Inmunidad humoral y celular en la vacunación frente al BVDV, y su role en la protección.

Programa

- Introducción: Inmunología, respuesta, antígeno, BVDV.
- Sistema inmunitario innato & adquirido: características, componentes y relaciones.
- Respuesta del sistema inmune.
- Vacunación y vacunas.
- Estudio: respuesta comparada.



Inmunología: definición respuesta, antígeno

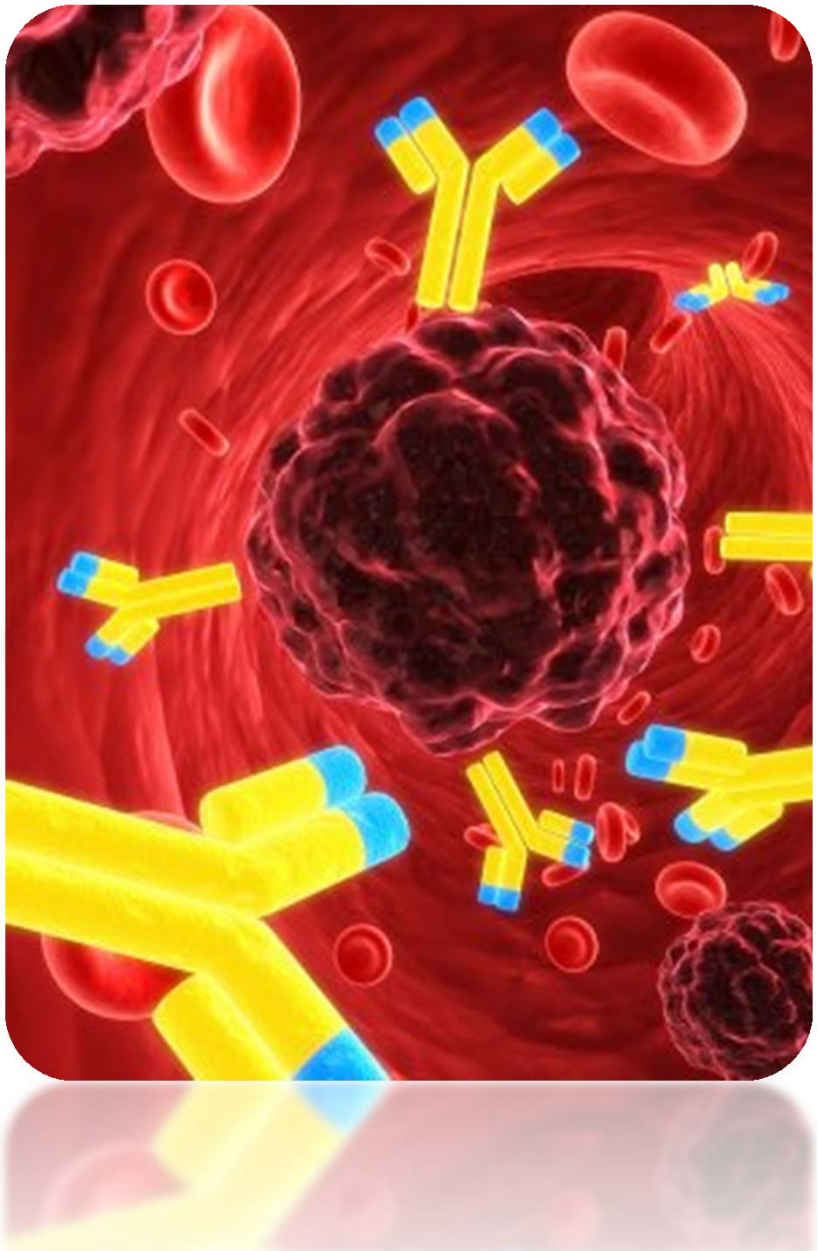
¿Que es la inmunidad?

Inmunidad: deriva de la voz latina *inmunitas*, que hace referencia a la protección frente a los procesos judiciales que se ofrecía a los senadores romanos durante el ejercicio de su cargo.

Inmunidad: protección contra la enfermedad, y más específicamente, frente a las infecciones.

Sistema inmunitario: Células, moléculas y procesos responsables de la inmunidad.

Respuesta inmunitaria: Respuesta colectiva y coordinada frente a las sustancias extrañas.



¿Por qué un sistema inmunitario?



- Competición
- Evitar la asimilación
- Protección frente a lesiones
- Protección frente al parasitismo
- Mantenimiento de la integridad

Supervivencia de la especie

¿Qué es un antígeno?:

Un **antígeno** ("anti", del griego αντι- que significa 'opuesto' o 'con propiedades contrarias' y "geno", de la raíz griega γεν, generar, producir; que genera o crea oposición)

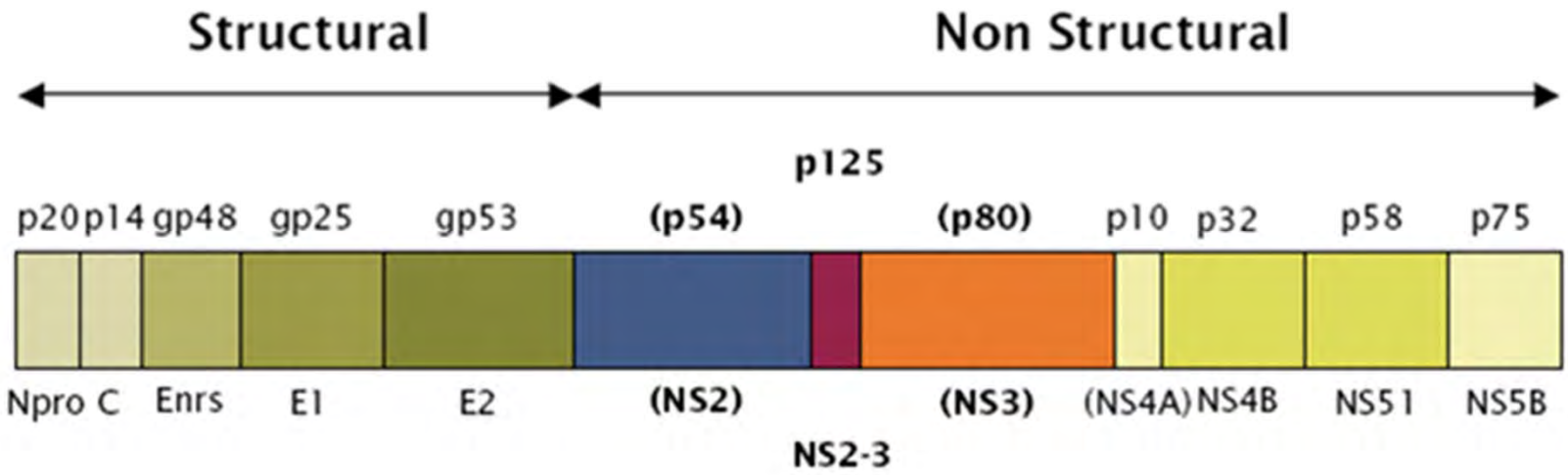
- Sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.
- La definición moderna abarca todas las sustancias que pueden ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas.
- Antígenos pueden ser bacterias, partes de una bacteria, virus o partes de virus, el polen, la clara del huevo, una célula cancerosa, …



¿Qué es un antígeno?:

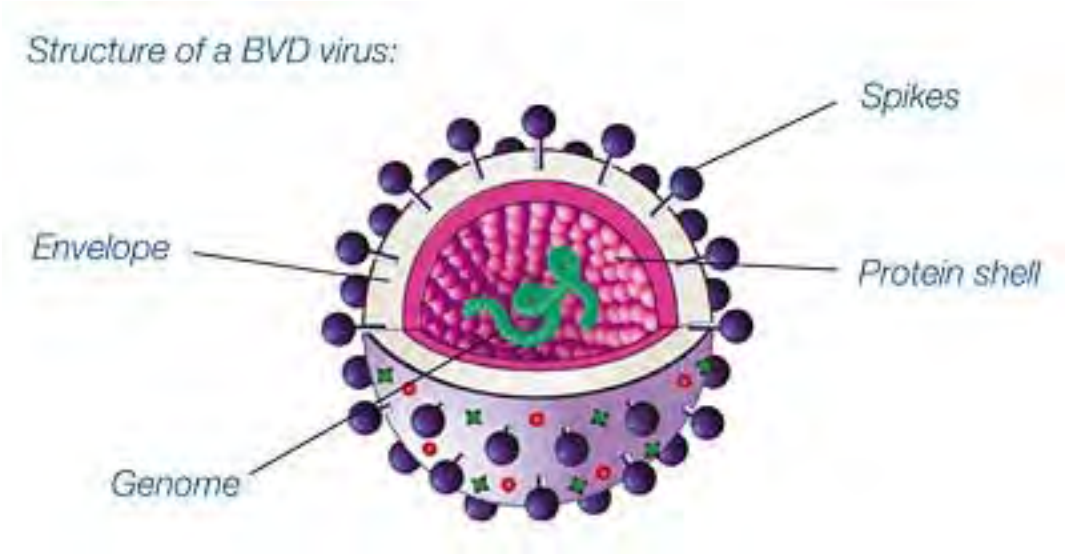
Una bacteria, o un virus no es un antígeno, sino un conjunto de antígenos. Así, el virus de la BVD ´tiene 11 o 12 antígenos diferentes, según sea CP o NCP.

No todos los antígenos de una bacteria o un virus tienen el mismo poder de generar anticuerpos, ni todos los Ac generados tiene la misma capacidad de protección.



