

# Parasitología y Parasitocidas

**Coordinador:** Dr. Roger Iván Rodríguez Vivas, **Moderador:** Dr. Rubén Hernández Ortiz, **Relator:** MVZ Carlos Enrique Jasso Villazul.



## Temas:

- 1.- Requisitos que debe cumplir una vacuna contra parásitos para su registro y comercialización. MVZ Ofelia Flores Hernández.
- 2.- Vacunas contra protozoarios. Vacunas en el mercado y casos de éxito. Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito.
- 3.- Vacunas contra helmintos. Dr. Felipe de Jesús Torres Acosta.
- 4.- Vacunas contra garrapatas. Presente y futuro. Dr. Rodolfo E. Lagunes Quintanilla.

# REQUISITOS PARA EL REGISTRO Y COMERCIALIZACIÓN DE VACUNA CONTRA PARÁSITOS



Diciembre 7, 2017

### **\*REGISTRO:**

Procedimiento por el cual la **autoridad** regulatoria nacional otorga **permiso** a un producto para elaboración o importación, distribución y comercialización, basado en la **evaluación** de **evidencias** que sustenta sus **características**, entre las principales, **calidad, eficacia y seguridad**.



### **\*BUENAS PRÁCTICAS DE USO:**

**Modos** de empleo **oficialmente autorizados o recomendados** por las autoridades nacionales de productos veterinarios.

# MARCO REGULATORIO ZOOSANITARIO

## Disposiciones Generales

- Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos
- Ley Orgánica de la Administración Pública Federal
- Ley de Desarrollo Rural Sustentable
- Ley Federal sobre Metrología y Normalización
- Ley Federal de Procedimiento Administrativo

## Disposiciones Específicas



102 Normas Oficiales Mexicanas

Reglamentos

Reglas de Operación

Decretos, Acuerdos, Manuales y Circulares

## Normas y Recomendaciones Internacionales

En proceso constante de armonización con:  
OIE (Organización Internacional de Salud Animal),  
CIPF (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria),  
CODEX ALIMENTARIUS,  
MSF-OMC (Acuerdo de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias)



# REGULACION VINCULADA CON PRODUCTOS BIOLOGICOS CONTRA PARÁSITOS

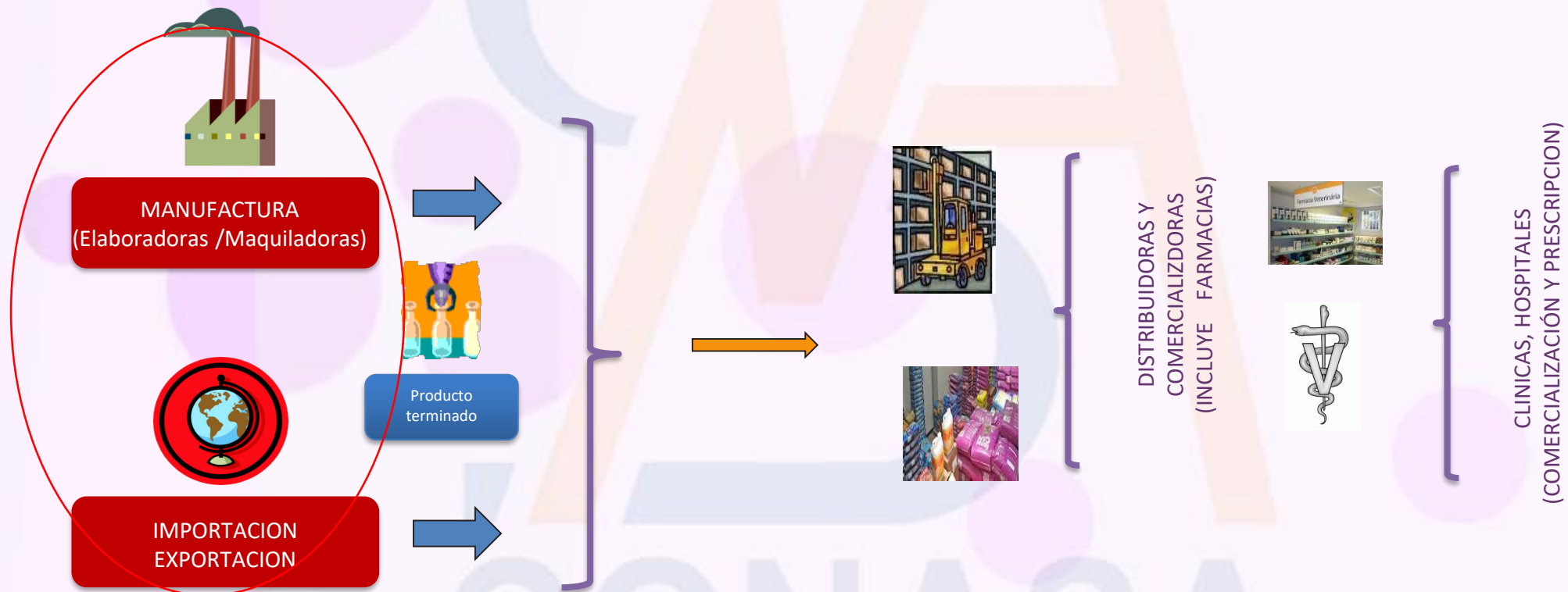


|                    |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NOM-006-ZOO-1993   | Requisitos de <u>efectividad biológica</u> para los <u>ixodicidas</u> de uso en bovinos y método de prueba.                                                                                                                                           |
| NOM-012-ZOO-1993 * | Especificaciones para la <u>regulación</u> de productos químicos, farmacéuticos, <u>biológicos</u> y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos                                                                                            |
| NOM-022-ZOO-1995 * | Características y especificaciones zoosanitarias para las <u>instalaciones, equipo y operación</u> de establecimientos que comercializan productos químicos, farmacéuticos, <u>biológicos</u> y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos |
| NOM-024-ZOO-1995   | Especificaciones y características zoosanitarias para el <u>transporte</u> de animales, sus productos y subproductos, productos químicos, farmacéuticos, <u>biológicos y alimenticios</u> para uso en animales o consumo por éstos                    |
| NOM-059-ZOO-1997   | Especificaciones de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y <u>alimenticios</u> para uso en animales o consumo por éstos. <u>Manejo técnico del material publicitario</u>                                                                     |
|                    | ACUERDO por el que se establece la Campaña Nacional para el control de la garrapata <i>Boophilus spp.</i>                                                                                                                                             |

# REQUISITOS:

Todas las empresas que Importen, elaboren, distribuyan y comercialicen productos para uso o consumo animal deben notificar

## AVISO DE INICIO DE FUNCIONAMIENTO\*



\*Art. 105 LFSA, Art. 149 RLFS

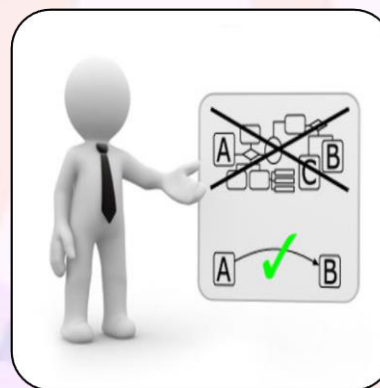
Trámite SENASICA 01-018

Directorio Nacional de Establecimientos Industriales y Mercantiles:

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/115572/Directorio\\_de\\_Establecimientos\\_Industriales\\_y\\_Mercantiles\\_de\\_Productos\\_Veterinarios\\_.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/115572/Directorio_de_Establecimientos_Industriales_y_Mercantiles_de_Productos_Veterinarios_.pdf)

# REQUISITOS:

## REGISTRO DE PRODUCTOS VETERINARIOS ANTE SAGARPA



Recibir Expediente  
SENASICA  
Producto Nacional o  
importado

Análisis de la  
información

Cumplimiento

Aprobación  
No. de registro  
SAGARPA  
B-0000-000

**TRAMITE SENASICA 01-024**

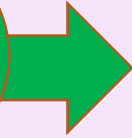
**\*GUÍA PARA LA PRESENTACIÓN E INTEGRACIÓN DE LOS DOCUMENTOS PARA EL REGISTRO DE LOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS PARA USO EN ANIMALES :**

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/116801/Gu\\_a\\_para\\_el\\_registro\\_de\\_Productos\\_Biol\\_gicos.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/116801/Gu_a_para_el_registro_de_Productos_Biol_gicos.pdf)[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/116801/Gu\\_a\\_para\\_el\\_registro\\_de\\_Productos\\_Biol\\_gicos.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/116801/Gu_a_para_el_registro_de_Productos_Biol_gicos.pdf)



## DOCUMENTOS QUE CONFORMAN EL EXPEDIENTE:

INFORMACIÓN  
CIENTÍFICA  
QUE RESPALDE  
EL EMPLEO DEL  
PRODUCTO



Publicaciones científicas del uso del producto terminado, en bibliografía nacional o internacionales con arbitraje o indexada

CARACTERÍSTICAS  
DE LA SEMILLAS  
MAESTRA Y DE  
PRODUCCIÓN



Información de procedencia de la semilla maestra utilizada en la elaboración del producto terminado.

CERTIFICADO  
DE ORIGEN



Documento que avala la procedencia del agente inmunizante

## PROTOCOLO DE FABRICACIÓN

Proceso de elaboración: áreas, equipo, diagrama de flujo del proceso, materias primas, procesos de etiquetado, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento del producto

## TÉCNICAS ANALÍTICAS DEL PRODUCTO

Metodologías de laboratorio aplicables al producto terminado, basadas en referencias bibliográficas nacionales o internacionales y validadas

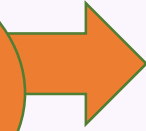
## ENVASE PRIMARIO Y SECUNDARIO

Descripción de las características y especificaciones

## PRUEBAS DE ESTABILIDAD

Para determinar tiempo de caducidad o vida de anaquel del producto, con base en Normas Oficiales Nacionales o internacionales o metodologías internas validadas

**DOCUMENTO  
(CERTIFICADO)  
DE ANÁLISIS DE  
CONTROL DE  
CALIDAD**



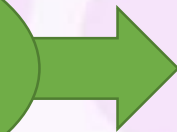
Garantizando la calidad del producto con base en las especificaciones presentadas, emitido por el laboratorio interno o contratado, autorizado por la Secretaría

**RESULTADOS DE  
CONSTATACIÓN**



Con base en NOMs para comprobar características y por Laboratorios de Referencia Nacional: CENAPA, CENASA

**PRUEBAS DE  
CONTROL  
FISICOQUIMICO**



ph, humedad, inspección física, vacío, concentración de inactivante y del preservante

**PRUEBAS DE  
CONTROL  
BIOLOGICO**



Esterilidad, pureza, seguridad o inocuidad, titulación, cuenta viable, titulación, disociación, inactivación, inmunogenicidad, potencia,

**RESULTADOS DE  
LAS PRUEBAS  
BIOLOGICAS**



**NOM-006-ZOO-1993. Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y método de prueba.**

**4.7. En el caso de las vacunas contra la garrapata *Boophilus* spp,**

**La evaluación deberá realizarse en establo y campo,**

**Los elementos básicos que debe contener el protocolo son:**

- a) La vacuna será evaluada con al menos cuatro cepas de referencia como son, Tuxpan, Tempoal, Susceptible y La Mora.**
- b) Producto de la evaluación se deberá lograr al menos un 80% promedio de control sobre garrapata *Boophilus*.**
- c) La aplicación de la vacuna no deberá provocar lesiones o reacciones secundarias imputables a la vacunación.**



**ACUERDO** por el que se establece la Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus spp.*

*Publicada en el DOF el 10 de septiembre de 2012.*

\* Los inmunógenos contra la garrapata autorizados por la Secretaría se utilizarán siempre en combinación con los tratamientos garrapaticidas señalados en el mismo Acuerdo.



**NOMBRE  
COMERCIAL  
DEL PRODUCTO  
y NUMERO DE  
REGISTRO**

**USOS, DOSIS,  
VÍAS DE  
ADMINISTRACIÓN**

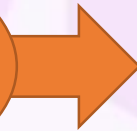
**ESPECIES ANIMALES  
/ EDADES / ETAPAS /  
FIN ZOOTECNICO**

**ADVERTENCIAS  
DE SEGURIDAD:  
TOXICIDAD Y  
ANTÍDOTOS**

**CONDICIONES  
DE  
CONSERVACIÓN  
DEL PRODUCTO**

**TIEMPO DE  
ELIMINACIÓN EN  
LOS TEJIDOS  
ANIMALES**

**PROYECTO DE  
ETIQUETA**



Texto de la Etiqueta, Empaque e Instructivos

**FORMATO  
REGULACIÓN  
DE PRODUCTO**



Tarjetón de registro

# Productos Importados, Requisitos adicionales:

## **Carta de autorización de la empresa elaboradora extranjera**

La empresa elaboradora extranjera, otorga la autorización para la regulación y comercialización del producto terminado

## **Certificado de libre venta o documento equivalente**

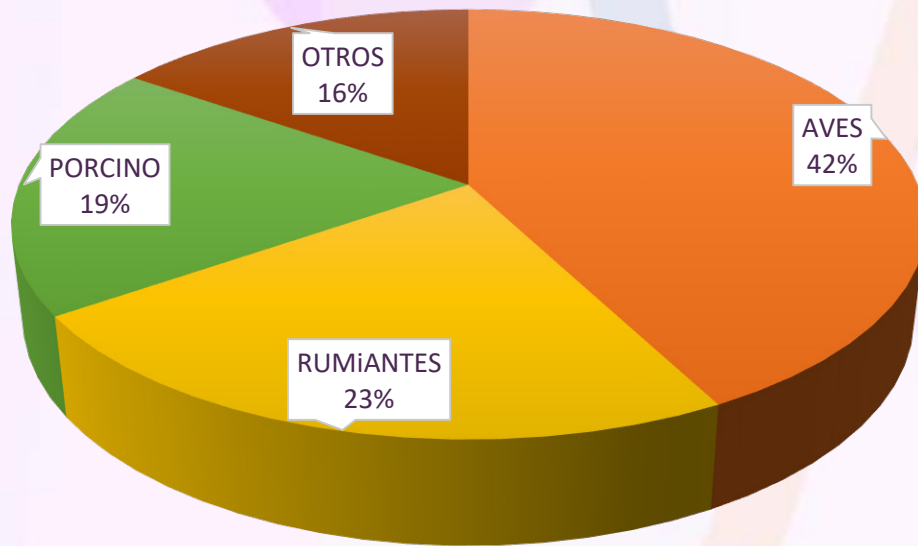
Avala que el producto está registrado y se comercializa libremente en el país de origen o esta autorizado para su elaboración y exportación.

## **Certificado para exportación o documento equivalente**

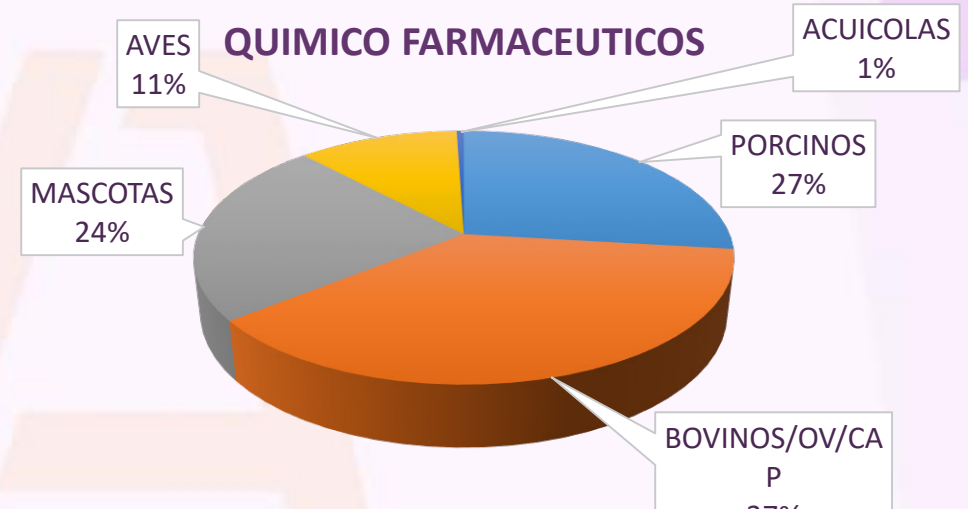


# PRODUCTOS VETERINARIOS REGISTRADOS EN MEXICO

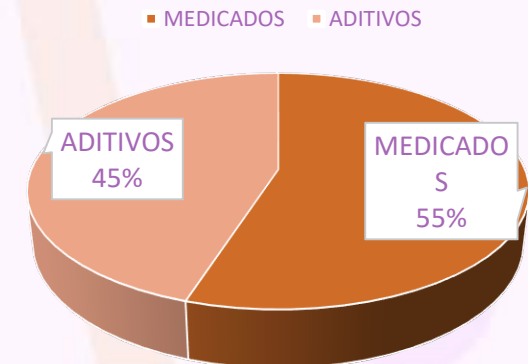
## BIOLOGICOS



## QUIMICO FARMACEUTICOS



## ALIMENTOS



- ✓ 7,850 Químico Farmacéuticos
- ✓ 1,300 Biológicos
- ✓ 4,000 Alimentos

# Vacunas Registradas en México contra parásitos en animales

| VACUNA                                                                                      |                                                                                       | TIPO              |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----|
| Vacunas Contra <i>Eimeria</i> en aves                                                       |    | Suspensión acuosa | 13 |
| Vacuna Contra <i>Giardia lamblia</i> en cánidos                                             |    | Suspensión        | 01 |
| Vacunas Contra <i>Boophilus microplus</i> y <i>B. annulatus</i> , Antígeno Bm-86 en bovinos |   | Ag Recombinante   | 02 |
| Vacuna Contra <i>Neospora caninum</i> (taquizoitos) cepa BPA-1 en bovinos                   |  | Solución          | 01 |
| TOTAL:                                                                                      |                                                                                       |                   | 17 |





***MVZ MC Ofelia Flores Hernández***  
***Directora de Servicios y Certificación Pecuaria***

*Boulevard Adolfo Ruiz Cortines No. 5010, Piso 5  
Col. Insurgentes Cuicuilco, Delegación Coyoacán  
C.P. 04530, Ciudad de México  
Tel: (52) 55 59 05 1000 ext. 53222.*

[empresaproducto.dgsa@senasica.gob.mx](mailto:empresaproducto.dgsa@senasica.gob.mx)  
[ofelia.flores@senasica.gob.mx](mailto:ofelia.flores@senasica.gob.mx)  
<http://www.gob.mx/senasica>

# Vacunas contra protozoarios. Vacunas en el mercado y casos de éxito



**Dr. Juan Mosqueda**

**Laboratorio de Inmunología y Vacunas**

Facultad de Ciencias Naturales

Universidad Autónoma de Querétaro



# Definición

Preparación de organismos (muertos; organismos vivos, atenuados; partículas virales inactivas o atenuadas; toxinas bacterianas inactivadas) o sus componentes como proteínas, carbohidratos, o ácidos nucleicos que son administrados para estimular una respuesta inmune.

