

Obtención de inmunidad mediante vacunas constituidas por subcomponentes antigénicos de microorganismos

J. Coll Morales

Departamento de Virología.
Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid.

INTRODUCCIÓN

La historia de la vacunación o inducción de un estado de inmunidad protectora puede resumirse así: hacia el siglo X, los chinos practicaban la inoculación de individuos sanos con exudados de pacientes con viruela. Hacia el siglo XVIII, esta arriesgada práctica se introdujo en Europa y Estados Unidos. En 1770, la vacunación de Jenner supuso un avance al utilizar una cepa atenuada en la vaca. Entre 1870 y 1880, Pasteur introdujo la atenuación de las cepas en el laboratorio. Su método sigue siendo aplicable a la mayoría de las vacunas actuales. Los avances de la ingeniería genética (DNA recombinante, 1960-1970) y de la inmunología (anticuerpos monoclonales, 1975) hicieron posible pensar en nuevas formas de vacunas que evitaran el manejo de microorganismos infecciosos vivos, utilizando subcomponentes antigénicos de los mismos¹.

Este nuevo tipo de vacunas presentan el problema de ser poco eficaces para inducir una respuesta inmunitaria. Ante este hecho, la tendencia actual se dirige, por un lado, al uso de virus o bacterias inocuas (vacuna de la viruela o *E. coli*) ma-

nipuladas genéticamente para que sinteticen los antígenos requeridos, y por otro, al desarrollo de formulaciones que incluyan adyuvantes químicamente definidos y covalentemente acoplados a subcomponentes antigénicos no replicativos².

Muchos de los estudios avanzados con vacunas compuestas por subcomponentes antigénicos no replicativos de microorganismos (glosope, por ejemplo), han señalado la necesidad de un mayor conocimiento de la respuesta inmunitaria (celular/humoral y local/sistémica) para que pueda llegar a ser eficaz este nuevo tipo de vacunas.

La importancia actual de estas nuevas estrategias en el campo de las vacunas se ha puesto de manifiesto por los numerosos congresos y reuniones internacionales que tratan de estos temas³⁻⁶. En este artículo se han revisado los principales campos de estudio que se están abordando para obtener inmunidad con el uso de vacunas constituidas por subcomponentes antigénicos (VSA), a saber: adyuvantes, respuesta humoral/celular y respuesta local/sistémica.

En la tabla I se presenta un resumen de los principales tipos de vacunas.

TABLA I Tipos de vacunas

Antígeno	Método	Capacidad replicativa del antígeno
Bacteria viva (atenuada)	Pasaje por otros animales	Sí
	Mutantes clásicos	Sí
	Atenuación por ingeniería genética	Sí
Bacteria muerta (inactivada)	Físicamente	No
Proteínas	Químicamente	No
	Extracción	No
Lipopolisacáridos	Proteínas clonadas (SA)	No
	Extracción	No
Péptidos	Proteólisis de proteínas (SA)	No
	Sintéticos (SA)	No
Antidiotipo	Anticuerpos monoclonales	No
Híbridos vivos	Viruela híbrida	Sí
	<i>E. coli</i> híbrida (excretando proteínas clonadas)	Sí

El uso de bacterias muertas y la introducción de la ingeniería genética han permitido ensayar tipos de métodos basados en la obtención y aplicación de una parte del agente infeccioso. Estos métodos tienen la ventaja de no manipular el agente infeccioso; sin embargo al no replicarse éste en el animal inoculado, la protección no es, en general, tan buena como cuando se emplean agentes autorreplicativos. El uso de nuevos tipos de adyuvantes para antígenos no autorreplicativos y de híbridos vivos que lleven en su genoma la parte del agente infeccioso capaz de inducir neutralización, son los dos aspectos de la investigación actual donde se centra el desarrollo de las nuevas vacunas.

SA: subcomponentes antigénicos.

Correspondencia: J. Coll Morales.
Francisco Santos, 8. 28028 Madrid.

