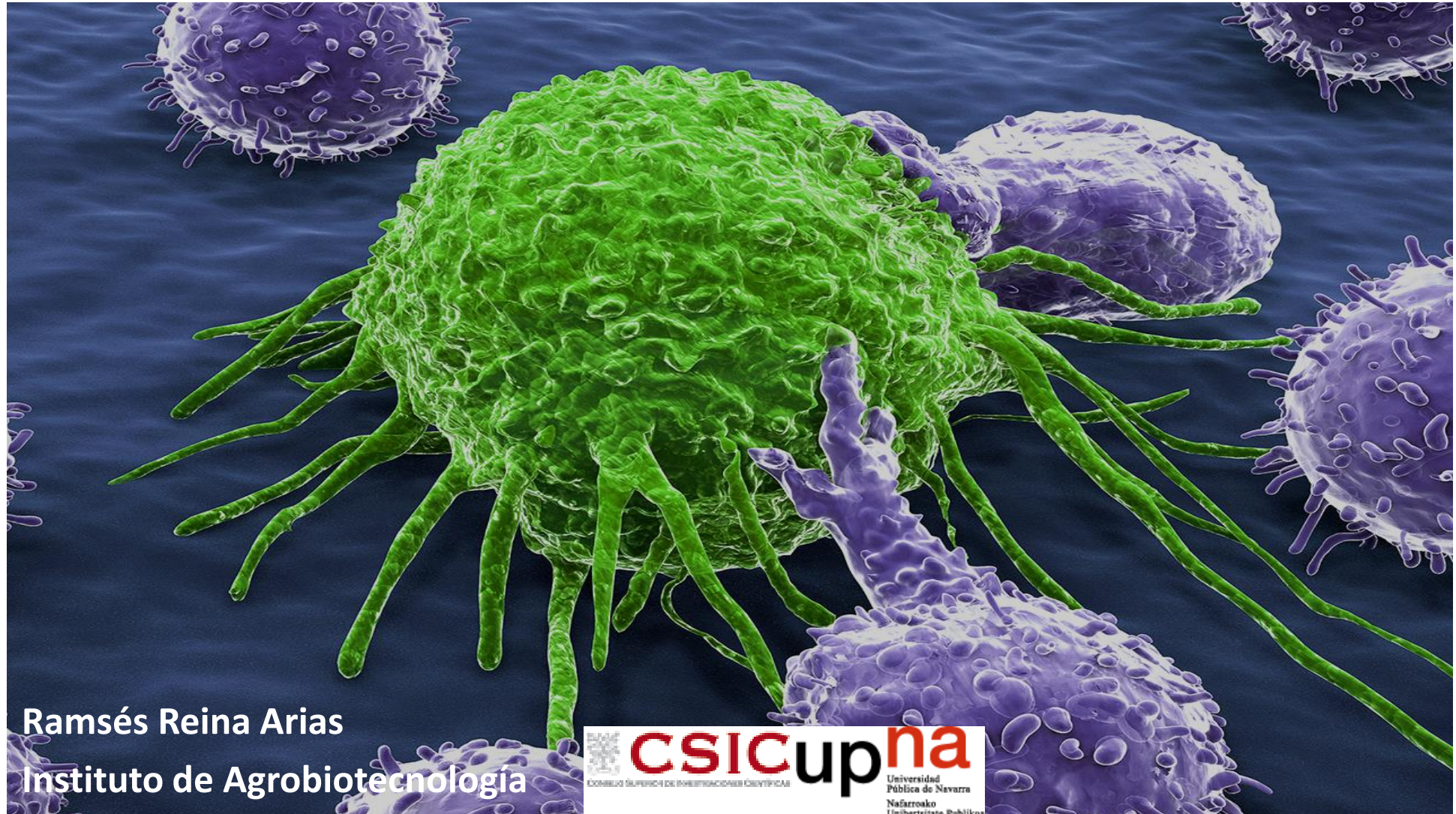


# DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNITARIO EN EL CORDERO: IMPLICACIONES PRÁCTICAS





<https://www.idab.csic.es/>

[ramses.reina@csic.es](mailto:ramses.reina@csic.es)

# Los inicios de la vacunación

## Edward Jenner

Among patients awaiting small pox vaccination



# Importancia del cordero en la producción ovina



La mortalidad perinatal determina el destino de una explotación:

5-10% valores aceptables.

A partir del 10% empieza a ser un problema importante.

Más del 15% la rentabilidad está comprometida.

**Vital conocer el desarrollo del sistema inmune.**

# Sistema inmune

Inmunidad Innata/Natural  
(respuesta no específica, rápida)

Primera línea

Segunda línea

**Piel**  
**Mucosas/secreciones**  
**Microbiota**

**Células inmunidad innata (NK, ILC1, 2)**  
**Inflamación**  
**Complemento**  
**Sustancias antimicrobianas**

Inmunidad Adaptativa/adquirida  
(respuesta específica, lenta)

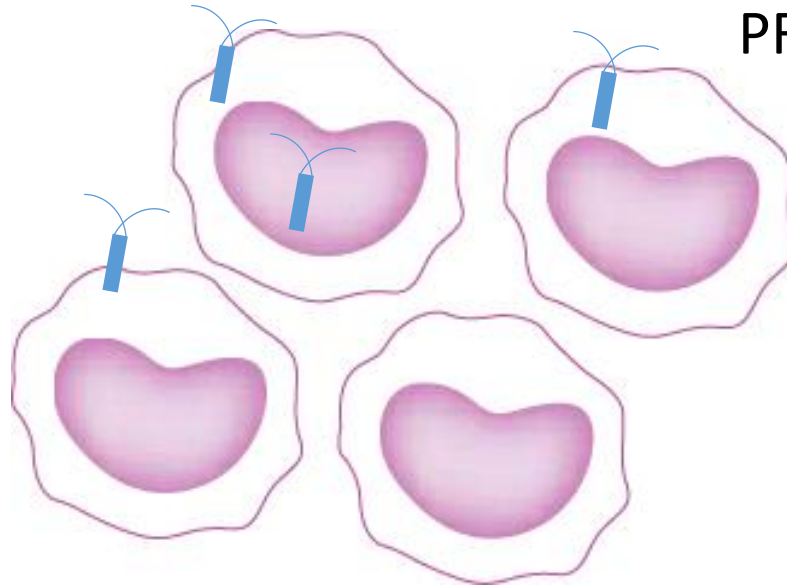
Tercera línea

**Células B**  
**Fagocitos**  
**Células T (Th1/2 y CTL)**

# Respuesta Inmune Innata

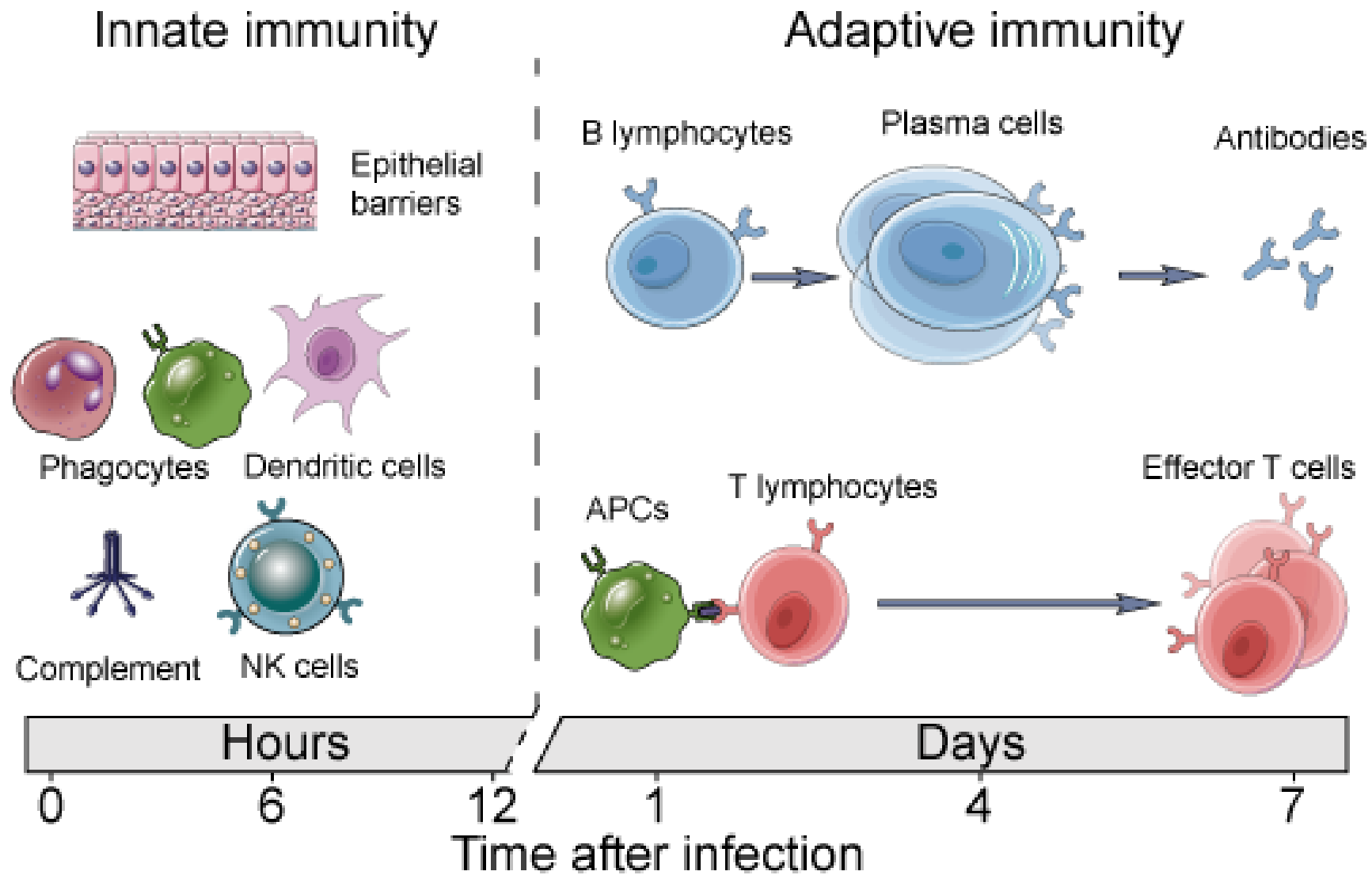


PAMPs (*Pathogen-associated molecular patterns*)



PRRs (*Pattern recognition receptors*)

# Respuesta Inmune



# Respuesta Inmune

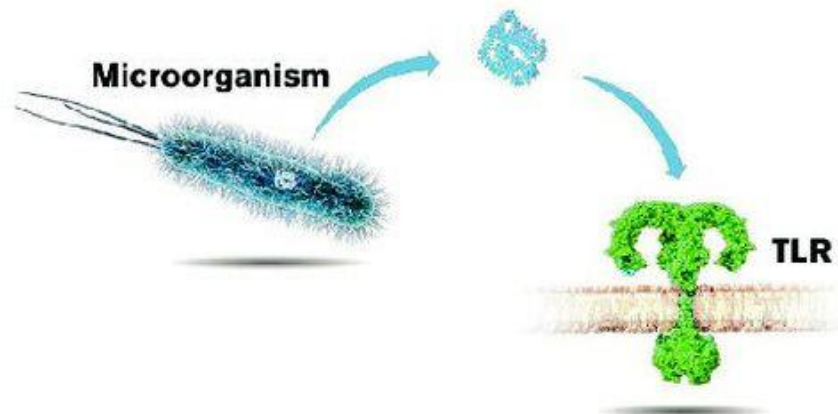
## The Nobel Prize in Physiology or Medicine



1

### INNATE IMMUNITY

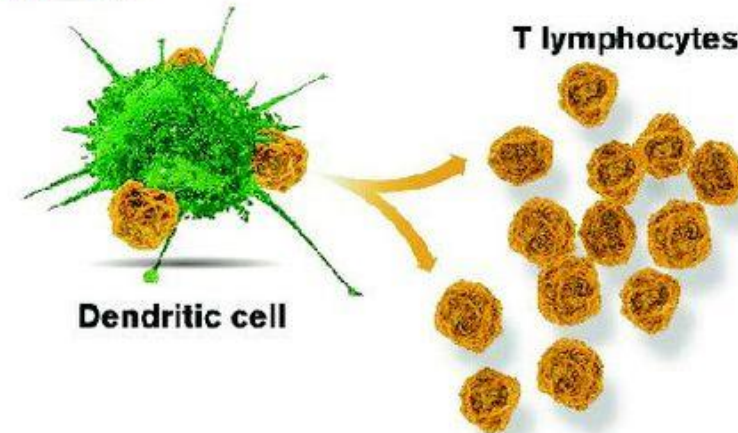
Components of micro-organisms bind to Toll-like receptors located on many cells in the body. This activates innate immunity, which leads to inflammation and to the destruction of invading micro-organisms.



2

### ADAPTIVE IMMUNITY

Dendritic cells activate T lymphocytes, which initiates adaptive immunity. A cascade of immune reactions follows, with formation of antibodies and killer cells.