Las vacunas protegen a un individuo contra el agente patógeno o sustancia en el futuro.

[science.education.nih.gov/supplements/nih1/diseases/other/glossary/act1-gloss5.htm](http://science.education.nih.gov/supplements/nih1/diseases/other/glossary/act1-gloss5.htm)

# Vacuna Ideal

1. 100 % segura
2. Una sola dosis sea suficiente
3. Administración fácil
4. Almacenamiento por tiempo indefinido a temperatura ambiente
5. Manufacturación fácil y barata
6. Capaz de conferir inmunidad de larga duración



[www.mansfield.ohio-state.edu/~sabedon/biol2080.htm](http://www.mansfield.ohio-state.edu/~sabedon/biol2080.htm)  
[www.malariavaccine.org/mal-vac1-ideal-vaccine.htm](http://www.malariavaccine.org/mal-vac1-ideal-vaccine.htm)

# Desarrollo de una vacuna

Comprende dos etapas amplias:

1. Desarrollo pre-clínico. Es un proceso de investigación conducido en el laboratorio.
1. Desarrollo clínico. Es el proceso que involucra una primera evaluación en la especie a la cual es destinada.



# Desarrollo de una vacuna

Desarrollo pre-clínico. Es un proceso de investigación conducido en el laboratorio y en animales. Incluye:

- a. Identificación (descubrimiento) de antígenos relevantes.
- b. Creación del concepto de la vacuna.
- c. Evaluación de la eficacia de la vacuna en modelos.
- d. Producción de la vacuna bajo los estándares de Buenas Prácticas de Producción.



<http://www.sabin.org/programs/vaccine-development>

# Desarrollo de una vacuna

Desarrollo clínico. Es el proceso que involucra una primera evaluación en la especie definitiva. Comprende cuatro etapas durante varios años:

Fase I: son ensayos clínicos para evaluar la seguridad de la vacuna en esa especie y el tipo de respuesta inmunitaria que genera.

Fase II: ensayos clínicos más grandes que evalúan la eficacia de la vacuna contra infección artificial y enfermedad clínica.

También se evalúa la seguridad de la vacuna, efectos secundarios y la respuesta inmunitaria.

# Desarrollo de una vacuna

Desarrollo clínico. Es el proceso que involucra una primera evaluación en la especie definitiva. Comprende cuatro etapas durante varios años:

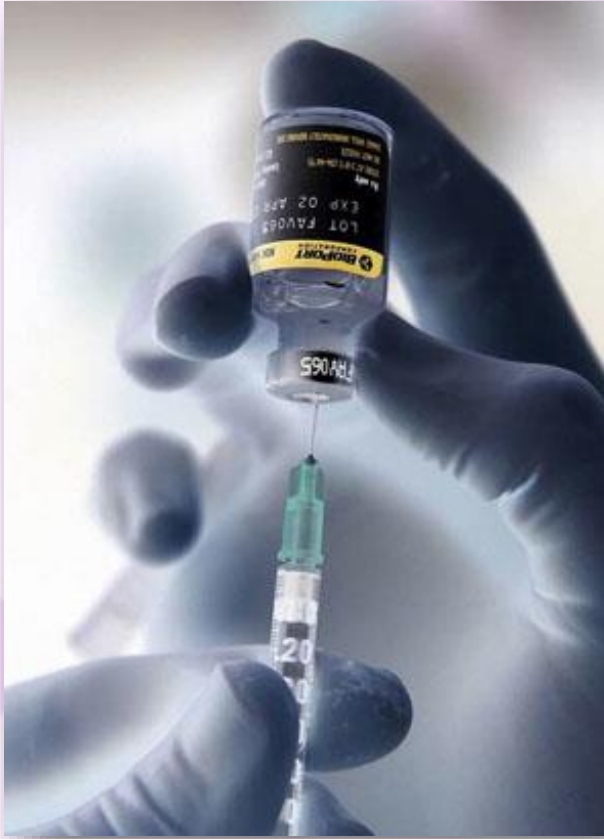
Fase III. Los ensayos clínicos se estudian a gran escala en cientos de individuos en distintos sitios donde existe la enfermedad en condiciones naturales (*si se retiene la seguridad de la vacuna y la eficacia, el productor puede aplicar para obtener una licencia para comercializar el producto para uso*).

Fase IV: ocurre después de que la vacuna ha sido autorizada para su uso. Su objetivo es identificar efectos secundarios adversos y determinar su eficacia a largo tiempo.

# Tiempo de desarrollo de una vacuna

- Toma en promedio entre 11 y 16 años para que una vacuna progrese de fase pre-clínica a fase III.
- Los costos esperados de son entre \$15-25 millones de dólares (MD) por año.
- De \$6-12 MD en fases I y IIa
- De \$20-40 MD en fases IIb
- De \$115-170 MD para estudios de fase III

# Tiempo de desarrollo de una vacuna

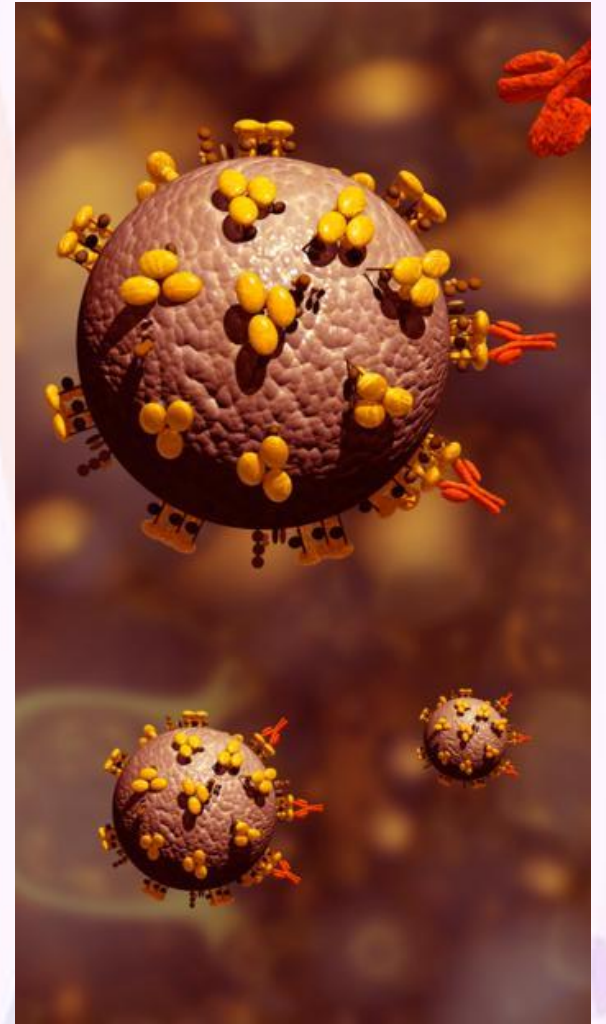


Pero las tasas de éxito son:

- 20% para estudios de desarrollo/preclínicos
- 33% por cada fase I y II
- Y 85% para estudios de fase III.

# Antígenos utilizados como vacunas

- Cuantos más antígenos tenga una vacuna mayor será su efectividad.
- Los organismos vivos son más eficaces que los inactivados.
- Nuevas vacunas a base de antígenos de patógenos que son expresados por otro tipo de células que actúan como vector.



# Tipos de vacunas



[www.dogaware.com/health/vaccinations.html](http://www.dogaware.com/health/vaccinations.html)

- Vacunas a base de organismos vivos.
- Vacunas a base de organismos muertos.
- Vacunas a base de fragmentos sub-celulares y de antígenos de superficie.

# Antígenos utilizados como vacunas

**Vacunas a base de organismos vivos:** Son muy inmunogénicas. Además confieren protección de larga duración.

- a) la coccidiosis aviar,
- b) la teileriosis bovina,
- c) la toxoplasmosis y,
- d) la babesiosis



Vacuna contra la teileriosis (*Theileria annulata*) en Kazajistán: (<https://nfpharma.kz/>)

# Antígenos utilizados como vacunas

- **Atenuados.** Se reduce la virulencia sin perder los antígenos deseados.
- Se atenúa mediante:
  - Cultivo *in vitro*: Toxoplasmosis
  - Pases en tejidos o animales: Babesiosis, Teileriosis.
  - El patógeno se adapta al nuevo tejido o se selecciona y no infecta bien el tejido original.
- **Modificados.** Se inducen mutaciones aleatorias o dirigidas, seguidas de selección;
  - radiaciones,
  - agentes químicos,
  - DNA recombinante.



RESEARCH ARTICLE

## Phosphatidylthreonine and Lipid-Mediated Control of Parasite Virulence

Ruben D. Arroyo-Olarte<sup>1</sup>, Jos F. Brouwers<sup>2</sup>, Arunakar Kuchipudi<sup>1</sup>, J. Bernd Helms<sup>2</sup>, Aindrita Biswas<sup>3</sup>, Ildiko R. Dunay<sup>3</sup>, Richard Lucius<sup>1</sup>, Nishith Gupta<sup>1,4\*</sup>



# Vacunas vivas contra protozoarios de importancia veterinaria

| Pathogen(s)                                   | Host    | Brand name(s)                                       | Distributor(s)                                             | Characteristic(s)                                                   |
|-----------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <i>Eimeria</i> spp.                           | Poultry | Coccivac, Immucox, Paracox, Advent, Nobilis Cox ATM | Shering-Plough, Vetech Labs, Novus International, Intervet | Sporulated oocysts of several or all of the avian species           |
| <i>Eimeria</i> spp.                           | Poultry | Inovocox                                            | Embrex                                                     | In ovo delivery using proprietary platform injection system         |
| <i>E. tenella</i>                             | Poultry | Livacox                                             | BIOPHARM                                                   | Precocious and egg-passaged lines                                   |
| <i>Theileria parva</i>                        | Cattle  |                                                     | Centre for Ticks and Tick-borne Disease, Malawi            | Infection followed by drug treatment                                |
| <i>Theileria annulata</i> and <i>T. hirci</i> | Cattle  |                                                     | Local veterinary institutes                                | Culture-derived schizonts                                           |
| <i>Toxoplasma gondii</i>                      | Sheep   | Ovilis Toxovax                                      | Intervet                                                   | S48 strain with a lost ability to form cysts after passages in mice |
| <i>Babesia bovis</i> and <i>B. bigemina</i>   | Cattle  |                                                     | Local veterinary institutes                                | Infected blood from splenectomized calves                           |

# Antígenos utilizados como vacunas

## Vacunas contra protozoarios hechas a base de organismos muertos.

- Son pocas en la industria veterinaria
- Hacia el mercado de pequeñas especies.
- Estas vacunas son, en general, menos efectivas que las vacunas vivas:
  - su inmunidad es de corta duración, pero pueden disminuir los signos clínicos de la enfermedad.
- Vacunas contra protozoarios en el mercado han sido desarrolladas contra:
  - a) *Neospora caninum*,
  - b) *Sarcocystis neurona*,
  - c) *Giardia lamblia*,
  - d) *Eimeria maxima*,
  - e) *Leishmania donovani*

# Antígenos utilizados como vacunas

## Vacunas a base de fragmentos sub-celulares y de antígenos de superficie:

- Los primeros antígenos que reconoce el sistema inmunitario son los antígenos de superficie.
- Estos antígenos se pueden utilizar como vacuna segura contra infecciones que sean eliminadas por anticuerpos: fases extracelulares.
- Babesiosis canina.
- Limitada inmunogenicidad, mejor posibilidad de éxito. Requieren adyuvante.



*Babesia canis vogeli.*  
Imagen: Aldo Pavón



# Vacunas muertas o de subunidades contra protozoarios de importancia veterinaria

## Available veterinary killed/subunit protozoal vaccines

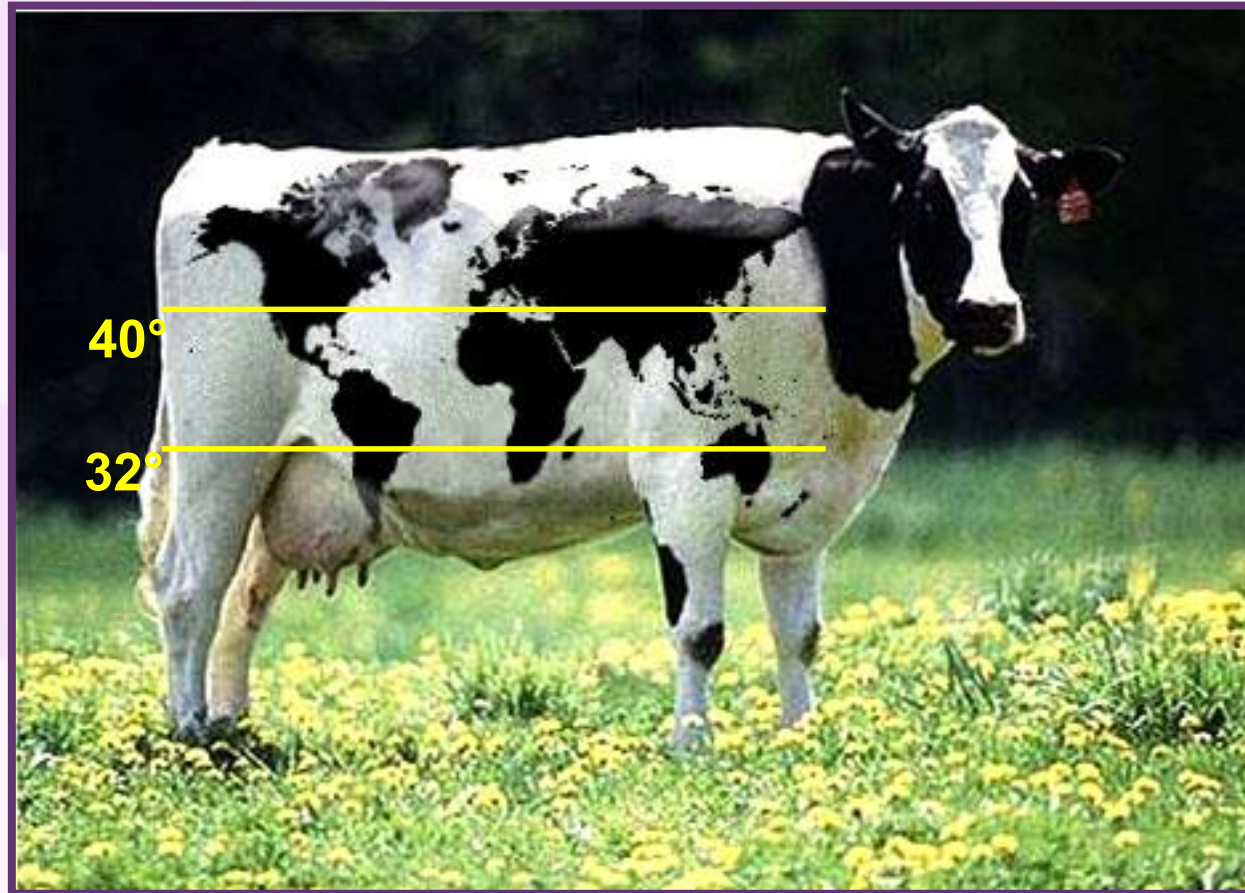
| Pathogen(s)                | Host    | Brand name(s)            | Distributor(s)                     | Characteristic(s)                                                               |
|----------------------------|---------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Neospora caninum</i>    | Cattle  | Bovilis, Neoguard        | Intervet                           | Killed tachyzoites, reduces abortion                                            |
| <i>Giardia duodenalis</i>  | Dogs    | Giardiavax               | Fort Dodge                         | Cultured trophozoites, reduces disease and cyst shedding                        |
| <i>Sarcocystis neurona</i> | Horses  | Epm vaccine              | Fort Dodge                         | In vitro-cultured merozoites, chemically inactivated                            |
| <i>Babesia canis</i>       | Dogs    | Pirodog and Nobivac Piro | Merial and Intervet (respectively) | In vitro-cultured supernatant antigens, reduce clinical disease                 |
| <i>Leishmania donovani</i> | Dogs    | Leishmune                | Fort Dodge                         | Native fucose-mannose-ligand antigen complex                                    |
| <i>Eimeria maxima</i>      | Poultry | CoxAbic                  | Novartis AH                        | Gametocyte antigen(s); transmission blocking through maternal antibody transfer |

# Vacunas contra la babesiosis bovina

SA  
CONASA



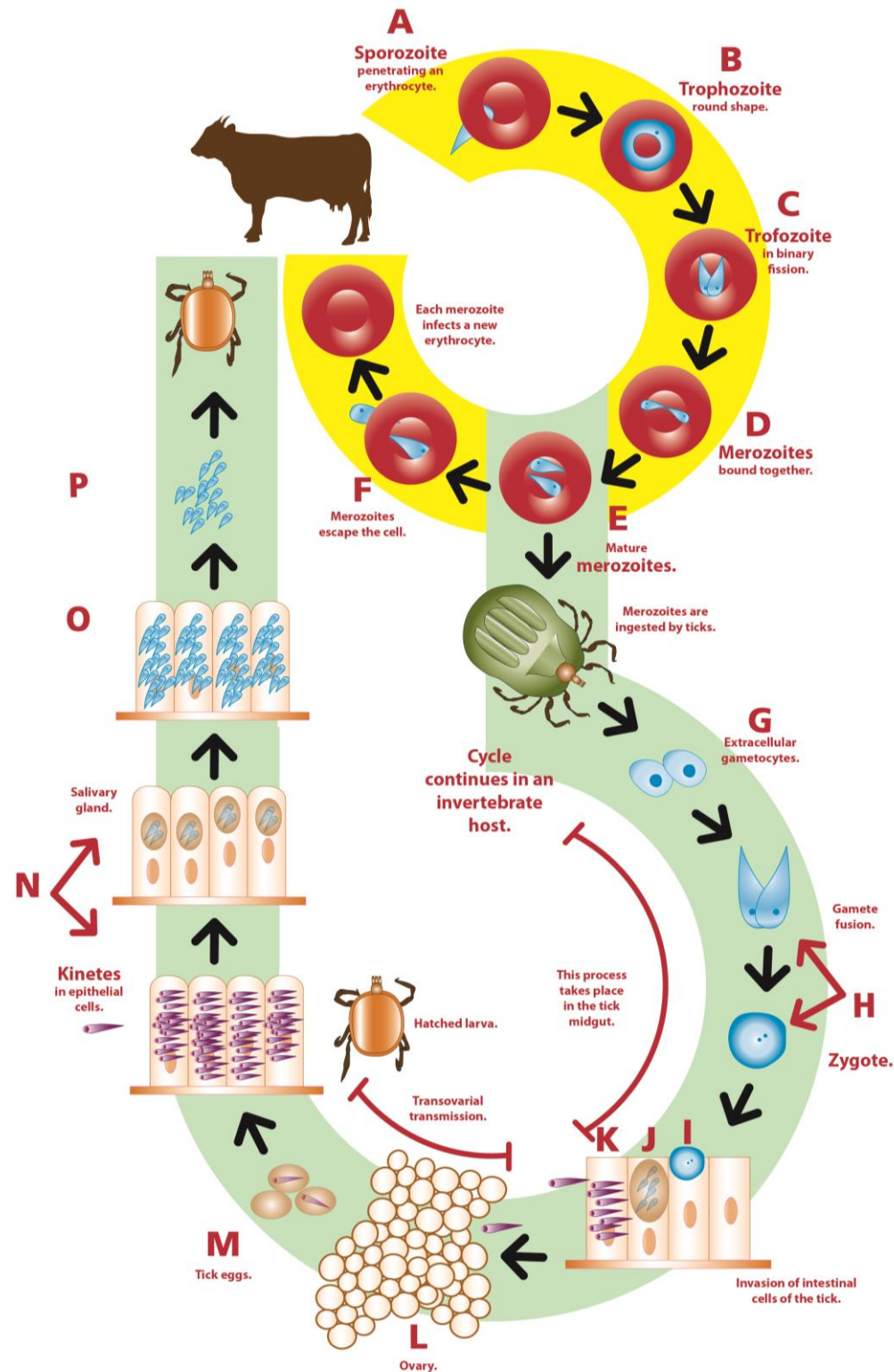
# Babesiosis: Distribución



Zonas tropicales y subtropicales del mundo

(McCosker, 1981)