ADYUVANTES

Los subcomponentes antigenicos de organismos infecciosos, para su utilizacion como vacunas, tienen que ser inmunopotenciados mediante su incorporacion a una determinada formulacion. Conceptualmente los componentes (o mejor los efectos o funciones de los componentes) de una formulacion no intravenosa, pueden agruparse en *a)* subcomponentes antigenicos del microorganismo, su origen, secuencia, conformacion, determinantes, etc, *b)* transportador, compuesto de alto peso molecular (proteina, peptidos sinteticos) al que se liga covalentemente la subunidad y se supone por definicion que es inmunogenica mente inerte, *c)* inmunoestimulantes, aditivos que estimulan la respuesta inmunitaria, que pueden ser inespecificos (polisacaridos de paredes bacterianas, muramildipeptido, interferon, etc) o especificos (IgM especifica, lipidos ligados covalentemente, etc), *d)* controladores de difusion (*slow release*), aditivos que hacen que la subunidad se vaya difundiendo poco a poco desde el sitio de inyeccion, y son, por ejemplo, aceites minerales, sales de aluminio, lipidos ligados covalentemente, liposomas, etc, y *e)* aditivos, como el glicerol, antibioticos, etc, que actuan como estabilizadores y preservativos. La vacuna ha de conservar se esteril.

En esta nomenclatura es aceptada por todos los autores ni sus limites son nitidos, pues muy a menudo un mismo aditivo podra catalogarse en 2 o 3 de estos grupos por ser a la vez transportador, inmunoestimulante y controlador de difusion. Es por ello que aunque tal division resulta util para la investigacion, se habla muy a menudo de adyuvantes incluyendo todos estos conceptos (fig 1).

Entre los adyuvantes clasicos estan las paredes bacterianas (sobre todo de micobacterias), los aceites minerales (Marcol, Drakeol, Montanide) y algunas sales minerales que son capaces de formar geles en los que se absorben los subcomponentes antigenicos (hidroxidos de aluminio).

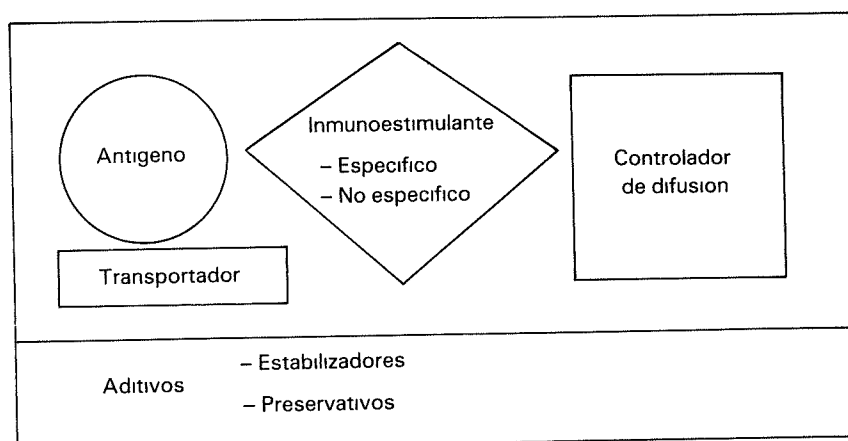


Fig 1 Influencia de varios adyuvantes en la respuesta inmunitaria del conejo a gammaglobulinas. La gammaglobulina se inyecta intramuscularmente en solucion salina adsorbida en alumina o mezclada en adyuvante completo de Freund.

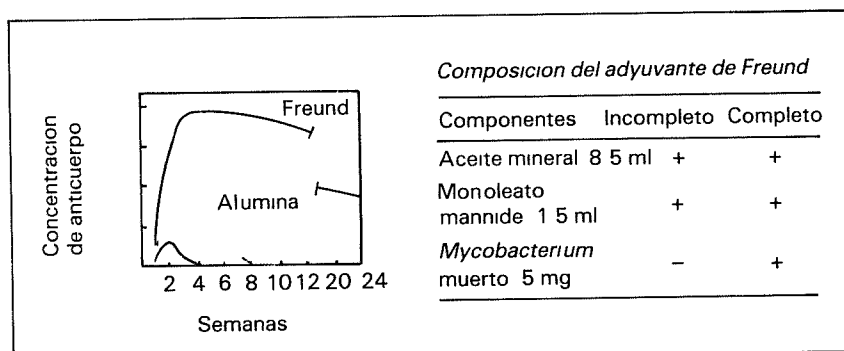


Fig 2 Formulacion de una vacuna constituida por subcomponentes antigenicos ademas del subcomponente antigenico (antígeno) incluye tambien transportador, inmunoestimulante, controlador de difusion y aditivos. La clasificacion se utiliza con distintos sentidos por diversos autores y sus limites no son nitidos. Asi puede haber controladores de difusion (*slow release*) que son a la vez inmunoestimulantes y transportadores.

