

Eficacia de la vacuna contra el virus de la lengua azul (VLA) explicada con principios básicos de inmunología

Por Alfonso Martín-Fontecha, Ph.D. en Inmunología. Grupo I+D Biológicos de SYVA



No.2 LA VACUNACIÓN PREVENTIVA CONTRA EL VLA Y LA EHE NO ES UN LUJO — ES UNA NECESIDAD ESTRATÉGICA



Resumen

La lengua azul es una enfermedad de rumiantes, transmitida por artrópodos y distribuida mundialmente, que se transmite durante la alimentación hematófaga por algunas especies de jejenes del género *Culicoides*. La infección por el virus de la lengua azul (VLA) causa una grave morbilidad y mortalidad en ovejas y ganado vacuno. El genoma del VLA está compuesto por diez segmentos de ARN bicatenario que codifican siete proteínas estructurales (VP1-VP7) y cuatro no estructurales (NS1-NS4). Se clasifica en 27 serotipos según las características genéticas y antigénicas de la proteína neutralizante VP2. La proteína VP7 es un determinante principal de la especificidad del serogrupo, y la mayoría de los ensayos serológicos para detectar el VLA se basan en la detección de anticuerpos anti-VP7.

Aunque se distribuye principalmente en regiones tropicales, desde 1998 se han notificado brotes que se han extendido desde el Mediterráneo hasta el norte de Europa. Especialmente desafiante fue el reciente brote de virus de la lengua azul tipo 3 (VLA-3) que se produjo en septiembre de 2023 en los Países Bajos, con casi 6000 casos confirmados para marzo de 2024. Las vacunas inactivadas estuvieron disponibles poco después y se utilizaron durante las campañas iniciadas en mayo de 2024, lo que pone de relieve la rápida reacción de Laboratorios SYVA y otras compañías farmacéuticas veterinarias para contrarrestar lo que, de otro modo, habría causado pérdidas drásticas a la población de rumiantes.

Este breve artículo tiene como objetivo revisar los principios de la inmunología para contextualizar la comprensión del mecanismo que subyace a la eficacia de la vacuna contra el VLA.

El sistema inmunitario (SI): su enorme complejidad traducida a conceptos básicos

La capacidad de los linfocitos para *recordar* es la base del funcionamiento de las vacunas y uno de los pilares

de la medicina preventiva moderna. En pocas palabras, la vacunación no es más que manipular al sistema inmunitario para que imite una infección en condiciones controladas y avirulentas, de modo que se produzcan células de memoria a largo plazo y sobrevivan, manteniéndose alertas para reaccionar ante una infección amenazante que se produzca posteriormente.

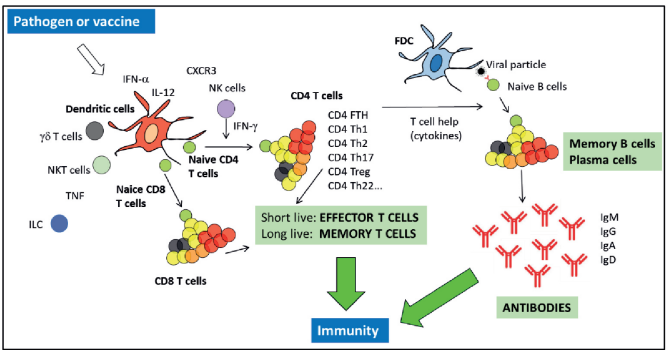


Figura 1: La vacunación o la infección activan múltiples componentes celulares y moleculares del sistema inmunitario. NK, células asesinas naturales; NKT, células T asesinas naturales; ILC, células linfoides innatas; FDC, células dendríticas foliculares; IL, interleucina; IFN, interferón; TNF, factor de necrosis tumoral; CXCR3, receptor de quimiocina C-X-C; Th, células T auxiliares; Treg, células T reguladoras; FTH, células T auxiliares foliculares.