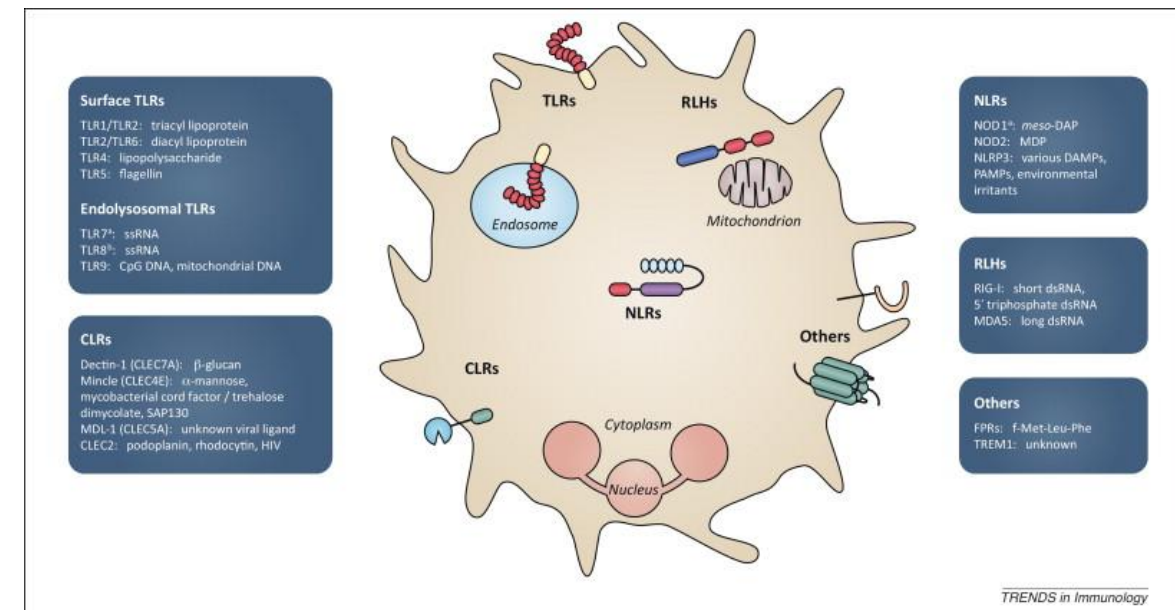
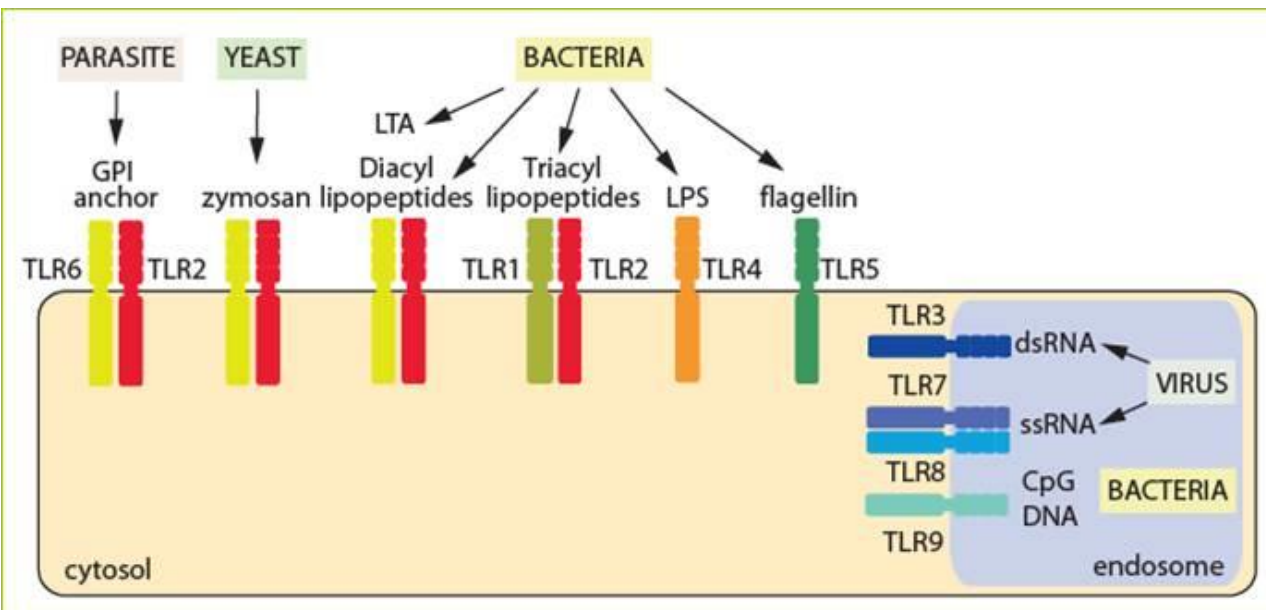
# PRRs (*receptores de reconocimiento de patrones*)

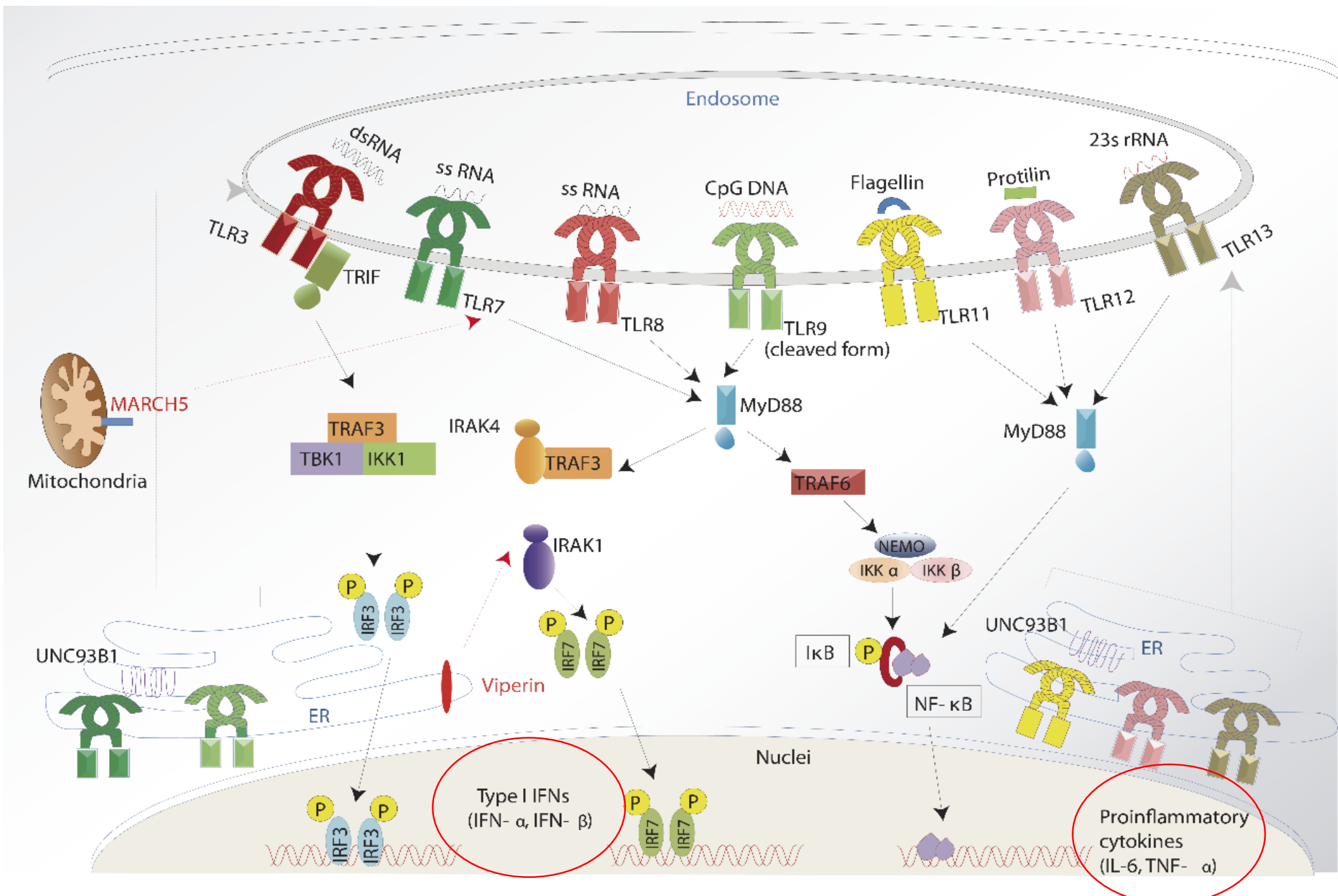
Membrana

Toll-like receptors (TLRs)  
C-type lectin receptors (CLRs)

Solubles

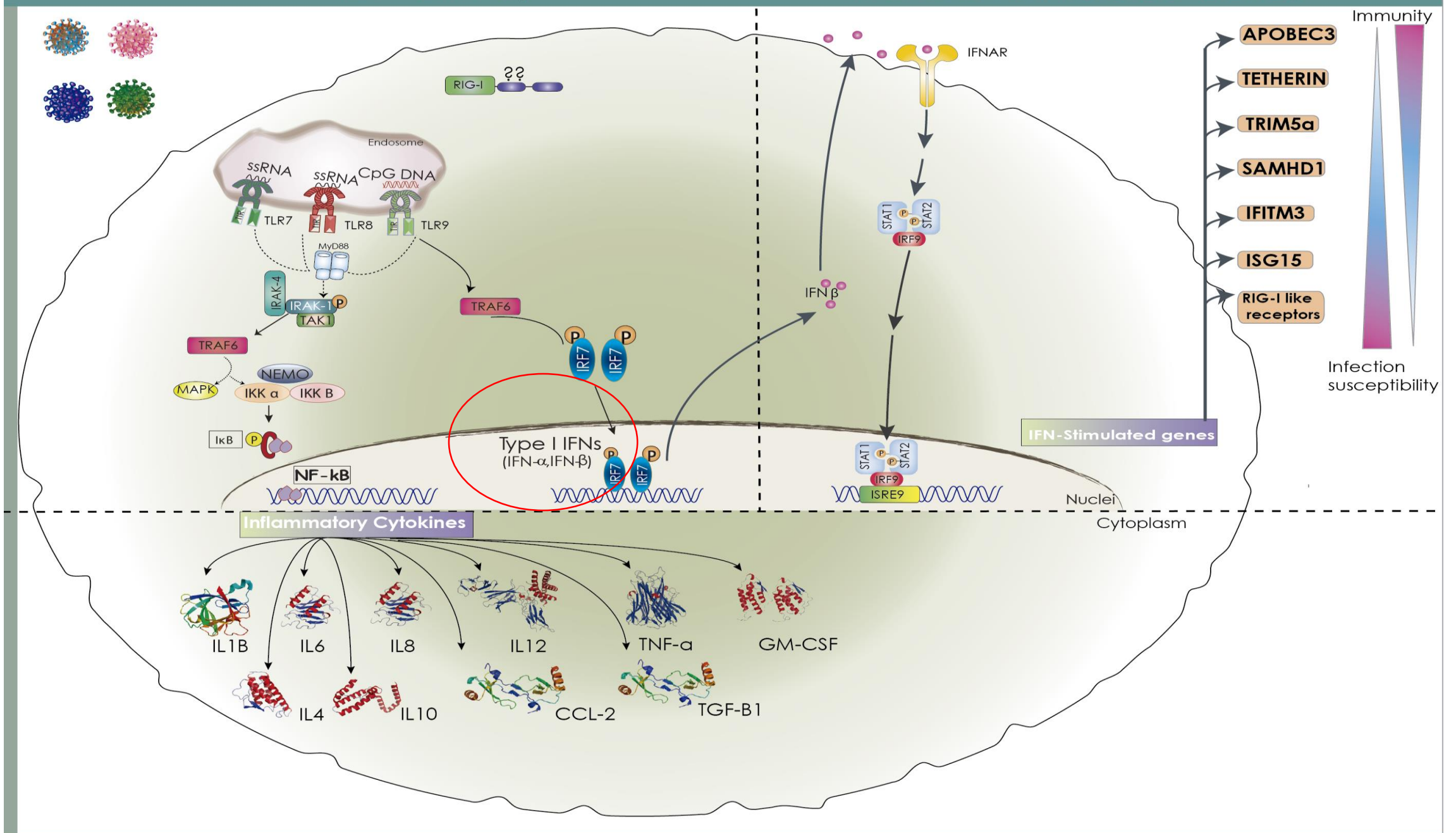
Retinoic acid-inducible gene 1-like receptors (RLRs)  
NOD-like receptors (NLRs)






# TLR Pathway

# Interferon Stimulated Genes



# Characterization of Ovine A3Z1 Restriction Properties against Small Ruminant Lentiviruses (SRLVs)

Lorena de Pablo-Maiso<sup>1</sup>, Idoia Glaria<sup>1</sup>, Helena Crespo<sup>1</sup>, Estanislao Nistal-Villán<sup>2</sup>, Valgerdur Andrésdóttir<sup>3</sup>, Damián de Andrés<sup>1</sup>, Beatriz Amorena<sup>1</sup> and Ramsés Reina<sup>1,\*</sup> 

Konno et al. *Retrovirology* (2018) 15:31  
<https://doi.org/10.1186/s12977-018-0414-5>



Retrovirology

## RESEARCH

## Open Access



## New World feline APOBEC3 potently controls inter-genus lentiviral transmission

Yoriyuki Konno<sup>1,2</sup>, Shumpei Nagaoka<sup>1,2</sup>, Izumi Kimura<sup>1,3</sup>, Keisuke Yamamoto<sup>1,4</sup>, Yumiko Kagawa<sup>1,5</sup>, Ryuichi Kumata<sup>1,6</sup>, Hirofumi Aso<sup>1,3,7</sup>, Mahoko Takahashi Ueda<sup>8</sup>, So Nakagawa<sup>8,9</sup> , Tomoko Kobayashi<sup>10</sup>, Yoshio Koyanagi<sup>1</sup> and Kei Sato<sup>1,11,12\*</sup> 

JOURNAL OF VIROLOGY, Aug. 2009, p. 7547–7559  
 0022-538X/09/\$08.00+0 doi:10.1128/JVI.00015-09  
 Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 83, No. 15

## Restriction of Equine Infectious Anemia Virus by Equine APOBEC3 Cytidine Deaminases<sup>▽†</sup>

Jörg Zielonka,<sup>1,3</sup> Ignacio G. Bravo,<sup>2</sup> Daniela Marino,<sup>1,3</sup> Elea Conrad,<sup>1</sup> Mario Perković,<sup>1,3</sup> Marion Battenberg,<sup>1</sup> Klaus Cichutek,<sup>1</sup> and Carsten Münk<sup>1,3\*</sup>

Division of Medical Biotechnology, Paul Ehrlich Institut, Langen, Germany<sup>1</sup>; Centre for Public Health Research, Valencia, Spain<sup>2</sup>; and Clinic of Gastroenterology, Hepatology and Infectiology, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany<sup>3</sup>