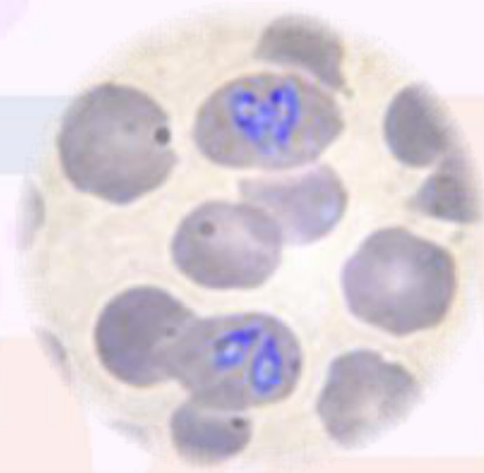
# Ciclo Biológico de *Babesia bovis*



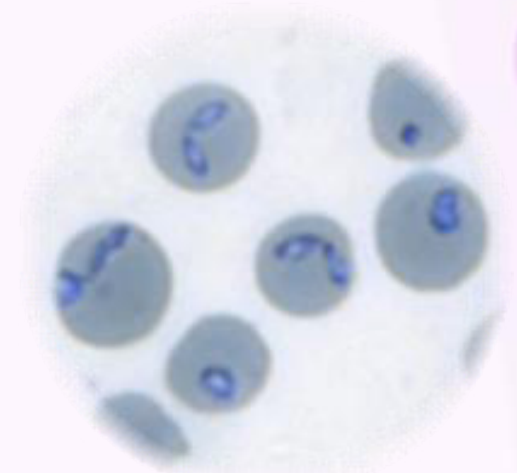
Juan Mosqueda *et al*, CMC, 2012.

# ETIOLOGÍA

- Dos especies en México:
  - *Babesia bigemina*
  - *Babesia bovis*



*Babesia bigemina*



*Babesia bovis*

## Vector

*Rhipicephalus* (*Boophilus*)

- *microplus*
- *annulatus*



Imágenes: Juan Mosqueda

# Signos Clínicos: *Babesia bovis*

- Parasitemia ~ 0.2-0.04 %
- Daño a órganos
- Edema pulmonar
- Choque hipotensivo severo
- Disfunción Cerebral
- Mortalidad >50%



Imagen: Juan Ramos

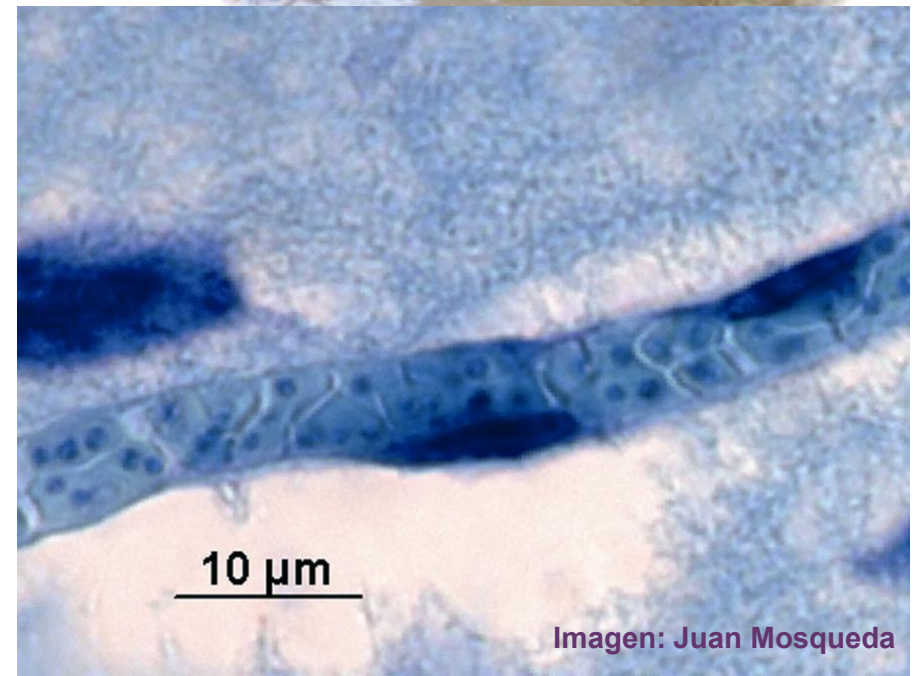


Imagen: Juan Mosqueda

# Signos Clínicos: *Babesia bigemina*

- Fiebre
- Letargia
- Anorexia
- Deshidratación
- Hemólisis progresiva
- Hemoglobinemia
- Hemoglobinuria
- Ictericia



- Anoxia anémica

# Vacunas contra la babesiosis bovina en México



- No hay vacunas comerciales disponibles de ningún tipo.
- Las vacunas vivas son efectivas pero poco seguras.
- No hay vacunas recombinantes contra la babesiosis bovina en el mundo.

# Como se genera una vacuna contra la Piroplasmosis bovina

SA  
CONASA



# El Centro de la Fiebre de la Garrapata en Queensland, Australia



ASA

# © The State of Queensland, Department of Agriculture and Fisheries, 2017.

## Combavac 3 in 1 Live Tick Fever Vaccine DOSSIER – Apr 2017



### 1.2.2 Name

| <i>Name and code of the products</i> |                           |                                                                       |
|--------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Product code                         | APVMA registration number | Name of product                                                       |
| CON311                               | 53629/0508                | <u>Combavac</u> 3 in 1 concentrate                                    |
| FRZ025                               | 53629/25/0508             | 25-dose diluent pack for use with <u>Combavac</u> 3 in 1 concentrate  |
| FRZ100                               | 53629/100/0508            | 100-dose diluent pack for use with <u>Combavac</u> 3 in 1 concentrate |

# El Centro de la Fiebre de la Garrapata en Queensland, Australia



# Piroplasmosis: *Babesia bovis*

- Mediante pases rápidos en becerros esplenectomizados de 6-7 meses de edad.
- Pase rápido= 6-10 días.
- 18-20 pases lentos.
- Porcentaje de éxito = 95 %  
(Necesidad de incrementar más pases).



# Piroplasmosis: *Babesia bigemina*

- Mediante pases lentos en becerros intactos de 6-7 meses de edad.
- Pase lento = 3-5 semanas.
- 12 pases lentos.
- Los becerros se esplenectomizan al final para recuperar la sangre.
- Porcentaje de éxito = 90 %  
(Necesidad de incrementar más pases).

Dalglish et al, 1981.  
D.H. Aguirre et al, 1989.



# Piroplasmosis: Vacuna atenuada

- Una vez que ya se tiene la vacuna:
- Se esplenectomizan dos becerros,
- 10 días después se sangra para obtener la vacuna,
- La vacuna se usa fresca o se guarda en nitrógeno líquido.



# Beneficios

Vacuna viva atenuada:

- Protección del 99-100% de los bovinos vacunados.
- De por vida.
- Vacuna disponible por tiempo indefinido.
- Potencial de comercialización.
- Tiempo corto de recuperación de la inversión inicial.
- Beneficio social.

# Principales características de los protozoarios

- Mayor tamaño y complejidad genómica
- Mayor variedad y cantidad de antígenos
- Ciclos biológicos complejos
- Especies presentan variación antigénica

# Importancia de la variación antigénica en los parásitos

- Los parásitos necesitan tiempo en su hospedero para poder completar su complejo desarrollo, madurar sexualmente y reproducirse, y asegurar la transmisión que les permita continuar el ciclo biológico
- Los parásitos han desarrollado mecanismos efectivos para evadir la inmunidad innata y adaptativa

CONASA

## Variación antigénica: un reto

- El mecanismo de la variabilidad antigénica en los parásitos ha limitado considerablemente el desarrollo de estrategia de control de las enfermedades
- Hasta ahora no se ha producido vacunas de forma comercial contra estas enfermedades a pesar los avances en cuanto a la caracterización inmunobiológica molecular de sus antígenos.
- **Permanece el reto para los investigadores en el desarrollo de las vacunas ideales.**

# INMUNOLOGÍA DE LA BABESIOSIS

SA  
CONASA

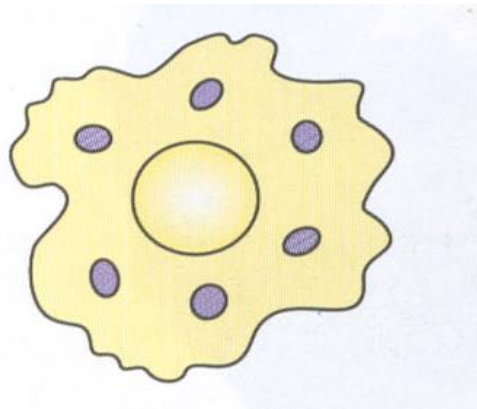


# MECANISMOS DE INMUNIDAD ADQUIRIDA CONTRA *Babesia bovis*

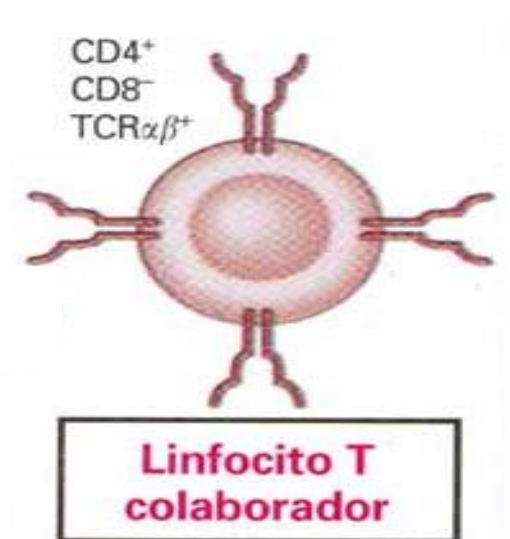


Bovino Inmune  
a *B. bovis*

Macrófago activado



- IFN tipo 1
- IL-12
- IL-18



• NO



IFN- $\gamma$



IL-4



IgG2



IgG1



# Stimulation of T-Helper Cell Gamma Interferon and Immunoglobulin G Responses Specific for *Babesia bovis* Rhoptry-Associated Protein 1 (RAP-1) or a RAP-1 Protein Lacking the Carboxy-Terminal Repeat Region Is Insufficient To Provide Protective Immunity against Virulent *B. bovis* Challenge

Junzo Norimine,<sup>1</sup> Juan Mosqueda,<sup>1†</sup> Carlos Suarez,<sup>2</sup> Guy H. Palmer,<sup>1</sup> Terry F. McElwain,<sup>1</sup>  
Gabriel Mbassa,<sup>1‡</sup> and Wendy C. Brown<sup>1\*</sup>

*Department of Veterinary Microbiology and Pathology<sup>1</sup> and Animal Disease Research Unit, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture,<sup>2</sup> Washington State University, Pullman, Washington 99164*

Las respuestas inmunitarias tipo TH1 basadas en producción de interferón gama e IgG2 contra un solo antígeno no son suficientes para conferir inmunidad protectora contra *Babesia bovis*.

# Alineamiento Múltiple MSA-2c

|                     |                                                                                   |                                                            |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
|                     | 1                                                                                 | 75                                                         |
| MSA-2C Mo7          | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C CHIAPAS 1    | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C MAYARIT      | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C TAMAULIPAS 2 | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C QUINTANA ROO | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C VERACRUZ 2   | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C CHIAPAS 2    | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C GUERRERO     | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C JALISCO      | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C VERACRUZ 1   | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C MEXICO       | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C RAD          | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C TABASCO      | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
| MSA-2C TAMAULIPAS   | (1) MVSFNIIIVAFCSILF                                                              | YTTLASPQEKTPVTKQVNGSHLLFDDMRHFDVHRSIDESMLRSILEKNFRAVGMKATS |
|                     | 76                                                                                | 150                                                        |
| MSA-2C Mo7          | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 1    | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C MAYARIT      | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS 2 | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C QUINTANA ROO | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 2   | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 2    | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C GUERRERO     | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C JALISCO      | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 1   | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C MEXICO       | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C RAD          | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C TABASCO      | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS   | (76) ATKTHDAIKAVRQLIKTDAPFNTSDFDTLDEYLSGQSNEE LLKLLIEATYGMIIIEKTSFVGE SARHSDKLD   |                                                            |
|                     | 151                                                                               | 225                                                        |
| MSA-2C Mo7          | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 1    | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C MAYARIT      | (151) TELRKYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS 2 | (151) TELRKYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C QUINTANA ROO | (151) TELRKYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 2   | (151) TELRKYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 2    | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITNSAALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTPETETSSPSH |                                                            |
| MSA-2C GUERRERO     | (151) TELRKYYKANIYDDIN EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C JALISCO      | (151) TELRKYYKANIYDDIN EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 1   | (151) TELRKYYKANIYDDIN EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C MEXICO       | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C RAD          | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C TABASCO      | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS   | (151) TDLRQYYNDNIYDDQS EYNKDKLSNLYKAFITDSGALRIASEELPKFETPKAQKNDYFINPSSTSEPETSPSS  |                                                            |
|                     | 226                                                                               | 265                                                        |
| MSA-2C Mo7          | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 1    | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C MAYARIT      | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS 2 | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C QUINTANA ROO | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 2   | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C CHIAPAS 2    | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C GUERRERO     | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C JALISCO      | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C VERACRUZ 1   | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C MEXICO       | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C RAD          | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C TABASCO      | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |
| MSA-2C TAMAULIPAS   | (226) GENTAAGPPKPAETPKPTCSSFTFGGLTVATLCYFVLSAF                                    |                                                            |

Identidad  
81.1%



# Alineamiento múltiple MSA-2b

|                     |       |                                                                               |  |     |
|---------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------|--|-----|
|                     |       | 1                                                                             |  | 75  |
| MSA-2B MO7          | (1)   | SVNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDKEVLELEIQDQDQIFKSLLERVPLIRTMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 1    | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVPLIRTMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B RAD          | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDKEVLELEIQDQDQIFKSLLEGVPLIRTMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B TABASCO      | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRTMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS   | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRTMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B JALISCO      | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B MÉXICO       | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 2   | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 2    | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B GUERRERO     | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B NAYARIT      | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALMDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B QUINTANA ROO | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS 2 | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 1   | (1)   | -VNMPSDCSRDALKALFDILVVVKREEIPFETSLFDNEVLELEIQDQDQIFKSLLERVLLIRKMLETFNAFLNDN   |  |     |
|                     |       | 76                                                                            |  | 150 |
| MSA-2B MO7          | (76)  | PQRLLADKNCEVTKYKRHHISARDANVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELLRKMPSKTSPSTSSP  |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 1    | (75)  | PQRLLADKNCEVTKYKRHHISARDANVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELLRKMPSKTSPSTSSP  |  |     |
| MSA-2B RAD          | (75)  | PQRLLADKNCEVTKYKRHHISARDANVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELLRKMPSKTSPSTSSP  |  |     |
| MSA-2B TABASCO      | (75)  | PQRLLADKNCEVTKYKRHHISARDANVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELLRKMPSKTSPSTSSP  |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS   | (75)  | PQRLLADKNCEVTKYKRHHISARDANVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELLRKMPSKTSPSTSSP  |  |     |
| MSA-2B JALISCO      | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPIPST |  |     |
| MSA-2B MÉXICO       | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPIPST |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 2   | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPIPST |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 2    | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
| MSA-2B GUERRERO     | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
| MSA-2B NAYARIT      | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSDVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
| MSA-2B QUINTANA ROO | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSCVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS 2 | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSCVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 1   | (75)  | PPHLLTNGCRDKMTKYKRHHISARDSCVRDYYTFLVKFCNDYLDSESPFMKRYKAFNTYEELVRKKPSITPSPITSS |  |     |
|                     |       | 151                                                                           |  | 225 |
| MSA-2B MO7          | (151) | QATPGAKPAAPNTS ESAGGQPQQETPENRPSQAPSPQSPQTEQSTSNLNGPSKSA SFTFGGLTVATLCYFVLSA  |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 1    | (150) | QATPGAKPAAPNTS ESAGGQPQQETPENRPSQAPSPQSPQTEQSTSNLNGPSKSA SFTFGGLTVATLCYFVLSA  |  |     |
| MSA-2B RAD          | (150) | QATPGAKPAAPNTS ESAGGQPQQETPENRPSQAPSPQSPQTEQSTSNLNGPSKSA SFTFGGLTVATLCYFVLSA  |  |     |
| MSA-2B TABASCO      | (150) | QATPGAKPAAPNTS ESAGGQPQQETPENRPSQAPSPQSPQTEQSTSNLNGPSKSA SFTFGGLTVATLCYFVLSA  |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS   | (150) | QATPGAKPAAPNTS ESAGGQPQQETPENRPSQAPSPQSPQTEQSTSNLNGPSKSA SFTFGGLTVATLCYFVLSA  |  |     |
| MSA-2B JALISCO      | (150) | QGTPGAQPAAPNTS QPD-----TPAAQHPGPAAPSTTSADQP--SKPTGSSFTFGGLTVATLCYFVLSA        |  |     |
| MSA-2B MÉXICO       | (150) | QGTPGAQPAAPNTS QPD-----TPAAQHPGPAAPSTTSADQP--SKPTGSSFTFGGLTVATLCYFVLSA        |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 2   | (150) | QGTPGAQPAAPNTS QPD-----TPAAQHPGPAAPSTTSADQP--SKPTGSSFTFGGLTVATLCYFVLSA        |  |     |
| MSA-2B CHIAPAS 2    | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |
| MSA-2B GUERRERO     | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |
| MSA-2B NAYARIT      | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |
| MSA-2B QUINTANA ROO | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |
| MSA-2B TAMAULIPAS 2 | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |
| MSA-2B VERACRUZ 1   | (150) | QGTITTSQPSQ-----DSSAAPNTSAGNLSGCKPACSSFTFGGLTVATLCYFVLSA                      |  |     |