Para experimentacion en el laboratorio el adyuvante mas comunmente usado es el completo de Freund, que contiene micobacterias muertas dispersadas en una emulsion de agua y acete mineral. Este provoca una respuesta alta y duradera, sin embargo, no puede utilizarse en seres humanos debido a que induce reacciones locales por metabolismo lento del acete mineral e inflamacion causada por la micobacteria. La investigacion actual se centra en reemplazar el acete mineral por mezclas metabolizables o las micobacterias muertas por otros materiales. La estructura minima con actividad de adyuvante que puede substituir a la micobacte-

ria completa es el n-acetil muramilo-L-alanil-D-isoglutamina, o MDP, muramildipeptido². Ahora bien, los metodos actuales de obtencion del MDP son de un coste excesivo. El MDP es un adyuvante activo cuando se administra en medio acuoso e incluso oralmente.

El efecto de algunos adyuvantes clasicos sobre la respuesta inmunitaria se ilustra en la figura 2. Tanto la maxima concentracion de anticuerpo en suero como su duracion se ven afectadas. En la figura 2 se compara la induccion de anticuerpos despues de la inyeccion de una proteina sola, absorbida a la alumina o mezclada con adyuvante completo de Freund. En el primer caso

TABLA II Parámetros de algunos adyuvantes desarrollados recientemente

Adyuvantes descritos	Coste	Incrementos de respuesta respecto al adyuvante de Freund		
		Títulos en suero	Duración máxima del título	Protección
IgM específica ⁷	Muy alto	2	?	No
Iscom ⁸	Alto	10	?	?
MDP Covalente ⁹	Muy alto	2	?	100
FA-covalentes ¹⁰	Bajo	5	?	?
Liposomas ¹¹	Bajo	20	?	?
Polímeros ¹³	Medio	20	5	?
Anticuerpos anti-MHC clase II ¹⁴	Muy alto	1	?	?

* Valor de los incrementos respecto a las respuestas conseguidas con adyuvantes de Freund. MDP: muramil-dipéptido; FA: ácido graso; MHC-clase II, moléculas de clase II de complejo principal de histocompatibilidad.

no hay adyuvante y ello produce una respuesta inmunitaria muy baja. En el segundo caso existe un adyuvante, la alúmina, que por un lado actúa como inmunoestimulante (acción irritante que atrae macrófagos y linfocitos al lugar de la inyección) y por otro actúa como controlador de difusión, haciendo que el antígeno se vaya desabsorbiendo poco a poco. La respuesta inmunitaria es mayor que en el primer caso. Por último, usando adyuvante completo de Freund se obtiene al mismo tiempo efecto irritante (aceite mineral), inmunoestimulación (monooleato mannide y paredes del *Mycobacterium*) y control de difusión por las micelas lípido-proteína que se forman. Es la forma de obtener la mejor respuesta. Brevemente repasaremos los nuevos adyuvantes estudiados (tabla II).

Harte et al⁷ demuestra que la adición de anti-IgM monoclonal y específico a una vacuna antimalárica en ratón actúa como un adyuvante en la transferencia de inmunidad madre-hijo, incrementando unas 10 veces el título IgG en suero y dando protección a la infección. Este efecto también se ha comprobado utilizando anti-IgM policlonal. En adultos, el incremento de título de IgG es de unas 2 veces. El mecanismo de actuación de la IgM se pretende explicar a través de interacciones idiota-antidiotipo.

Morein et al⁸ describen un complejo inmunoestimulante, denomina-

do Iscom, en el cual las proteínas de los virus de parainfluenza, sarampión y rabia se mezclan con la saponina o glucósido Quil A (extraído de *Quillaja saponaria*) formando micelas de un tamaño similar a los virus. Estas estructuras son capaces de inducir 10 veces más respuesta de IgG que las proteínas solas en ratones. Este adyuvante parece actuar a través de los macrófagos.

