

## EVALUACIÓN DE VACUNAS EXPERIMENTALES

Tipo de curso: teórico-práctico

**Carga horaria: 30 horas.**

Directores: Dr. Iván Marcipar - Dra. Ana Rosa Pérez

### OBJETIVOS

**Objetivo específico:** Reconocer las distintas estrategias que se utilizan en el desarrollo y evaluación de vacunas experimentales contra microorganismos.

### PROGRAMA

#### Bloque 1: Generalidades sobre Vacunas

Desarrollo teórico:

Vacunas: Su historia. Distintos tipos de vacunas. Adyuvantes. Sistemas de “*delivery*”. Bases conceptuales que fundamentan la evaluación de vacunas experimentales. Vacunas contra bacterias, virus y parásitos.

Conceptos claves de la respuesta inmune para el desarrollo de vacunas: Direccionamiento de la respuesta inmune. Especificidad de la respuesta. Armado de la respuesta. Memoria inmunológica.

Correlato de protección versus parámetros inmunológicos medibles: Marcadores mecanísticos y no mecanísticos. Los modelos biológicos de infección y enfermedad. La respuesta humoral y el correlato de protección. La respuesta celular y el correlato de protección.

#### Bloque 2: Modelos animales

Desarrollo teórico:

Los modelos animales en el desarrollo de vacunas: Concepto de modelo, manejo de los animales, consideraciones éticas. Qué modelo existe y cómo se elige en función de la vacuna que se quiere desarrollar. Parámetros que se pueden evaluar: Peso, supervivencia, evaluación de parámetros de afección de la infección como transaminasas y otros.

Diseño de ensayos: Número de grupos y animales en función de los parámetros a determinar. Posibles estrategias logística el desarrollo del ensayo. Análisis estadístico y presentación de los resultados.

Trabajo práctico en modelo animal (TP1):

TP 1: Presentación del modelo de infección murina con *T. cruzi*. Presentación de la característica de la enfermedad de Chagas y su correlato en modelos animales. Manejo de los parásitos, establecimiento de la infección, recuento de parasitemia. Obtención de tejidos, caracterización de lesiones, Determinación de carga parasitaria en tejidos. Evaluación histológica de parámetros de afección de la infección. Determinación de carga parasitaria en tejidos.

#### Bloque 3: Análisis de la respuesta celular

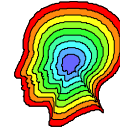
Desarrollo teórico:

Técnicas de medición de la Respuesta Celular: Medición de la DTH como respuesta celular global. Caracterización de la respuesta adaptativa celular: Cultivo primario de células inmunes. Aislamientos de células, requisitos, cuidados limitaciones. ¿Cuándo se deben obtener en el esquema de inmunización? Cinética de respuesta en cultivo e in vitro: ¿Cuándo y cómo deberían medirse las citoquinas?. ¿Qué controles deben hacerse?

Fundamentos de citometría aplicada a la evaluación de vacunas. Marcadores de las distintas poblaciones celulares. Técnicas de medición de las poblaciones. Marcadores de poblaciones. Marcadores de funcionalidad. Uso de tetrámeros como indicadores de respuesta celular específica. Evaluación funcional de la respuesta celular: Ensayos de citotoxicidad in vivo e in vitro.

Trabajos prácticos de respuesta celular (TP2-TP3):

TP 2: Obtención de esplenocitos, cultivo y estimulación Ag específica.



TP 3: Caracterización de poblaciones de LT mediante citometría de flujo: LTC y LTH. Medición de citoquinas de cultivo celular mediante ELISA.

### **Bloque 3: Análisis de la respuesta humoral**

Desarrollo teórico:

Cantidad y calidad de respuesta humoral: Técnicas para determinar niveles de anticuerpos: Ventajas y desventajas y formas de expresar y calcular la respuesta humoral utilizando distintos criterios. Cinética: Criterios de expresión: Interpretación y valor relativo de los mismos. ¿Cuándo conviene medir los anticuerpos en el esquema de inmunización? ¿Cómo evaluar la memoria inmunológica humoral? Criterios para medir la avidéz de los anticuerpos e interpretación. La evaluación de la respuesta humoral mediante el análisis de linfocitos B. Medición de isotipos y subclases de anticuerpos específicos: Significancia de distintos isotipos. Significancia de subclases: Cómo interpretar los niveles de subclases a la luz del nuevo paradigma TH1/Th2/Th17/Treg. Medición de mecanismos efectoros de la respuesta inmune humoral. Técnicas generales y fundamentos para la medición de los distintos mecanismos efectoros.

Trabajos prácticos de respuesta humoral (TP4-TP5-TP6):

TP N4: Cantidad y calidad de anticuerpos específicos: Determinación de títulos y avidéz de anticuerpos obtenidos luego de la aplicación de un esquema de inmunización.

TP 5: Isotipos y subclases: Medida de IgG1 e IgG2 en respuesta a 2 formulaciones que generan polarización IgG1 e IgG2a.

TP 6: Ensayos funcionales para la valoración de la respuesta efectora: Lisis mediada por complemento en T. cruzi. Fagocitosis mediada por anticuerpos en *S. aureus*. Neutralización: Inhibición de la internalización mediada por anticuerpos. Inhibición de la actividad hemolítica de B toxina de *S. aureus*.

### **BIBLIOGRAFÍA**

Immunity to viruses: learning from successful human vaccines. Pulendran B, y col. Immunol Rev. 2013;255(1):243-55.

How specific is too specific? B-cell responses to viral infections reveal the importance of breadth over depth. Baumgarth N. Immunol Rev. 2013;255(1):82-94.

The precursors of memory: models and controversies. Ahmed R, y co.. Nat Rev Immunol. 2009;9(9):662-8.

Animal models of viral hemorrhagic fever. Smith DR, y col. Antiviral Res. 2014, 18;112C:59-79.

The challenges and opportunities for the development of a T-cell epitope-based herpes simplex vaccine. Kuo T, y col. Vaccine. 2014;32(50):6733-6745.

Technologies for the development of West Nile virus vaccines. Ulbert S & Magnusson SE. Future Microbiol. 2014;9:1221-32.

Targeting regulatory T cells to improve vaccine immunogenicity in early life. Ndure J & Flanagan KL. Front Microbiol. 2014, 11;5:477.

Genome-based vaccine design: the promise for malaria and other infectious diseases. Doolan DL, y col. Int J Parasitol. 2014, 15;44(12):901-913.

CD8 T-cell-mediated protection against liver-stage malaria: lessons from a mouse model. Van Braeckel-Budimir N, Harty JT. Front Microbiol. 2014, 6;5:272.

Use of vaccines as probes to define disease burden. Feikin DR, Scott JA, Gessner BD. Lancet. 2014, 17;383(9930):1762-70.

Successful vaccines for naturally occurring protozoal diseases of animals should guide human vaccine research. A review of protozoal vaccines and their designs. McAllister MM. Parasitology. 2014;141(5):624-40.

Influence of the microbiota on vaccine effectiveness. Valdez Y, Brown EM, Finlay BB. Trends Immunol. 2014;35(11):526-537.

Vaccine preventable disease incidence as a complement to vaccine efficacy for setting vaccine policy. Gessner BD, Feikin DR. Vaccine. 2014;32(26):3133-8.

Science and society: vaccines and public health. Fine P. Public Health. 2014;128(8):686-92.

Laser vaccine adjuvants: History, progress, and potential. Kashiwagi S, y col. Hum Vaccin Immunother. 2014, 29;10(7).

Designing vaccines for the twenty-first century society. Finco O, Rappuoli R. Front Immunol. 2014; 23;5:12.