El virus de la BVD:

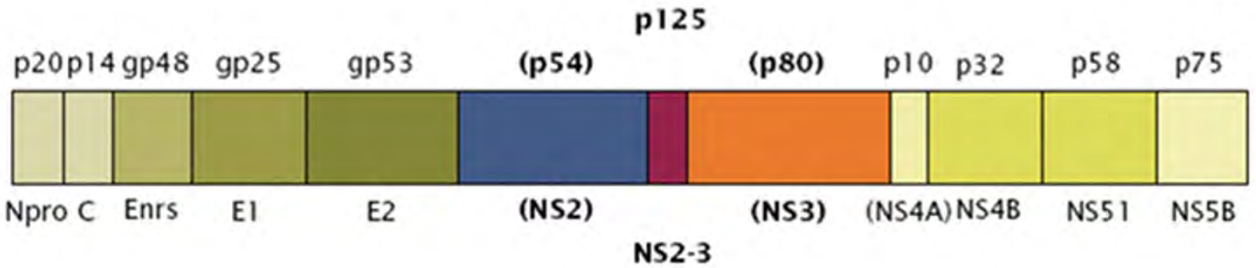
- Virus RNA, pequeño
- Elevado ratio de mutación.
- Dos genotipos de **BVDV: tipo 1 y 2**
  - Pobre protección cruzada frente a síntomas entre tipo 1 y tipo 2
  - Sin protección fetal cruzada entre tipo 1 y tipo 2
- Alta infectividad (R =↑↑↑)



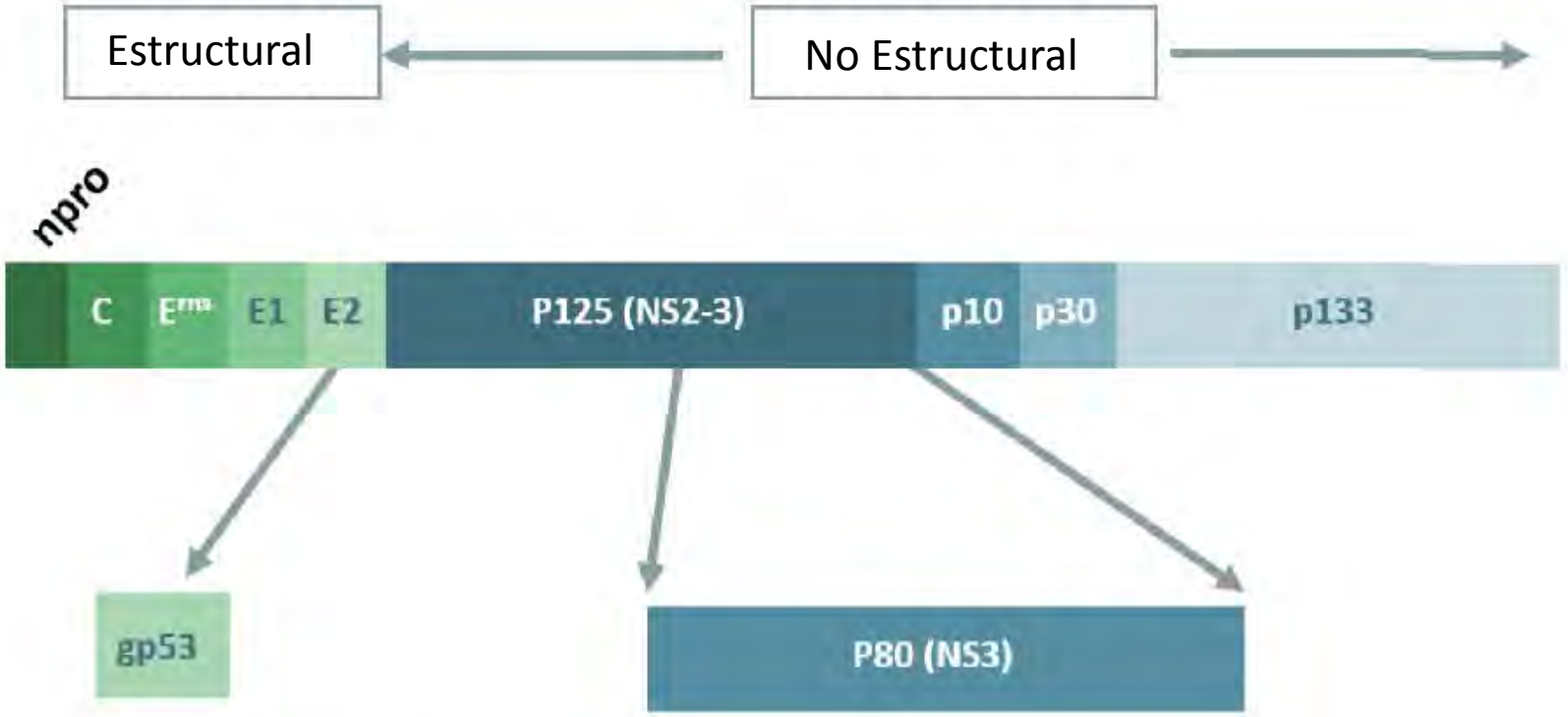
El virus de la BVD: estructura y proteínas

- **Proteínas estructurales**
  - Forman la estructura del virus
  - Algunas altamente variables

- **Proteínas no estructurales**
  - No forman la estructura del virus
  - Se producen dentro de la célula infectada
  - Interactúan con los mecanismos celulares para la replicación viral
  - Muy conservadas: similares en todos los tipos 1 y 2



El virus de la BVD: estructura y proteínas



47% nt heterogenicidad

42% sustitución de AA

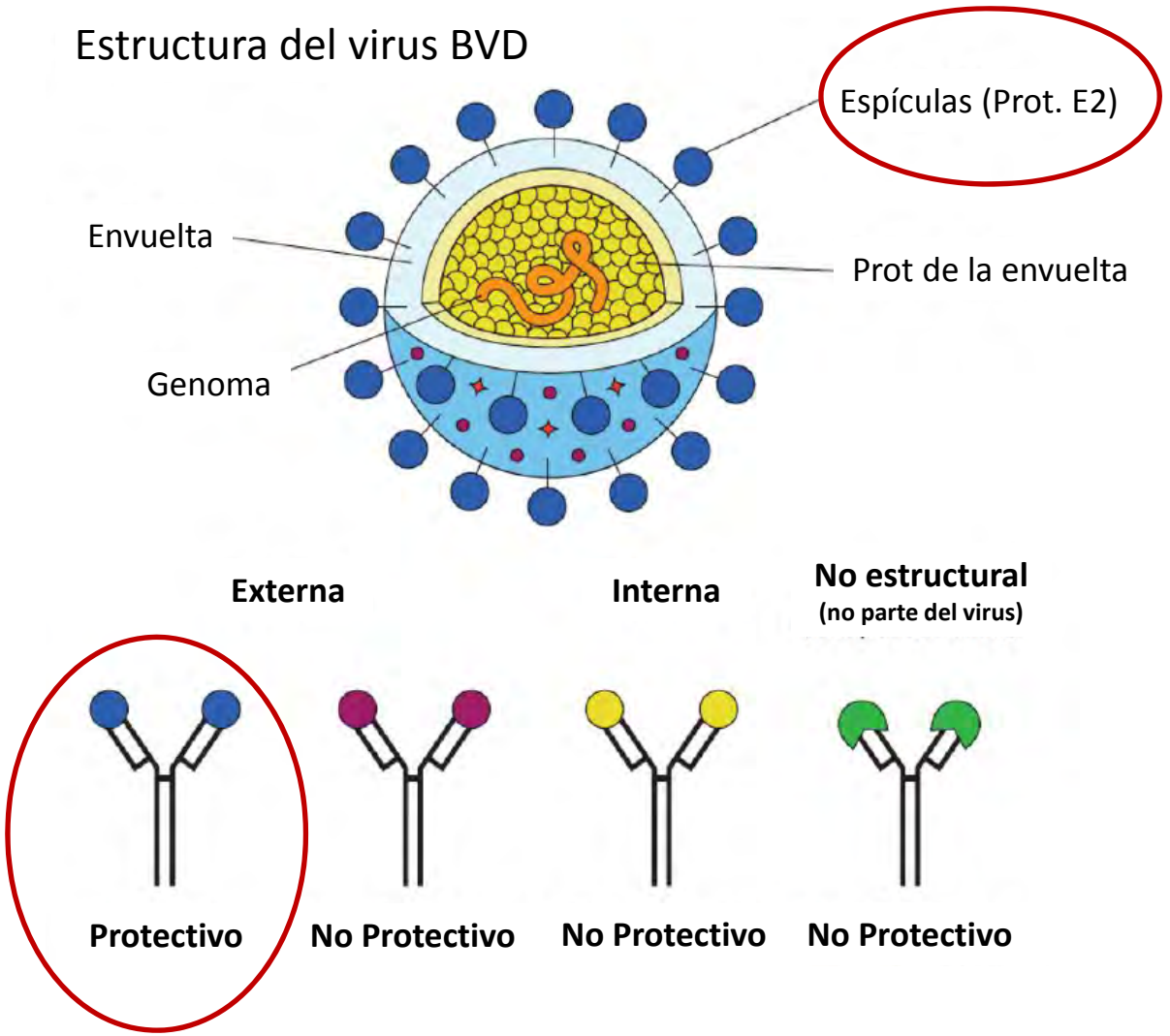
Altamente variable

24% nt heterogenicidad

0% sustitución de AA

Altamente conservada en pestivirus

Respuesta de los ACs a los AGs virales



Sistema inmunitario innato & adquirido

Dos tipos de Inmunidad:

INNATA
(Inespecífica)
(Natural)





- Se nace con ella
- Muy poco específica
- No tiene memoria

ADQUIRIDA
(Específica)
(Adaptativa)



- Se desarrolla sólo cuando "estudia" al antígeno
- Muy específica
- Si tiene memoria

Inmunidad natural vs inmunidad adaptativa

	INNATA	ADQUIRIDA
CARACTERÍSTICAS		
Especificidad	Para estructuras compartidas por grupos de microorganismos relacionados	Para antígenos de microorganismos y antígenos no microbianos
Diversidad	Limitada: codificada por la línea germinal	Muy amplia: los receptores están producidos por la recombinación somática de segmentos génicos
Memoria	Ninguno	Si
No respuesta contra si mismo	Si	Si
COMPONENTES		
Barreras físicas y químicas	Piel, epitelios mucosos; productos químicos antimicrobianos	Linfocitos presentes en lso epitelios; anticuerpos producidos en las superficies epiteliales
Proteínas sanguíneas	Complemento	Anticuerpos
Células	Fagocitos (Macrófagos, neutrófilos), linfocitos citolíticos naturales .	Linfocitos.

Inmunología celular y molecular. Abul K. Abbas & Andrew H. Lichtman. Quinta Ed. Saunders Elsevier, Madrid, 2004. pp.5

	Innata	Adaptativa
Características		
Especificidad	Para estructuras compartidas por grupos de microorganismos relacionados	Para antígenos de microorganismos y antígenos no microbianos
Diversidad	Limitada; codificada por la línea germinal	Muy amplia; los receptores están producidos por la recombinación somática de segmentos génicos
Memoria	Ninguno	Sí
No respuesta contra sí mismo	Sí	Sí
Componentes		
Barreras físicas y químicas	Piel, epitelios mucosos; productos químicos antimicrobianos	Linfocitos presentes en los epitelios; anticuerpos producidos en las superficies epiteliales
Proteínas sanguíneas	Complemento	Anticuerpos
Células	Fagocitos (macrófagos, neutrófilos), linfocitos citolíticos naturales	Linfocitos