Tras una infección o vacunación, se activan numerosos componentes celulares y moleculares, que se ponen a trabajar con el objetivo final de controlar patógenos invasores o generar células de memoria inducidas por la vacuna. Aunque las células (linfocitos B) producen una respuesta humoral de anticuerpos, para simplificar, nos referiremos a las respuestas celulares solo a aquellas que involucran células no B (por ejemplo, células T CD4+ y CD8+). En cuestión de horas tras la vacunación, las llamadas células inmunitarias innatas, como los monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas (CD), células asesinas naturales (NK), células linfoides innatas (CLI), células T gamma-delta y otras, participan en los primeros eventos posteriores a la activación del sistema inmunitario. Cada una de estas células se recluta en el sitio de vacunación o en



otros sitios inmunológicamente relevantes guiados y orquestados por pequeñas moléculas solubles llamadas citocinas y quimiocinas. Además, la inmunidad adaptativa, que se refiere a eventos complejos que conducen a la generación de células T y B efectoras de corta duración y células B de memoria de larga duración, requiere un tiempo más largo para desarrollarse, clásicamente al menos de 7 a 10 días. Un actor celular clave que involucra al SI innato y adquirido son las células dendríticas (CD), un tipo especializado de células presentadoras de antígenos (CPA). De hecho, las CD están dotadas de la capacidad de engullir antígenos de la vacuna, migrar desde el sitio de vacunación en áreas periféricas hasta los ganglios linfáticos de drenaje (DLN) más cercanos y mostrar en su superficie antígenos procesados intracelularmente para una interacción antígeno-específica con células T CD4+ y CD8+ específicas del antígeno (Abbas et al., 2025).

A todo lo anterior, se suma un nivel de complejidad adicional debido a la ubicación anatómica donde ocurren todos estos eventos. De hecho, dependiendo de la vía de vacunación, diferentes mecanismos pueden operar para conectar los eventos innatos tempranos con la rama adquirida del SI. En ausencia de abundantes células inmunitarias residentes en los músculos en estado estacionario, la vía de vacunación intramuscular se basa en células sanguíneas ricas que facilitan el reclutamiento de CPA. Si se administra por vía subcutánea, un mayor número de células dendríticas y macrófagos locales puede contribuir a una señalización innata local más potente. Cuando se aplica la vía intradérmica, las abundantes células de Langerhans residentes en los tejidos y las células dendríticas dérmicas a menudo producen una activación inmunitaria muy fuerte con dosis más pequeñas de antígenos vacunales. Además, los ganglios linfáticos dendríticos (DLN), un órgano inmunitario estratégicamente compartimentado, donde las células B forman folículos y están en contacto directo con un subconjunto especializado de células dendríticas llamadas células dendríticas foliculares (CDF), son el sitio principal para el desarrollo de las células B productoras de anticuerpos y de las células T y B de memoria específicas de antígenos.

Resultados de la inmunización activa y eficacia: respuestas celulares versus humorales

Según la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), en los estudios preclínicos, la demostración de la eficacia debe realizarse en condiciones de laboratorio bien controladas mediante una prueba de desafío tras la

administración del medicamento veterinario inmunológico al animal diana. En la medida de lo posible, las condiciones del desafío deben imitar las condiciones naturales de la infección. El éxito de estos estudios se alcanza cuando se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de animales vacunados y no vacunados en los criterios de valoración predeterminados (viremia, temperatura, diarrea, etc.). Intuitivamente, esto se asocia con parámetros inmunológicos medibles inducidos activamente por la vacuna. Por lo tanto, el uso de las tecnologías disponibles para evaluar las variables inmunitarias y correlacionar la administración de la vacuna con la protección es un objetivo perseguido tanto por el sector académico como por la industria. No obstante, la farmacopea no contempla el uso de respuestas celulares como parámetros relacionados con la eficacia. A continuación, se describen varias pruebas *in vitro* desarrolladas con este fin.