Arnon et al⁹ estudian el efecto adyuvante del MDP sobre la inmunogenicidad de un péptido de un colifago. La inducción de anticuerpos neutralizantes en conejos se duplica respecto al adyuvante completo de Freund si el MDP se añade o mejor se liga covalentemente con el péptido. En experimentos de protección en ratones se demostró que utilizando MDP unido covalentemente a poli-D-L Ala se aumentaba 100-1.000 veces la capacidad del MDP para proteger a los ratones contra infecciones bacterianas (incremento inespecífico). La capacidad del conjugado MDP-péptido de aumentar la resistencia contra la infección era también más de 100 veces mayor que la de MDP solo. Este adyuvante parece ser un estimulante inespecífico de la respuesta inmunitaria actuando sobre linfocito-macrófago.

Hopp¹⁰ demuestra un aumento entre 4 y 6 veces de la respuesta humoral a un péptido del antígeno de superficie de la hepatitis B me-

dante conjugación con dipalmitil-lisina. Las mejores respuestas anti-BSA en suero se obtuvieron con ácidos grasos entre 10 y 14 carbonos. Se desconoce cómo actúa este adyuvante.

Wilson y Cave¹¹, en una revisión sobre liposomas, describen su uso junto a MDP para aumentar de 10 a 30 veces la respuesta antiinfecciosa de algunas vacunas. Allison y Gregoriadis¹² reportan un aumento en el nivel de anticuerpos antitoxina de difteria de 3 a 6 veces utilizando liposomas negativos frente a toxina libre o a liposomas positivos. Este adyuvante parece actuar a través de los macrófagos.

Langer¹³ estudia polímeros para controlar la difusión de los antígenos inyectados. Insertando subcutáneamente en el ratón preparados de acetato de etilvinilo conteniendo albúmina se conseguía un nivel de 20 veces más anticuerpos que con una inyección en adyuvante completo de Freund. El nivel de anticuerpo duró unos 6 meses. Este adyuvante es simplemente un controlador de difusión del antígeno.

Muy recientemente, Carayanniotis y Barber¹⁴ emplean anticuerpos monoclonales antiantígeno de histocompatibilidad clase II covalentemente acoplados a proteínas para obtener una respuesta inmunológica similar a la obtenida con adyuvante completo de Freund. Sólo los ratones de la clase II utilizada para preparar el anticuerpo monoclonal eran capaces de responder. Mientras que ésta es una estrategia prometedora y original, su uso práctico deberá aguardar el desarrollo de anticuerpos de especificidad más general, que dirijan los determinantes antigénicos extraños a la superficie de los componentes celulares del sistema inmunitario de cualquier individuo.

La utilización de nuevos compuestos naturales o sintéticos como adyuvantes se reporta con frecuencia en congresos y revistas científicas, aunque a menudo sin resultados excesivamente claros o evidencia experimental. Ejemplos de estos casos son el uso de quitina y sus derivados¹⁵, enlace covalente a polielectrólitos sintéticos¹⁶ y el uso de