Received 5 January 2009/Accepted 11 May 2009

# SCIENTIFIC REPORTS

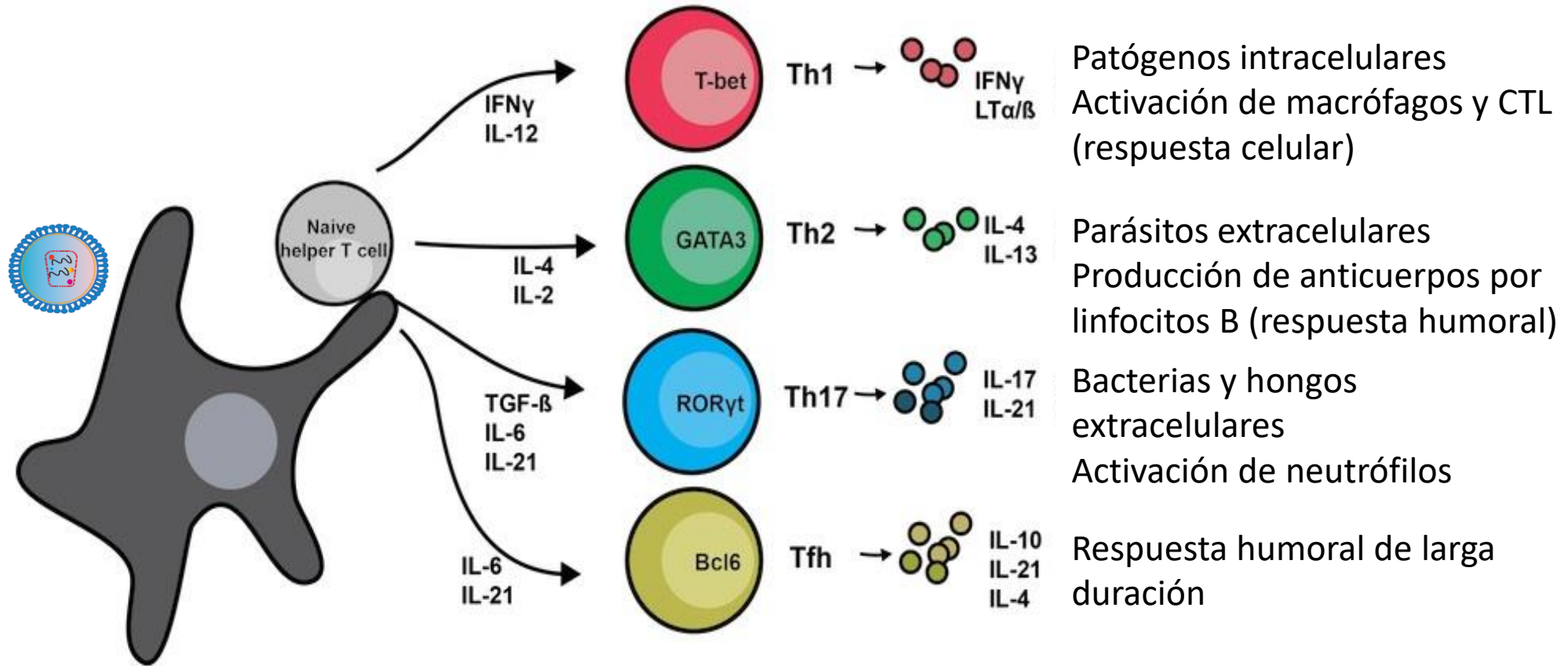
## OPEN

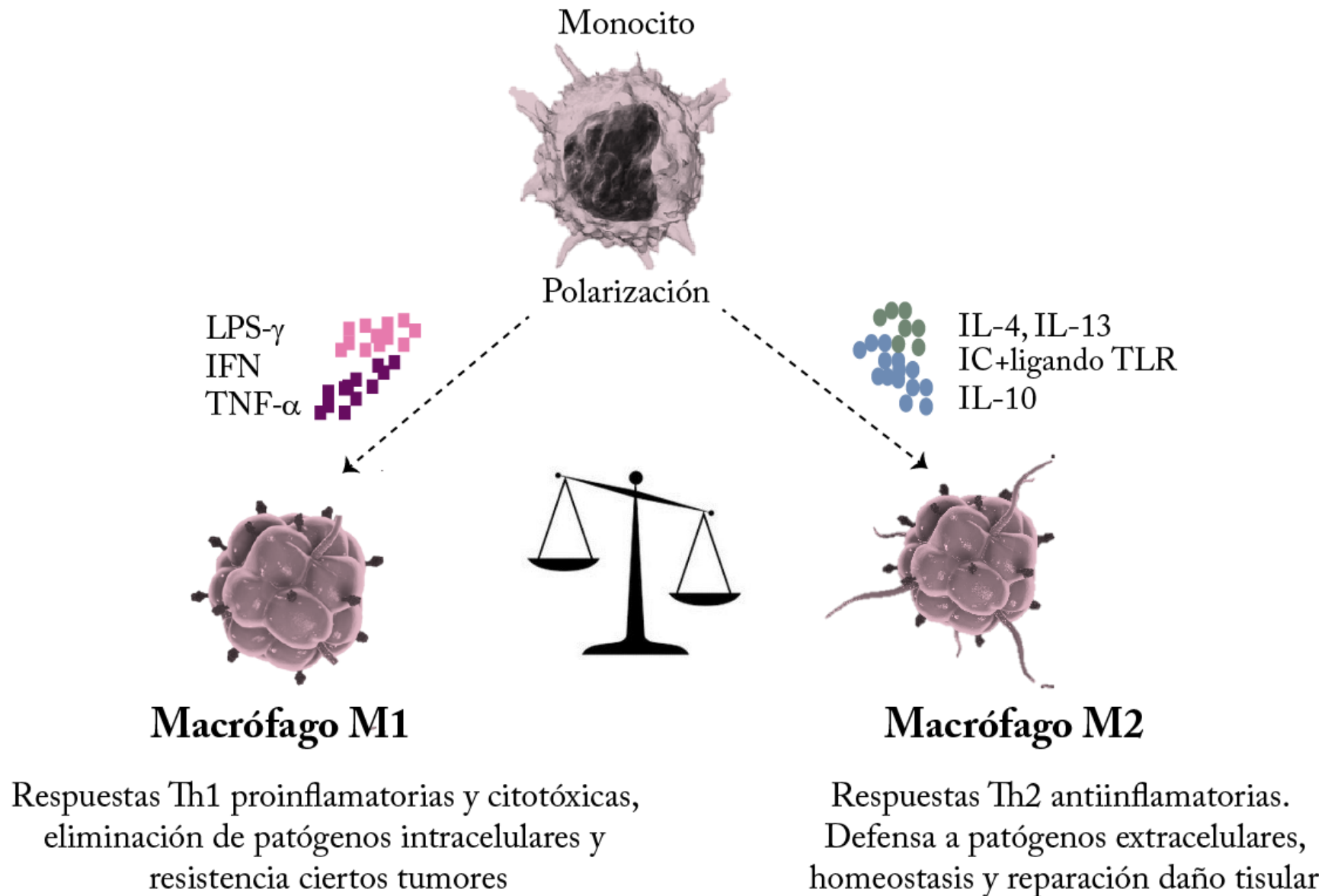
## A naturally occurring bovine APOBEC3 confers resistance to bovine lentiviruses: implication for the co-evolution of bovids and their lentiviruses

Received: 29 March 2016  
 Accepted: 01 September 2016  
 Published: 26 September 2016

Eri Yamada<sup>1</sup>, Rokusuke Yoshikawa<sup>1</sup>, Yusuke Nakano<sup>1</sup>, Naoko Misawa<sup>1</sup>, Tomoko Kobayashi<sup>2</sup>, Fengrong Ren<sup>3</sup>, Taisuke Izumi<sup>1,4</sup>, Takayuki Miyazawa<sup>5</sup>, Yoshio Koyanagi<sup>1</sup> & Kei Sato<sup>1,4</sup>

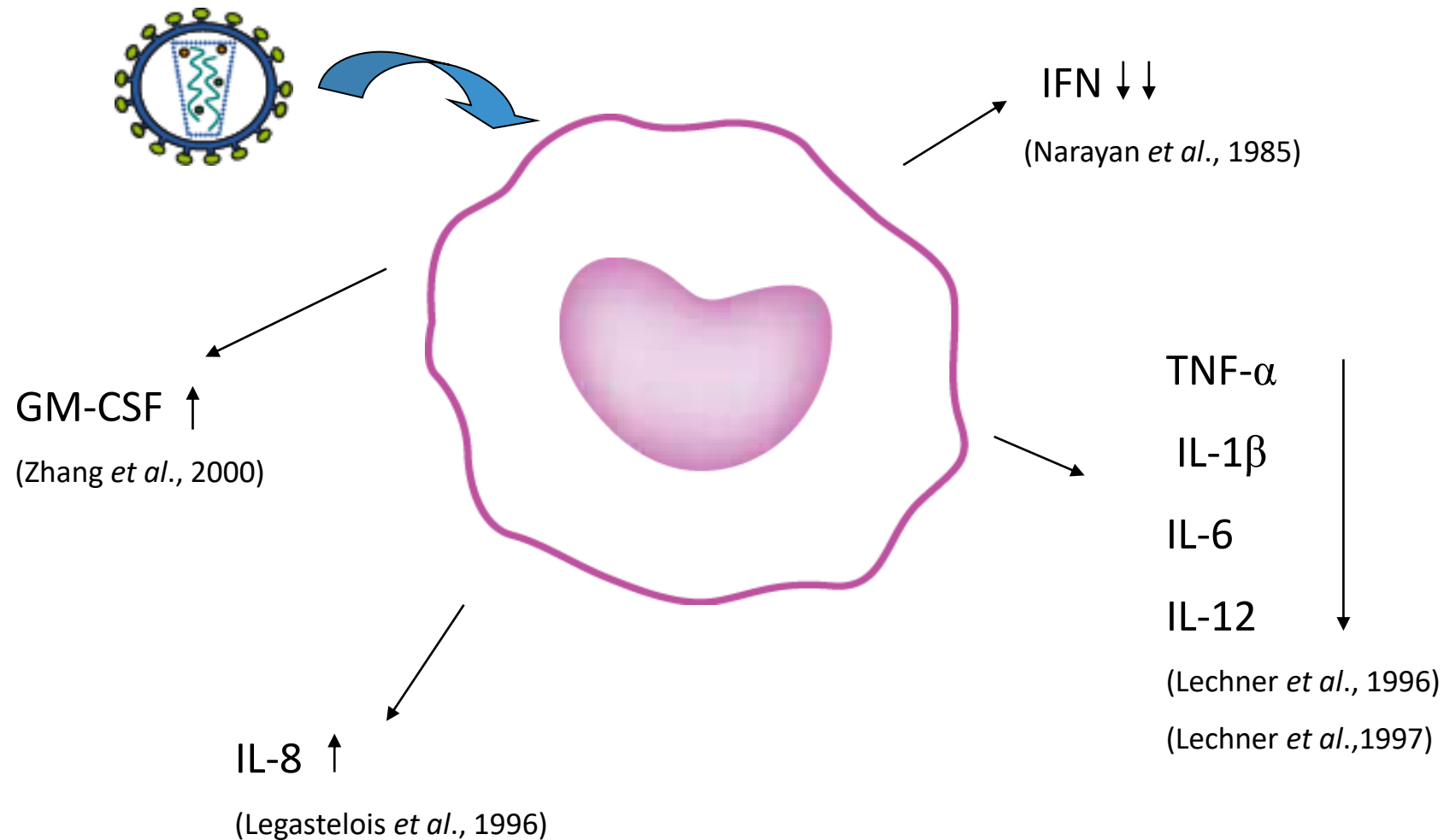
# Transición entre inmunidad innata y adaptativa





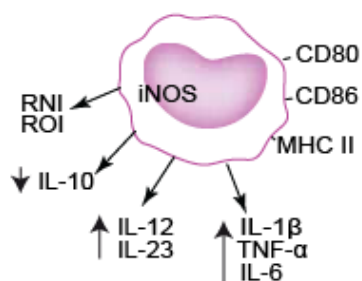
Inmunopatología vs protección

- Las células diana de muchos lentivirus son monocitos/macrófagos y células dendríticas



## Activación clásica o M1

IFN- $\gamma$ , LPS o TNF- $\alpha$

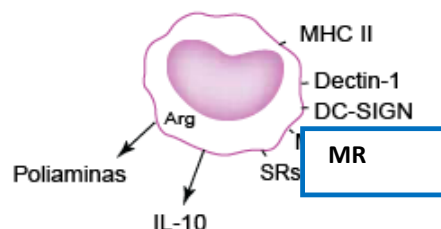


M1

Respuestas Th1 proinflamatorias y  
citotóxicas, eliminación de patógenos  
intracelulares, resistencia a ciertos tumores

## Activación alternativa o M2

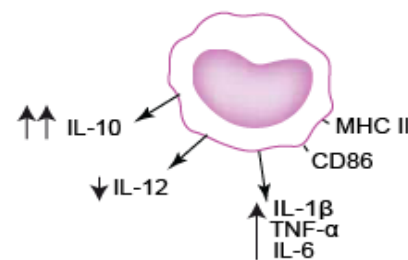
IL-4 o IL-13



M2a

Respuestas Th2 antiinflamatorias  
Defensa frente a patógenos extracelulares  
Homeostasis y reparación del daño tisular