Inmunidad natural vs inmunidad adaptativa

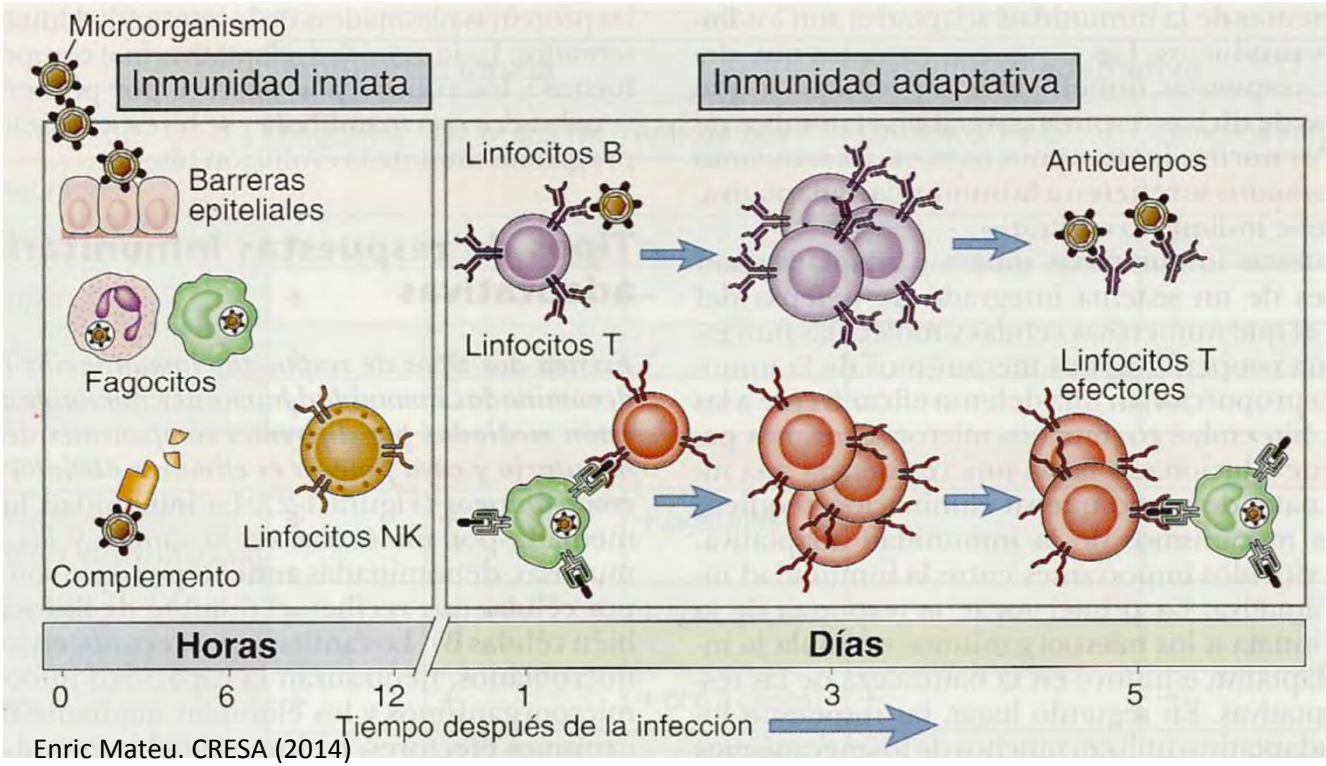
Característica	Inmunidad natural	Inmunidad adaptativa
Reconoce antígenos concretos	NO	Sí
Reconoce "patrones" de patógenos	Sí	NO
Desarrolla memoria	NO	Sí
Discrimina antígenos propios	NO	Sí
Inmediata	Sí	NO
Mediada por receptores	Sí	Sí
Participan citoquinas y otros mediadores	Sí	Sí

Inmunidad natural vs inmunidad adaptativa

	Inmunidad innata	inmunidad adquirida
Otras denominaciones	Inespecífica	Específica o Adaptativa
Células	Macrófagos, Neutrófilos, Células NK, Células dendríticas	Linfocitos B Linfocitos T
Moléculas	Complemento Proteinas de fase aguda IFN Citoquinas	Anticuerpos Citoquinas
Características	Primera línea de defensa. Intensidad no incrementada con encuentros sucesivos con el Ag	Especificidad Memoria

Inmunidad natural inmunidad adaptativa: confluencia y relación.

1. Son consecutivas en el tiempo. Tras sobrepasar las barreras físicas de la inmunidad innata (externa), se ponen en marcha tanto la fase Interna, como la inmunidad adaptativa. Pero la inmunidad adaptativa es mas lenta, y normalmente acontece después de la fase innata interna.

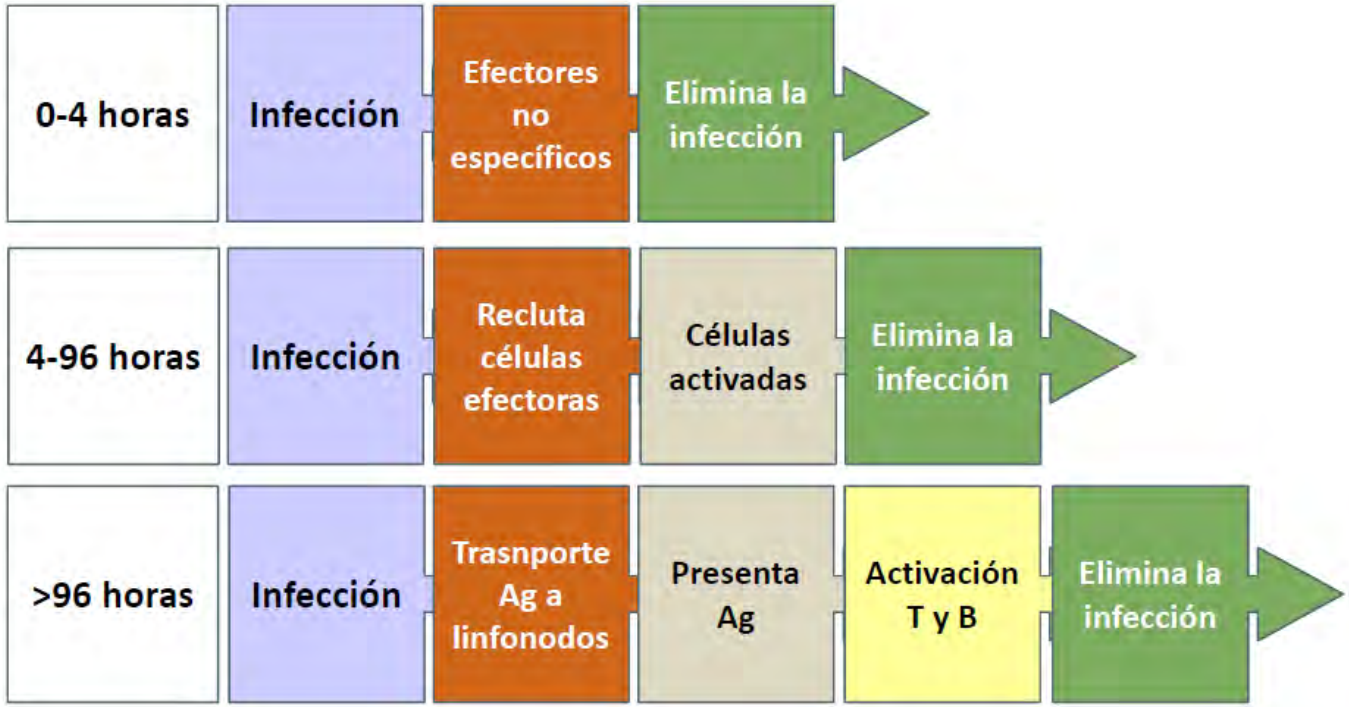


Enric Mateu. CRESA (2014)

Inmunología celular y molecular. Abul K. Abbas & Andrew H. Lichtman. Quinta Ed. Saunders Elsevier, Madrid, 2004.

Inmunidad natural inmunidad adaptativa: confluencia y relación.

1. Son consecutivas en el tiempo. Tras sobrepasar las barreras físicas de la inmunidad innata (externa), se ponen en marcha tanto la fase Interna, como la inmunidad adaptativa. Pero la inmunidad adaptativa es mas lenta, y normalmente acontece después de la fase innata interna.

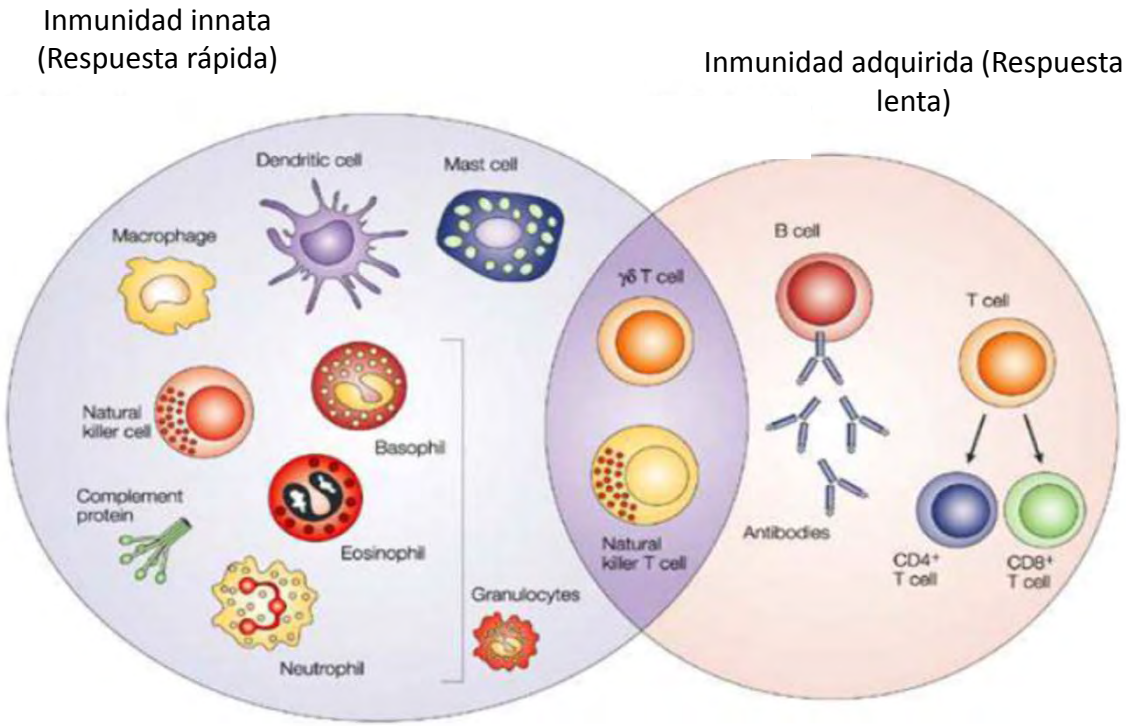


Enric Mateu. CRESA (2014)

Inmunología celular y molecular. Abul K. Abbas & Andrew H. Lichtman. Quinta Ed. Saunders Elsevier, Madrid, 2004.

Inmunidad natural inmunidad adaptativa: confluencia y relación.

2. Células compartidas. Existen dos poblaciones de células con actividades para ambos sistemas: Células Nk (Natural Killeer) y Linfocitos T γσ.



Inmunidad natural inmunidad adaptativa: confluencia y relación.