Identidad  
63.2%

# Homología de MSA-1 en aislados de *Babesia bovis*

**TABLE 1.** Percent of *msa-1* Protein Sequence Homology in Mexican, Argentinean, and Australian *B. bovis* Isolates

| Mexican isolate<br>accession numbers:<br>EF640942–EF640954                               | Mo7 clone accession<br>no. AF275908 | Argentinean isolate<br>accession numbers:<br>AF275909, AF275910 | Australian isolate<br>accession numbers:<br>DQ028735–DQ028757 |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Jalisco, Nayarit, Tabasco,<br>Veracruz-1, Tamaulipas, Chetumal,<br>Mexico, and Rad clone | 99.7%                               | 22%–48%                                                         | 47%–48%                                                       |
| Guerrero, Tamaulipas-2, and Veracruz-2                                                   | 51%                                 | 44%–45%                                                         | 44%–81%                                                       |
| Chiapas-1                                                                                | 57%                                 | 47%–48%                                                         | 25%–51%                                                       |
| Veracruz-2                                                                               | 54%                                 | 50%–51%                                                         | 23%–49%                                                       |



# Stimulation of T-Helper Cell Gamma Interferon and Immunoglobulin G Responses Specific for *Babesia bovis* Rhoptry-Associated Protein 1 (RAP-1) or a RAP-1 Protein Lacking the Carboxy-Terminal Repeat Region Is Insufficient To Provide Protective Immunity against Virulent *B. bovis* Challenge

Junzo Norimine,<sup>1</sup> Juan Mosqueda,<sup>1†</sup> Carlos Suarez,<sup>2</sup> Guy H. Palmer,<sup>1</sup> Terry F. McElwain,<sup>1</sup>  
Gabriel Mbassa,<sup>1‡</sup> and Wendy C. Brown<sup>1\*</sup>

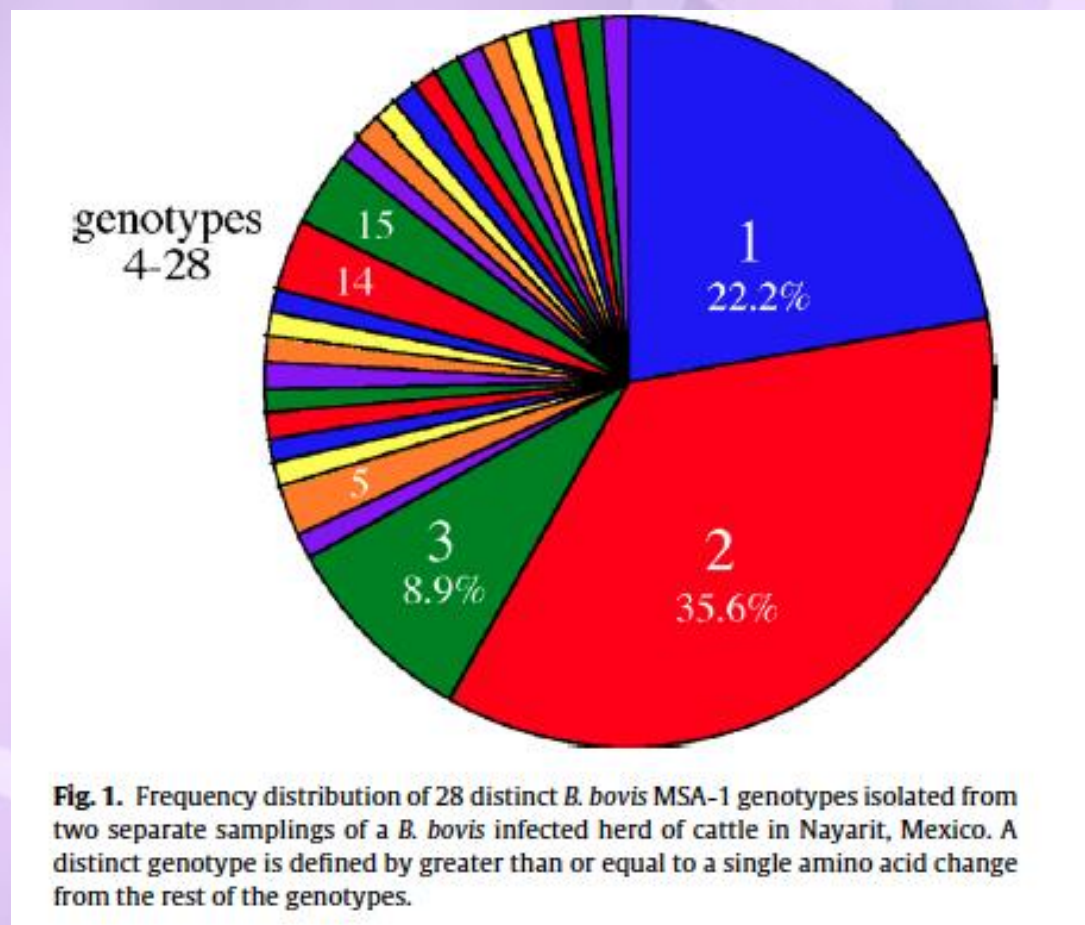
*Department of Veterinary Microbiology and Pathology<sup>1</sup> and Animal Disease Research Unit, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture,<sup>2</sup> Washington State University, Pullman, Washington 99164*

Las respuestas inmunitarias tipo TH1 basadas en producción de interferón gama e IgG2 contra un solo antígeno no son suficientes para conferir inmunidad protectora contra *Babesia bovis*.

# Diversidad genotípica de *Babesia bovis* en hatos en México



Santiago Ixcuintla, Nayarit



# Consideraciones finales

A la fecha no hay vacunas contra ningún protozooario a base de antígenos producidos de forma recombinante.

Esto se debe a:

- la complejidad de los ciclos de vida,
- la falta de conocimientos sobre estos,
- la diversidad de los mecanismos de evasión de la respuesta inmunitaria,
- la dificultad para identificar antígenos vacunales que confieran inmunidad protectora, de larga duración y efectiva contra cepas de distinto origen geográfico.

# Consideraciones finales

La investigación básica encaminada a resolver estos problemas, permitirá eventualmente el desarrollo de vacunas exitosas contra las enfermedades causadas por estos patógenos, no solo en el Mundo, sino en México.

CONASA



# LINVAS

Laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Contacto:  
[joel.mosqueda@uaq.mx](mailto:joel.mosqueda@uaq.mx)

# EVALUACIÓN DE VACUNAS CONTRA HELMINTOS DE ANIMALES

*Torres-Acosta, J.F.J.*



## PROPIEDADES DE UNA VACUNA

Eficacia  
Inocuidad

### CARACTERÍSTICAS DE LA VACUNA IDEAL

- Reproducir una respuesta similar a la de la infección natural.
- Efectiva (más del 90% de protección).
- Mínimos efectos secundarios y completamente segura.
- Dosis única y compatible con otras vacunas.
- Administración no invasiva.
- Administración precoz en los primeros meses de vida.
- Estable a temperatura ambiente.
- Fácil producción y económicamente asequible.

# Vacunas contra helmintos de interés veterinario

- ⦿ Vacunas irradiadas
  - ⦿ Utilizan respuesta inmune normal
  - ⦿ No funciona en corderos
  - ⦿ No funciona en periparto
  - ⦿ No funciona en mal nutridos
- ⦿ *Dictyocaulus viviparus*
  - ⦿ Dycotol: única vacuna comercial
- ⦿ Vacunas contra *Haemonchus contortus* y *Fasciola hepática* no funcionaron

# Vacunas contra parásitos de importancia veterinaria

## CÉSTODOS



- Vacunas de péptidos recombinantes de proteínas de la oncosfera (16k, 18k y 45k) de diferentes especies de *Taenia* y *Equinococcus*.
- Sistema de expresión: bacteriano (*Escherichia coli*).
- Protección cercana al 100%.

# ¿Que pasó con estas vacunas?

- ❉ Usa proteínas de la oncósfera de (huevos) como antígenos
  - ❉ Se producen antígenos recombinantes
- ❉ Excelente control de las fases quísticas de céstodos
  - ❉ *Taenia solium*
  - ❉ *T. ovis*
  - ❉ *T. sanginata*
  - ❉ *Echinococcus granulosus*
  - ❉ *E. multilocularis*
- ❉ No es de interés comercial
- ❉ Tendría que ser producida para distribución gratuita / bajo costo
- ❉ El parásito se puede controlar con medidas de higiene e inspección de carne

# Vacunas contra parásitos de importancia veterinaria

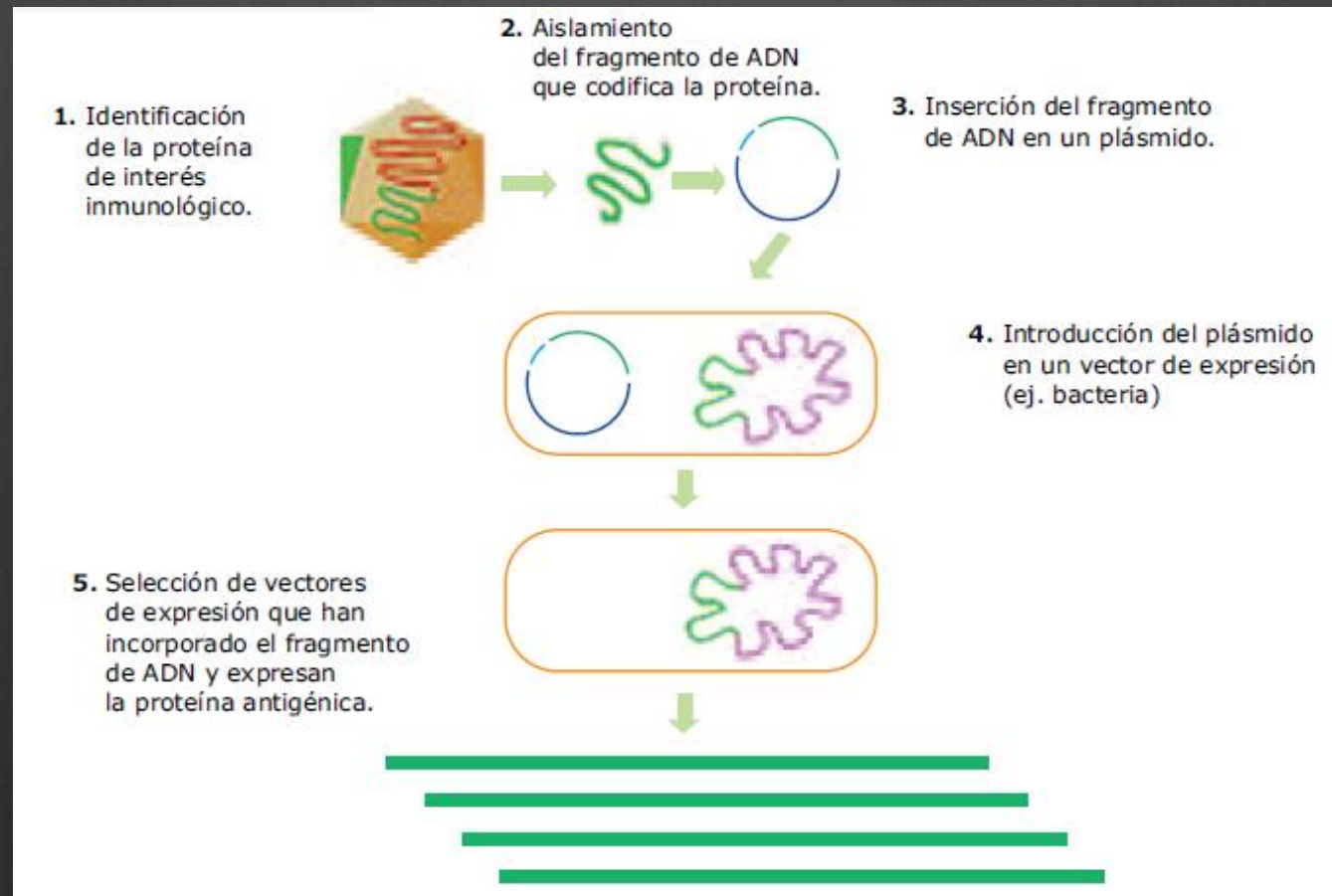
## TREMATODOS



- Vacunas de péptidos recombinantes (Sm14 F/ Saposine 2 ) de *Fasciola hepática* con protección desde 80% hasta el 100%.
- Recombinantes para *Schistosoma bovis*, *S. japonicum* *S. mansoni* con baja eficacia (menor al 50%).
- Sistema de expresión: bacteriano (*Escherichia coli*).

## - Péptidos y proteínas recombinantes

Producción de la proteína mediante inserción de DNA en sistemas de expresión (bacterias, levaduras, *C. elegans*).



## NEMATODOS



*Haemonchus contortus*: Principal modelo de estudio desde el inicio

### CHINA

Vacunas de DNA contra *H. contortus* en cabras con protección parcial

- Protección parcial de las fracciones protéicas de excreción secreción *H. contortus* (Neilson y Van de Walle, 1987).
- En los 90's se identificaron proteínas ocultas de la membrana intestinal de *H. contortus* (H-gal-GP y H11).
- Vacunas de péptidos recombinantes usando *E. coli* contra *H. contortus* y *H. circumcincta* (respuesta protectora) en ovinos.
- Sin efecto protector vacunas recombinantes contra *H. contortus* en ovinos utilizando vectores procarióticos eucarióticos y *C. elegans*, mismo efecto observado con *G. ostertagi* al utilizar los homólogos de H11 y H-gal-GP (Smit et al., 2001, 2000, 2006).
- Vacuna utilizando proteínas nativas de *H. contortus* en ovinos (Smith et al., 2014).

# ¿Por qué hacer una vacuna contra *Haemonchus contortus*?

- ⦿ Por que se cree que es el parásito que más afecta la producción de rumiantes
- ⦿ Es macroscópico
- ⦿ Es hematófago (se le asignan muchos signos del síndrome (parásitos/malnutrición)
- ⦿ Está presente en todas las zonas tropicales y sub-tropicales
- ⦿ Es el parásito que tiene más registros de resistencia a drogas comerciales



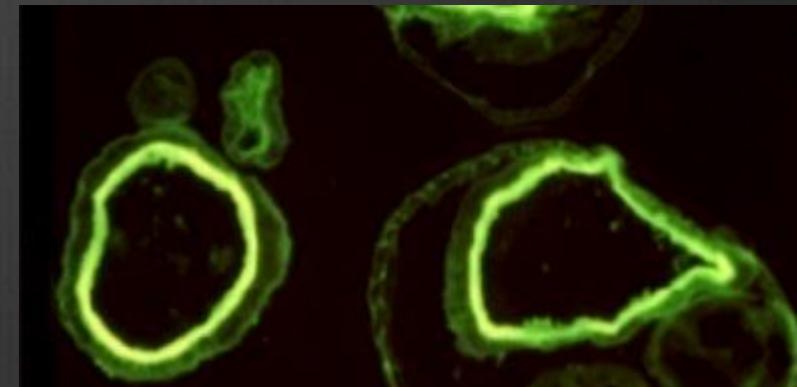
# Urgente situación de resistencia en México

- Poblaciones de nematodos gastrointestinales (NGI) son resistentes a los antihelmínticos convencionales!
- Campeche, Tabasco y Yucatán tienen rebaños de ovinos y caprinos con cepas multi-resistentes
  - Bencimidazoles
  - Levamisol
  - Lactonas macrocíclicas

