

## **Autovacunas con Liposomas: un nuevo concepto de prevención.**

*Rafael Baselga e Iñaki Albizu (EXOPOL, exopol@exopol.com)*

Las autovacunas se elaboran específicamente para una explotación ganadera y para un número limitado de animales. Su razón de ser se basa en la existencia de diferentes “cepas” y “serotipos” de bacterias que, ocasionando la misma enfermedad, pueden ser diferentes de una a otra explotación.

Las autovacunas proporcionan una solución rápida a problemas menores o a patologías nuevas. Su utilización limita el uso de antibióticos y, por ello, disminuye el coste de los tratamientos, evita la aparición de resistencias y elimina los residuos en las canales.

Las autovacunas se utilizan cuando no existen otros productos autorizados y siempre se fabrican bajo prescripción veterinaria. En algunos países, como EEUU, se elaboran autovacunas frente a virus, pero en la Unión Europea tan sólo se permite su elaboración frente a bacterias.

**Autovacunas clásicas: bacterinas.** La mayoría de las vacunas bacterianas comerciales y, en general, todas las autovacunas disponibles en el mercado, consisten fundamentalmente en un elevado número de bacterias inactivadas resuspendidas en un adyuvante. Para su elaboración, basta con multiplicar la bacteria en un medio adecuado, inactivarla (por calor, ultrasonidos, etc.), separar los cuerpos bacterianos y mezclarlos finalmente con el adyuvante oleoso o con hidróxido de aluminio. En algunos procesos (colibacilosis, salmonelosis, etc.), estas autovacunas han demostrado su eficacia a lo largo de los años. Sin embargo, se sabe que la respuesta inmunitaria del animal vacunado no siempre es óptima ya que se produce frente a la totalidad del cuerpo bacteriano de una forma algo inespecífica y que la presencia de cuerpos bacterianos enteros puede inducir, en ocasiones, la aparición de reacciones secundarias en los animales, lo cual es especialmente preocupante en hembras gestantes.

**Autovacunas liposomadas: nuevos conceptos.** Por el contrario, las autovacunas liposomadas no contienen los cuerpos de la bacteria, ni las toxinas. En su elaboración se separa y purifica únicamente la fracción antigénica más importante de la bacteria que son los exopolisacáridos capsulares.

En un símil, cada “serotipo” y “cepa” bacteriana tienen un “abrigo” que las distingue exteriormente del resto de su especie, es el exopolisacárido capsular. Este es el antígeno elegido para introducir dentro de los liposomas. De igual manera, es éste el antígeno que se utiliza para proteger a los niños frente a las meningitis producidas por *Haemophilus* o *Streptococcus*.

Para conseguir que el exopolisacárido estimule el sistema inmunitario del animal es necesario utilizar un transportador. En medicina humana, concretamente en la vacunación de meningitis de niños, se utilizan “proteínas transportadoras” que llevan el exopolisacárido hasta el sistema inmune. El método es muy eficaz pero muy costoso.

La alternativa utilizada en estas autovacunas es el uso de liposomas, pequeñas esferas huecas constituidas por ácidos grasos, que se rellenan del exopolisacárido.

Además de una adecuación total al problema de la explotación, las autovacunas liposomadas se caracterizan por una respuesta inmunitaria dirigida frente al exopolisacárido capsular que rodea la bacteria. Al estar el antígeno protegido por los liposomas, no produce interferencias con los anticuerpos maternos y, al estar purificado, produce muchos menos efectos secundarios.

## **Especies bacterianas productoras de antígenos capsulares.**

En general todas las bacterias producen antígenos capsulares. Entre las que afectan a los conejos se encuentran las siguientes:

Escherichia coli.  
Mycoplasma pulmonis.  
Pasteurella multocida y haemolytica.  
Bordetella bronchiseptica  
Salmonella spp.  
Staphylococcus aureus, etc.,  
Klebsiella pneumoniae,  
Pseudomonas aeruginosa,

## **¿Adyuvantes oleosos o Hidróxido de Aluminio ?**

Para favorecer la respuesta inmunitaria se utilizan frecuentemente adyuvantes oleosos. En general, su eficacia está ampliamente probada, pero las reacciones en el punto de inoculación (granulomas, úlceras, etc.,) y generales (fiebre) son bastante frecuentes.

Por todas estas razones, en medicina humana se permite exclusivamente el uso del Hidróxido de Aluminio como adyuvante y éste es el seleccionado para la elaboración de las autovacunas liposomadas. En ellas, la inmunopotenciación conseguida por la combinación de exopolisacáridos y liposomas hace innecesaria el uso de adyuvantes oleosos.

