anticuerpos fluorescentes (Rabia - Peste Porcina). También por inoculación de diferentes especies animales de laboratorio, o de una misma especie pero de distinta edad:(Encefalomiélitis Equina:).

Esterilidad. La vacuna debe estar libre de bacterias, hongos y otros virus contaminantes. Se demuestra por cultivos bacteriológicos negativos a gérmenes aerobios, anaerobios y microaerófilos. Virus extraños por inoculación de animales, reacciones serológicas y cultivos de tejidos negativos.

En algunas vacunas virales se acepta contaminación bacteriana cuando es baja, apatógena, no proteolítica o está inactivada.

Inocuidad. Sirve para demostrar que la vacuna está exenta de producir reacciones generales locales desfavorables y al contrario es bien tolerada por los animales vacunados.

Dependiendo de la susceptibilidad individual, vacunas a virus vivo, dan reacciones febriles, respiratorias, sin complicaciones que desaparecen a los pocos días. (New Castle, Bronquitis Infecciosa, Encefalomiélitis Equina). Los adyuvantes, (oleosos, Saponina y DEAE-D) en el sitio de inoculación producen reacciones inflamatorias regresivas.

Los efectos sobre el feto y producción de aborto que se han atribuido a la Vacuna de Fiebre Aftosa y Peste Porcina no se han podido definir si se deben a la propia vacuna o más bien al manipuleo de los animales en el curso de la vacunación.

Son posibles las reacciones alérgicas de tipo inmediato o retardado. Su frecuencia no es alta y

se generan por vacunas que requieren sucesivas aplicaciones durante la vida del animal. A medida que el número de vacunaciones aumenta, el grado de sensibilidad se hace mayor, hasta el momento que una próxima dosis se constituye en la desencadenante de la alergia o del Shock anafilático.

Las pruebas de inocuidad se realizan en especies mayores, animales de laboratorio y cultivo de tejidos.

Eficacia. Se mide la capacidad inmunogénica de una vacuna por pruebas de potencia, aplicando diferentes dosis en varios grupos de animales, o usando un solo grupo de animales que recibe una dosis igual a la que normalmente se usa en el campo.

Para cada vacuna se ha fijado un nivel de protección que oscila entre un 75% y 90%. Este se define por la relación que hay entre la protección frente al virus patógeno de descarga en animales vacunados con relación a la protección en animales testigos sin vacunar.

No hay vacuna en la práctica que proteja el 100% de los animales vacunados. Entre un 10 a 25% no se inmunizan por las razones expuestas atrás: individuo, edad, condiciones orgánicas y nutricionales, mala aplicación, animales en período de incubación de la enfermedad, infecciones durante el período de inmunización. etc.

Título de la vacuna. Se requiere para que la vacuna estimule un alto y persistente nivel de anticuerpos que contenga buena cantidad y calidad del antígeno. Esta se cuantifica por pruebas especiales de naturaleza físico-químicas (contenido protéico viral) o reacciones en animales de laboratorio, cultivo de células). Dosis infectante 50% (DI50%). Dosis letal 50% (DL50%). Dosis infectante cultivo de células (DTC50%). El título o contenido de antígeno deberá estar dentro del límite mínimo hasta su fecha de expiración. Se expresan en función de una dosis o por ml. de vacuna lista para su uso.

Control de pH.

El pH de la vacuna persigue en primer lugar favorecer la viabilidad de los antígenos, su estabilidad y en segundo término evitar reacciones inflamatorias y dolorosas en el sitio de inoculación.

El pH para vacunas oscila muy cercano a la neutralidad 7.0 con variaciones de + 0.2. Cuando es demasiado alcalino y muy ácido los antígenos se deterioran, inactivan y provocan reacciones locales serias.

Contenido de Inactivante y Adyuvante.

Por determinaciones químicas se valora el contenido de óxido de aluminio en el caso de Gel de hidróxido de aluminio. Saponina, Formol, A.E.I., etc. Las concentraciones de estas sustancias en ningún caso deberán presentar variaciones fuera de los límites establecidos.

Volúmen promedio.

Asegura que los envases presenten el número de dosis indicadas en el rótulo. Variaciones grandes, obligan el rechazo de lote en control.

Presentación de Empaques y Rotulado.

Finalmente para autorizar la entrada del producto al almacén y ordenar su comercialización se inspeccionan los empaques y rotulados.

El contenido de los envases deberá corresponder al indicado en el empaque y cuando se trate de productos liofilizados deberá llevar su diluyente adjunto.