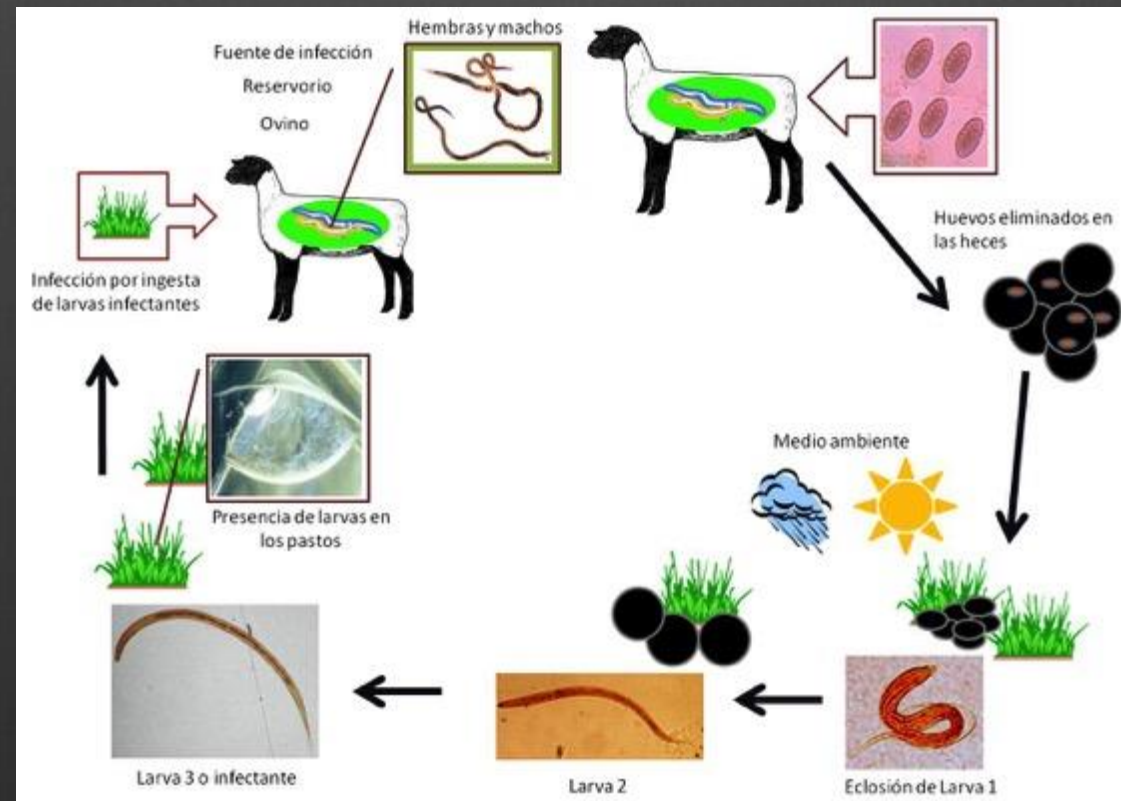


# *Haemonchus contortus* y su alimentación permite:

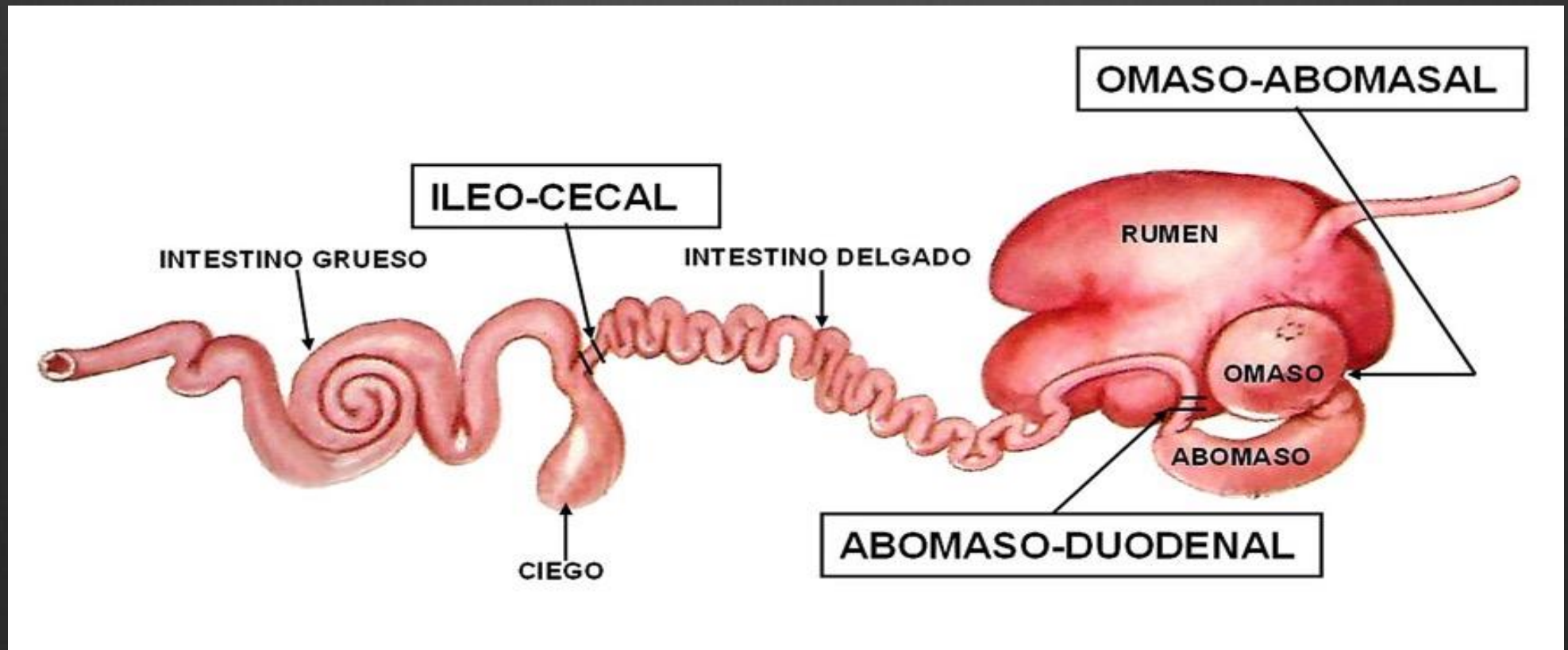
- ❶ Ubicar moléculas que sirven como sitios “Blanco” para vacunas
- ❷ Se conocen como “antígenos ocultos”
- ❸ Proteínas “nativas” del intestino del *H. contortus* adulto (glicoproteínas H11 y H-gal-GP)
  - ❶ Ambas son proteasas digestivas
  - ❷ Son protectoras individualmente o en conjunto
- ❹ Cuando se inyectan estas proteínas al animal:
  - ❶ Produce anticuerpos
  - ❷ Son consumidos por los parásitos
  - ❸ Reduce producción de huevos
  - ❹ Reduce número de parásitos



# Los rumiantes tendran menos daño por el parásito y la pradera se contaminaría menos por huevos del parásito



**Los rumiantes serán capaces de controlar y sobrevivir la carga moderada de NGI por sí mismos**



# ¡Surge Barbervax!

- ❶ Primera vacuna de antígeno “nativo” (H11)
- ❷ Usa un antígeno “oculto”
- ❸ Sistema de expresión: *Haemonchus contortus*
- ❹ Fermentador a gran escala: *Ovis aries*



Smith, 2015 in <http://www.vetvaccnet.ac.uk/sites/vetnet/files/user-files/research-paper/pdf/02-15/Barbevax-%20Haemonchus%20vaccine.pdf>.

# Barbervax

- ⦿ Elaborada en Armidale Australia
- ⦿ Registrada en Octubre 2014
- ⦿ Comercializada Octubre 2014



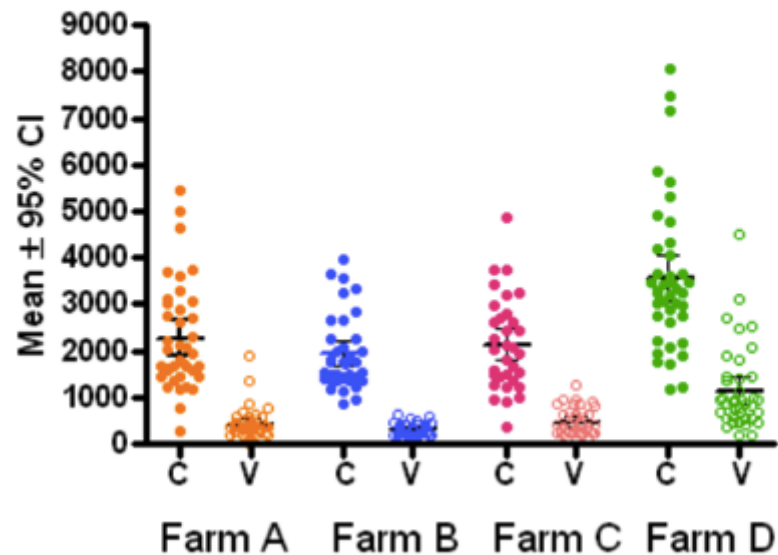
Smith, 2015 in <http://www.vetvaccnet.ac.uk/sites/vetnet/files/user-files/research-paper/pdf/02-15/Barbevax-%20Haemonchus%20vaccine.pdf>.

# Características de Barbevax

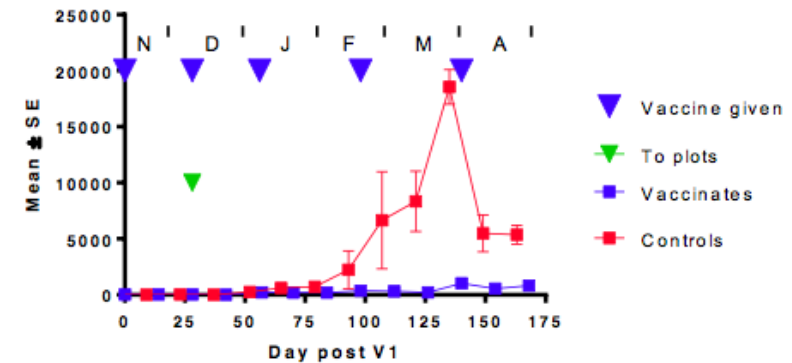
- 5ug native antigen + 1mg saponin adjuvant /dose
- 1ml injection under the skin. 250ml packs.
- Shelf life at least 2.5 years at 2-8°C.
- 5 doses for lambs during the summer *Haemonchus* risk period
- 4/5 doses for older sheep if vaccinated in previous summers.
- Reduces the periparturient rise – epidemiological benefit to flock
- Works versus all *Haemonchus* including drench resistant worms.
- Sustainable - vaccine resistance unlikely to develop.
- Non toxic. “Green”.
- Slows the development of anthelmintic resistance in all species
- No effect against scour worms.

# Resultados en Australia

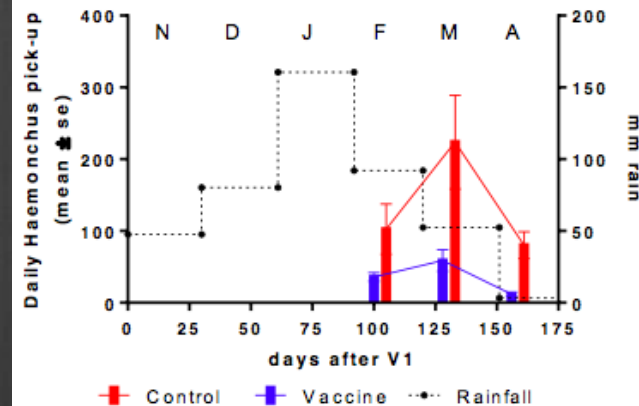
Effect of vaccine on Haemonchus egg output on four NSW farms from early Nov 2011 to late April 2012



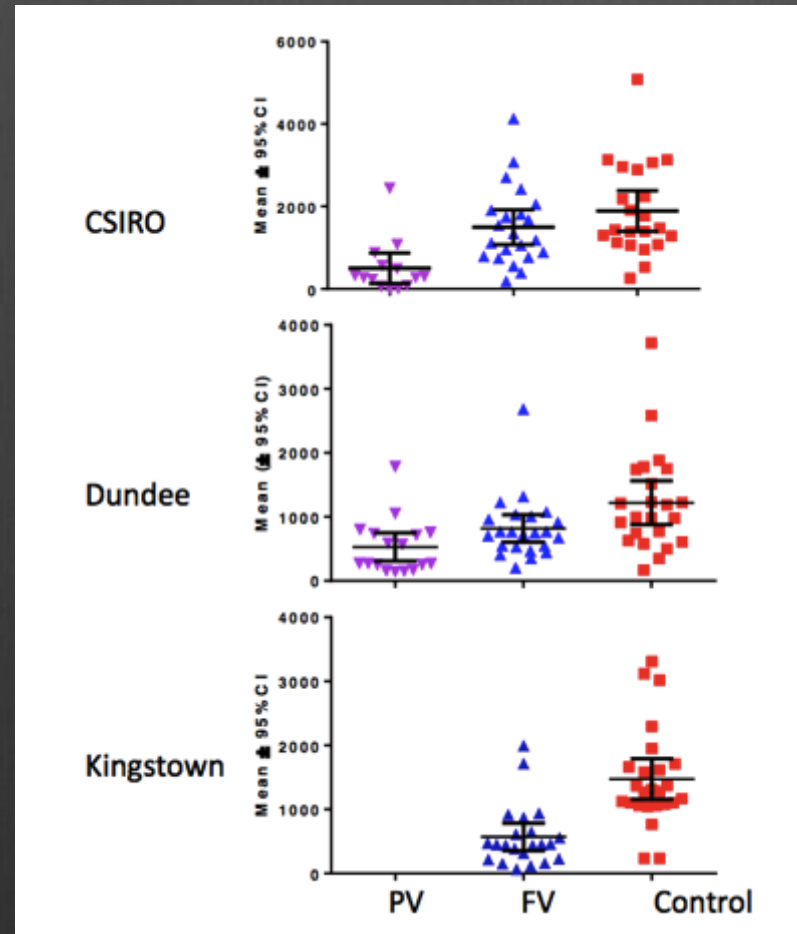
Haemonchus eggs per g: plots pooled by treatment



Pasture infectivity and total monthly rainfall



# Resultados en ovejas en periparto



Smith, 2015 in <http://www.vetvaccnet.ac.uk/sites/vetnet/files/user-files/research-paper/pdf/02-15/Barbevax-%20Haemonchus%20vaccine.pdf>.

# ¿Qué tan buena debe ser la vacuna para ser aceptable?

## ⚙ En ovejas:

- ⚙ 50-80% protección
- ⚙ Muertes en vacunadas 1.2%
- ⚙ HPG 86
- ⚙ Muertes en no vacunadas 18.5%
- ⚙ HPG 270

## ⚙ En corderos

- ⚙ 70% protección
- ⚙ Muertes en vacunados 5.9%
- ⚙ HPG 310
- ⚙ Muertes en no vacunados 32.3%
- ⚙ HPG 955

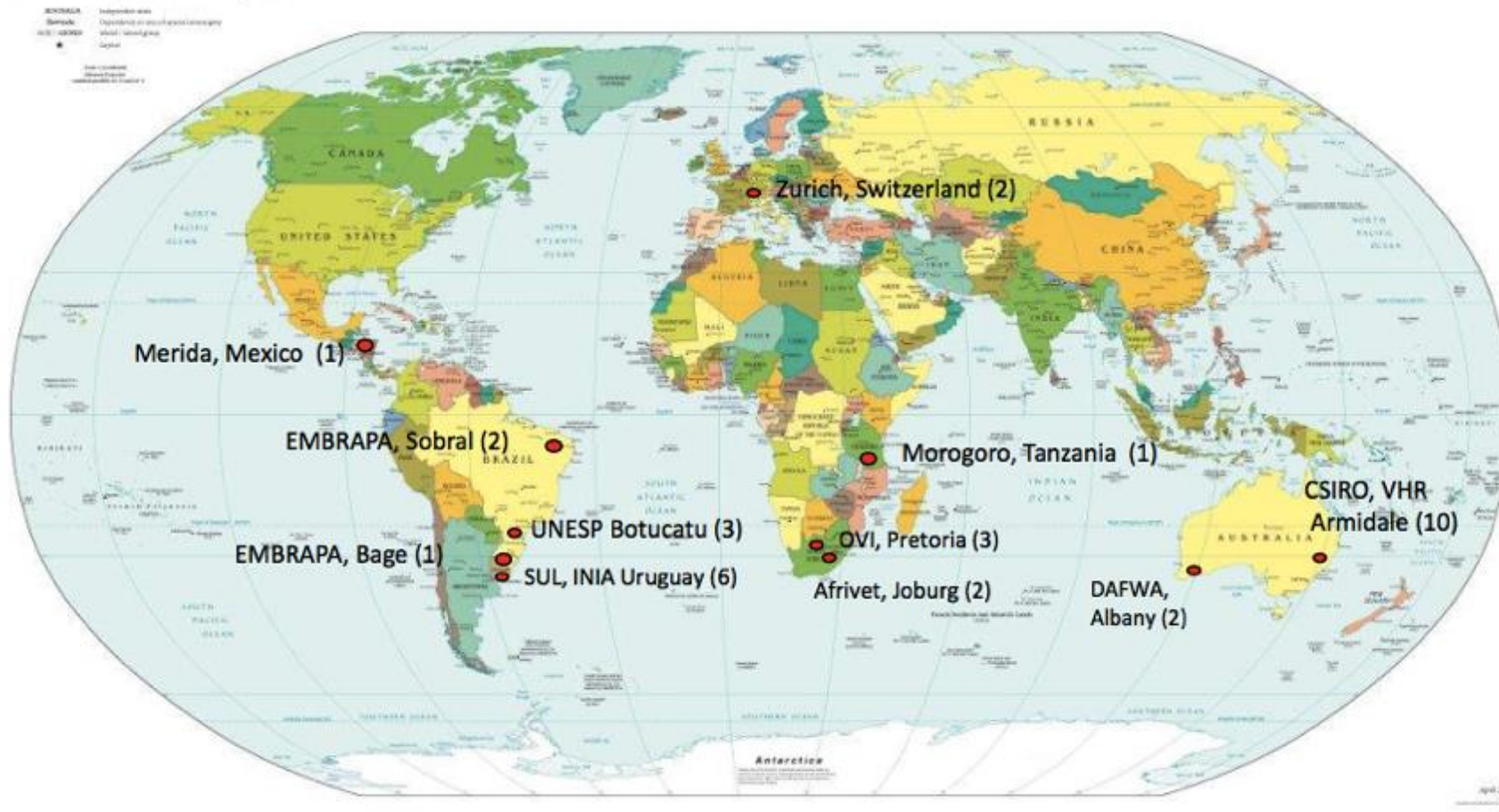
Estos fueron los indicadores para obtener el registro en Australia

# Pero surgen muchas preguntas:

- ⦿ ¿Será que los antígenos de un lugar funcionen contra *Haemonchus contortus* de otros sitios?
- ⦿ ¿Será que funcione en animales resistentes al parásitos como el Pelibuey?
- ⦿ ¿Será que funcione en animales de niveles nutricionales poco adecuados?
- ⦿ ¿Será que funcione en caprinos y bovinos?

# *Haemonchus* vaccine field trials (33)

Political Map of the World, April 2007



Smith, 2015 in <http://www.vetvaccnet.ac.uk/sites/vetnet/files/user-files/research-paper/pdf/02-15/Barbevax-%20Haemonchus%20vaccine.pdf>.

# Trabajos realizados en México

## ⦿ Experimento 1

- ⦿ Granja San Alberto. Poxilá, Umán (latitud: 20.8 y longitud 89.8).  
Periodo: Mayo a November
- ⦿ Pelibuey puro de registro
- ⦿ Corderas 5 meses de edad criadas libres de infección
- ⦿ Extremadamente bien nutridas (condición corporal  $> 3$  (escala de 1 a 5)).

## ⦿ Experimento 2

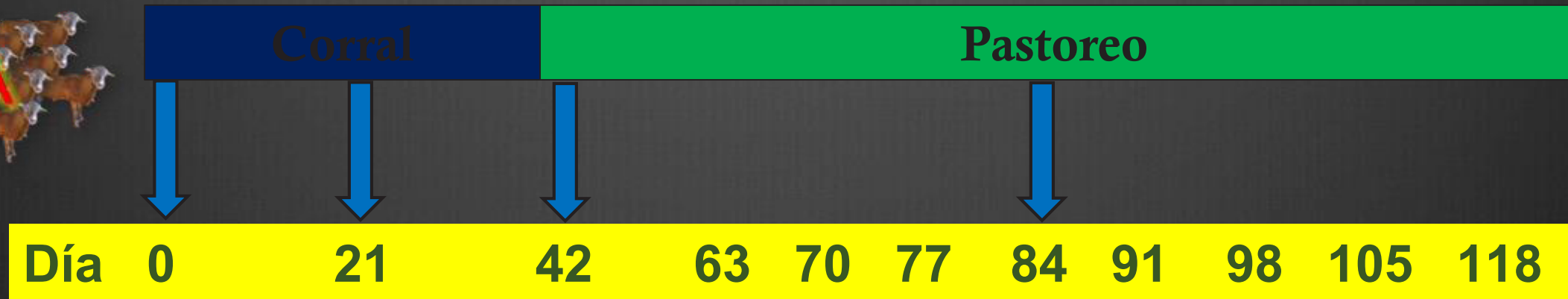
- ⦿ Granja de la Universidad Autónoma de Yucatán (FMVZ)  
Periodo: Septiembre a Diciembre
- ⦿ Pelibuey comercial
- ⦿ Corderas de 3 meses de edad criadas libre de infección
- ⦿ De condición corporal regular a buena = 2.5 (Escala de 1 a 5).