La técnica ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot) es un ensayo inmunológico que se utiliza para detectar y cuantificar células individuales que secretan una proteína específica, lo que puede servir como correlación de la activación inmunitaria. Dado que mide la frecuencia de células inmunitarias específicas de antígeno que producen una molécula específica, por ejemplo, IFN- γ , a nivel de célula única, se utiliza comúnmente en estudios académicos de vacunas, inmunoterapia e investigación de enfermedades infecciosas. Es altamente sensible, ya que detecta incluso células T y células NK específicas de antígeno raras producidas tras la activación del SI mediada por la vacuna (Janetzki, 2015); un número elevado de puntos (cada uno correspondiente a una célula productora de IFN- γ) se asocia con respuestas óptimas a la vacuna.

Varios problemas dificultan la aplicación de lecturas celulares para evaluar la eficacia de las vacunas en la industria. Entre otras, la manipulación tediosa y lenta del material animal (purificación de células mononucleares de sangre periférica y almacenamiento a temperaturas inferiores a -20 °C), la toma de muestras a menudo en momentos que no se ajustan a los calendarios clásicos para la medición de anticuerpos, el alto coste de los equipos y su adaptación a los procesos de buenas prácticas de fabricación (GMP), la precisión, la reproducibilidad y la robustez. Las diferencias entre individuos sanos y no infectados dificultan aún más el establecimiento de controles biológicos de referencia óptimos. Cabe destacar que ninguna farmacopea incluye estas tecnologías como parámetro de eficacia; para confirmar.

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es una técnica bioquímica ampliamente utilizada, diseñada para detectar y medir anticuerpos específicos en el suero de animales vacunados. El ensayo es fácil de realizar, rentable y rápido. Cabe

destacar que su exactitud, precisión, especificidad, linealidad y robustez son manejables, lo que la convierte a menudo en la (única) evaluación de referencia elegida para la eficacia de la vacuna, aceptada por las autoridades reguladoras y, por lo tanto, ampliamente adoptada por las compañías farmacéuticas para elaborar expedientes de vacunación. En el contexto de la vacunación contra el virus de la lengua azul (BTV), esta técnica serológica para la detección de anticuerpos séricos contra el BTV sirve como medio para detectar la inducción de inmunidad por la vacuna. La respuesta serológica al BTV se desarrolla entre 7 y 14 días después de la infección, por lo que las pruebas diagnósticas para la infección por BTV pueden basarse en la detección de estos anticuerpos anti-BTV, tanto anti-VP7 como anti-VP2.

Anticuerpos neutralizantes (NAb) como biomarcador de la eficacia de la vacuna: espejismo y realidad

Los NAb se refieren a aquellos anticuerpos que se unen directamente a los virus. Como tales, son potencialmente capaces de prevenir (neutralizar) la entrada viral en las células huésped de mamíferos, previniendo así la progresión de la enfermedad. Los NAb son producidos por células B que entran en contacto directo con las estructuras virales superficiales naturales y no modificadas (epítopos conformacionales). Esto se debe al drenaje directo de las partículas de la vacuna desde el sitio de administración hasta el DLN más cercano, donde son expuestas por FDC a las células B vírgenes ubicadas en su vecindad. Por el contrario, la gran mayoría de los anticuerpos producidos durante la infección o la vacunación, aunque no son neutralizantes, se generan contra epítopos lineales tras el procesamiento de antígenos virales por la maquinaria intracelular de las CPA, y también pueden contribuir al control de la enfermedad.

La prueba de seroneutralización (SNT) *in vitro* se utiliza tanto para la identificación como para la titulación de anticuerpos específicos del serotipo de BTV. Debido a la gran variedad de serotipos que co-circulan en todo el mundo, distinguirlos mediante una prueba serológica es fundamental para la vigilancia. Sin embargo, existen diferentes protocolos de SNT, lo que dificulta la interpretación y comparación de los resultados de diferentes laboratorios (Worwa et al., 2013). La SNT se basa en diluciones seriadas del suero de prueba, que se incuba con una cantidad fija de cada serotipo de BTV. A continuación, se añaden células (generalmente BHK o Vero) y se incuban durante 3-5 días, tras lo cual se evalúa el efecto citopático (CPE, rotura celular). La titulación de anticuerpos se establece mediante la dilución máxima capaz de neutralizar >75 % de CPE.