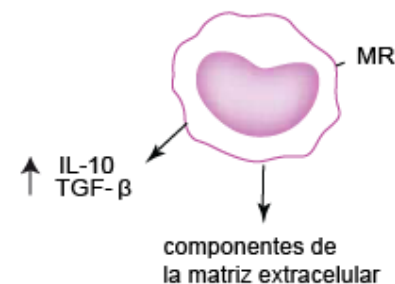
IC + ligando deTLR



M2b

Función inmunorreguladora:  
Regulación antiinflamatoria

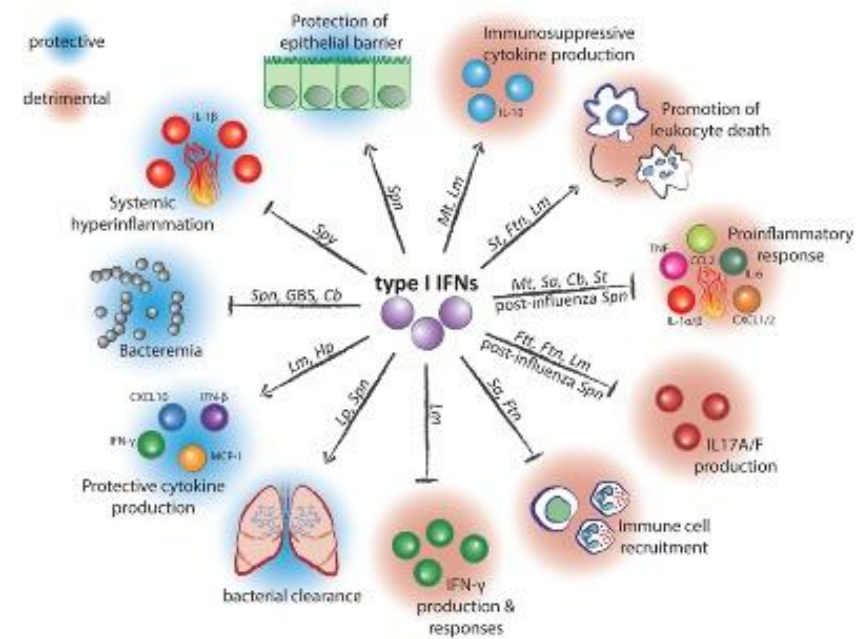
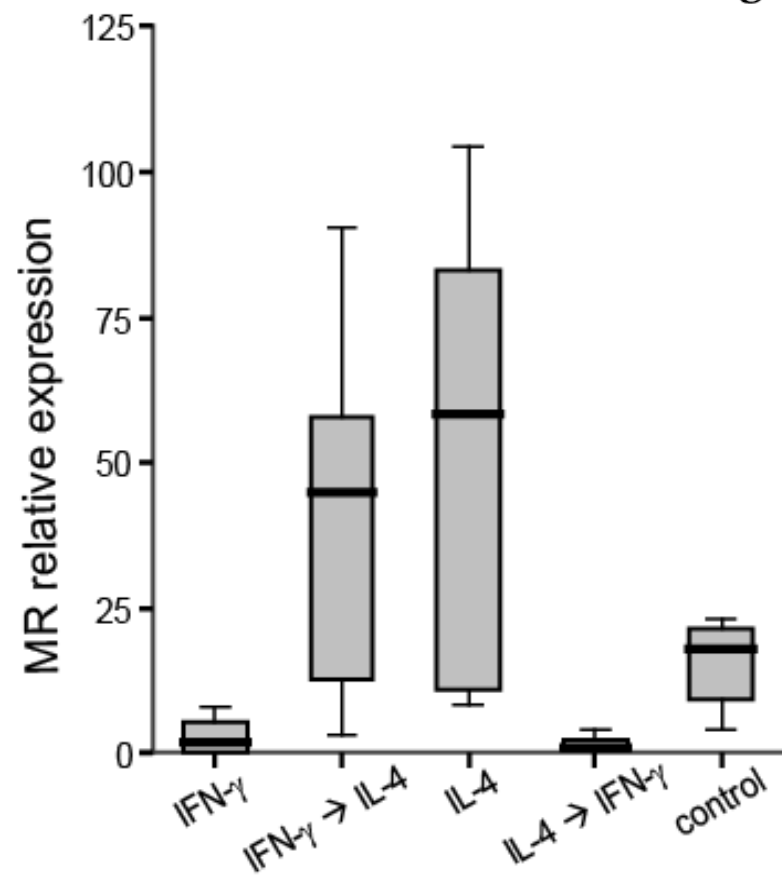
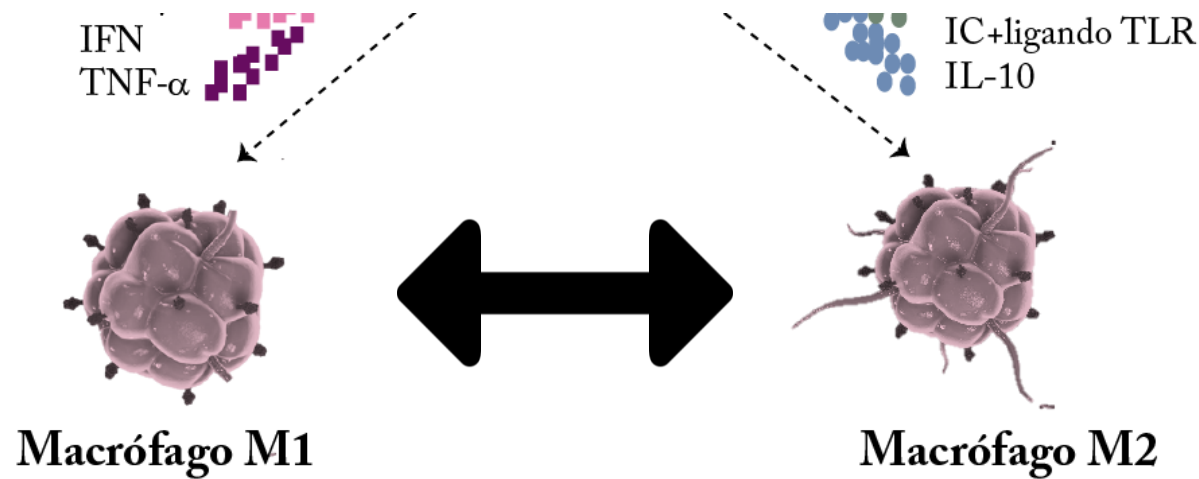
IL-10



M2c

Regeneración tisular  
Reposición de matriz

(Extraído de Mantovani *et al.*, 2004)



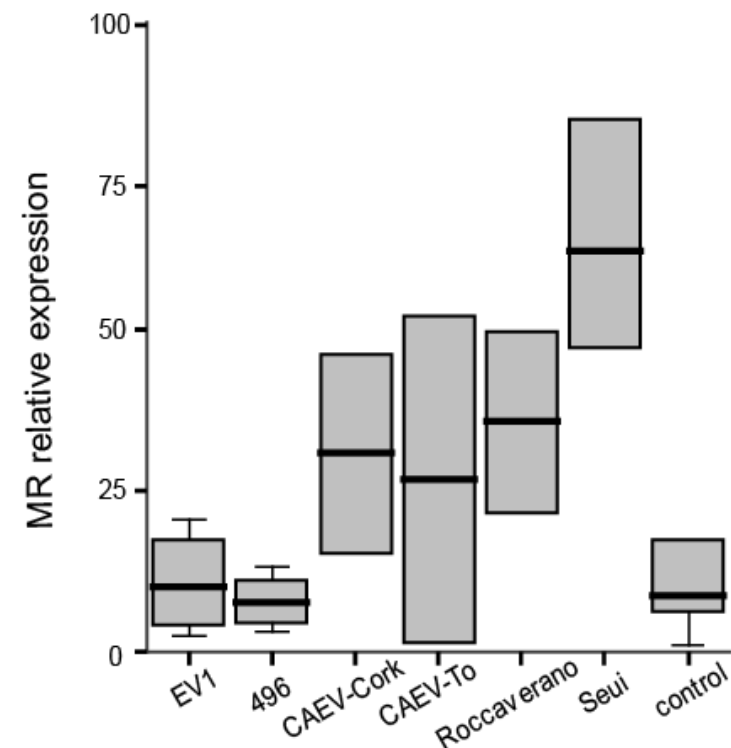
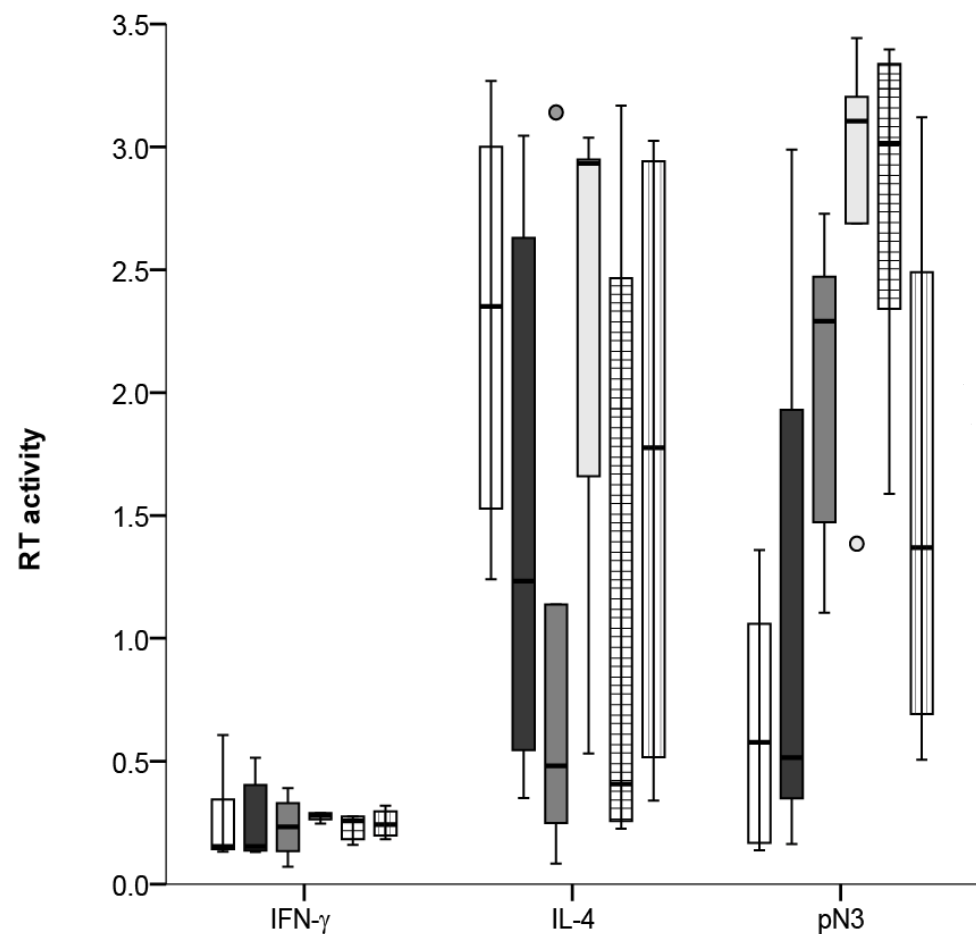
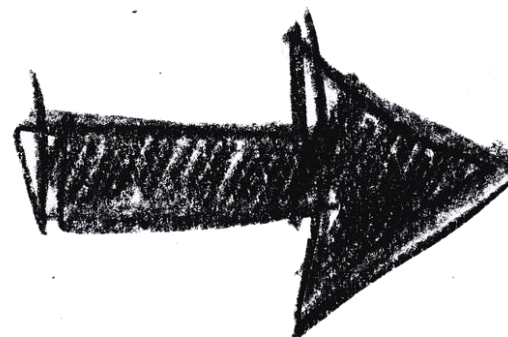
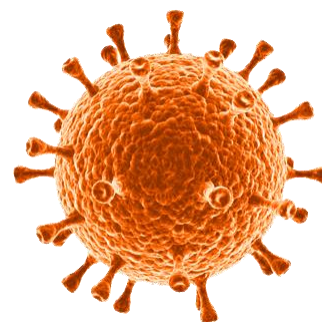
RESEARCH

Open Access

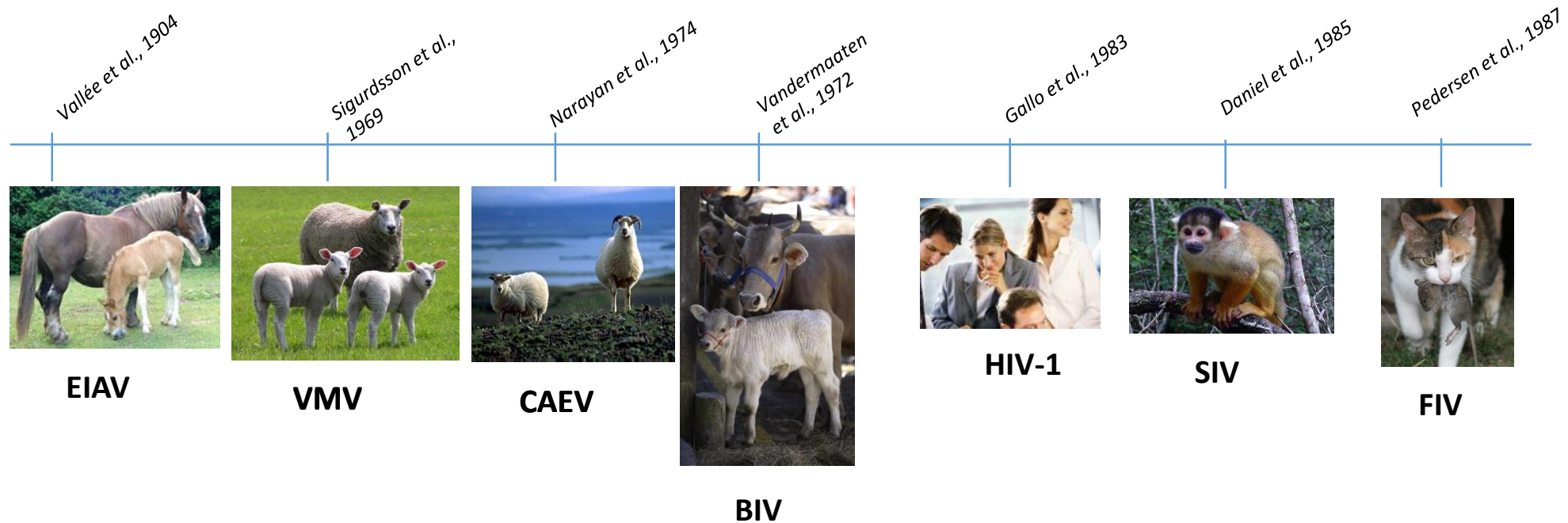
# Small ruminant macrophage polarization may play a pivotal role on lentiviral infection

Helena Crespo<sup>1†</sup>, Luigi Bertolotti<sup>2†</sup>, Magda Juganaru<sup>2</sup>, Idoia Glaria<sup>1</sup>, Damián de Andrés<sup>1</sup>, Beatriz Amorena<sup>1</sup>, Sergio Rosati<sup>2†</sup> and Ramsés Reina<sup>1†\*</sup>