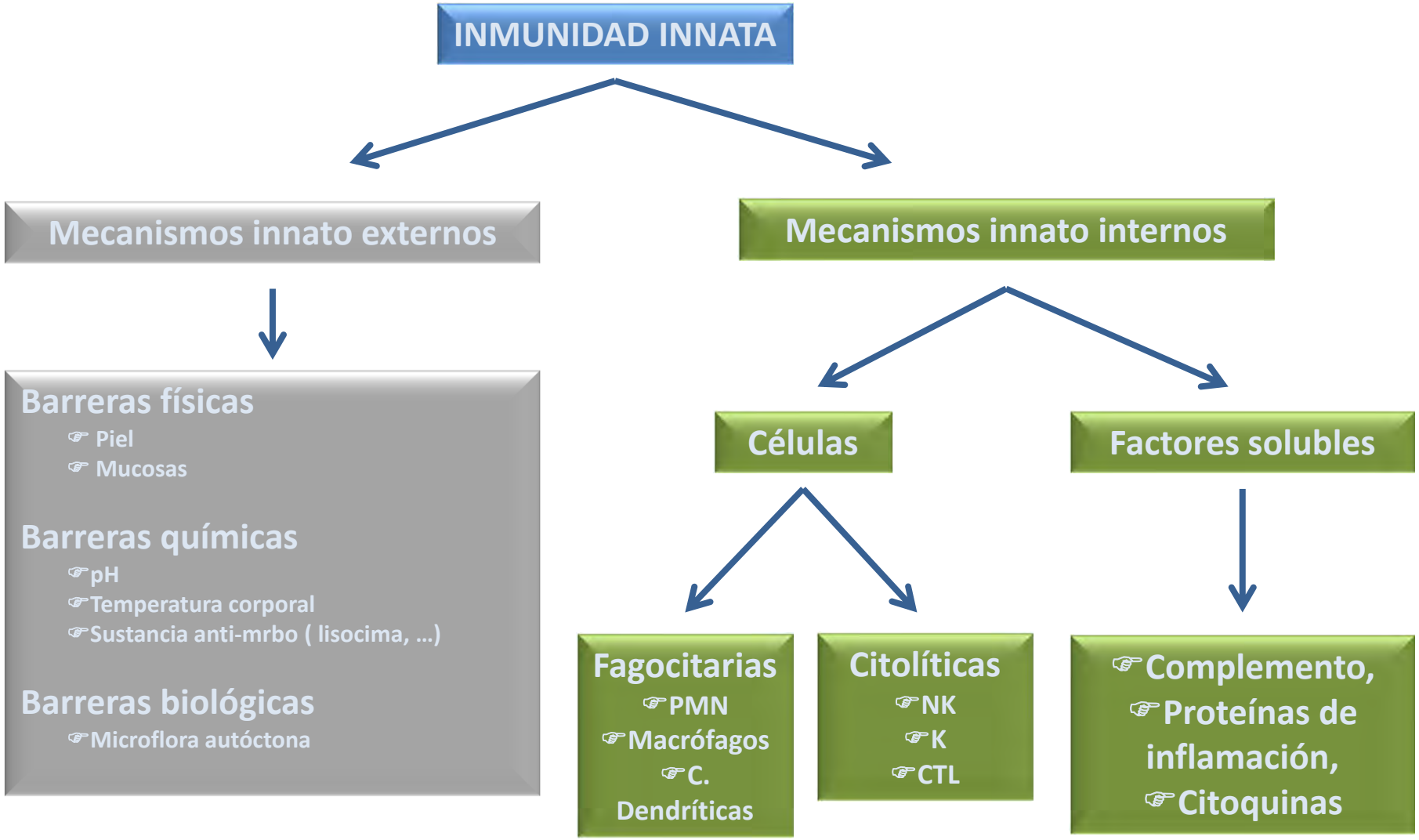
3. Células presentadoras de antígenos. (CPA).

- Algunas células presentadoras de antígenos a los linfocitos T (Inmunidad adaptativa) pertenecen al sistema innato interno, como son los **Macrófagos**. Estas células captan e internalizan el antígeno de manera inespecífica, pero lo procesan y lo presentan a las células responsables de la inmunidad adquirida de manera específica.

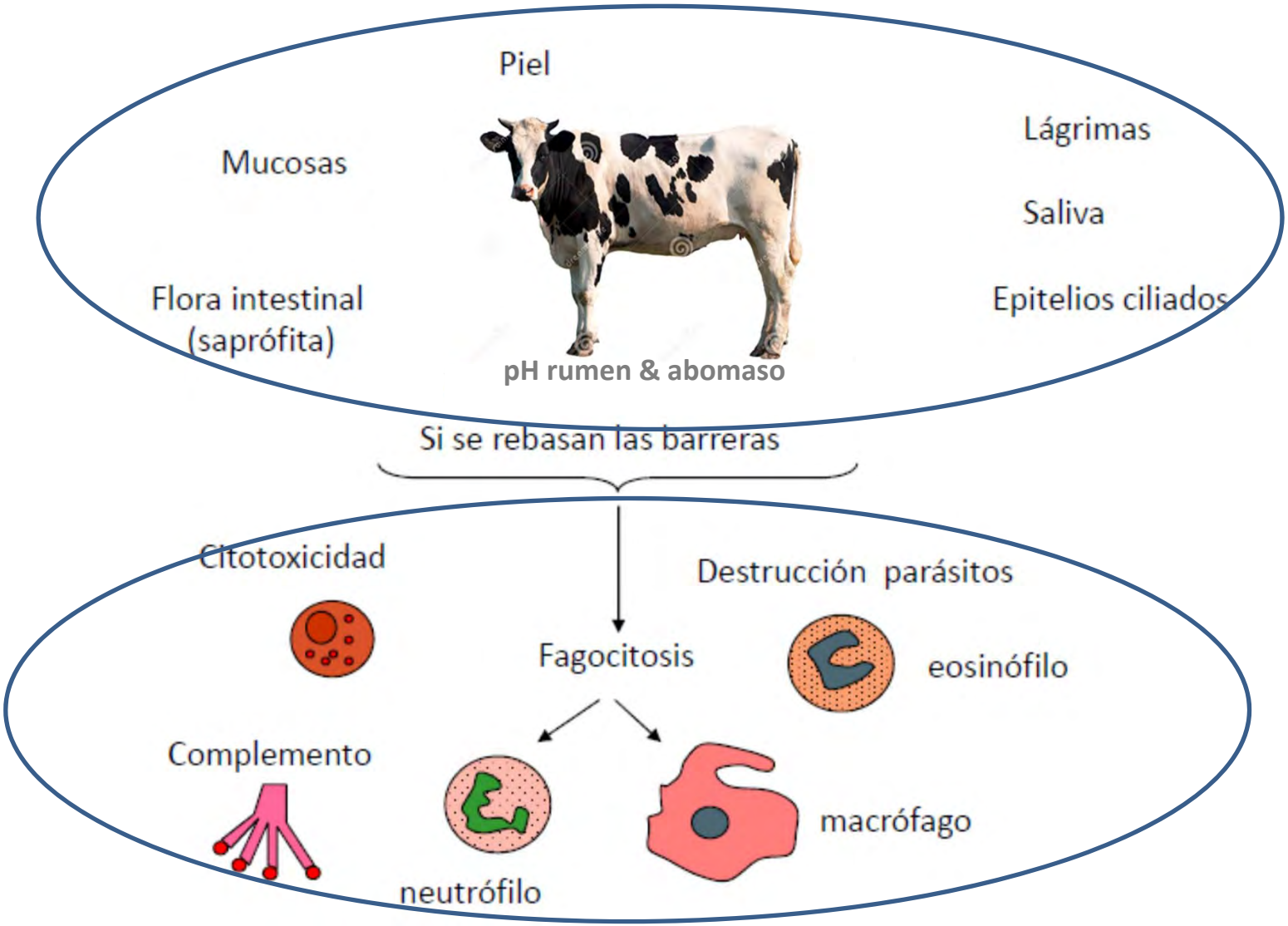
- Además, las CPA contactan con los linfocitos colaboradotes (Th), de manera que influyen en que la respuesta adaptativa sea mayoritariamente humoral (Th2) o celular. (Th1)



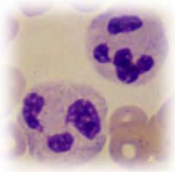
Inmunología: la respuesta


INMUNIDAD INNATA
Mecanismos innato externos
Mecanismos innato internos
Barreras físicas
Piel
Mucosas
Barreras químicas
pH
Temperatura corporal
Sustancia anti-mrbo (lisocima, …)
Barreras biológicas
Microflora autóctona
Células
Factores solubles
Fagocitarias
PMN
Macrófagos
C. Dendríticas
Citolíticas
NK
K
CTL
Complemento,
Proteínas de inflamación,
Citoquinas

Componentes de la inmunidad innata: dos niveles!

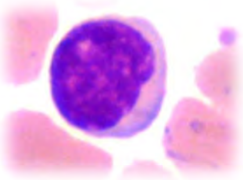


Inmunidad inespecífica o innata (NEUTOFILOS, MACROFAGO & LINFOCITOS NK. Complemento)





Inmunidad Específica o adaptativa (LINFOCITOS T & B + Anticuerpos)

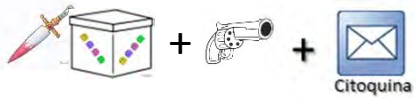


Granulocitos

- Neutrófilos + Fagocito + Antígenos + Citoquina
- Eosinófilos +
- Basófilos + Fagocito + Antígenos

Mastocitos +

C. NK (Killer cells) + +



Monocitos → **Macrófagos** + Citoquina

Fagocito Antígenos Fagocito Antígenos

Complemento → **C. Activo** +

Fagocito Antígenos

C. Dendríticas

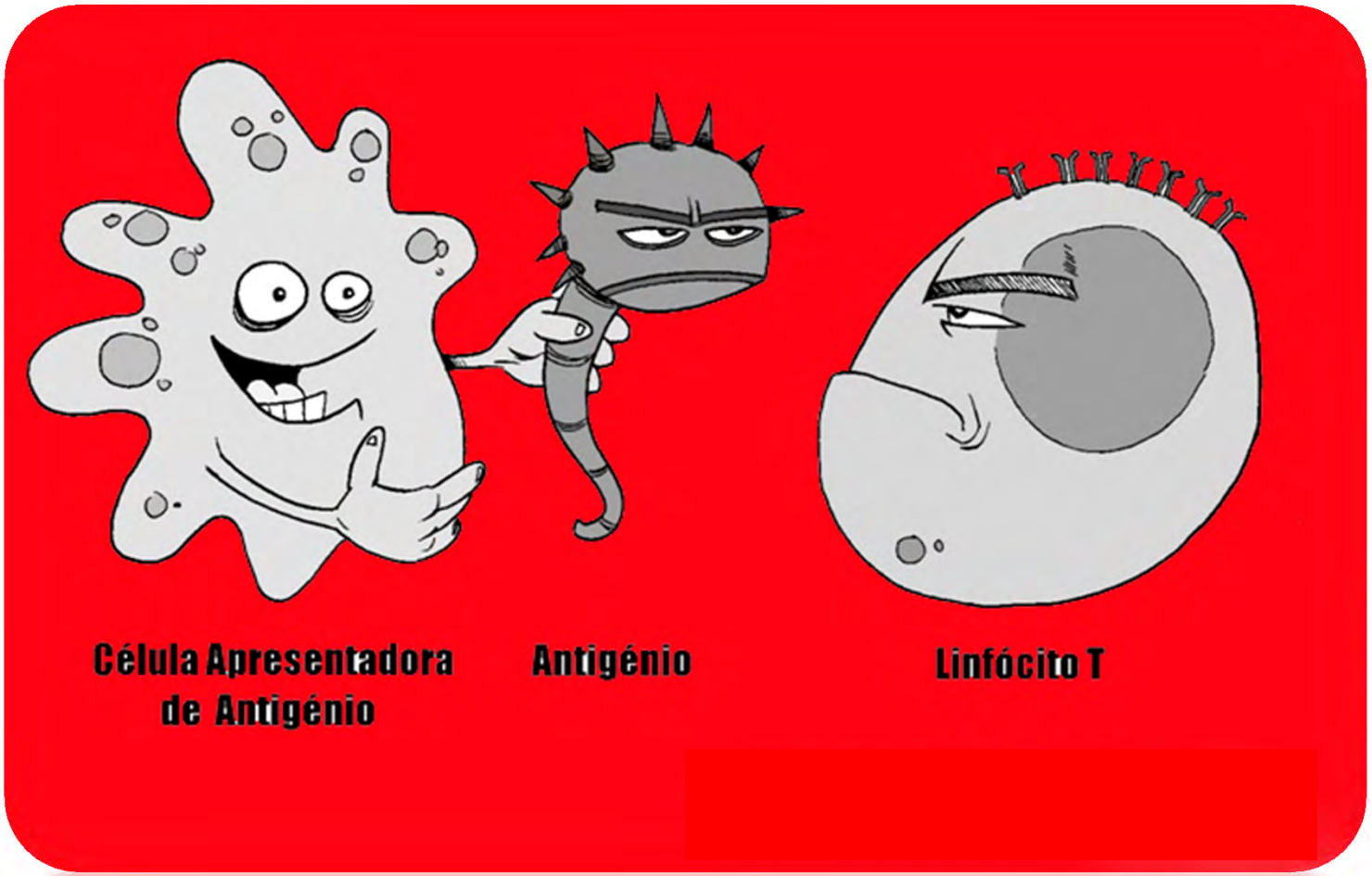
Células involucradas inmunidad adaptativa