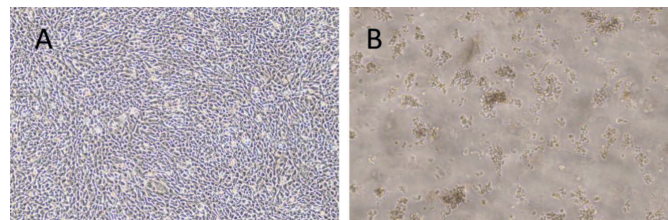


Figura 2: Prueba de seroneutralización (SNT) realizada en células VERO 72 h después de la adición del virus preincubado con suero (datos propios de SYVA). A: Células intactas (los NAb bloquean la entrada del virus); B: Células muertas debido al efecto citopático causado por la entrada viral.

La principal ventaja de la SNT es su capacidad para no presentar reacción cruzada con otros serogrupos de Orbivirus, a la vez que permite distinguir entre serotipos de BTV. Es importante destacar que las SNT se realizan *in vitro* y, por lo tanto, cualquier intento de extrapolar los niveles de NAb en suero con protección *in vivo*, o con cualquier otro parámetro clínico, no es más que una correlación, no una causa directa de efectos. En otras palabras, no existe ningún estudio de vacunas *in vivo* que pueda demostrar formalmente que los NAb sean el único mecanismo biológico responsable del control de la infección en ausencia de células T. Específicamente en el contexto del virus de la lengua azul (BTV), el nivel de NAb no siempre se correlaciona con el grado de protección después de la vacunación con vacuna viva contra el BTV (Jergo et al., 1983) y algunas preparaciones de vacunas inactivadas pueden conferir protección en ausencia de niveles detectables de NAb (Stott et al., 1989). Para profundizar en esta idea, se ha demostrado un papel claro para las células T CD4+ y CD8+ en la protección contra la infección y la vacunación contra el BTV (Rojas et al., 2011). Además, las vacunas experimentales basadas en adenovirus han demostrado ser un vector de vacuna adecuado para inducir inmunidad de células T durante la vacunación contra el virus de la lengua azul, lo que subraya la relevancia de las respuestas de las células T en la protección durante la infección por el virus de la lengua azul (Martín et al., 2015).

La unión hace la fuerza

Como se destaca en este artículo, ya sean neutralizantes o no, los anticuerpos son solo una parte de la respuesta inmunitaria generada por las vacunas. De hecho, en muy raras ocasiones la inmunidad humoral se desarrolla independientemente de las respuestas celulares. En tal caso, se dirige predominantemente a polisacáridos repetitivos, lipopolisacáridos y algunos lípidos, y produce principalmente anticuerpos IgM.

Ejemplos de patógenos que causan una inmunidad tan

limitada son *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Una respuesta independiente de T podría ser rápida y útil contra ciertos tipos de bacterias, pero su duración, calidad de anticuerpos y generación de memoria son breves, especialmente en poblaciones vulnerables como los individuos jóvenes.

La cooperación celular garantiza dos características esenciales de las vacunas veterinarias: inicio rápido de la inmunidad (OOI) y duración de la inmunidad (DOI). La colaboración entre células B y células T se refiere a los mecanismos celulares y moleculares mediante los cuales las células Thelper CD4+ ayudan a las células B mediante la interacción análoga y la producción de citocinas en los centros germinales para: a) mantener la activación temprana de las células B y la producción de anticuerpos; b) asegurar la proliferación y supervivencia de las células B; c) promover la diferenciación de las células B de memoria; y d) asegurar la transición de células B de memoria a células B plasmáticas durante las respuestas inmunitarias secundarias. Estas interconexiones inmunitarias se han estudiado exhaustivamente y, como resultado, tenemos una comprensión cada vez más precisa de los ligandos, receptores y vías intracelulares implicadas, lo que garantiza la eficacia de las vacunas a largo plazo (Janeway et al., 2001).