El rotulado de etiquetas, cajas y literatura debe indicar: Nombre del producto, Nombre del Laboratorio productor, Composición del producto, Dosis y vías de aplicación, Número del lote, Registro I.C.A., Fecha de Expiración, Contenido Neto, Condiciones de conservación, Precauciones para su manejo.

En algunos países se exige para los productos que tienen vencimiento o requieren refrigeración, colocar en los empaques una franja de color. La fecha de expiración se determina siguiendo alguna de la pautas que a continuación relacionamos: 1) Fecha de Inactivación. 2) Fecha de prueba de potencia con resultados satisfactorios. 3) Fecha de titulación de la vacuna.

B I B L I O G R A F I A

Manual de Procedimientos para el Control de la Vacunas Antiaftosas.

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Serie de Manuales técnicos No. 2, 1974

Standar Requirement for Virus Vaccines. V-59, V 32, V-19, V-56, V-11, V-3, V-12, V-34, V-36, V-2, P-14, V-18, V-8, V-9, V-10. United States Department of Agriculture. Animal and Plant health inspections service. (1960-1973).

Conferencia internacional sobre vacunas contra la Encefalitis Equina Venezolana y otros virus. Maracay - Venezuela - O.P.S. 1974

M.J. SIMMS. Review and Bibliography Copiled. Inactivation of Foot and Mouth Disease Virus for the preparation of Vaccines. The Wellcome Research Laboratories. 1971.

SIMMS. M.J. Review and Bibliography copiled. The vaccinations of Pigs against Foot and Disease. The Wellcome Research Laboratories. 1971.

San Martín C y Otros. Encefalitis Equina Venezolana en Colombia. Centro Panamericano de Zoonosis. O.P.S. 1973.

De Cardona H. y Rubín R. Vacuna Liofilizada a virus vivo atenuado, contra la Encefalomiелitis Equina Venezolana. 7ª Congreso Panamericano de Me. Vet. 1973.

Methods for examining Poultry Biologics and for Identifying and Cuantifying Avian Pathogens. National Academy of Sciences. 1971.

Herbert W.J. Immunología Veterinaria. Editorial Acribia. 1972.

1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA INMUNITARIA.

Hay que tener presente que la vacunación no es sinónima de inmunidad. Cuando aplicamos vacuna a una población, estamos inoculando un potencial inmunogénico y para que los individuos se inmunicen deben estar en condiciones de aprovechar la vacuna inoculada.

Hay muchos factores que influyen en la inmunidad, entre los cuales son más importantes:

1.3.1 Factores de origen animal.

Especie. Los vertebrados son los únicos que desarrollan anticuerpos. En los mamíferos hay marcadas variaciones de capacidad de reacción frente a los antígenos, debido a diferentes grados de inmadurez de su sistema inmuno-competente y a diferencias de afinidad entre el antígeno y la especie. El cerdo es un buen ejemplo frente a la fiebre aftosa.

Raza. No está muy claro que la raza intervenga en la respuesta inmunitaria. Si bien hay ejemplos que pudieran demostrarlo, como sucede a veces en las razas especializadas con relación a las alvajes, se considera mejor, que la especialización de una raza conlleva simultáneamente, a una serie de manejo y explotación refinada, que pueden influir en el comportamiento inmunológico, probablemente con más significado que las mismas diferencias de raza.

Edad. Los animales jóvenes responden de manera menos franca y más tardía que los adultos en la formación de anticuerpos, frente a la inmunización activa por la aplicación de vacunas.

Entre las causas por las cuales existe baja y tardía respuesta inmunitaria en los jóvenes tenemos: alto nivel de inmunoglobulinas transferidas por vía placentaria de la madre inmune al hijo, durante la vida uterina.

En los rumiantes y suinos, la transferencia de anticuerpos (Ig G1) se hace por la leche calostrá. Se hallan en alta concentración cuando proceden de madres inmunizadas.

La cantidad de anticuerpos transferidos es importante. No sólo protegen al recién nacido en la primera semana de vida contra los agentes infecciosos, sino también neutralizan cualquier estímulo antigénico vacunal que se aplique en este período.

La inmadurez inmunológica del organismo joven, por poseer su sistema inmunocompetente poco desarrollado y la dificultad que estos tienen de reconocer los antígenos como sustancias extrañas, también influyen en la pereza inmunitaria.

Individuos. Dentro de una raza, especie o población, tenemos individuos genotípicamente diferentes, que reaccionan desfavorablemente desde el punto de vista inmunológico.

La selección genética se está aprovechando para crear líneas resistentes a determinadas enfermedades o individuos con una alta capacidad para aprovechar totalmente el potencial inmunológico de un antígeno. Son buenos ejemplos los avances en este sentido logrados en avicultura, para obtener aves resistentes a la enfermedad de Ma rek, más productivas y de mejores índices de conversión de alimentos.