Célula			Función	Marcador
Linfocitos	B		Diferenciación a plasmocito, productor de Ac, y células de memoria	CD19, CD21
	T	Th	Estimulación de LB y TC. Activación de macrófagos	CD3, CD4
		Tc	Citotoxicidad y poder citilítico	CD3, CD8

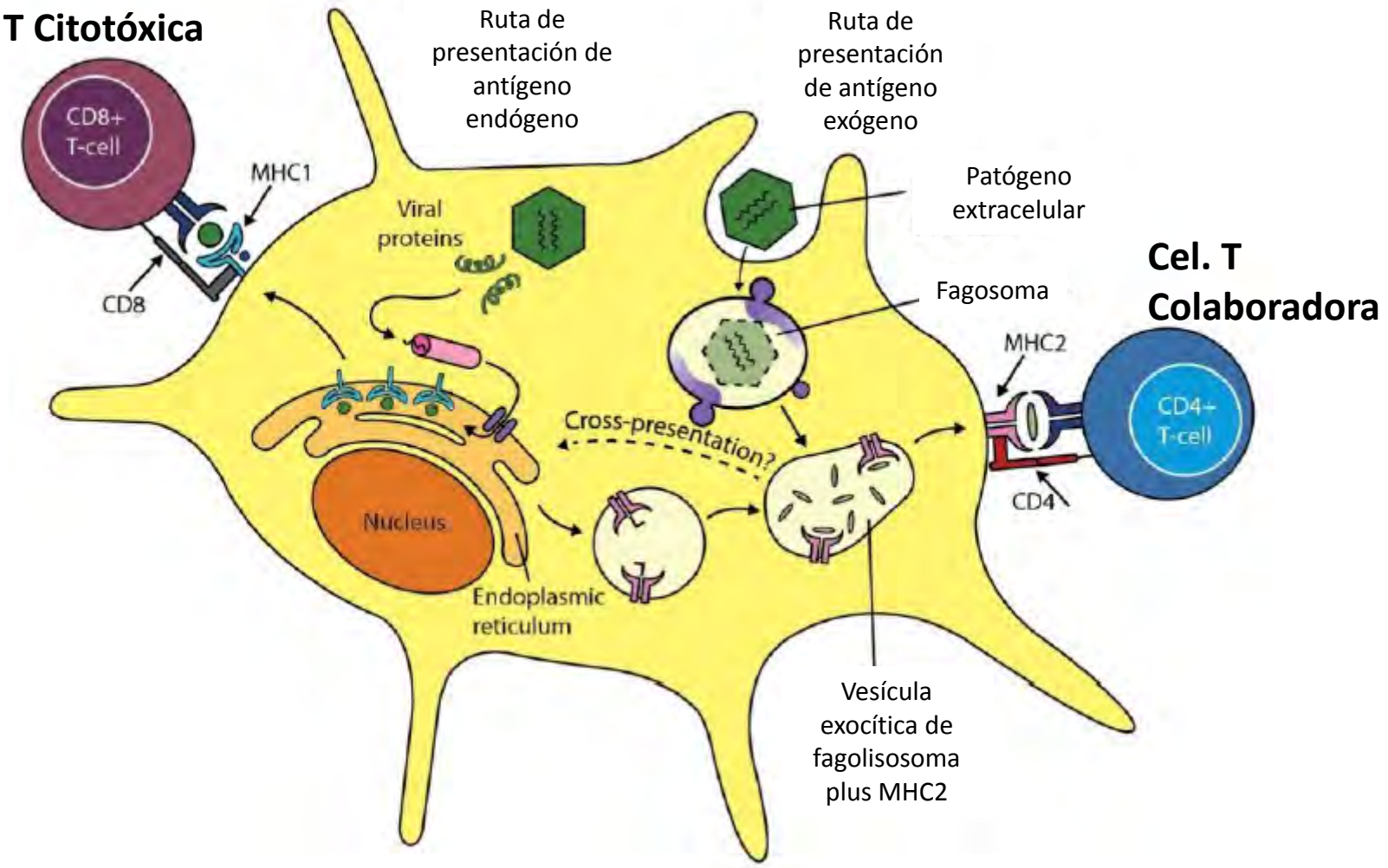
Leucocitos

- Polimorfonucleares (Granulocitos)
  - Eosinófilos
    - Alergias
    - Parasitosis
    - Fagocitan complejos Ag-Ac
  - Basófilos
    - **Cel Cebada** de la sangre
    - Histamina, Heparina, Serotonina
    - Fagocitosis poco activa
  - Netrófilos
    - Microfagos
    - Fagocitosis inespecífica
    - 1ª barrera defensiva
- Mononucleares (Agranulocitos)
  - Linfocitos
    - Inmunidad adaptativa
    - L T
      - $\alpha\beta$
        - CD4+ (Th)
          - Th1
          - Th2
        - CD8+ (Tc) → (CTL)
      - $\gamma\sigma$
    - L B → Plasmocito
  - Monocitos
    - **Macrófagos**
    - Sistema Mononuclear fagocitario o Retículo Endotelial
    - En tejidos (Cel Kuppfer, Microglía, Monocito, …)

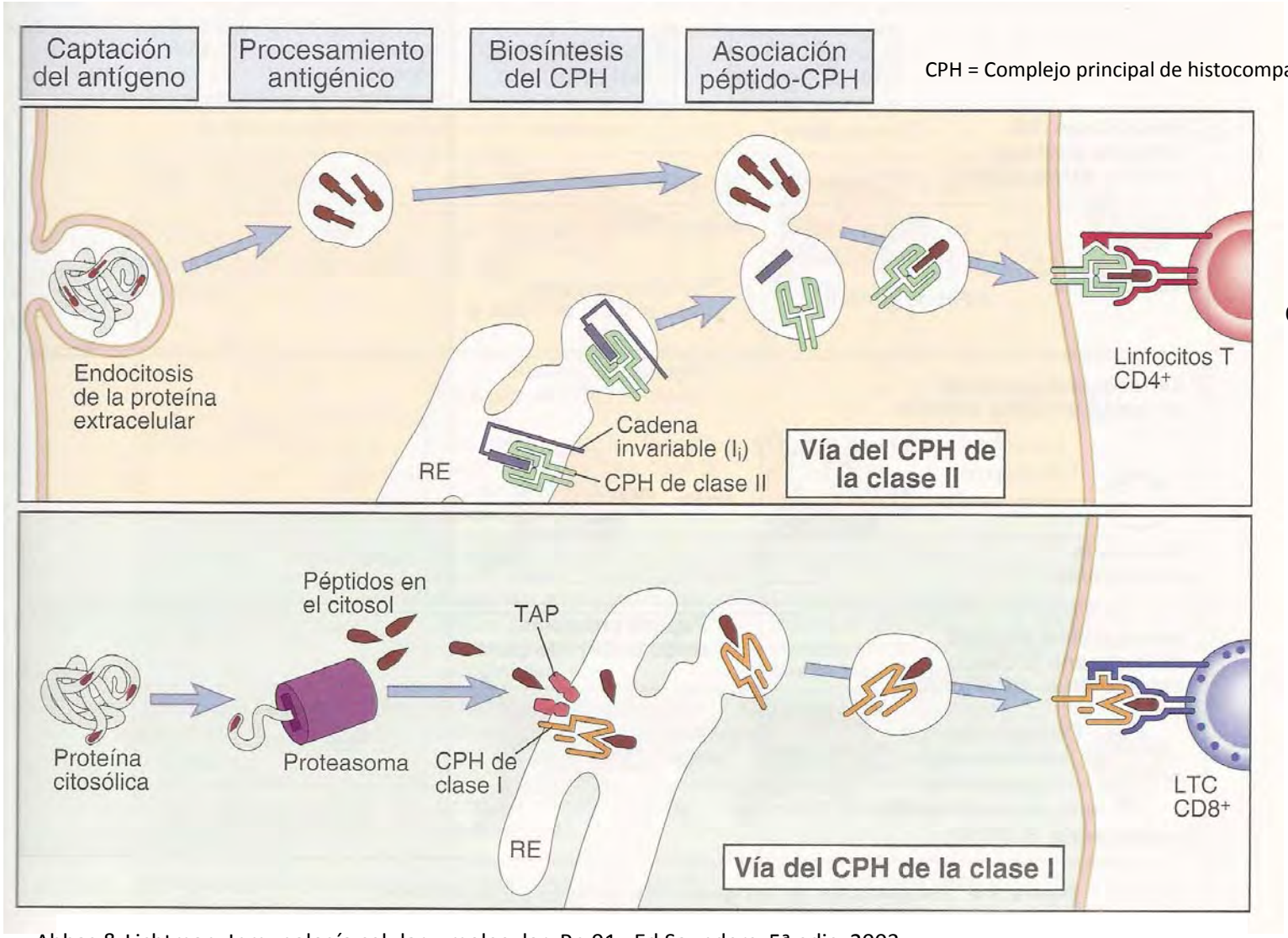
Inmunidad adquirida o adaptativa: presentación de antígenos