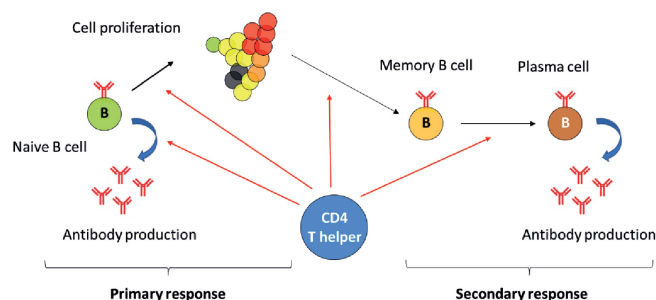


Figura 3. Interacción entre células B y células T (flechas rojas), una colaboración clave para la generación eficaz de memoria inmunológica.

En resumen, el desarrollo de vacunas beneficiosas y significativas y la identificación de correlatos de protección *in vivo* requiere la participación conjunta del mayor número posible de componentes del sistema inmune. Centrarse en los NAb para reducir la complejidad del sistema inmune a mensajes convenientes, simplificados, a menudo manipuladores y con sesgo comercial genera confusión y socava la credibilidad de un análisis riguroso de los datos.

Nota: Laboratorios SYVA se compromete a aplicar altos estándares en el desarrollo de vacunas veterinarias, incluyendo la interpretación imparcial y la divulgación pública de datos de laboratorio, estudios preclínicos y clínicos. SYVA está convencida de que la tergiversación y la publicación y comunicación sesgada de resultados son, en general, perjudiciales para la industria. El uso de estrategias éticamente cuestionables para obtener una ventaja comercial sobre la competencia puede aumentar los beneficios económicos, a costa de dañar la imagen pública que los veterinarios, clientes y autoridades puedan tener de las empresas veterinarias.

Bibliografía

- Abbas A., Lichtman A.H., Pillai S. and Henrickson S. Cellular and Molecular Immunology, Edition 11, 2025.
- Janetzki S. Immune monitoring technology primer: the enzyme-linked immunospot (Elispot) and Fluorospot assay. *J Immunother Cancer*. 2015 Jul 21;3:30
- Janeway CA Jr, Travers P, Walport M. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. New York: Garland Science 5th edition, 2001.
- Jeggo M.H., Wardley R.C., Taylor W.P., Host response to bluetongue virus, In: Compans R.W., Bishop D.H.L. (Eds.), Double-stranded RNA Viruses, Elsevier, New York, USA, 1983, pp. 353–359.
- Martin V., Pascual E., Avia M., Peña L., Valcárcel F., Sevilla N. Protective Efficacy in Sheep of Adenovirus-Vectored Vaccines against Bluetongue Virus Is Associated with Specific T Cell Responses. *PLoS One*. 2015 Nov 30;10(11):e0143273
- Rojas, J.-M., Rodríguez-Calvo, T, Peña L, Sevilla N. T cell responses to bluetongue virus are directed against multiple and identical CD4+ and CD8+ T cell epitopes from the VP7 core protein in mouse and sheep. *Vaccine*, Volume 29, Issue 40, 16 September 2011, pp 6848-6857
- Stott J.L., Osburn B.I., Barber T.L., Sawyer M.M., Immunological response of sheep to an experimental inactivated BTV vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (1979) 175:611–615.
- Worwa G, Chaignat V, Feldmann J, Thür B. Detection of neutralizing antibodies against bluetongue virus serotype 8 by an optimized plasma neutralization test. *J Virol Methods*. 2013;188(1–2):168–174.