## **Autovacunas: prevención "a medida"**

Elaborar una autovacuna exige hacer un diagnóstico previo del problema, lo cual nos asegura que efectivamente la autovacuna se elabora frente a *el problema real*. Por ejemplo, en una autovacuna para problemas respiratorios es fundamental distinguir si el problema está causado por Pasteurella multocida, haemolytica, Staphylococcus aureus o incluso Salmonella. Además es importante conocer si Bordetella y Mycoplasma también están presentes. *Por esta razón la adaptación de la autovacuna a cada explotación es absoluta.*

Por otro lado, *el número de serotipos diferentes es muy importante*. Por ejemplo, en el caso de la Salmonella hablamos de centenares, en Pasteurella multocida de más de 16 y de más de 20 en Staphylococcus aureus, etc. Generalmente son sólo unos pocos serotipos los responsables de la mayoría de los procesos clínicos y estos son los serotipos introducidos en las vacunas comerciales. Sin embargo, muchas veces la enfermedad está producida por otros serotipos diferentes y, en estos casos, las ventajas de las autovacunas son obvias.

Para explicar como se elabora una autovacuna liposomada podemos seguir un caso concreto, como la aparición de meningitis en un destete de lechones.

## **Pasos para la elaboración de Autovacuna liposomada frente a Pasteurella multocida y Mycoplasma pulmonis.**

### **1.-Diagnóstico**

En este caso el laboratorio recomienda enviar algunos animales con síntomas claros de la enfermedad. Si los animales están muy tratados podemos tener dificultad para aislar la bacteria y el Mycoplasma responsables, por lo que es recomendable disponer de animales no tratados.

En la mayoría de los problemas respiratorios también está implicado un Mycoplasma. En general, nuestra recomendación es de incluirlo siempre que se aisle en las autovacunas.

### **Aislamiento y conservación de la cepa**

La bacteria responsable se aísla en los medios de laboratorio adecuados. Una vez aislado en pureza el patógeno responsable hay que identificarlo mediante una serie de pruebas bioquímicas. Para elaborar una autovacuna es fundamental que el patógeno esté perfectamente identificado y conservado.

La bacteria aislada de cada caso se conserva perfectamente identificada durante al menos 5 años en las instalaciones del laboratorio. De este modo, en cualquier momento la cepa se puede descongelar para la elaboración de una autovacuna.

### **Solicitud de la autovacuna, protocolo vacunal**

Como cualquier otro medicamento, sólo un veterinario puede solicitar la elaboración de una autovacuna, siempre en pequeñas cantidades y dirigida, exclusivamente, a una explotación.

Conocer el protocolo vacunal es importante para solicitar el número de dosis que se necesita y hacer una programación. Aunque un laboratorio especializado atiende pedidos tan pequeños como 100 dosis, la elaboración de una autovacuna siempre se demora unos pocos días. En nuestro ejemplo y disponiendo de la cepa ya aislada, un pedido se puede elaborar en 15 días.

Con problemas producidos por Pasteurela y Mycoplasma el protocolo vacunal recomendado es el siguiente:

- 1.- Vacunar y revacunar reproductores con 15-21 días de intervalo.
- 2.- Vacunar y revacunar la reposición con 15-21 días de intervalo. Los mejores resultados se obtiene vacunando a las conejas destinadas para reposición a los 3 y 20 días de vida.
- 3.- Poner una dosis de recuerdo aproximadamente cada 6 meses, en palpación positiva. Si no es posible, vacunar todos los reproductores a la palpación positiva.

### **Elaboración de la autovacuna.**

La cepa aislada del problema se multiplica en los volúmenes adecuados para producir la cantidad de antígeno necesaria, por ejemplo 10 ml de medio de cultivo para elaborar cada dosis de autovacuna. Las bacterias se inactivan con formol después de 18-24 horas de multiplicación.

Así, a partir de unas pocas bacterias obtenemos miles de millones. Sin embargo, además de las bacterias, también tenemos un caldo de cultivo con proteínas, metabolitos, sales, etc., que hay que eliminar. Como hemos explicado anteriormente, en las vacunas liposomadas se procede a la purificación del antígeno capsular (exopolisacárido).

Paralelamente se procede a la elaboración de los liposomas que utilizamos como inmunomoduladores, y a la introducción del exopolisacárido capsular purificado en su interior. Con esta presentación se consigue inducir una respuesta inmune protectora frente al exopolisacárido capsular.

En el último paso se liofiliza la suspensión final. La autovacuna liofilizada tiene un periodo de conservación de un año en un lugar fresco y protegido de la luz.

## **Controles de calidad**

Durante el proceso de fabricación se procede a realizar varios controles de calidad.

-Debemos asegurarnos que las bacterias aisladas son identificadas correctamente, como *Pasteurella multocida* y *Mycoplasma pulmonis*.

-Cuando multiplicamos las bacterias en grandes volúmenes, tenemos que asegurarnos de que tenemos dos cultivos puro de *Pasteurella multocida* y de *Mycoplasma pulmonis*.

-En varias partes del proceso hay que estar seguros de que los cultivos han sido totalmente inactivados y de que en el producto final no existe ningún tipo de contaminación bacteriana o fúngica.