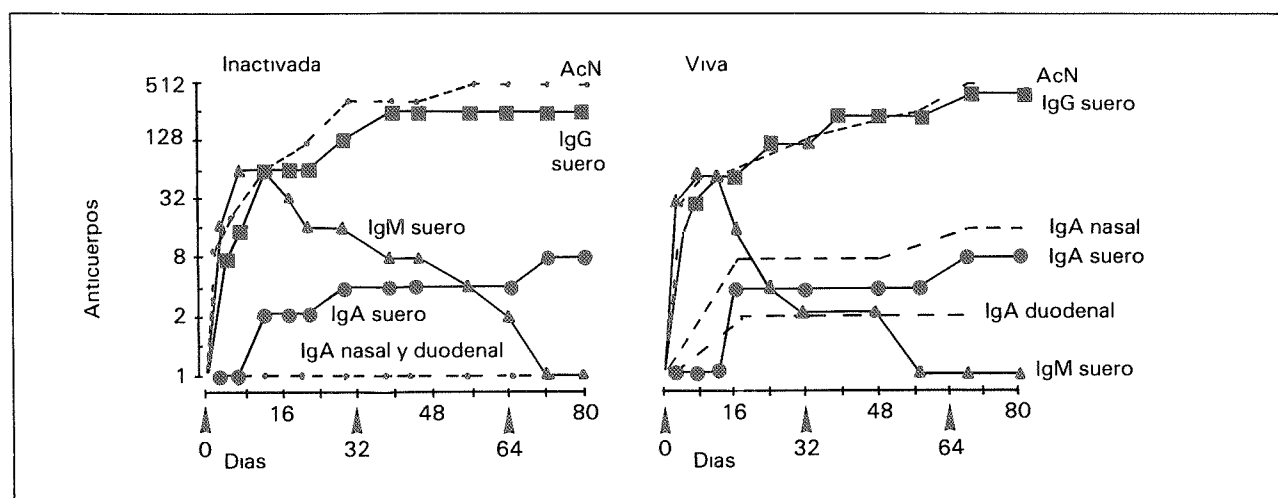


Fig 3 Importancia de la inmunidad local externa (nasal y duodenal) en la protección a una infección. Ejemplo comparación de respuestas a vacunas inactivadas y vivas contra la poliomielitis humana. Las flechas indican las dosis administradas. Los niveles de anticuerpos neutralizantes IgG, IgM y IgA son medidos en el suero. La infección con virus vivo atenuado induce la formación de IgA secretora (nasal y duodenal) mientras que la inyección de una vacuna muerta no. La protección por vacunas vivas es mucho mayor que por vacunas muertas. AcN: anticuerpos neutralizantes.

inductores de síntesis de interferón¹⁷.

La investigación actual tiende a diseñar una vacuna completamente sintética con adyuvancia incorporada y unida covalentemente a los subcomponentes antígenicos. El gran número de variables que intervienen en estos procesos hace que exista una gran irreproducibilidad de resultados y que el avance en este campo sea muy lento.

RESPUESTA LOCAL/SISTÉMICA

Una característica general de los resultados obtenidos con el empleo de VSA es su pequeño porcentaje de resistencias a la infección natural, en comparación con las obtenidas con las vacunas clásicas vivas atenuadas o incluso con las vacunas muertas^{2,5}. Una baja estimulación de la respuesta inmunitaria local puede ser la causa de que los individuos inmunizados con VSA tengan poca resistencia contra la infección natural, incluso aunque esa misma vacuna pueda inducir una vigorosa respuesta inmunitaria sistémica.

Puesto que los individuos que se recuperan de una infección natural resisten la reinfección, puede pensarse que algún componente de la

respuesta inmunitaria no estimulado con vacunas muertas (no replicativas) debe ser el que confiere protección. La inmunidad sistémica da protección efectiva una vez avanzada la infección cuando hay una invasión completa.

La importancia de estimular la respuesta inmunitaria local para dar protección al sitio de entrada (tracto alimentario, tracto respiratorio, mucosas, etc.) de microorganismos que o bien se extienden luego sistémicamente o bien permanecen locales es importante no solo para proteger contra la infección individual, sino porque esta forma de protección puede ser de mayor beneficio para el conjunto de la población al evitar más eficazmente la transmisión horizontal.

Para una adecuada protección local hay que estudiar la aparición de anticuerpos neutralizantes en los líquidos corporales adecuados (saliva, leche, etc.) y no solamente limitarse a estudiar el suero y sus IgM, IgG, sino también y principalmente los líquidos de mucosas y los anticuerpos IgA, presentes en ellos.

Así como la inmunidad humoral en el suero se caracteriza por la presencia de IgG e IgM, la inmunidad en las mucosas se caracteriza por la presencia de la IgA o inmuno-

globulinas secretoras. Las cifras más altas de IgA se dan en el calostro, lo que parece implicar a la IgA en la transferencia de la inmunidad de madre a hijo. Generalmente la concentración de IgA en secreciones nasales, saliva o lágrimas es al menos de 2 a 3 veces mayor que en el suero¹⁸.

Entre los pocos estudios que existen sobre la posible importancia de la inmunidad local en la protección a la infección, sobresale por su clara evidencia experimental la clásica experiencia de comparación entre respuestas humorales a la vacuna inactivada o viva de la poliomielitis (Parke, Davis and Co Polio Vaccine, 1967). La figura 3 reproduce las secuencias de aparición de las inmunoglobulinas séricas sistémicas (IgG e IgM) y de las inmunoglobulinas secretoras locales (IgA) en ambos tipos de vacuna. Mientras que los niveles de las inmunoglobulinas séricas se comportan similarmente en ambos casos, las inmunoglobulinas secretoras solo aparecen en cantidad cuando se usa la vacuna viva. Por otra parte, es bien conocida la mayor protección de las vacunas vivas de poliomielitis respecto a las muertas o por subunidades. Aunque no existe una relación causa/efecto demostrada, estos resul-