Presentación de Ag a Cel. T colaboradora y Cel. T citotóxica

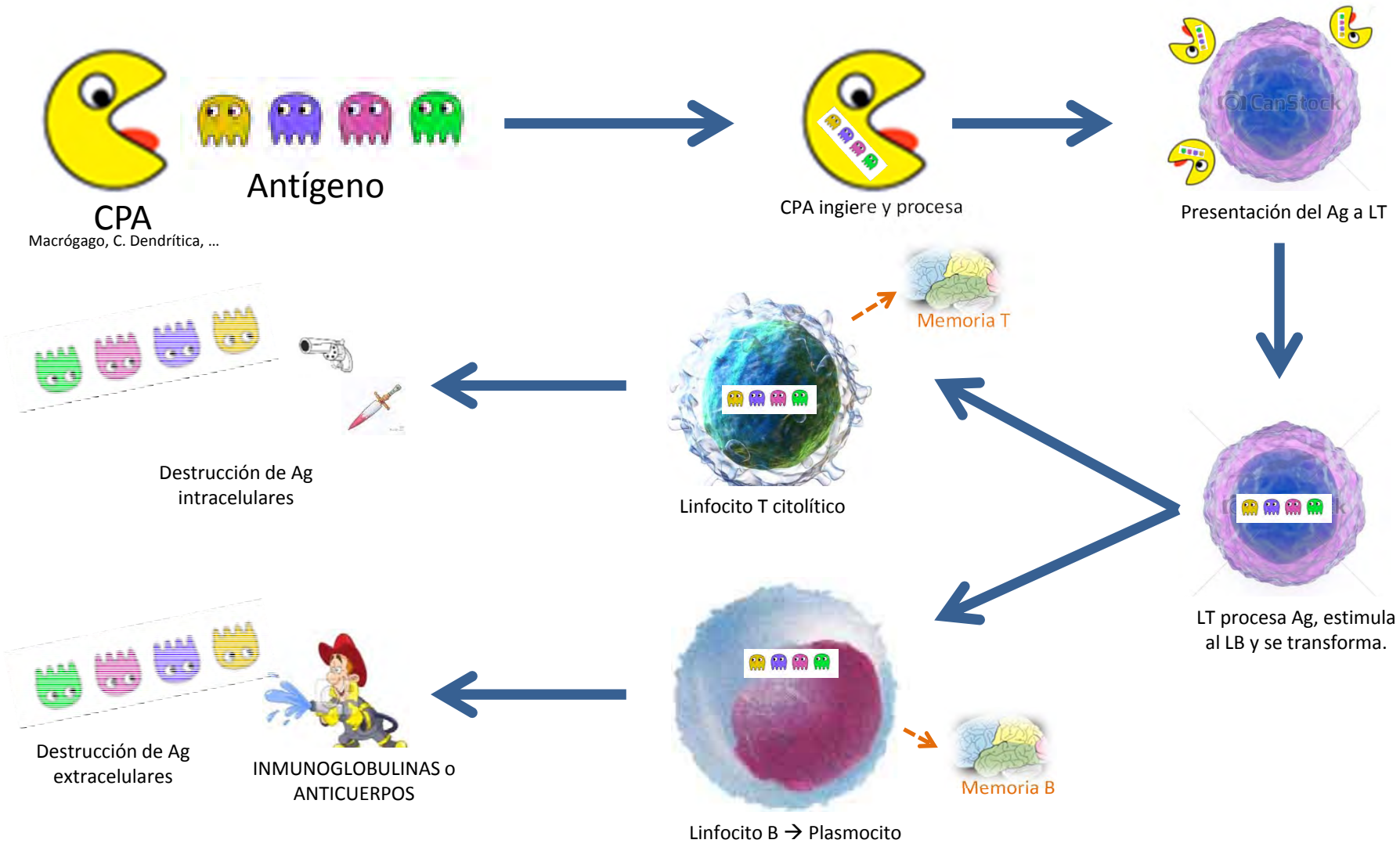


Vías endógena y exógena de presentación de Ag.

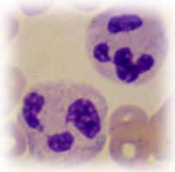


Abbas & Lichtman. Inmunología celular y molecular. Pp.91. Ed Saunders, 5ª edic. 2003

Proceso básico en la inmunidad adaptativa.

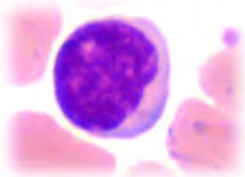


Inmunidad inespecífica o innata (NEUTOFILOS, MACROFAGO & LINFOCITOS NK. Complemento)





Inmunidad Específica o adaptativa (LINFOCITOS T & B + Anticuerpos)



Linfocitos B → Inmunoblasto B



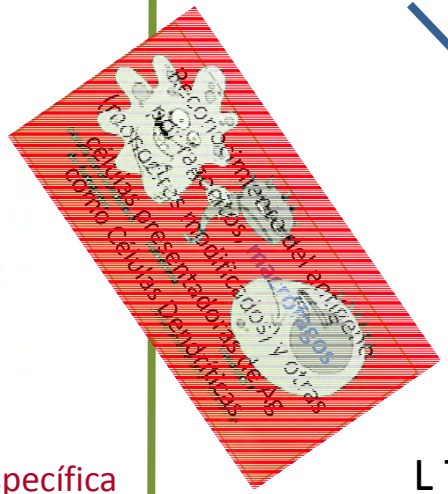
Linfocitos T

Memoria B

Memoria T

Plasmocito







Linfocito T sensibilizado

Th2

Inmunoglobulinas



L T Citotoxico (Tc)



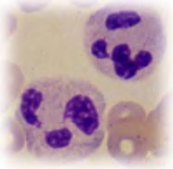
L T Colabordor (Th)



Th1

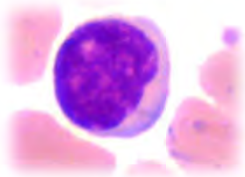
L T Citolíticas (CTL)

Inmunidad inespecífica (NEUTOFILOS)





Inmunidad Específica (LINFOCITOS)



Linfocitos B → Inmunoblasto B

Memoria B

Plasmocito

Inmunoglobulinas



Linfocitos T

Inmunoblasto T

Memoria T

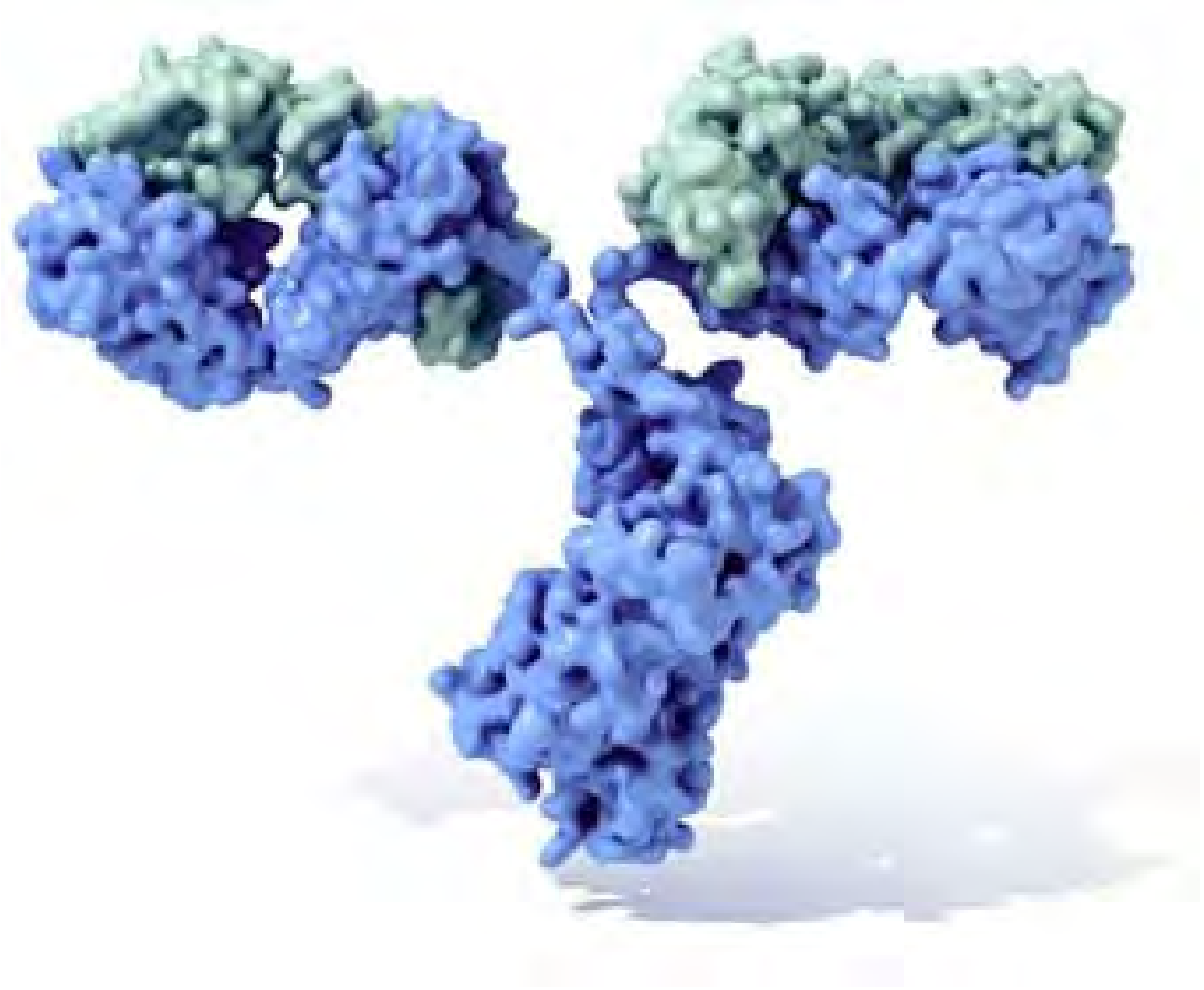
Reconocimiento del antígeno por fagocitos, macrófagos (monocitos modificados) y otras células presentadoras de Ag.

LT Sensibilizado (Killer cells)

Linfoquinas
matan directamente

Linfotoxinas
Taxis sobre otras células (monocitos, eosinófilos, basófilos, …)

Respuesta Th2: Los anticuerpos o inmuno-globulinas



Respuesta Th2: Los anticuerpos o inmuno-globulinas

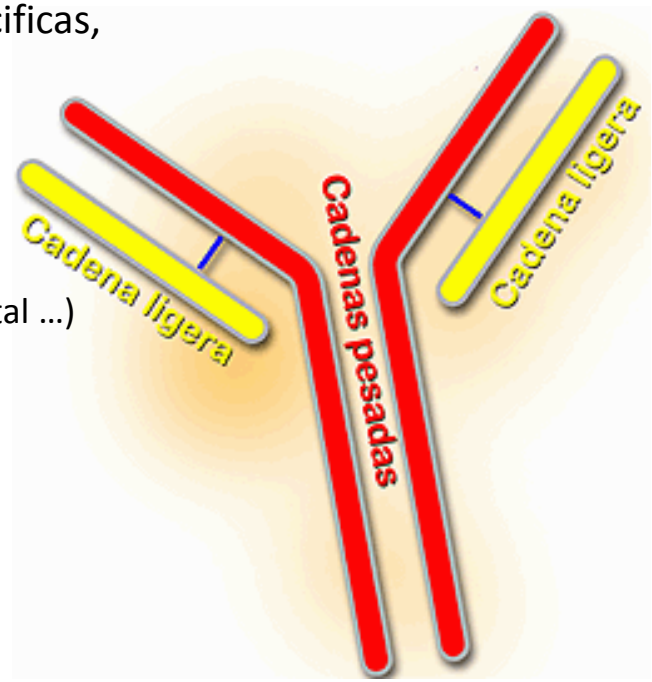
- Son sustancias producidas por las células plasmáticas, que proceden de la diferenciación de los linfocitos B, como reacción a la presencia de un inmunógeno (antígeno), frente al que actúan para destruirlo.