# Protocolo

- 22 animales
- Tres dosis de vacunas en corral antes de pastorear, ultima vacuna en dia 84.
- Barbervax<sup>®</sup> aplicación sub cutanea (1 ml)
- Pastoreo en época de lluvia

Sacrifici

## Vacunados



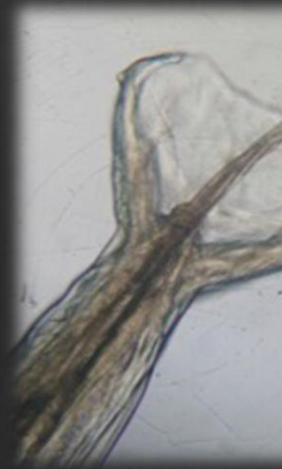
## Control



# Corderos centinelas

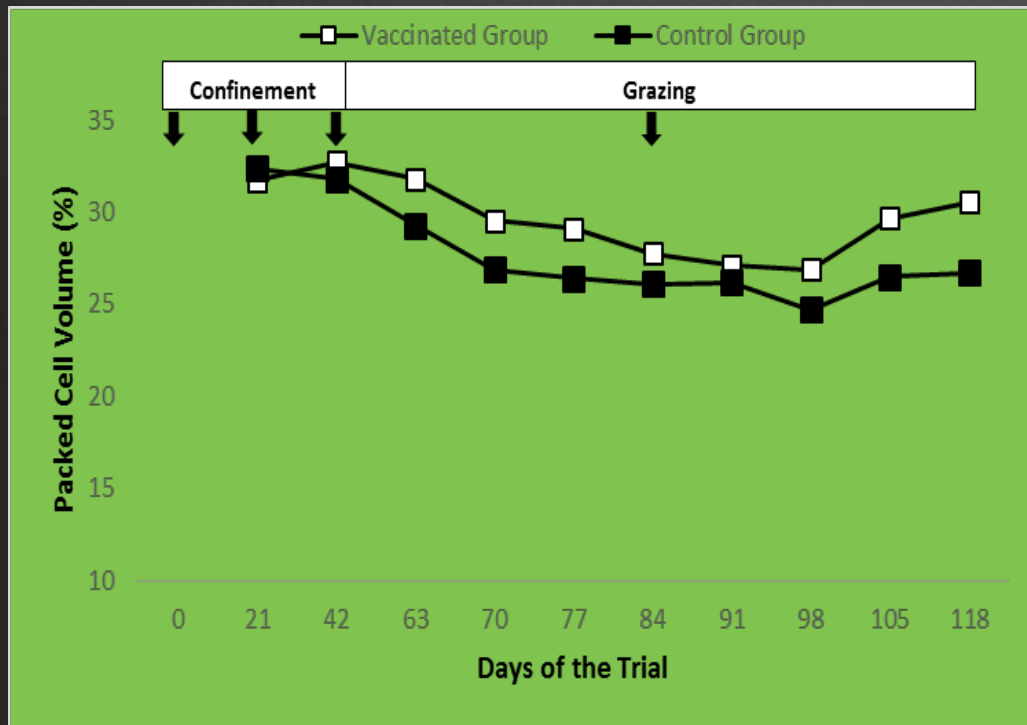
- ⦿ Pares de corderos centinelas (criados libres de NGI)
- ⦿ Pastorearon 4 semanas con animales experimentales
- ⦿ Retornaron a corral por 25 días en corral con dieta libre de NGI
- ⦿ Sacrificio humanitario el día 25
- ⦿ Conteo de parásitos
- ⦿ Identificación de parásitos



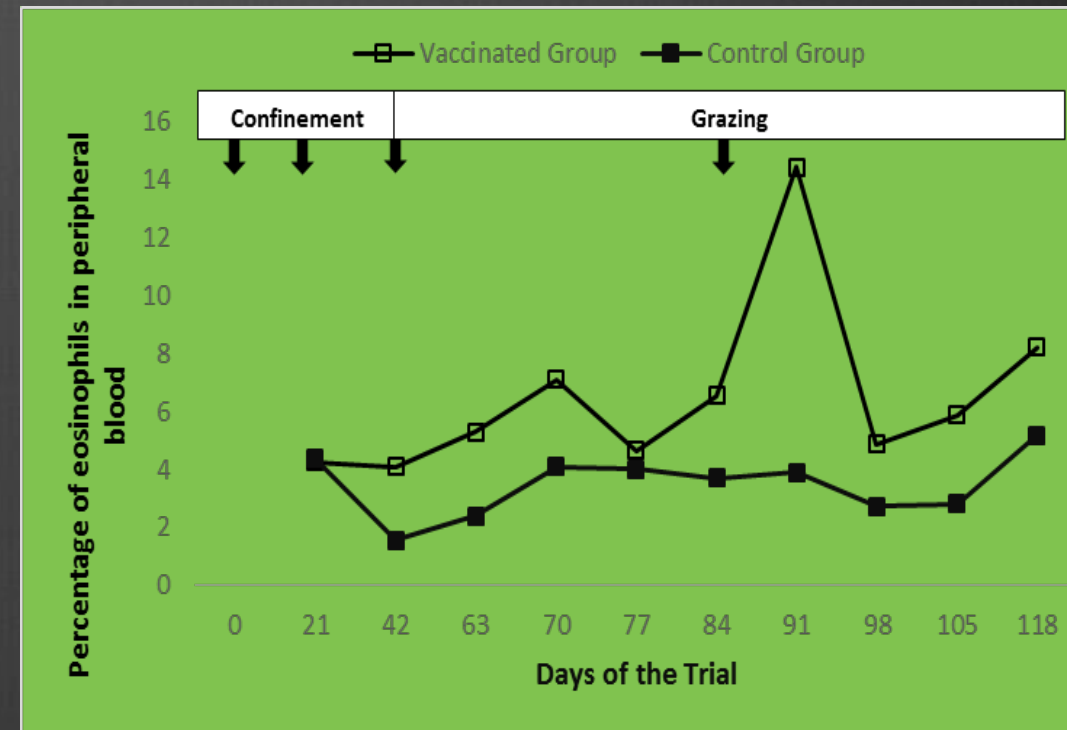


# Efecto sobre valores hemáticos

## ● Hematocrito

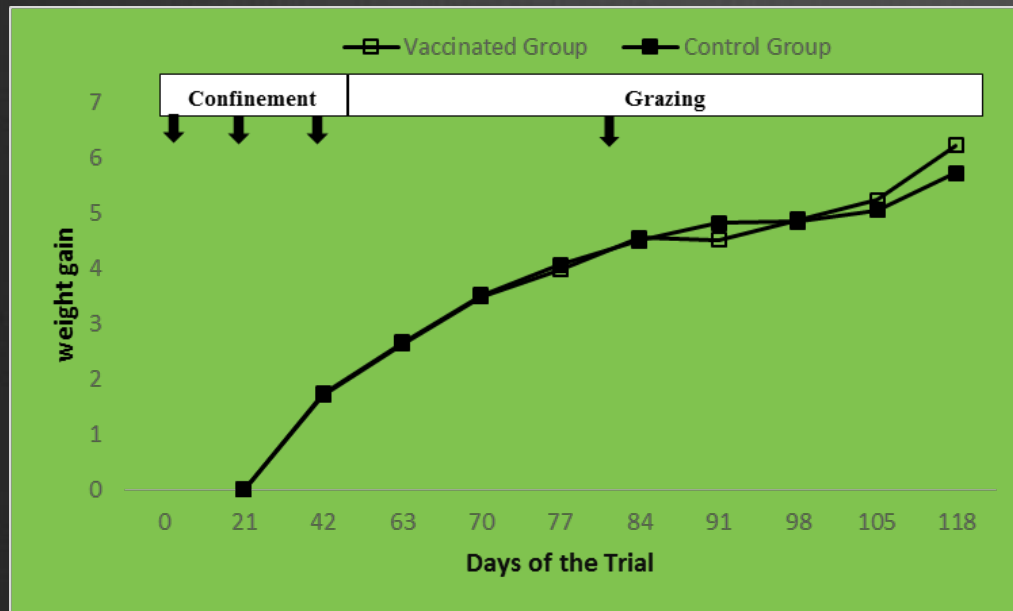


## ● Eosinófilos

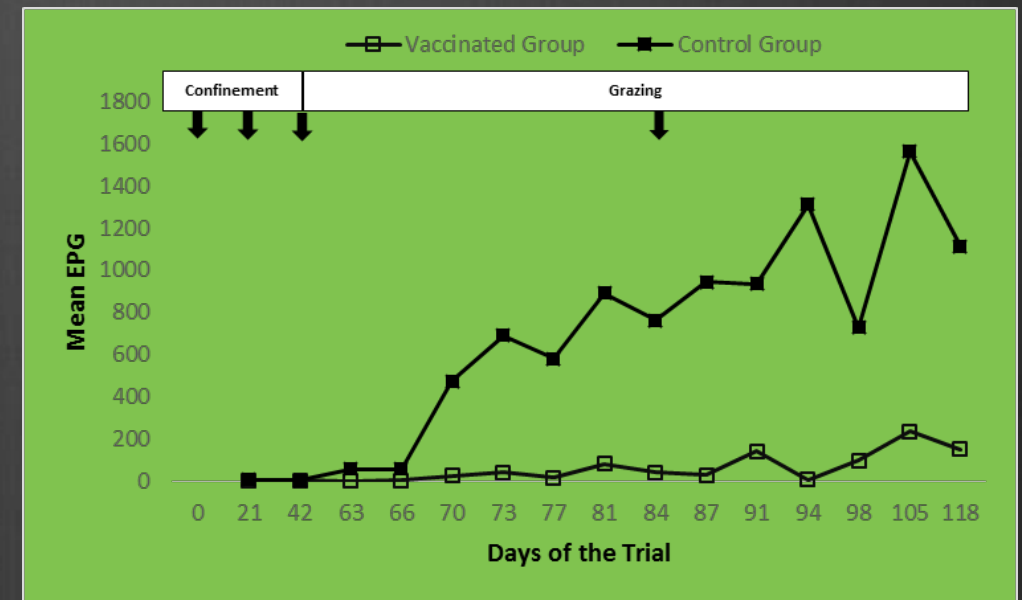


# Ganancia de peso y huevos en heces

## 🎯 Ganancia de peso vivo



## 🎯 Huevos por gramo de heces

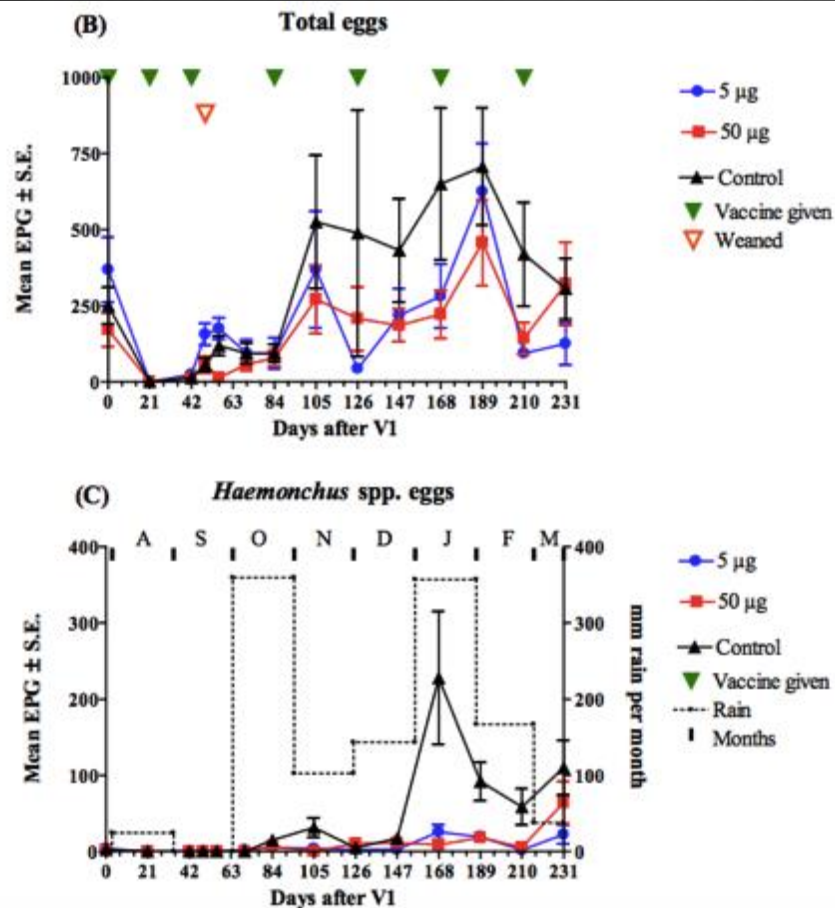


88% de reducción en HPG

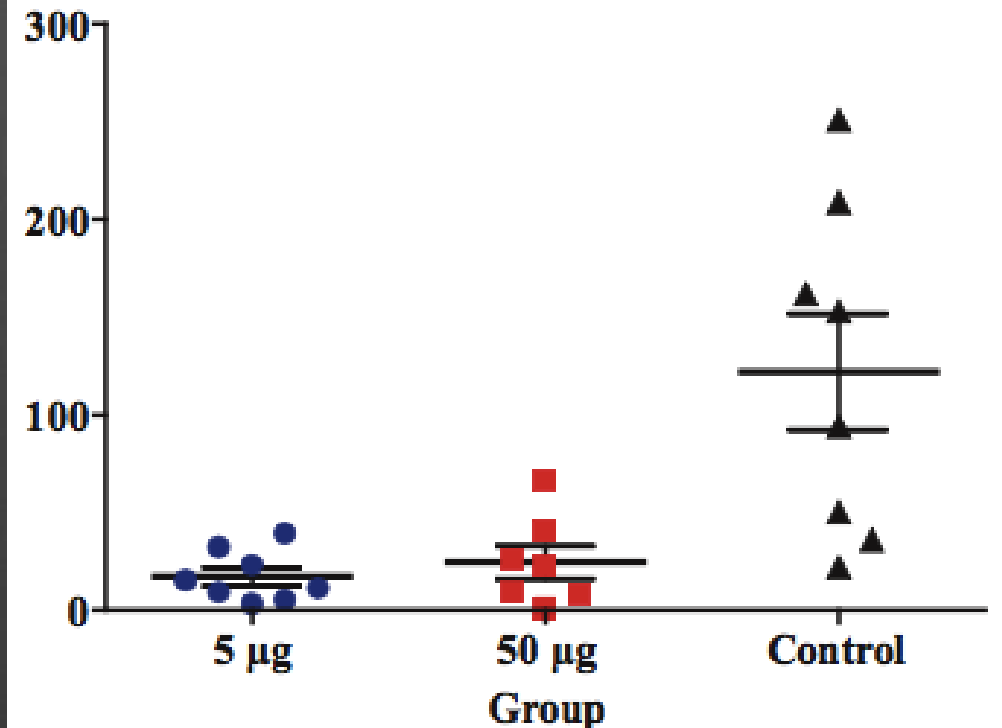
# Datos post-mortem

- % Reduction:
- From geometric means:
  - - 46% (Totales)
  - - 85% (Hembras adultas)
  - - 75% (Machos Adultos)
  - - 31% (Parásitos inmaduros)
- Reducción en el numero de huevos en utero:
  - - 64%

# Trabajo en bovinos en Brasil?



## *Haemonchus* spp. eggs from day 168 to 23



Bassetto et al., 2014

# Conclusiones

- ⦿ Parámetros de evaluación incluyen huevos en heces (50 a 90% de reducción)
- ⦿ Reducción en el número de muertos por *H. contortus* en corderos y ovejas (70 a 90%)
- ⦿ Parámetros de reducción de parásitos adultos (70%?)
- ⦿ Parámetros de reducción de parásitos totales (40 a 50%?) por los juveniles
- ⦿ Y la ganancia de peso?

# Agradecimientos

- ⦿ Dr. David Smith. Moredun Research Institute, Escocia, Reino Unido
- ⦿ Dr. Brown Besier. Wormvax Australia Pty Ltd., Western Australia, Australia
- ⦿ Dra. Maria Eugenia López Arellano, INIFAP, México
- ⦿ José Cáceres Mejía, Ramón Cámara Sarmiento y Armando Aguilar Caballero, FMVZ-UADY, México

# Vacunas contra garrapatas. Presente y futuro.

**Dr. Rodolfo Esteban Lagunes Quintanilla**  
**CENID-PAVET, INIFAP**

**Correo: [rodolfo.lagunes@gmail.com](mailto:rodolfo.lagunes@gmail.com)**



# GARRAPATAS

- Ectoparásitos hematófagos obligados de mayor importancia debido a los daños que ocasionan.
- Segundo vector transmisor de patógenos.
  - Virus
  - Bacterias
  - Protozoarios
- 899 especies → 82 en México.
- ✓ *Rhipicephalus (Boophilus) sp.*
- ✓ *Amblyomma sp.*
- ✓ *Dermacentor sp.*
- ✓ *Otobius sp.*



# ANTECEDENTES

## Ganadería en México:

- Ganadería intensiva y Ganadería extensiva.
- Actividad importante → Exportación de becerros y vaquillas.
- Zonas tropicales y subtropicales.