Strain  
 EV1  
 496  
 CAEV-Cork  
 CAEV-To  
 Roccaverano  
 Seui



# Lentivirus



Distribución mundial

Ausencia de tratamientos o vacunas

Diagnóstico serológico y aislamiento

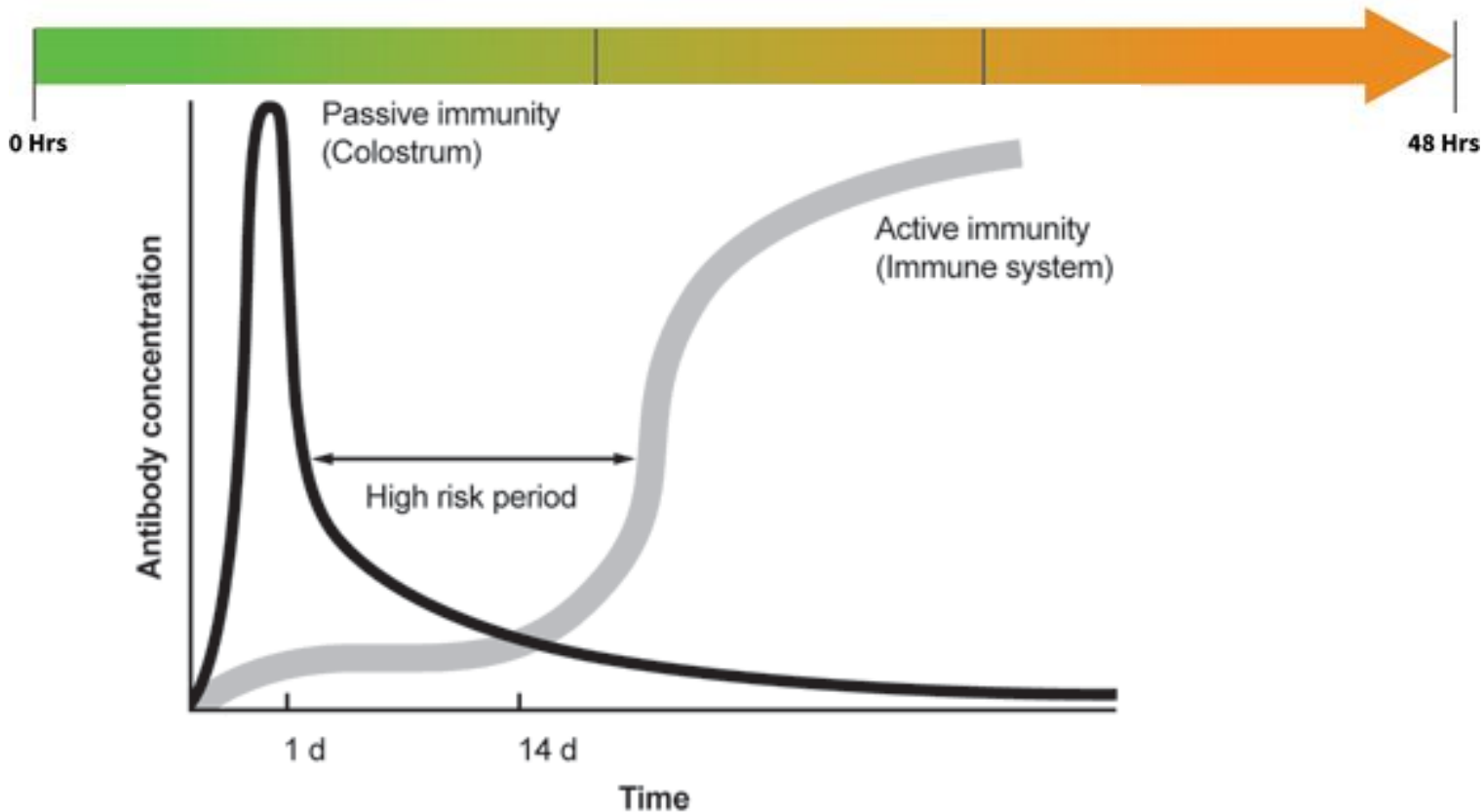
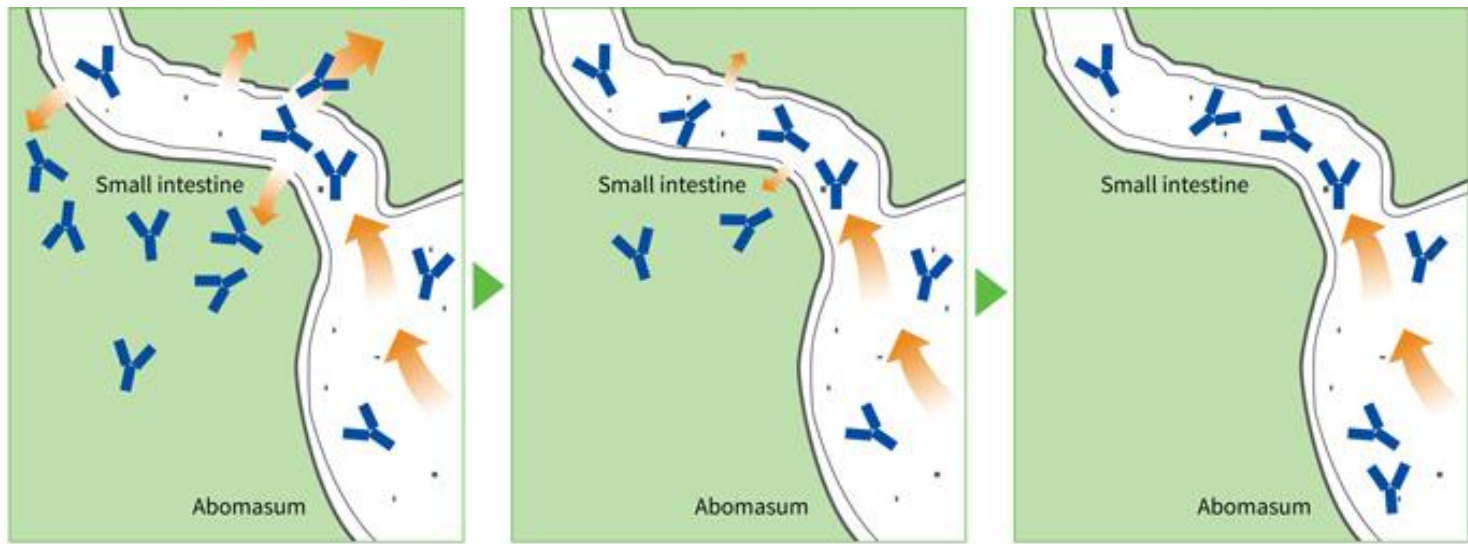
# Inmunidad en corderos

- Inmunidad Pasiva
  - Calostro: 24-48h tras el parto.
  - Duración de 3-6 meses.
- Sistema inmune inmaduro

## ➤ Inmunidad del neonato

- Pocos estudios valoran la inmunocompetencia del feto y del neonato
- La respuesta es de menor magnitud. El calostro suple esta deficiencia

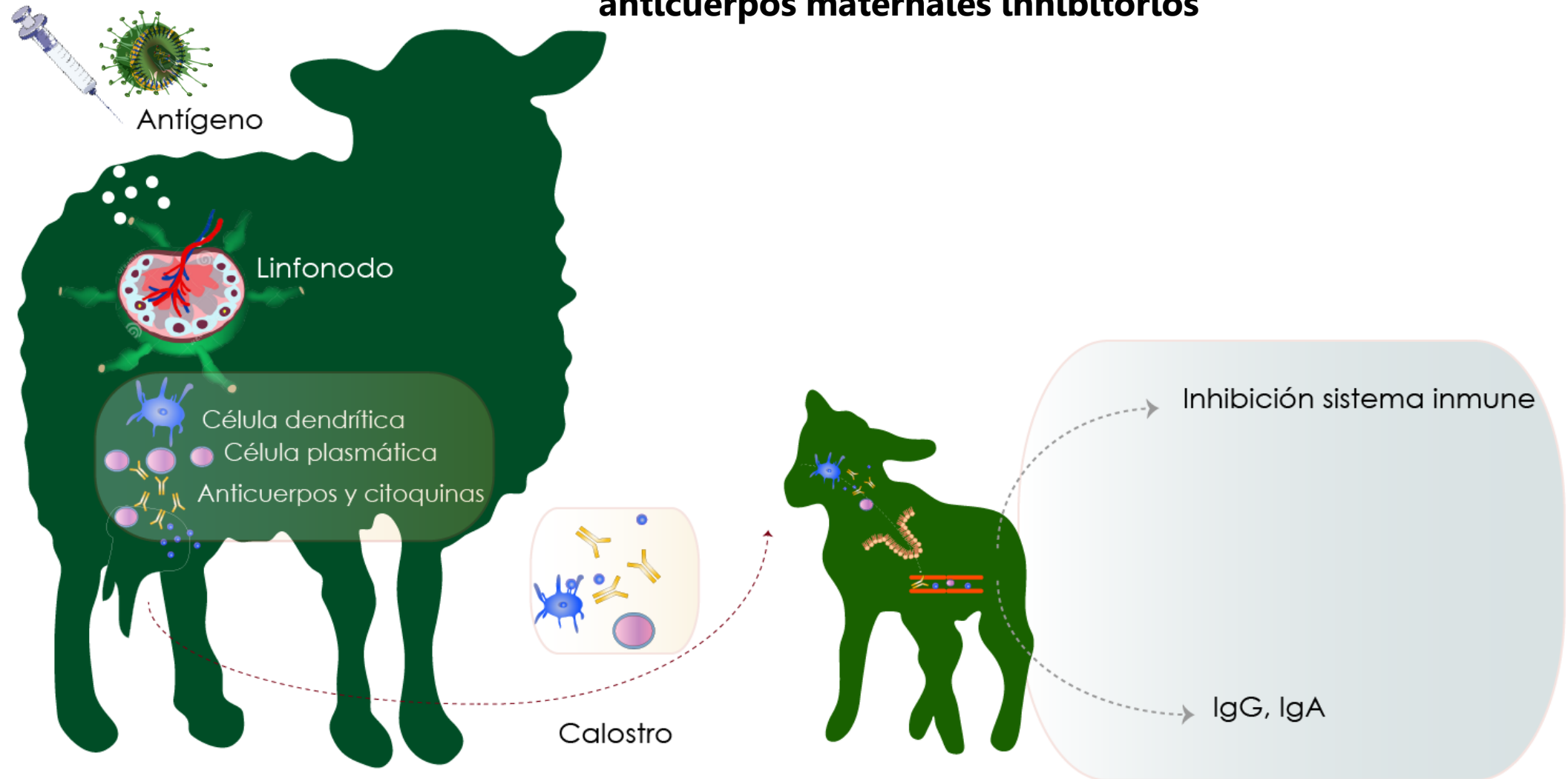




- Cantidades finitas de **IgG** que protegen frente a las enfermedades infecciosas pero suprimen la respuesta de anticuerpos inducida por vacunación.
- **IgA** se suministra continuamente desde la leche sin efectos en la respuesta sistémica del cordero.
- Todas las formulaciones (vivo atenuado, inactivado, proteína) se inhiben en presencia de anticuerpos maternos.

# Inmunidad en corderos

Las vacunas son poco efectivas en neonatos: **inmadurez del sistema inmune**  
**anticuerpos maternos inhibitorios**



# Inhibición de la respuesta del cordero

La inmunidad pasiva inhibe la respuesta de anticuerpos del propio cordero

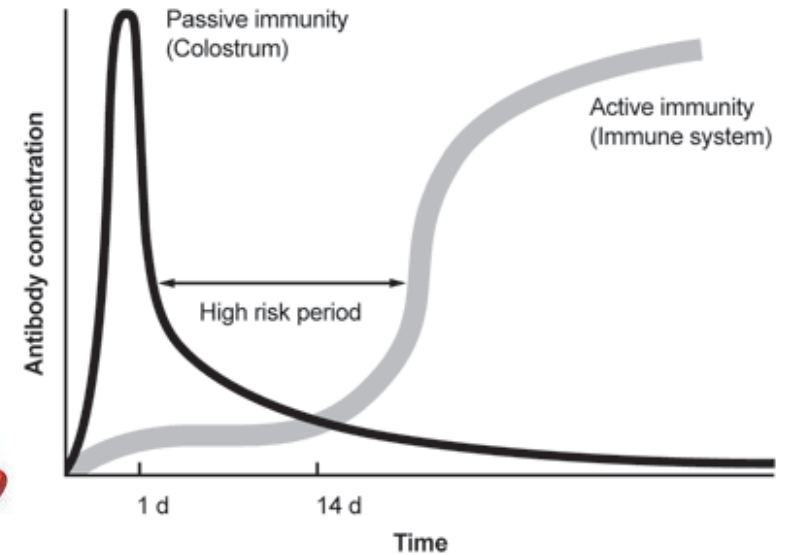
Sin embargo hay estimulación de células B. (Nieweski, 2014. *Front Immunol*)

**Inhibición temporal.** El descenso en el título de IgGs estimula la respuesta del cordero que será más intensa si ha se ha vacunado antes. **Momento adecuado para vacunar!**

3,5 meses en ovino y 4,5 meses en caprino (Awa et al., 2002).