- Son moléculas (glicoproteínas) solubles y muy, muy especificas, propias de la **inmunidad adaptativa de base humoral**.

- Pueden encontrarse en:
  - Suero
  - Secreciones (Leche, saliva, lágrimas, …)
  - Superficies mucosas (tracto digestivo, respiratorio, urogenital …)

- En los bovinos se distingen cinco tipos de Ig:

  - Ig G (con tres subtipos: IgG1, IgG2 y IgG3)
  - Ig M
  - Ig A
  - Ig E
  - Ig D



Respuesta Th2: Los anticuerpos o inmuno-globulinas

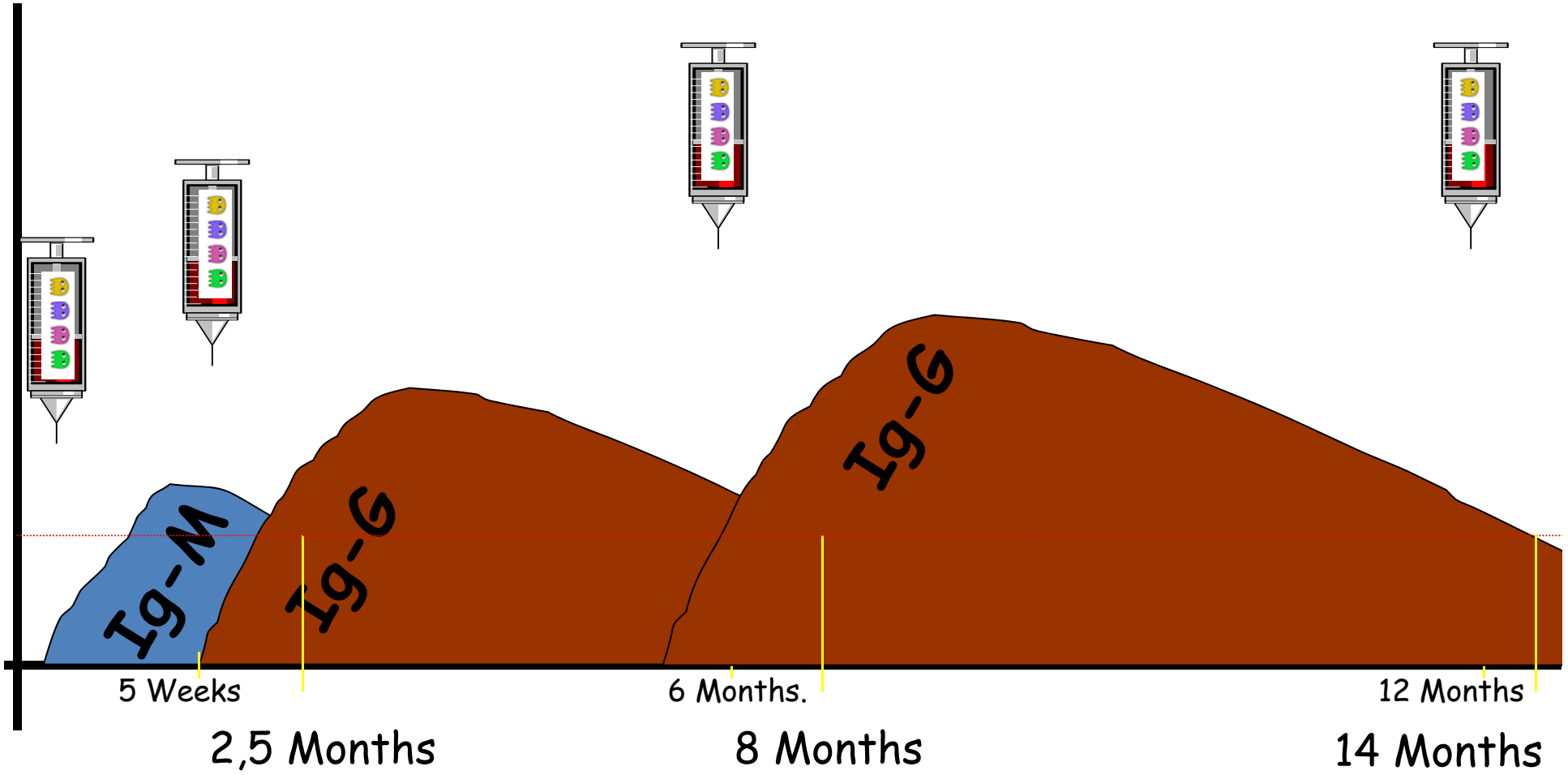
Tabla 1. Concentraciones de inmunoglobulibas en la vaca. mg/ml

	IgA	IgM	IgG1	IgG2
Suero	0,37	3	11,2	9,2
Calostro	4,7	7,1	48,2	4
Leche	0,08	0,08	0,5	0,06

Kenny K.P. et al, 2004

Características de las diferentes inmunoglobulinas				
Clase	Localización	Actividad frente a	Modo e acción	Calostro
IgG (IgG1 + IgG2)	Plasma y fluidos tisulares	Bacterias. Virus. Algunas toxinas	Forma precipitados insolubles con el antígeno - Fijación del complemento - Unión selectiva a macrófagos	IgG-1
IgA	Mucosas, pulmones, tracto genital, vegiga, lágrimas, vías nasales, ubre	Antígenos que afectan a las mucosas: pulmonar gastro-entéricam genito-urnaria, … Asociación a los glóbulso grasos de la leche (IgA Lactea)	-Aglutinación de los antígenos. - Forma precipitados inisolubles con el antígeno -Funciones de opsonizaión. - Poder citofílico para los PMN sanguíneos.	SI
IgE	Secreciones orgánicas	Bacterias y algunos parásitos intestinales. - Reacciones de hipersensibilidad tipo 1	Unión a la superficie de los antígenos para señalizarlos (Opsonización)	No
IgM	Plasma	Invasión inicial de virus y bacterias Especialmente Gram (-)	Aglutinación de antígenos (bacterias) para eliminaciónpor lavado.	Si
Ig D	- Superficie de los Linfocitos B (BCR)			No

Respuesta Th2: primaria & secundaria.



Vacunación y vacunas

Tipos de vacunas desde punto de vista tecnológico

a) Convencionales
Vivas atenuadas
Muertas inactivadas
b) De nueva generación
De subunidades
De péptidos sintéticos
Recombinantes
De deleción
Vacunas de ADN
Vacunas en plantas
De reversión génica

Tipos de vacunas desde punto de vista tecnológico

VACUNAS INACTIVADAS	VACUNAS ATENUADAS	VACUNAS DELECCIONADAS
Sin virulencia residual	Posible virulencia residual	Sin virulencia residual
Seguridad Biológica.	Antecedentes de falta de seguridad biológica	Seguridad biológica (tasa de mutación, no reversión a la virulencia, no recombinación)
Reacciones tras aplicación (efectos secundarios)	Reacciones tras aplicación (efectos secundarios)	Sin reacciones tras la aplicación o efectos secundarios. (ausencia de sintomas, no fiebre, no perdida leche, no afecta ratios reproductivos, no reacciones locales)
Almacenamiento estable (refrigeración)	Almacenamiento estable (refrigeración)	Almacenamiento estable (refrigeración)
Estimulación de inmunidad humoral preferente (Th2)	Estimulación de inmunidad celular preferente (Th1)	Estimulación de inmunidad humoral y celular. IFN
Baja potencia. Duración limitada (6m.)	Potencia y duración (6m.)	Potencia y duración (12 m.)
Dosis ↑↑	Dosis ↑↑	Dosis única
Precisan booster	Precisan booster	Sin booster
Necesidad de adyuvantes	Adyuvantes no necesarios	Adyuvantes no necesarios
Sin multiplicación vírica	Multiplicación vírica	Multiplicación vírica
Sin Viremia	Viremia	Viremia (4d.)
Sin excreción virus vacunal	Posible excreción virus vacunal	Sin excreción virus vacunal
No diseminación a la población	Posible diseminación a la población	No diseminación a la población
Interferencia con maternales	Interferencia con maternales	Sin Interferencia con maternales (>3m.)

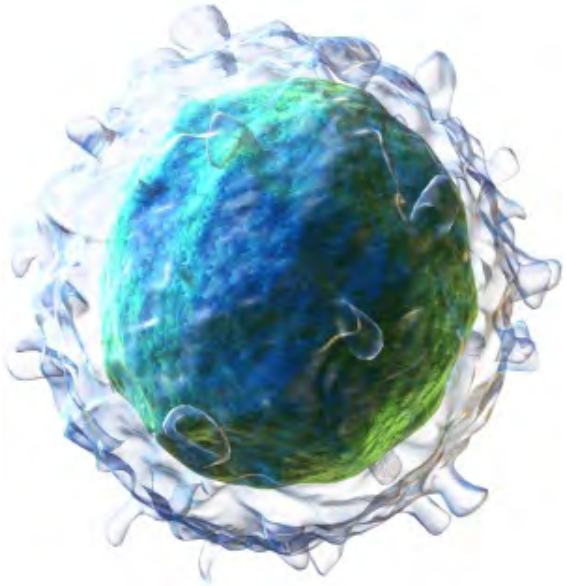
Inducción de inmunidad mediada por Cel. T por vacunas vivas vs vacunas inactivadas

Estirpes celulares de células T mediadoras de inmunidad

- **Linfocitos T Colaboradores “Helper” (Th) (CD4)**
  - Colaboran con los Linfocitos B para generar una respuesta de anticuerpos potente.
  - Activan de manera específica otros LT (CD8)
  - Inducen la síntesis de IFN-ɣ

- **Linfocitos T citotóxicos (TC) (CD8)**
  - Acción citotóxica en células que expresan las proteínas del virus (células infectadas)

- **Linfocitos T Gamma-Delta**
  - Colaboran en la protección de epitelios y mucosas.



Inmunidad inducida por vacunas vivas modificadas de BVDV

- **MLV de BVD del tipo 1 y 2 inducen:**
  - **Anticuerpos seroneutralizantes**
  - **Células T colaboradoras de memoria (CD4)**
  - **Células T citotóxicas de memoria (CD8)**
  - **Células Gamma-Delta de memoria**
  - **Respuesta de Gamma interferón**

Reference: Ratree Platt, William Burdett, James A. Roth Induction of Antigen Specific T Cell Subset Activation to Bovine Respiratory Disease Viruses by a Modified-live Virus Vaccine. Am J Vet Res, 67(7):1179-1184, 2006.