- Población ganadera en 2015

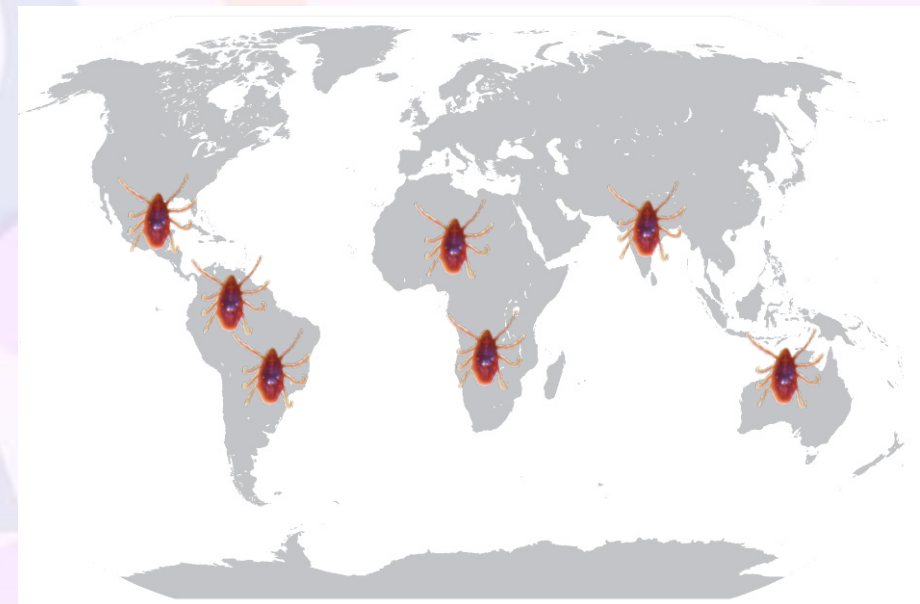


33, 502, 623



# LA GARRAPATA DEL GANADO

- *R. microplus* causa las mayores pérdidas económicas a la ganadería limitando la exportación, movilización y el mejoramiento genético.
- Pérdidas económicas anuales:
  - ✓ US\$ 573 millones en México
  - ✓ US\$ 2.5 billones en el mundo
- Método de control → Químico
- Aumento de poblaciones de garrapatas:
  - ✓ Uso inadecuado de los ixodicidas
  - ✓ Resistencia
  - ✓ Cambio climático



# CONTROL INMUNOLÓGICO

Antígenos  
expuestos:

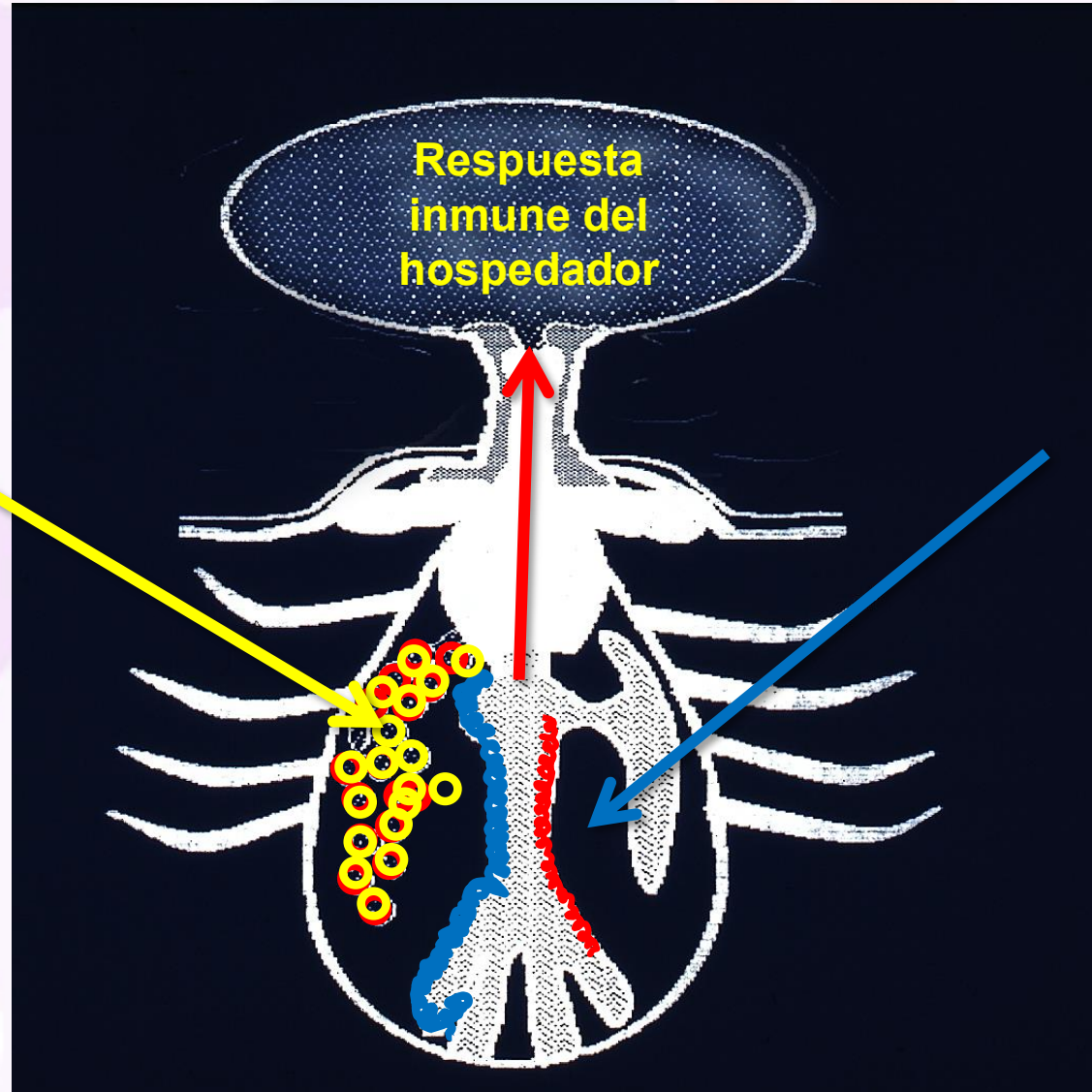
Proteínas del  
cemento

P64

P29

Salp15

Serpinas



Antígenos  
ocultos:

Bm86/Bm95

Bm91

Subolesina

Vitelogenina

Ferritina

*Kemp et al., 1986; Willadsen, 1989; Willadsen y Mckenna, 1991; Willadsen y Kemp, 1994; Rodríguez et al., 1994; Jarmely et al., 1995; Riding et al., 1994; Canales et al., 1997; Mulenga et al., 1999; García-García et al., 2000; de la Fuente y Kocan, 2003; Nutall et al. 2006; Prevot et al., 2007; Canales et al., 2009; Hajdusek et al., 2010*

# Bm86

- Glicoproteína localizada en las microvellosidades de células intestinales de *R. microplus*.
- Produce disminución de la alimentación y por consiguiente mortalidad de garrapatas *R. microplus*.
- Involucrada en procesos de endocitosis.

|   | Cepa de garrapata  | Eficacia  |
|---|--------------------|-----------|
| 1 | Camcord            | 72 – 91 % |
| 2 | Yeerongpilly       | 75 %      |
| 3 | CENAPA             | 84 %      |
| 4 | Tuxpan             | 51 %      |
| 5 | Mora               | 58 %      |
| 6 | Colombiana (campo) | 60 %      |
| 7 | Brasileña (campo)  | 51 %      |
| 8 | Argentina (campo)  | 0 %       |



# Bm86

- Disponible a partir de 1990:

- ✓ Tick-GARD®

(Plus)

- Producción en *E. coli*
- Cepa australiana



- ✓ GAVAC®

(Plus)

- Producción en *P. pastoris*
- Cepa cubana



- ✓ Bovimune - Ixovac®

- Producción en *P. pastoris*
- Cepa mexicana



# FICHA TÉCNICA

- Vacuna recombinante para el control de las garrapatas *Boophilus microplus* y *B. annulatus*.
- Dosis de 2 ml (100 ug) → antígeno recombinante Bm86 de *Boophilus microplus* en adyuvante oleoso.
- Calendario de vacunación → 3 dosis (semana 0, 4 y 7), con revacunación semestral.
- Eficacia variable de 51 a 91% y se manifiesta con una disminución de infestación en el potrero conforme el uso de la vacuna se prolonga en el hato.
- Se comercializa en Cuba, Colombia, Brasil, Bolivia, Venezuela, Nicaragua, República Dominicana y México.



# RESULTADOS CONTRA OTRAS ESPECIES

Bm86

| Especie                                            | Modelo Experimental | Eficacia (reducción %) | Referencia                                                    |
|----------------------------------------------------|---------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <i>R. annulatus</i>                                | Bovinos             | 100 %                  | Fragoso <i>et al.</i> , 1999;<br>Amalzán <i>et al.</i> , 2010 |
| <i>H. anatolicum</i> , <i>H. dromedarii</i>        | Bovinos             | 72 %                   | De Vos <i>et al.</i> , 2001                                   |
| <i>R. decoloratus</i>                              | Bovinos             | 70 %                   | De Vos <i>et al.</i> , 2001                                   |
| <i>A. variegatum</i> ,<br><i>R. Appendiculatus</i> | Bovinos             | 0 %                    | De Vos <i>et al.</i> , 2001                                   |

## OTRAS VACUNAS..

✓ Tick vac MK®



- Proteína integral de larvas *R. microplus*
- Producción colombiana



# EXPERIENCIAS EN CUBA CON Bm86

## Título de Acs. Anti-Bm86

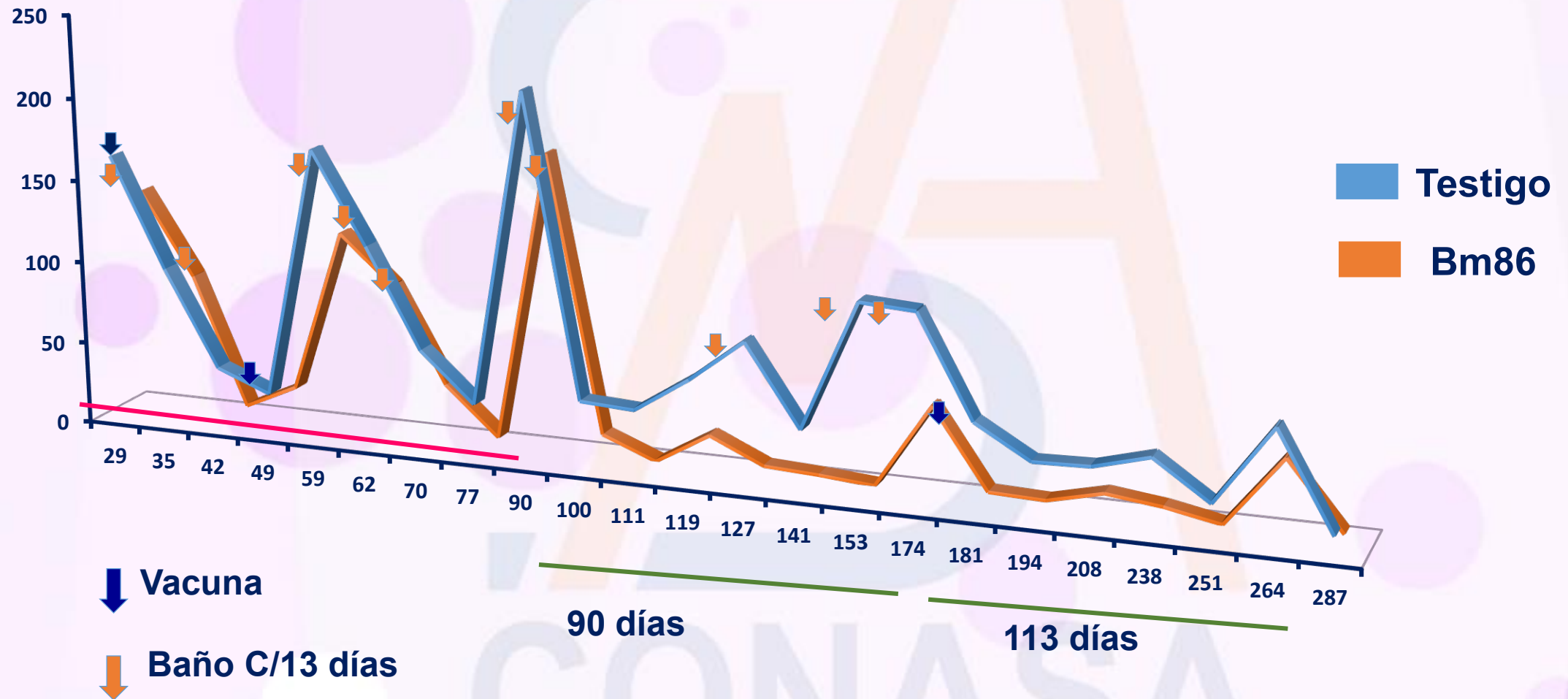
| Grupo           | No. de animales | 1ª dosis | 2ª dosis     | 3ª dosis      | 21 días después de última dosis | 6 meses después de la 1ª dosis |
|-----------------|-----------------|----------|--------------|---------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1 - Gavac®      | 143             | 0        | 5 746 ± 506* | -             | 8 755 ± 1838                    | 3 152 ± 422                    |
| 2 - Gavac®      | 142             | 0        | 3 503 ± 630  | 13 775 ± 1573 | 8 769 ± 941                     | 2 694 ± 905                    |
| 3 - Gavac plus® | 102             | 0        | 3 864 ± 261  | -             | 16 976 ± 827                    | 2 517 ± 318                    |
| 4 - Gavac plus® | 92              | 0        | 3 371 ± 900  | 9 565 ± 1500  | 12 342 ± 1250                   | 3 409 ± 376                    |

Promedio ± Desv. St.

(\*P< 0.05)



# EXPERIENCIAS EN MÉXICO CON Bm86



Aldama, Tam. (Abril 2015 - Enero 2016)

# PORCENTAJES DE REDUCCIÓN EN GARRAPATAS *R. microplus*

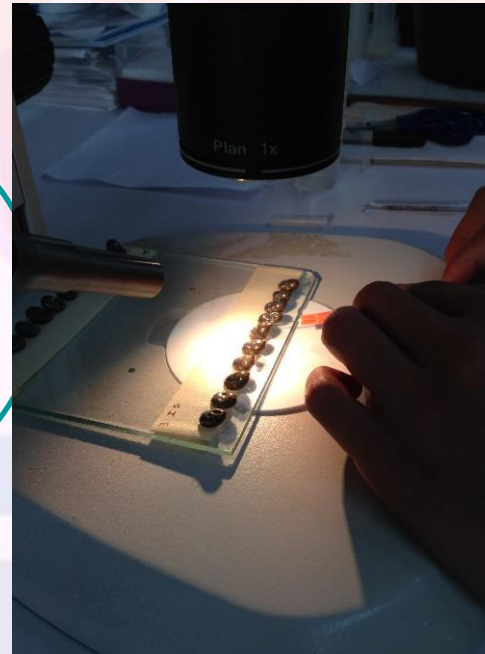
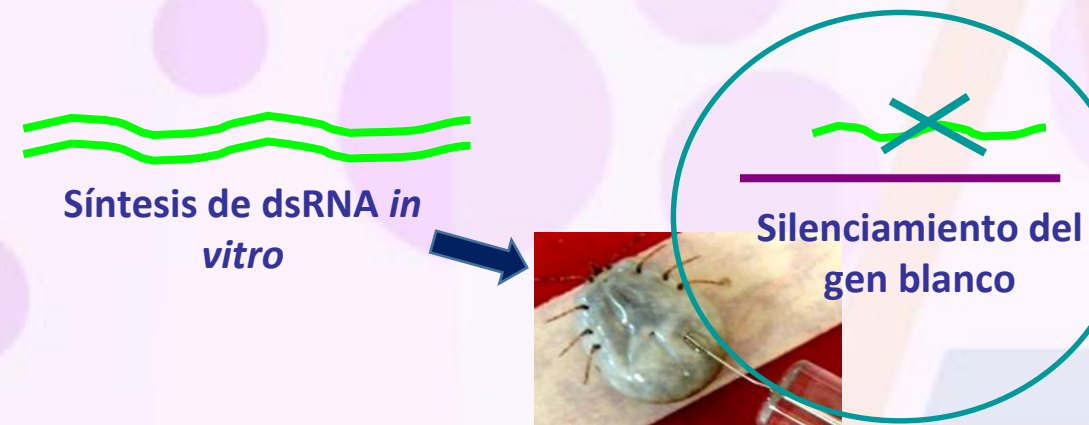
| % DR  | % DO  | % DPR |
|-------|-------|-------|
| 27.47 | 50.08 | 80.21 |

- DR → Disminución en el número de garrapatas
- DO → Disminución en la oviposición
- DPR → Disminución en el potencial reproductivo

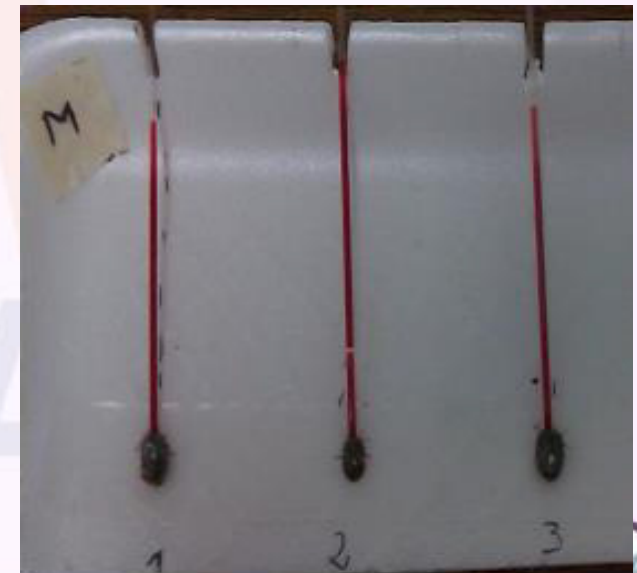


# CARACTERIZACIÓN DE ANTÍGENOS

- Enfoque de genómica funcional para localizar genes importantes en la interacción garrapata-hospedador.
  - Algunos candidatos han sido identificados mediante tecnologías que permiten un rápida y sistemática selección de ellos.
- ✓ Inmunización con bibliotecas de cDNA
  - ✓ Interferencia de RNA (iRNA)