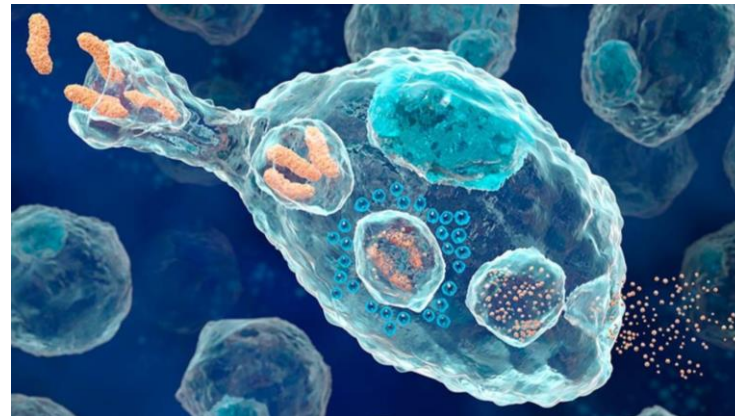
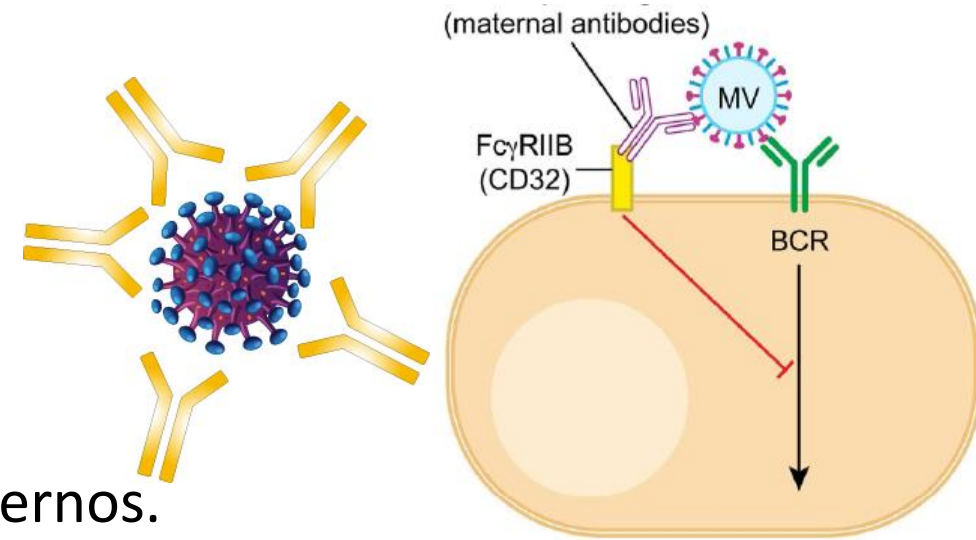
## No se inhibe la respuesta T

- En ausencia de formulaciones vacunales que eviten la inhibición
  - Vacunas con alto título
  - Determinar el descenso de anticuerpos maternos

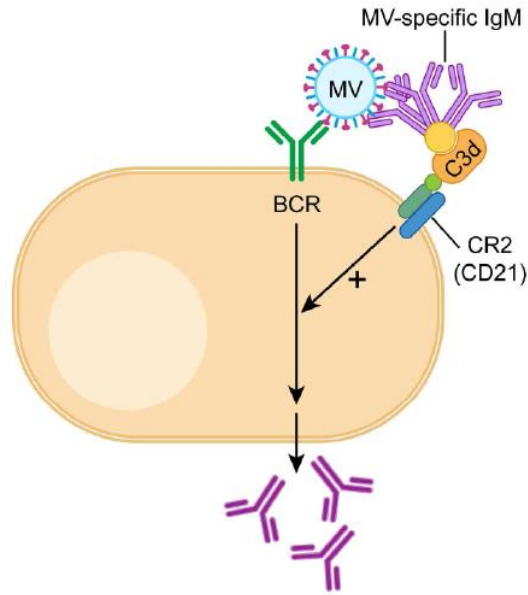


# Mecanismos de inhibición de la vacunación

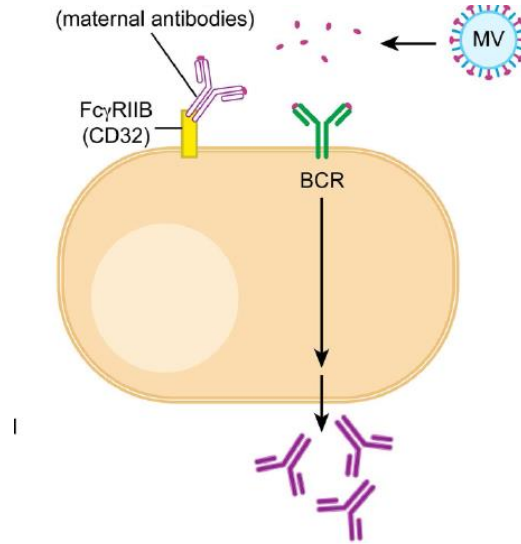
- Realimentación de anticuerpos.
  - *Epitope masking*.
  - Unión de la Fc con su receptor en linfocitos B.
- Neutralización del inóculo viral por anticuerpos maternos.
- Eliminación del antígeno vacunal por macrófagos.



# Nuevas oportunidades

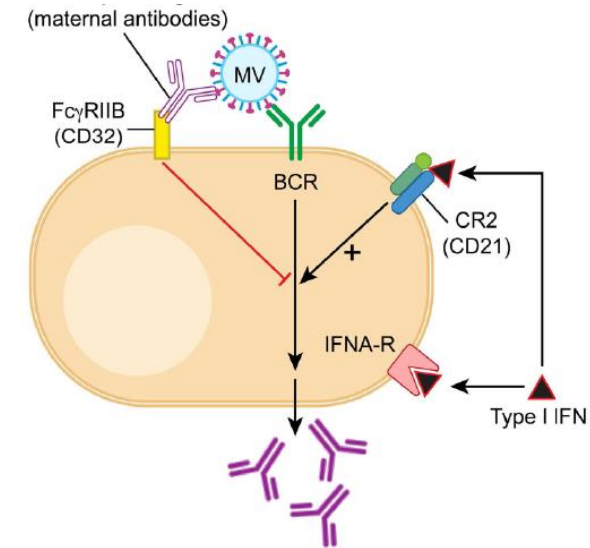


Empleo de IgM



Adyuvantes inmunológicos,  
activación del IFN-I

(Kim et al., Plos Pathog 2013)



Vacunación con  
subunidades pequeñas

(Siegrist et al., J Infec Dis. 1999)

- Vacunación con ADN
- Inmunización mucosas (baja concentración de IgGs maternas) (Mutwiri et al., Vaccine 2001)
- Inmunización de las madres

# Nuevas oportunidades para la vacunación de corderos

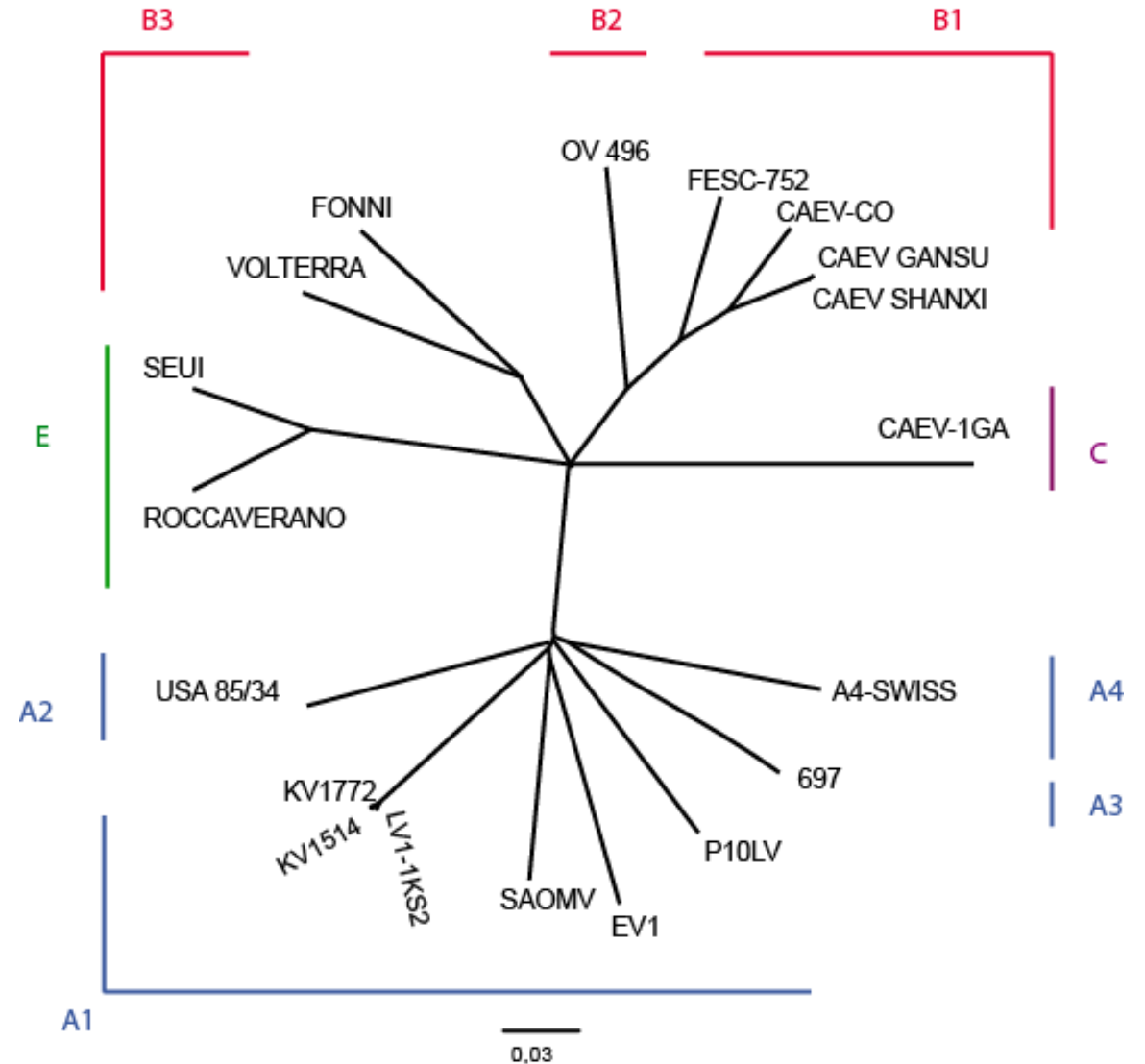
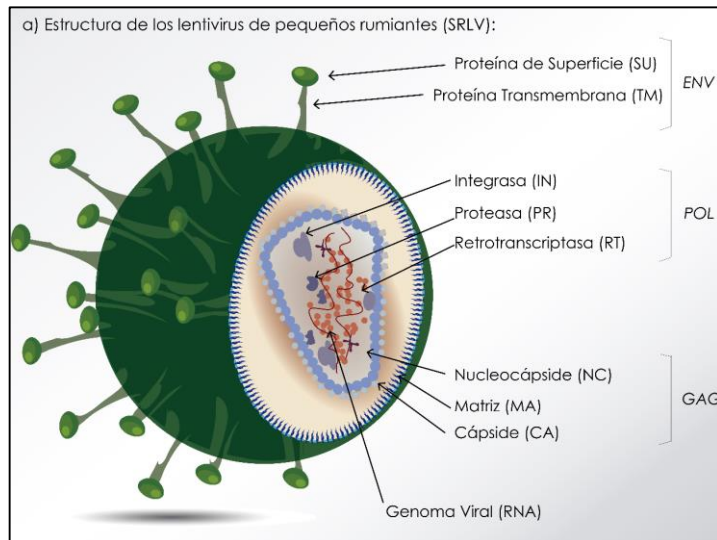
- La inmunización en zonas con menor proporción de anticuerpos maternos, mucosas, asegura una buena estimulación de la respuesta inmune en corderos de 4 días, empleando un vector viral basado en *Adenovirus* (Mutwiri et al., *Vaccine* 2001; Griebel. *Expert Rev Vaccines*, 2009).
- La vacunación *in utero* ha demostrado que el sistema inmune del feto puede responder a la vacunación genética (con ADN) con respuestas protectoras y la generación de memoria inmunológica.

# Evaluación de vacunas en corderos

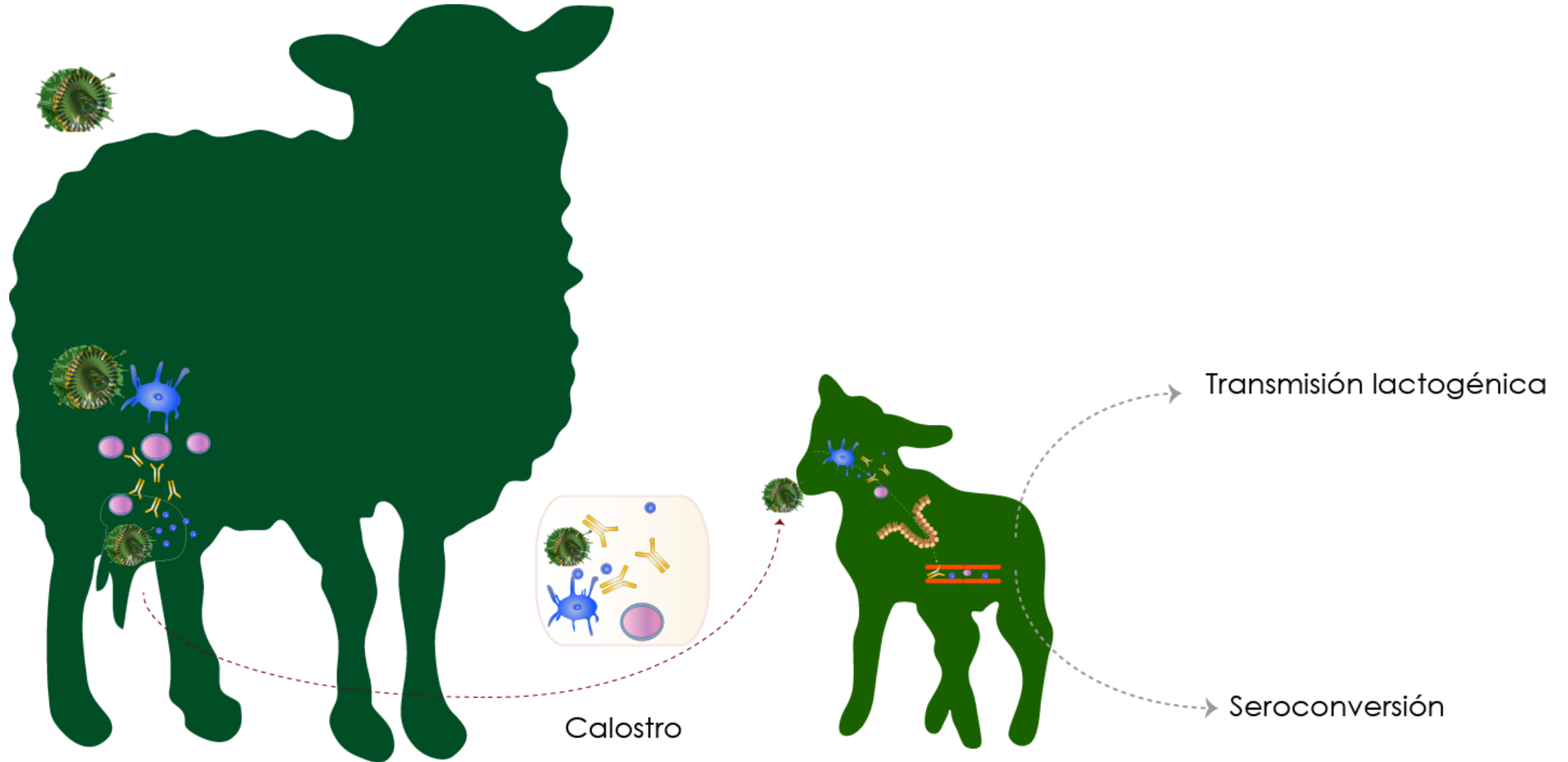
- Es más fácil que una vacuna pruebe su efectividad si se emplea en presencia **de bajos títulos de anticuerpos maternos**, si se evalúan **respuesta T** y si la protección se basa **en parámetros clínicos o en la cuantificación del agente**.