Inmunidad inducida por vacunas inactivadas (muertas) de BVDV

- **Vacunas inactivadas de BVD inducen:**
  - **Anticuerpos seroneutralizantes**
  - **Células T colaboradoras de memoria (CD4)**
  - **Células Gamma-Delta de memoria**
  - **Respuesta de Gamma interferón**
- **Vacunas inactivadas de BVD NO inducen:**
  - **Células T citotóxicas de memoria detectables**

Reference: Ratree Platt, Christopher Coutu, Todd Meinert, James Roth. Humoral and T Cell-mediated Immune Responses to Bivalent Killed Bovine Viral Diarrhea Virus Vaccine in Beef Cattle. Vet Immunol Immunopathol, 122:8-15, 2008

Inmunidad mediada por anticuerpos en la BVD

- Las **vacunas inactivadas** (muertas) inducen anticuerpos frente a la proteína **E2** con una potente inmunidad mediada por **Cel T Citotóxicas**



Los anticuerpos específicos frente a la proteína E2 pueden neutralizar el virus y proteger frente a la enfermedad.

↓

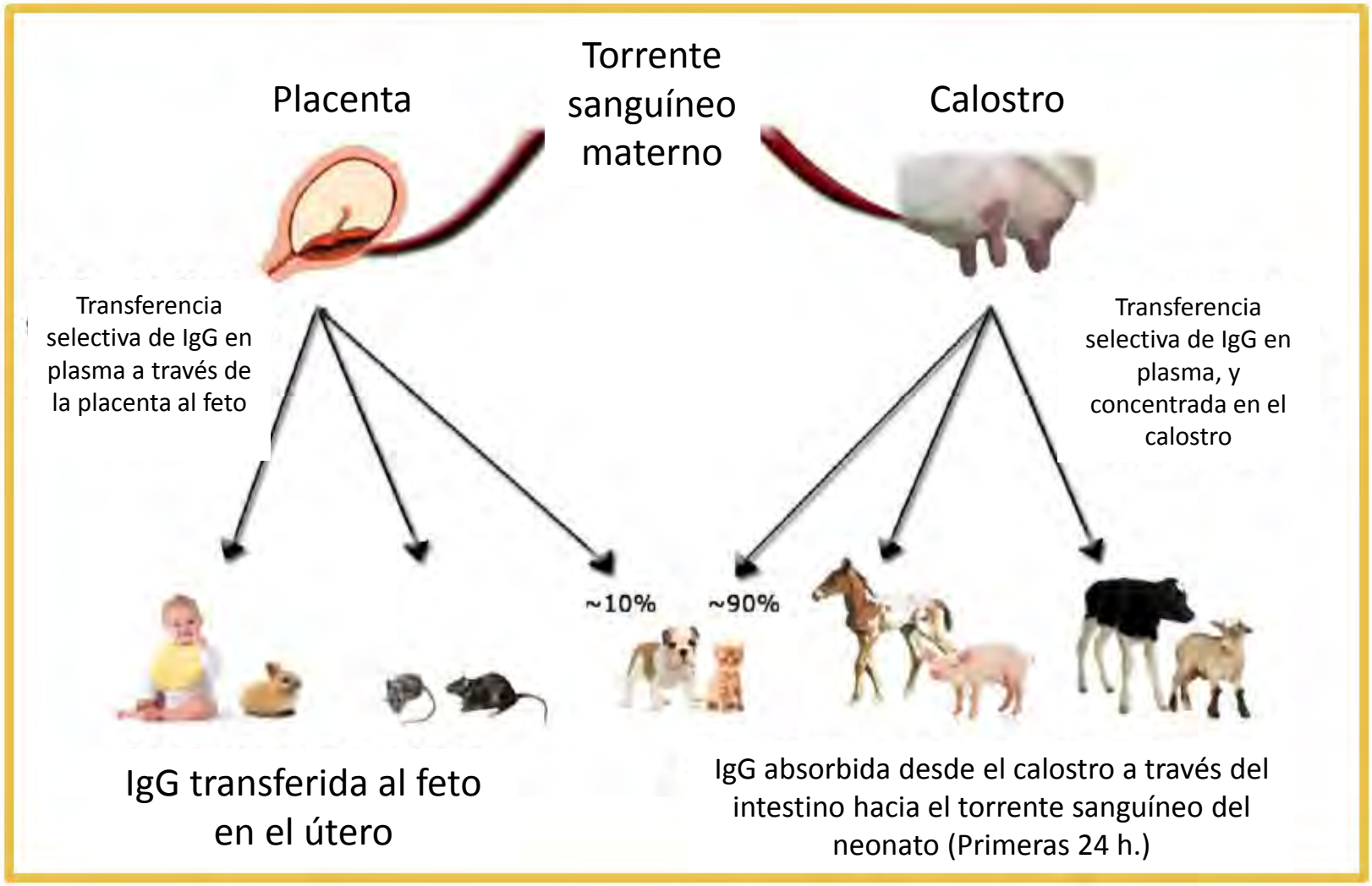
Sin embargo la proteína E2 es enormemente variable.

↓

Los anticuerpos solos no pueden conferir protección global frente a la gran diversidad de cepas de campo de BVD.

Vacunación y transferencia de inmunidad

Transferencia de inmunidad de la



Transferencia de inmunidad de la vaca al ternero



- Los anticuerpos maternales son transferidos al ternero sólo a través del calostro.
- No existe una transferencia significativa de Cel. T mediadoras de inmunidad.
- Los anticuerpos maternales solo protegen frente a aquellas cepas del virus que pueden neutralizar (Homologas a las que generaron los Ac).
- Los anticuerpos maternales pueden bloquear la respuesta humoral del ternero para producir anticuerpos [(1)].
- La duración de la inmunidad generada por los anticuerpos maternales es muy variable (depende del título de Ac y de la cepa del virus).

(1): Endsley J.J. et al. Maternal antibody blocks humoral but not T cell responses to BVDV. Biologicals 31 (2003) 123-125

Influencia de los anticuerpos maternales en el desarrollo de inmunidad frente a un desafío de BVDV

Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®

Biologicals 31 (2003) 123–125

BIOLOGICALS

www.elsevier.com/locate/biologicals

Maternal antibody blocks humoral but not T cell responses to BVDV

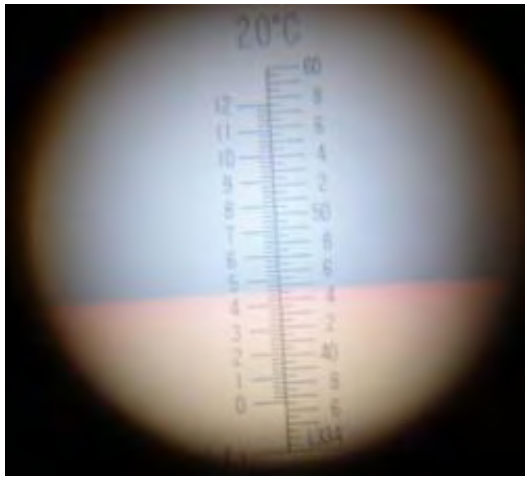
Janice J. Endsley[1,2], James A. Roth[2*], Julia Ridpath[3], John Neill[3]

[1] *Department of Veterinary Pathobiology, University of Missouri-Columbia, Columbia, MO 65201, USA*
[2] *Department of Veterinary Microbiology and Preventive Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, IA 50011, USA*
[3] *USDA, ARS, National Animal Disease Center, Ames, IA, USA*

Received 15 January 2003; accepted 15 January 2003

Influencia de los anticuerpos maternales en el desarrollo de inmunidad frente a un desafío de BVDV

- Los terneros expuestos a cepas virulentas de BVDV en presencia de anticuerpos maternales frente a BVDV:





  - Desarrollan células T de memoria CD8, CD4 y Gamma-Delta que persisten varios meses [(1)].
  - No producen anticuerpos como respuesta a la vacunación (… o producen menos).
  - Se hacen seronegativos a BVDV un a vez que los Ac calostrales han desaparecido.
  - Estuvieron protegidos frente a un desafío de BVDV en ausencia de anticuerpos detectables [(2)].

Reference: Janice Endsley, Julia Ridpath, John Neill, James Roth. Influence of Maternal Antibody on Development of Memory T cells after Exposure to BVDV. Viral Immunol, 17(1):13-23, 2004.

(1): Endsley J.J. et al. Maternal antibody blocks humoral but not T cell responses to BVDV. Biologicals 31 (2003) 123-125

(2): Downwy-Slinker E.D. et al. Antibody titers to vaccination ere not predictive of level of protection against a BVDV type 1b challenge in Bos indicus-Bos taurus steers. Vaccine 34 (2016) 5053-5059

Influencia de los anticuerpos maternales en el desarrollo de inmunidad frente a un desafío de BVDV

Vaccine 34 (2016) 5053–5059

Contents lists available at ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

Antibody titers to vaccination are not predictive of level of protection against a BVDV type 1b challenge in *Bos indicus* - *Bos taurus* steers

E.D. Downey-Slinker [a], J.F. Ridpath [b], J.E. Sawyer [c], L.C. Skow [a], A.D. Herring [c,*]

[a] *Department of Veterinary Integrative Biosciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843, USA*
[b] *Ruminant Diseases and Immunology Research Unit, National Animal Disease Center, USDA, Agricultural Research Services, 1920 Dayton Avenue, P.O. Box 70, Ames, IA 50010, USA*
[c] *Department of Animal Science, Texas A&M University & Texas A&M AgriLife Research, College Station, TX 77843, USA*

Influencia de los anticuerpos maternales en el desarrollo de inmunidad generada por una MLV vía intra-muscular

- La vacunación con un MLV* frente a BVD, vía IM, entre la sema 1 y 8 de edad en presencia de anticuerpos maternales:
  - Falló en la inducción de Ac detectables.
  - Indujo Cel T de memoria CD4, CD8 y Gamma-Delta.
  - Confirió protección frente a un desafío después de la desaparición de los anticuerpos maternales.





Express 5 contiene el tipo 1 &2

* Express 5™, Boehringer-Ingelheim Vetmedica, Inc., St Joseph, MO

Reference: Ratree Platt, Philip Widel, Lyle Kesl, James Roth. Comparison of Humoral and Cellular Immune Responses to a Pentavalent MLV Vaccine in Three Age Groups of Calves with Maternal Antibodies, before and after BVDV Type 2 Challenge. Vaccine. 2009 Jul 16:27(33):4508-19.

Retos de proteger al feto de la infección

- La protección fetal requiere una potente respuesta de anticuerpos y de células T en la vaca.
  - Administrar las MLV antes de la cubrición para inducir una respuesta de anticuerpos y células T
  - Booster durante la gestación para reforzar el titulo de IgG en la vaca y en el calostro
  - Eliminar los PIs



- La exposición constante al virus podría sobrepasar (arrollar) la inmunidad protectiva en algunas pocas vacas vacunadas (vacunas inactivadas), y posibilitar la generación de nuevos PIs

¡GRACIAS!