Estado Sanitario. La desnutrición no interfiere con la eliminación de los anticuerpos existentes, pero sí influye en la nueva producción. Las dietas pobres en Vitaminas aminoácidos, padecimientos hepáticos, esplénicos, intestinales, parasitismo, y en general enfermedades agudas o crónicas, hacen que la respuestas inmunitaria sea desfavorable, ante los intentos de inmunización activa que nos proponemos por vacunación.

El tipo de explotación, las técnicas de manejo, así como los estados de tensión, cansancio por trabajo y variaciones climatológicas, traen efectos negativos en la síntesis de anticuerpos.

1.2.3. Factores de origen antigénico (Vacuna)

Calidad de antígeno.

Los antígenos para que estimulen adecuadamente anticuerpos deben presentar óptimas condiciones durante toda la fase de procesamiento: producción de vacunas, conservación y aplicación. Puede ocurrir que los antígenos durante las etapas de fabricación sufren modificaciones, se desarrollen deficientemente o se degraden, dando lugar a virus incompletos, que estimularán la formación de anticuerpos inespecíficos y como consecuencia inmunidad deficiente. En otras ocasiones son antígenos no inmunogénicos y como tales, ineptos para generar anticuerpos.

Tamaño de antígenos.

Los antígenos pequeños en general son de constitución simple, determinando mayor dificultad para que sean reconocidos por el individuo inoculado y como consecuencia son menos inmunógenos.

Dosis de antígeno.

Cuando se aplican pequeñas cantidades de antígeno, se estimula solamente la producción de IgM, las cuales no llegan al 10% de las inmunoglobulinas totales del

suero, son más sensibles a los agentes físico-químicos que las IgG y desaparecen con facilidad en corto tiempo.

Se requieren grandes dosis de antígeno para el estímulo de la formación de inmunoglobulina IgG. Son los anticuerpos protectores por excelencia, aparecen tardíamente después de las IgM, constituyen casi el 90% de las inmunoglobulinas del suero y persisten por mucho tiempo en el organismo en función de su protección.

En algunas enfermedades se requiere cerca de 50 veces más antígeno para originar la formación de IgG que el necesario para el estímulo de las IgM.

Es importante entonces, en cuanto a dosis de antígeno, aplicar cantidades que sobrepasen las dosis mínimas, que estimulen la producción de IgG.

1.3.3. Vías de inoculación.

Con la inoculación por vía subcutánea o intramuscular se logran altos niveles de anticuerpos en el suero, pero baja formación de anticuerpos locales. La inoculación por aerosol consiguen proporciones iguales en el suero, secreciones y excreciones.

1.3.4 Inmunidad adquirida por la Enfermedad.

El padecimiento de la enfermedad induce a grandes niveles de anticuerpos o inmunidad mejor que la producida por vacunación. La aplicación de vacuna poco después de sufrir la enfermedad, es no solamente innecesaria, sino por el contrario perjudicial. Los antígenos (vacunas) inoculadas son bloqueados por anticuerpos formados después de la enfermedad, significando ésto neutralización de anticuerpos, con efectos sobre el estado inmunitario del organismo.

1.3.5 Adyuvantes.

La actividad antigénica se potencia con el empleo de los adyuvantes e inmunizan mejor que cuando se inoculan vehiculizados solamente en solución salina. Sobre esto hablaremos más adelante al estudiar la formulación de vacunas.

1.3.6 Agentes Inmunosupresores.

Existen sustancias que bloquean las respuestas inmunitarias tales como: las purinas, pirimidinas, ácido fólico, rayos X, corticoesteroides, cloramfenicol, actinomicina D, etc. Animales que estén bajo la acción de éstos, no deben ser sometidos a tratamiento de inmunización.

1.3.7 Suero vacunación.

La práctica de vacunación simultánea con sueros hiperinmunes (Peste Porcina) tiene tal vez más desventajas que beneficios. Puede ocurrir que la dosis de suero sea alta y produzca bloqueo del antígeno vacunal, no consiguiendo el efecto inmunizante buscado o al contrario ser la dosis muy baja, permitiendo al antígeno vacunal reproducir

la patogenicidad latente que posee, desencadenando la enfermedad.

1.3.8

Combinación de inmunógenos

En la práctica muchas veces es conveniente combinar vacunaciones o aplicar vacunas combinadas y polivalentes. Es necesario sin embargo, tener en cuenta: estado de los animales, importancia de las enfermedades, tipos de vacunas usadas y características de los antígenos inmunizantes.