# Lentivirus de Pequeños Rumiantes (SRLV)

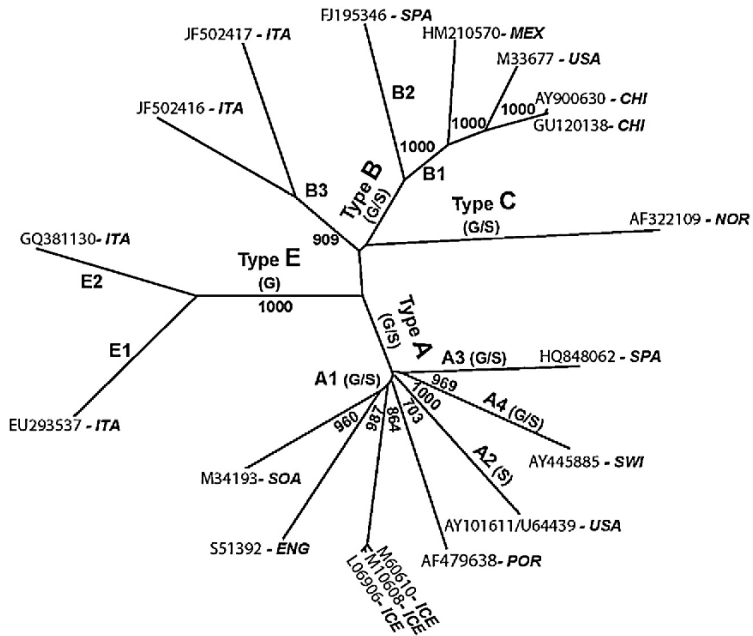
- Ampliamente distribuida
- Virus Visna-Maedi y Artritis encefalitis caprina
- Reciente descripción de A17 y B4 (*Stonos et al., 2016*).
- Control basado en el diagnóstico precoz



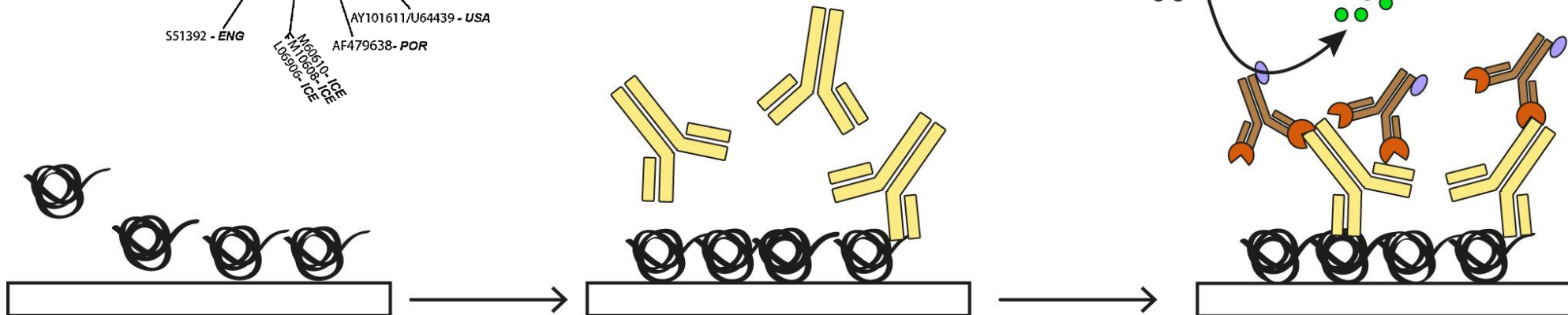
# Lentivirus de Pequeños Rumiantes (SRLV)



# Lentivirus de Pequeños Rumiantes (SRLV)



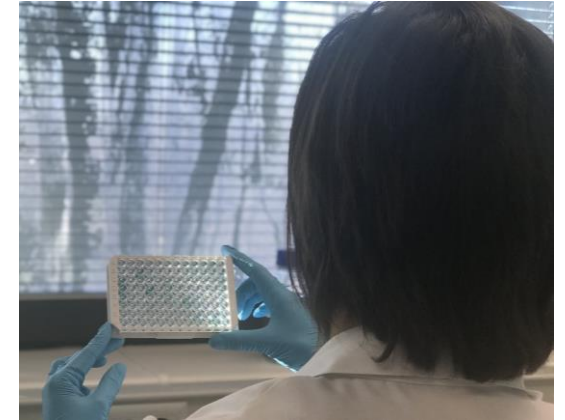
## Mejor detección con antígeno homólogo



1.- Recubrimiento de la placa con el antígeno seleccionado.

2.- Incubación con el suero problema.

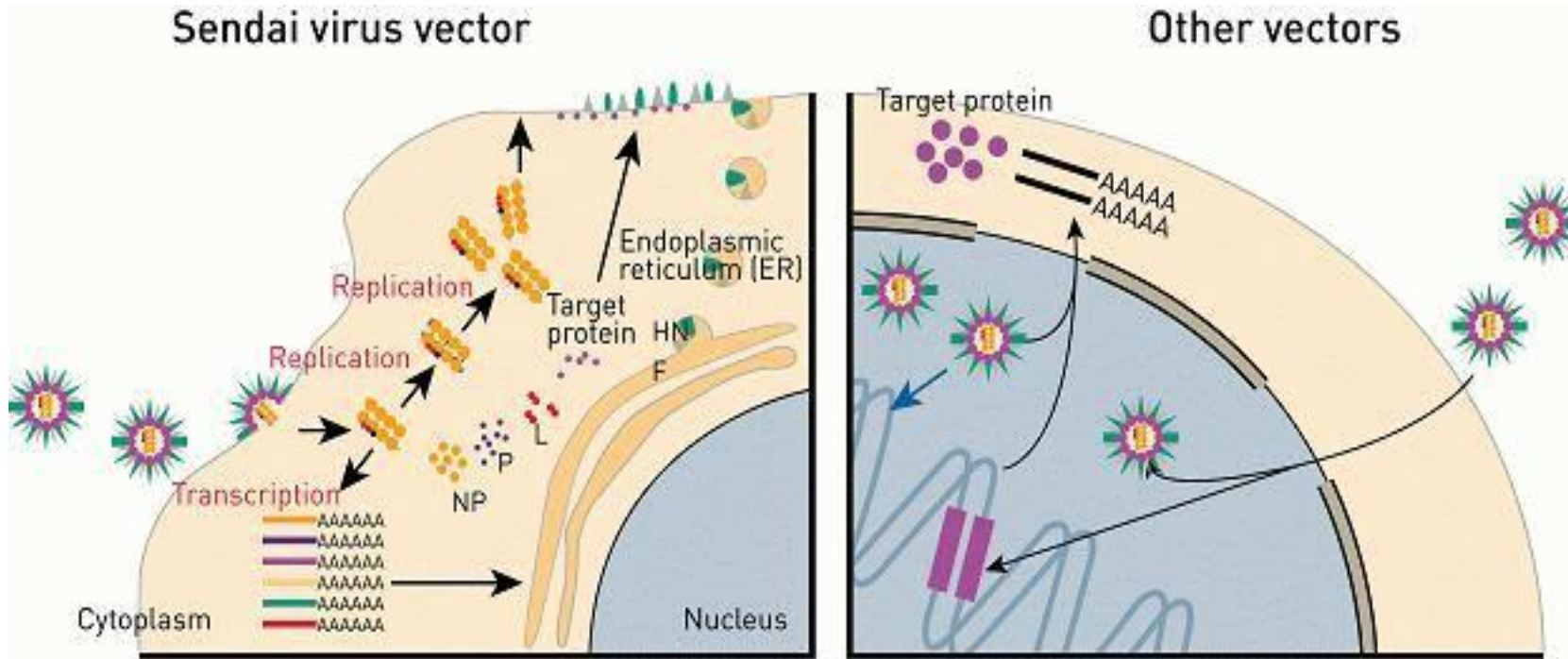
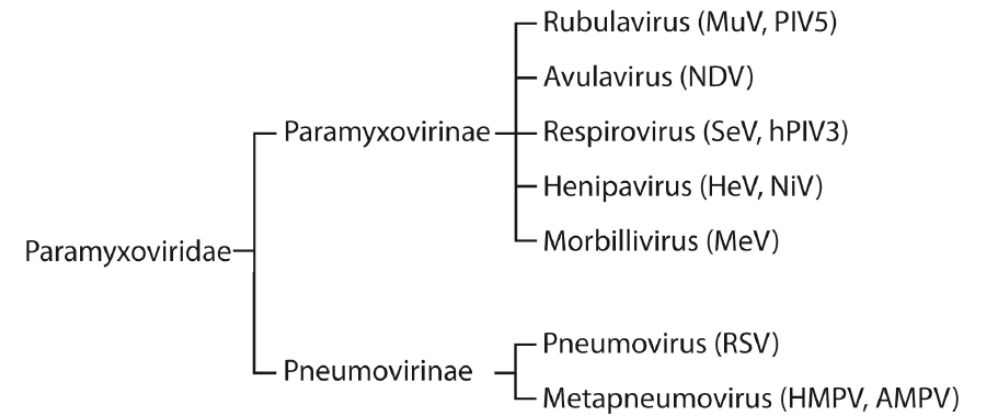
### 3.- Incubación con el anticuerpo secundario y desarrollo de la reacción colorimétrica.



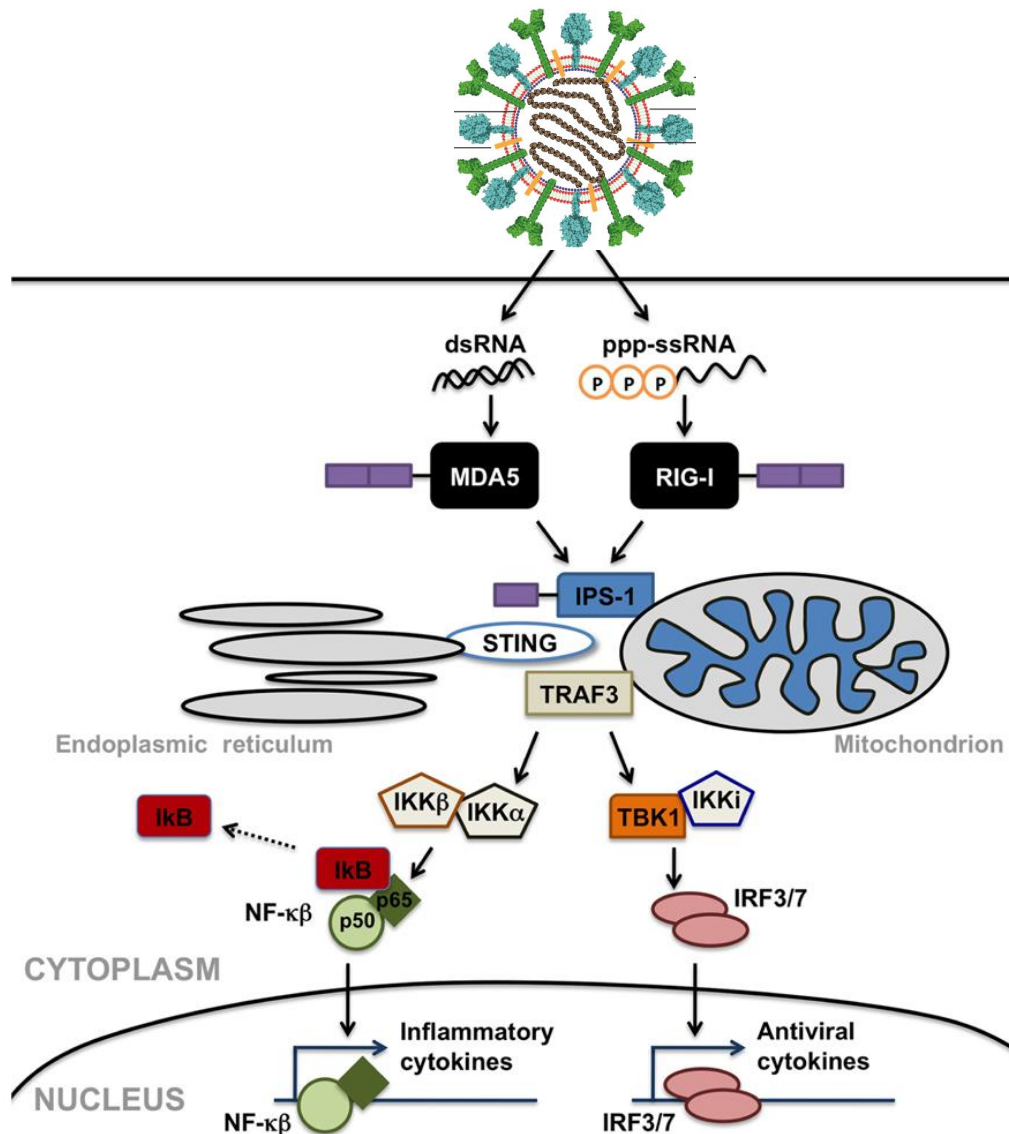
# Vacunas frente SRLV

- Buena estimulación con vacunas ADN pero sin protección
- Mejora la protección con moléculas coestimuladoras
- Virus atenuados sirven para inmunizar
- Inmunidad innata?
- Vectores virales?