- ✓ Alimentación capilar



# POSIBLES CANDIDATOS VACUNALES

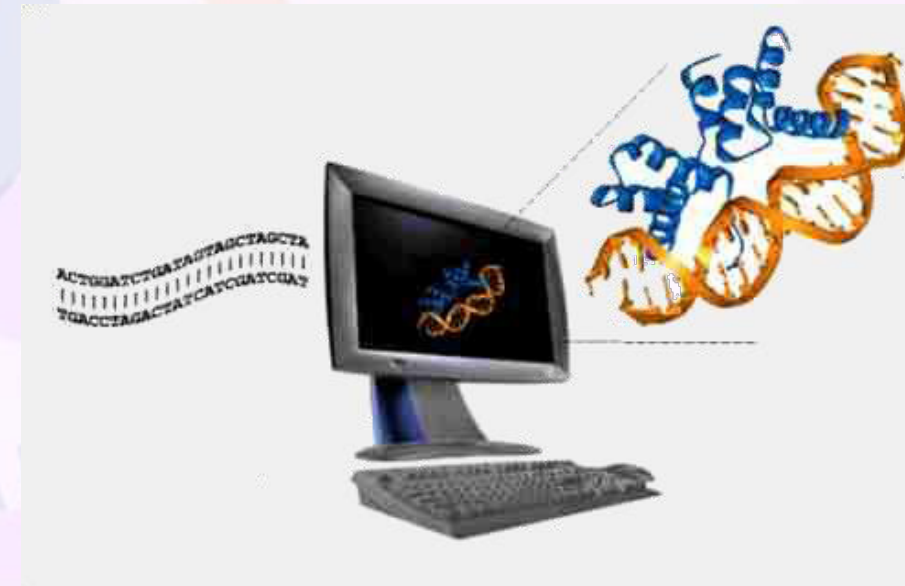
| Antígeno     | Especie de garrapata                | Modelo Experimental | Eficacia (reducción %)      | Referencia                 |
|--------------|-------------------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------|
| P64          | <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> | Cobayos             | Ninfas 48 %<br>Adultos 70 % | de la Fuente y Kocan, 2003 |
| P29          | <i>Haemaphysalis longicornis</i>    | Conejos             | Larvas 40 %<br>Ninfas 56 %  | Mulenga et al., 1999       |
| Iris         | <i>Ixodes ricinus</i>               | Conejos             | Peso en adultos 30 %        | Prevot et al., 2007        |
| Vitelogenina | <i>Rhipicephalus microplus</i>      | Ovinos              | Eficacia 66 %               | Tellman et al., 2002       |
| Ferritina    | <i>Rhipicephalus microplus</i>      | Bovinos             | Eficacia 64 %               | Hajdusek et al., 2010      |
| Subolesina   | <i>Rhipicephalus microplus</i>      | Bovinos             | Eficacia 60 %               | Merino et al., 2013        |
| Aquaporinas  | <i>Rhipicephalus microplus</i>      | Bovinos             | Eficacia 68 y 75%           | Guerrero et al., 2014      |

# COMBINACIÓN DE ANTÍGENOS

| Antígeno            | Especie de garrapata           | Modelo Experimental | Eficacia (reducción %) | Referencia                         |
|---------------------|--------------------------------|---------------------|------------------------|------------------------------------|
| Subolesina + Bm86   | <i>Rhipicephalus microplus</i> | Bovinos             | Eficacia 23 %          | Lagunes et al., 2010               |
| Bm95 + msp1a        | <i>Rhipicephalus microplus</i> | Bovinos             | Eficacia 64 %          | Almazán et al., 2012               |
| Subolesina + msp1a  | <i>Rhipicephalus microplus</i> | Bovinos             | Eficacia 81 %          | Almazán et al., 2012               |
| Subolesina + Bm86   | <i>Rhipicephalus microplus</i> | Bovinos             | Eficacia 97 %          | Schetters et al., 2016             |
| Bm86 + Bm06 + Bm011 | <i>Rhipicephalus microplus</i> | Bovinos             | Eficacia 99 %          | Valdez, 2011<br>Tesis Licenciatura |

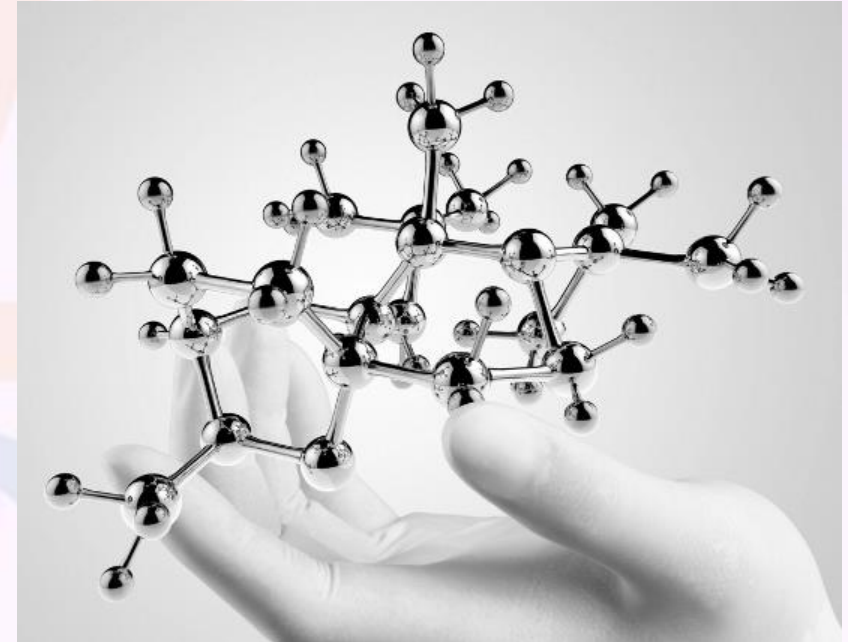
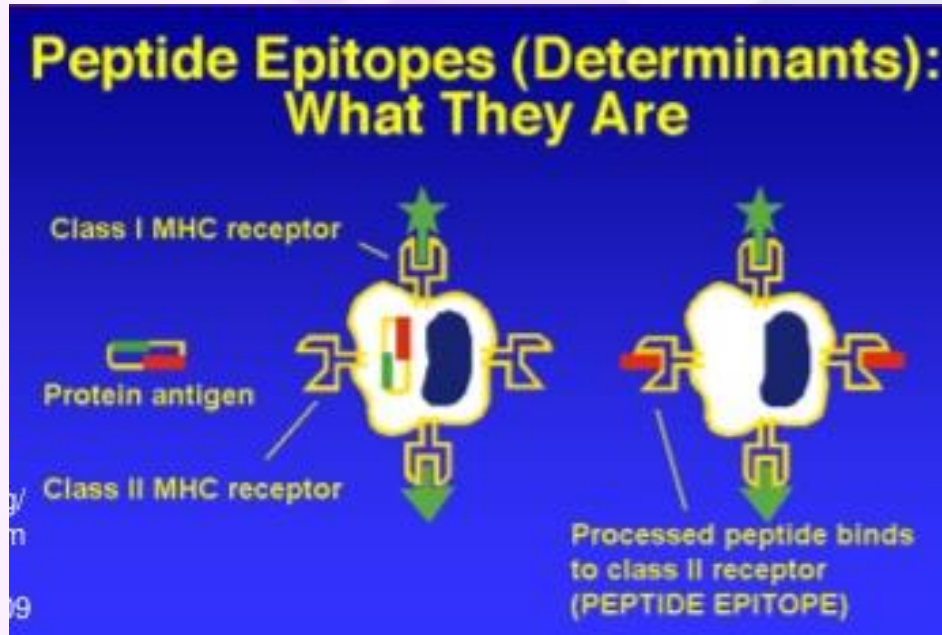
# ESTRATEGIAS ACTUALES

- El estudio de las vacunas contra garrapatas se ha incrementado debido a la utilización de la vacunología inversa.
- Se utilizan estrategias de bioinformática, genómica y proteómica para determinar regiones específicas que puedan ser usadas como inmunógeno.
- Diseño de antígenos con características específicas:
  - ✓ Epítomos B conservados en cepas de distintas zonas geográficas
  - ✓ Expuestos en la superficie de la proteína
  - ✓ Deben ser antigénicos



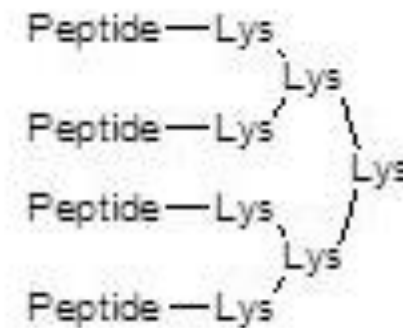
# DISEÑO DE ANTÍGENOS

- Síntesis de péptidos sintéticos y construcción de quimeras

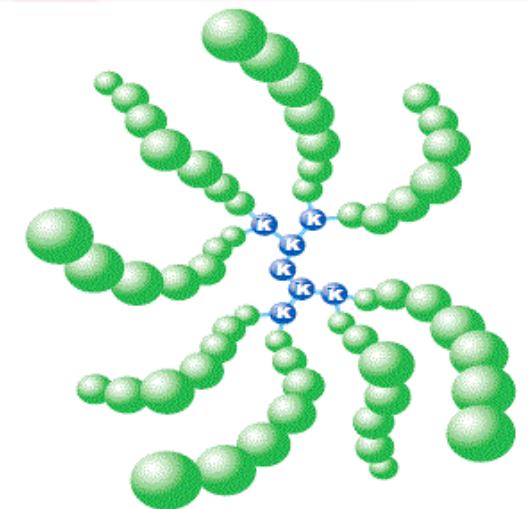


- Antígenos multiepitópicos (MAPS)

- ❖ Epítomos específicos
- ❖ Proteínas de superficie
- ❖ Respuesta humoral



Multiple antigenic peptides (MAPs)



# CONSTRUCCIONES SINTÉTICAS

Bm86

| Péptido  | Diseño aa.                | Modelo Experimental | Eficacia (reducción %) |
|----------|---------------------------|---------------------|------------------------|
| SBm4912  | 398-411*21-35*132-145     | Bovinos             | Eficacia 72%           |
| SBm7462  | 398-411*132-145*21-35     | Bovinos             | Eficacia 81%           |
| SBm19733 | 398-411KEK21-35KEK132-145 | Bovinos             | Eficacia 35%           |

Patarroyo et al., 2002

| Péptido | Diseño aa.                                                    | Modelo Experimental | Eficacia (reducción %) | Referencia                     |
|---------|---------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------|
| P0      | 267-301<br>20 aa.                                             | Perros<br>Bovinos   | 89 %<br>96 %           | Patente<br>WO2012041260        |
| Q38     | Subolesina<br>( <i>I. Scapularis</i> + <i>A. albopictus</i> ) | Bovinos             | 75 %                   | Merino et al.,<br>2013         |
| ATAQ    | 531-547 aa.                                                   | Conejos<br>Bovinos  | 47 %<br>35 %           | Rangel-Aguirre<br>et al., 2016 |

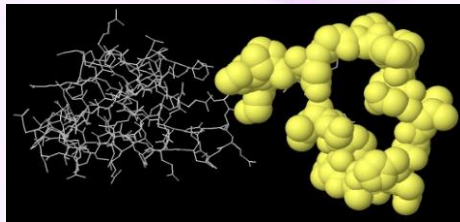


# DISEÑO DE UN POLIPÉPTIDO DE SUBOLESINA

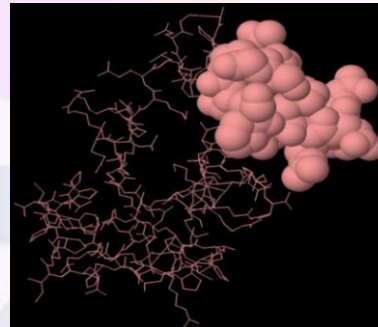
Modelo 3D – Subolesina (ADA85876.1)

Alfa hélices – 42%  
Laminas Beta – 1%  
Giros Beta – 57%

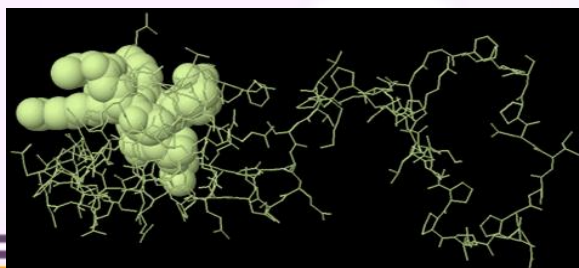
- 4 epítomos lineales { ABCpred: >0.80 BCEpred: > 1  
Antigenic: >1.1 IEDB/bcell: >1
- 3 epítomos conformacionales



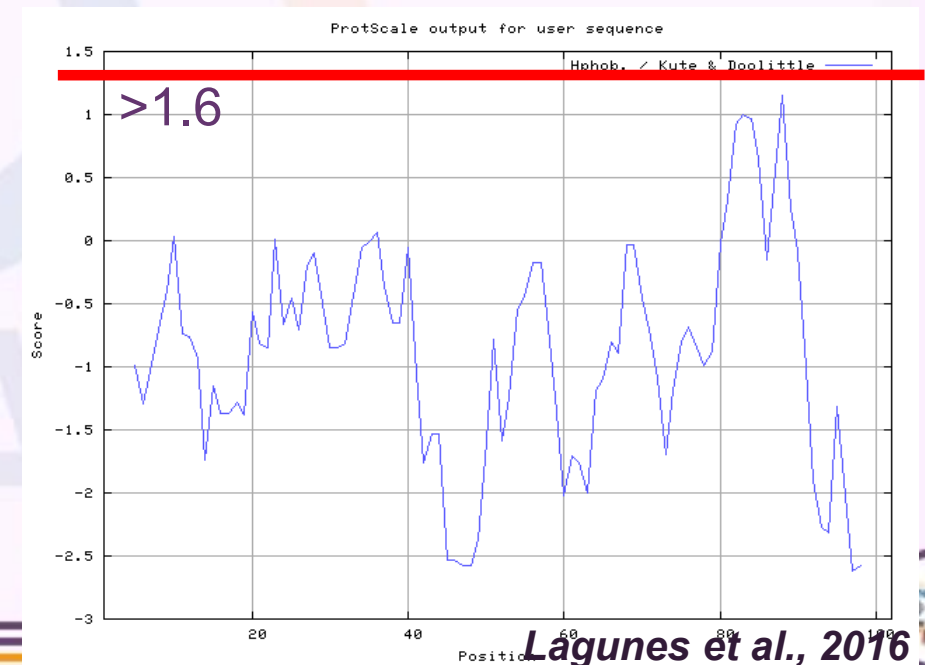
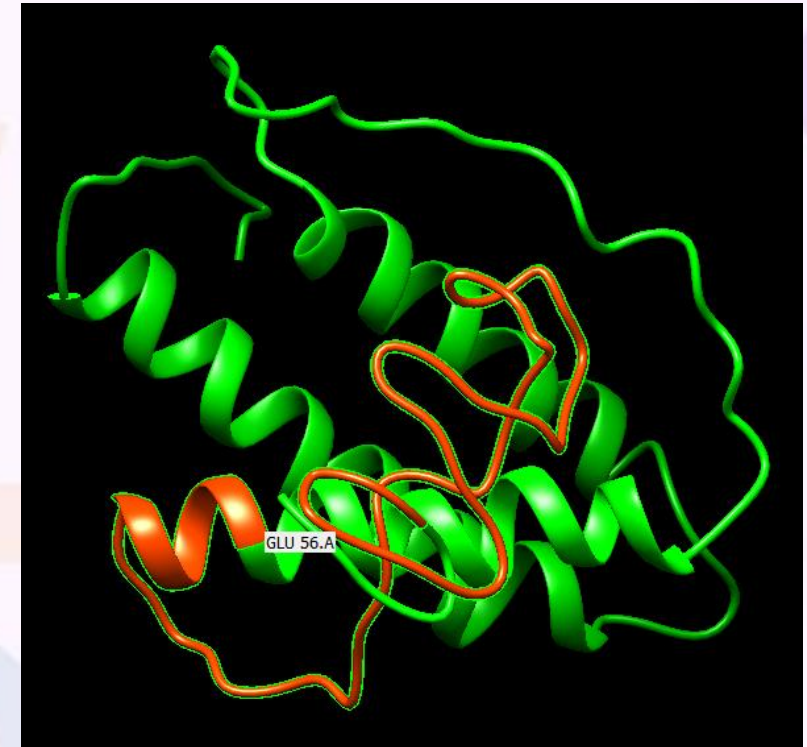
aa. 9-30



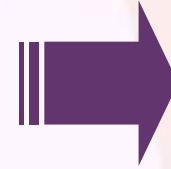
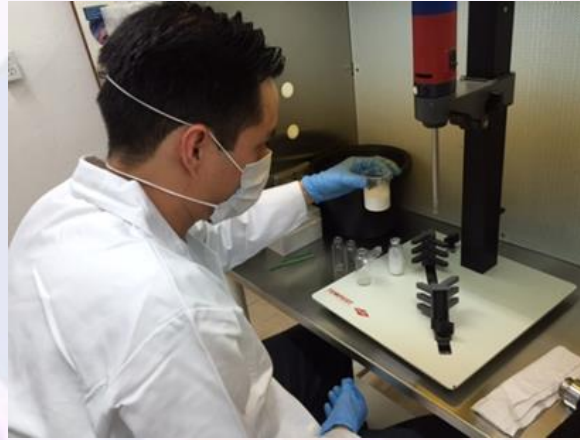
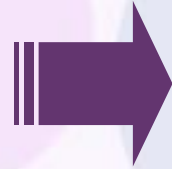
aa. 49, 51-53, 55-60



aa. 88-94, 97-99



# PRODUCCIÓN DEL POLIPÉPTIDO DE SUBOLESINA



|                         | Grupo Testigo | Grupo Tratado | Porcentaje de Reducción |
|-------------------------|---------------|---------------|-------------------------|
| Número de garrapatas    | 1303±221      | 273±133*      | 79%                     |
| Peso de garrapatas (mg) | 273±28        | 302±7         | --                      |
| Oviposición (mg)        | 126±11        | 145±6         | --                      |
| (*P< 0.05) Eclosión (%) | 0.63±0.05     | 0.44±0.01*    | 30%                     |

# CONCLUSIONES

- Los métodos inmunológicos son una herramienta promisorio para el control de garrapatas, debido a que presentan eficacia cuando se utilizan adecuadamente reflejándose en la disminución de poblaciones de garrapatas.
- El desarrollo de antígenos vacunales con más éxito han sido los extraídos del intestino medio de las garrapatas donde se han caracterizado proteínas de superficie ancladas a membrana.
- El ejemplo más contundente es el Bm86; sin embargo, el polimorfismo del gen entre cepas de garrapatas, según la localización geográfica puede provocar ineficiencias de la vacuna.

# CONCLUSIONES

- El estudio de genes a partir de cepas nacionales de *R. microplus*, será una herramienta de utilidad para proponer antígenos candidatos a vacuna contra garrapatas en diferentes zonas geográficas.
- La combinación de técnicas moleculares y estrategias de bioinformática, han revolucionado la manera de diseñar y evaluar antígenos vacunales, utilizando regiones específicas que generen protección y que incrementen la efectividad si se utilizan en programas integrados de control de garrapatas.
- El uso de vacunas se vislumbra como un elemento factible y económicamente viable para mejorar la salud animal, abatir la contaminación ambiental y reducir el uso irracional de ixodicidas.

# VACUNAS EN HUMANOS

- Encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV)

✓ *Flavivirus*  
✓ *Ixodes ricinus*



- Cuadro clínico { Fiebre (4 días)  
Meningitis  
Meningoencefalitis

- Rusia y Europa → 10,000 a 12,000 casos al año.

- Vacunas: Encepur<sup>®</sup> y FSME-IMMUN Inject<sup>®</sup>

TICK-BORNE  
ENCEPHALITIS

LYME DISEASE

WARNING

CAUTION

TICKS

TBE



**GRACIAS**