# Vectores virales (Sendai virus)



# Vectores virales (Sendai virus)



OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

## Induction of Influenza-Specific Mucosal Immunity by an Attenuated Recombinant Sendai Virus

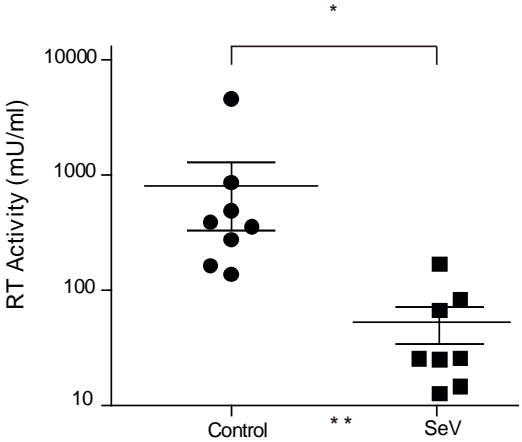
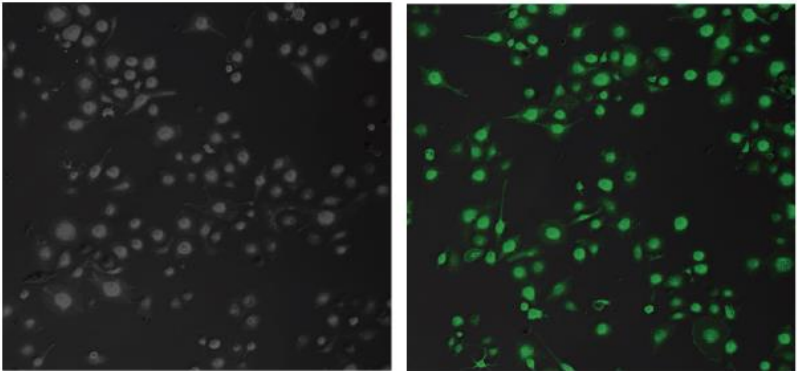
Thuc-vy L. Le<sup>1</sup>, Elena Mironova<sup>2</sup>, Dominique Garcin<sup>2</sup>, Richard W. Compans<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology and Emory Vaccine Center, Emory University School of Medicine, Atlanta, Georgia, United States of America,

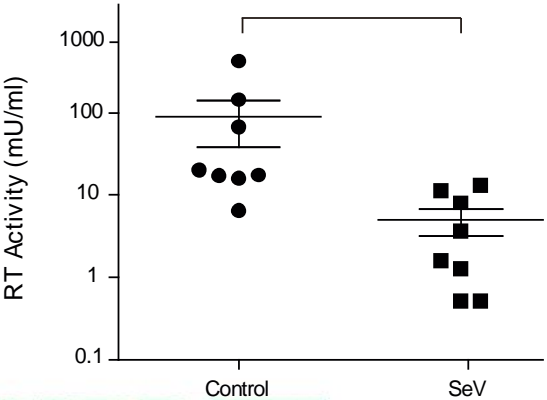
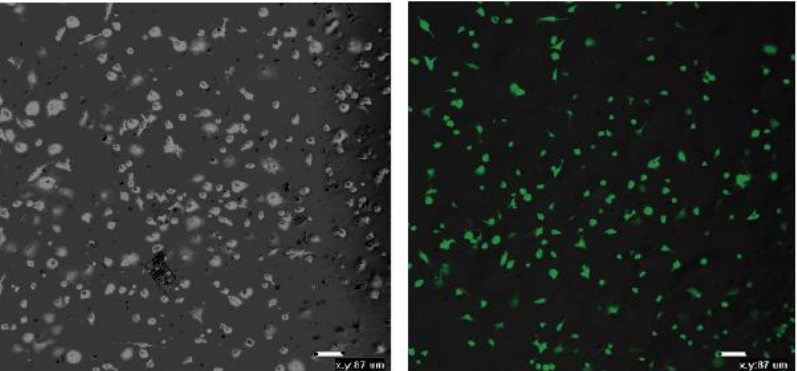
<sup>2</sup>Department of Microbiology and Molecular Medicine, University of Geneva School of Medicine, Geneva, Switzerland

# Vectores virales frente a SRLV (Sendai virus)

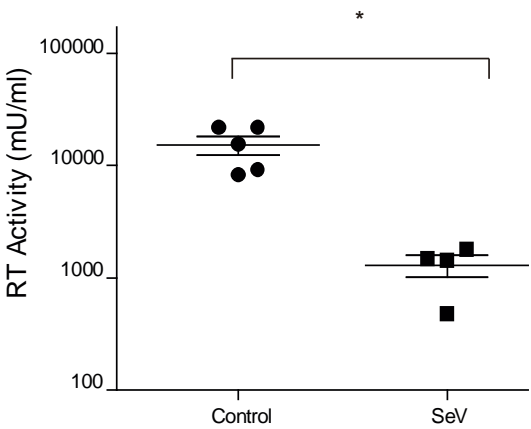
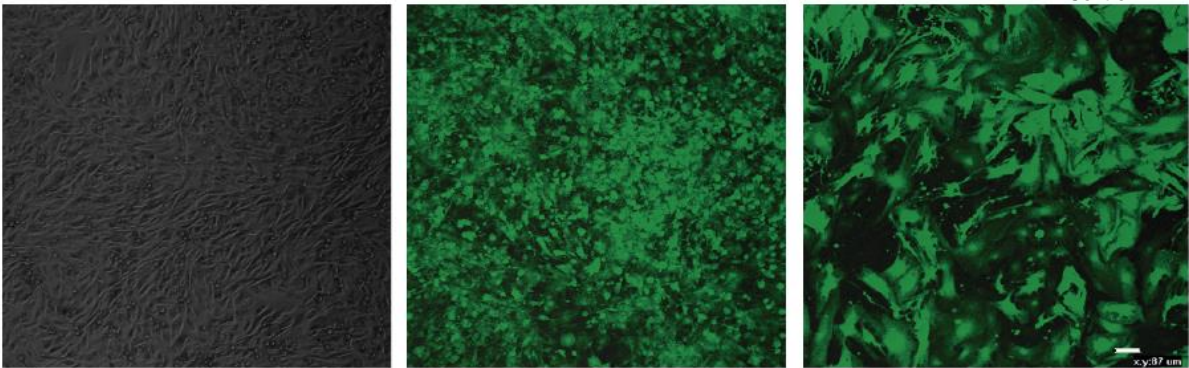
AM



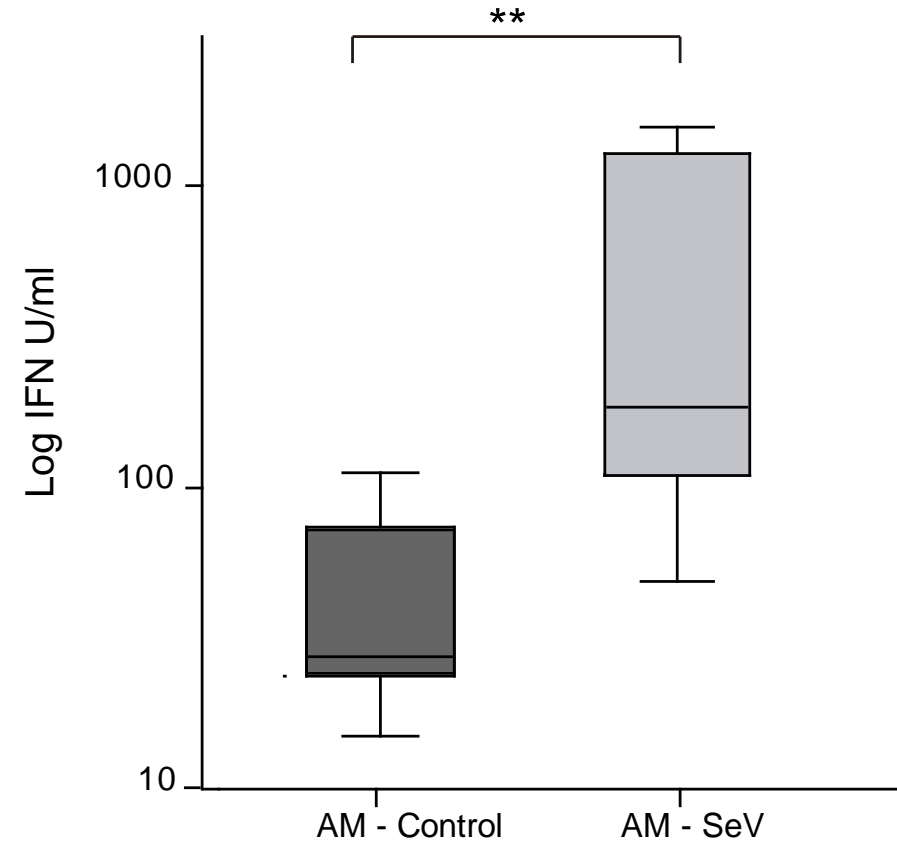
BDM

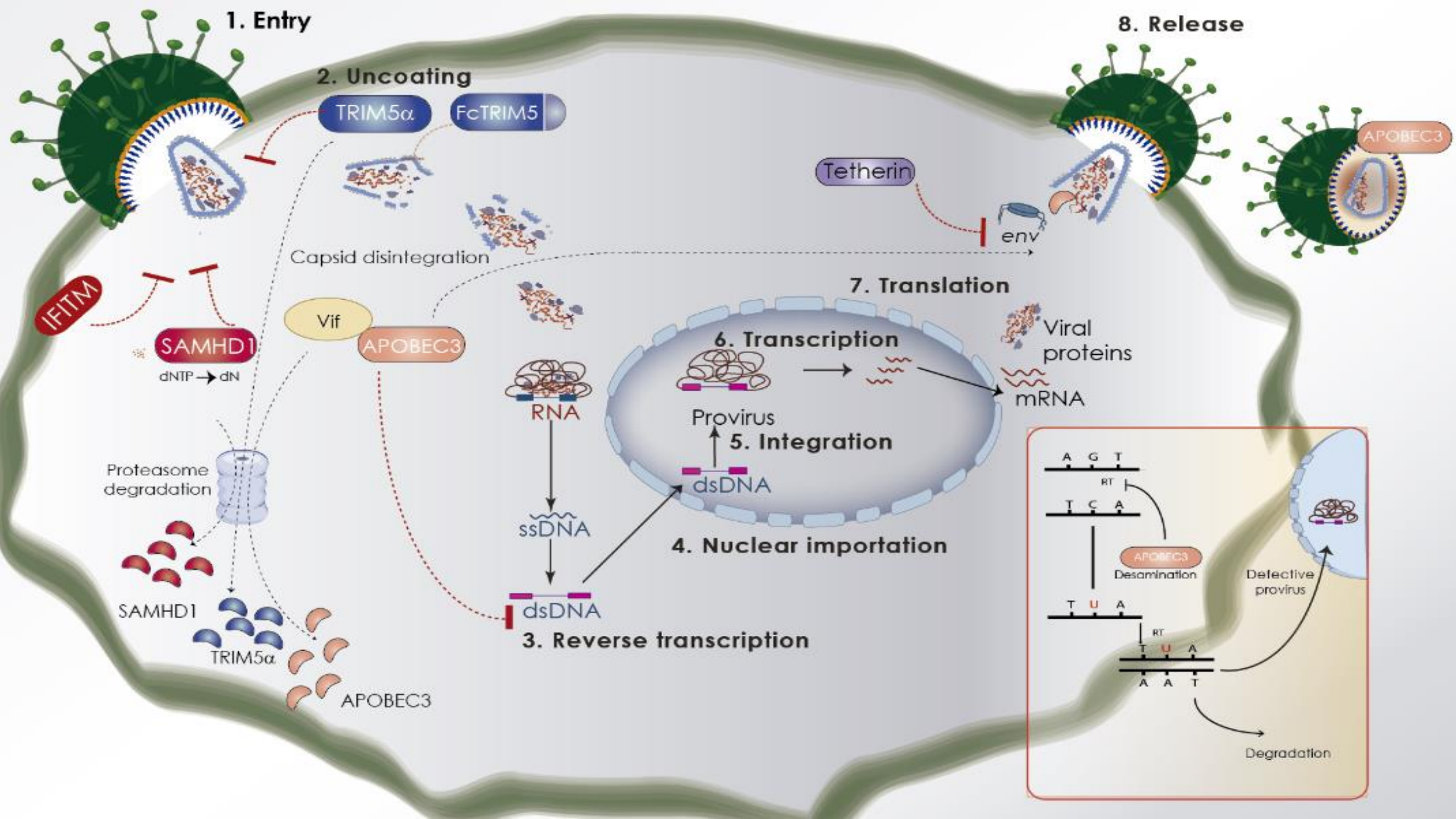


OSF



# Vectores virales frente a SRLV (Sendai virus)





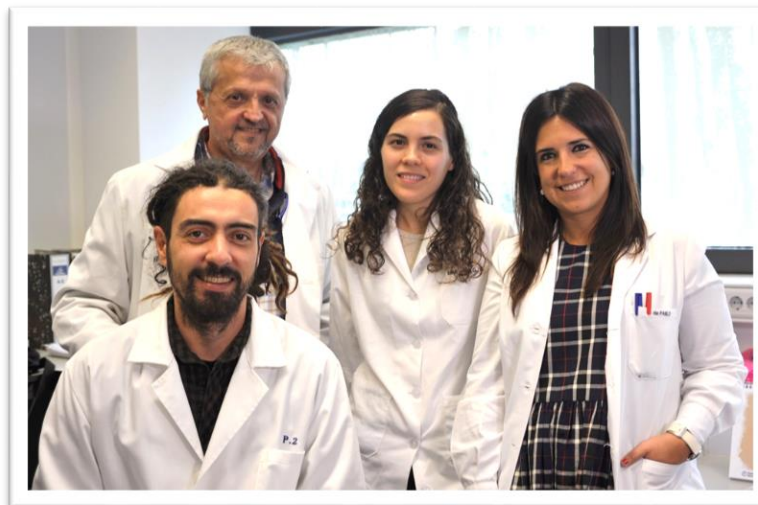
# Conclusiones

- Necesidad de estudios que evalúen la capacidad de inmunizar corderos incluso en presencia de anticuerpos maternos.
- Explorar adyuvantes y métodos de inmunización que suministren continuamente antígeno al sistema inmune, capaces de estimular la respuesta de **IFN de tipo I** así como la inmunidad de las mucosas.
- El empleo de **vacunas de ADN** o basadas en **vectores virales** parecen ser prometedoras en este sentido.
- Necesitamos valorar las vacunas atendiendo a parámetros que van más allá de la producción de anticuerpos (respuestas T, reducción en la carga del patógeno, síntomas, etc.).
- **La vacunación de corderos es posible siguiendo una estrategia adecuada.**

# Grazie...

# IdAB

Instituto de Agrobiotecnología  
Agrobioteknologiako Institutua



**Unión Europea**

Fondo Europeo Agrícola  
de Desarrollo Rural

*Europa invierte en las zonas rurales*

**Nafarroako  
Gobernua**



**Gobierno  
de Navarra**