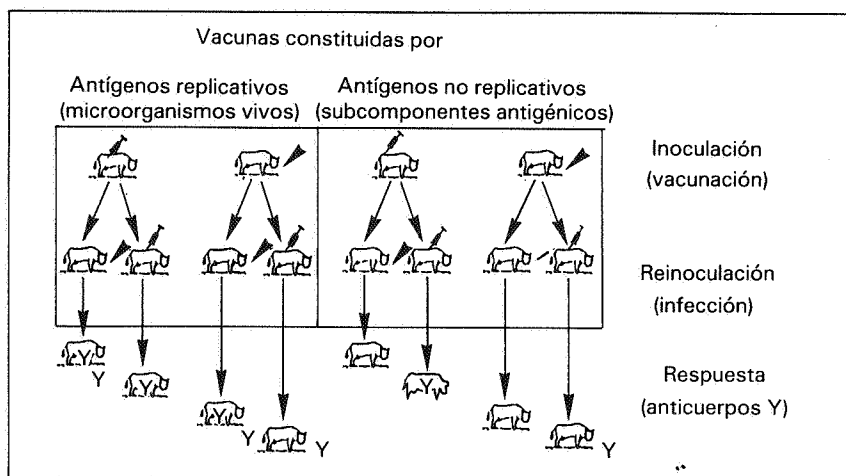


Fig. 4. Esquema del efecto de las rutas de inoculación/reinoculación de antígenos replicativos (virus y bacterias) y no replicativos (proteínas) sobre la producción de anticuerpos en la mucosa o en la sangre. La flecha indica inoculación por vía oral y la jeringuilla inoculación parenteral. La Y dentro del animal indica anticuerpos circulantes y la Y fuera del animal, anticuerpos en la mucosa.

tados hacen pensar que bien podría existir una relación entre la protección a la enfermedad y la capacidad de inducción de inmunoglobulinas secretoras¹⁸.

Para estudiar los efectos de las vacunaciones sobre la protección a las infecciones, se utilizan modelos de inoculación y reinoculación, respectivamente, que tratan de reproducir las condiciones naturales en el laboratorio.

Existen pocos estudios sobre los efectos de las rutas de inoculación/reinoculación de antígenos sobre la producción de anticuerpos en la mucosa/suero. No obstante los pocos datos que existen pueden combinarse para dar una idea provisional e hipotética, de conjunto, del problema. En la figura 4 se han esquematizado los datos recogidos de diversos autores²⁻⁵ sobre el efecto de las rutas de inoculación (vacunación) y reinoculación (infección) en la respuesta cualitativa a la reinoculación con antígenos replicativos (vacunas vivas) y proteínas o subcomponentes antigénicos. Aunque los datos no son definitivos, puede llegarse a las siguientes conclusiones: a) la respuesta de anticuerpos es positiva simultáneamente en mucosa y en suero sólo cuando al menos una de las rutas es oral y sólo con antígenos replicativos; b) con antígenos no

replicativos sólo se producen anticuerpos en el caso de reinoculación sistémica, y c) si ambas rutas son sistémicas no se obtiene respuesta de anticuerpos en la mucosa.

Puesto que las infecciones comienzan localmente por las mucosas y se extienden luego sistémicamente, es lógico suponer que una vacuna efectiva debería ser capaz de inducir anticuerpos tanto local como sistémicamente. Sin embargo, parece ser que la inoculación de péptidos o proteínas por vía local sólo produce anticuerpos en el caso de reinoculación sistémica, lo que no va a suceder por infección natural en la mayoría de los casos. Por lo tanto, el problema de estas vacunas por subunidades no replicativas se concreta en la formulación de aditivos¹⁹ y/o rutas de inoculación¹⁸ que permitan la protección contra una reinoculación local y, para mayor seguridad, contra una posterior extensión sistémica. El hecho de que (fig. 4) experimentalmente con antígenos no replicativos y reinoculación local no se obtengan respuestas inmunitarias en ninguno de los casos estudiados pone de manifiesto la magnitud del problema con el que nos enfrentamos.

Un caso especial en cuanto a ruta de inoculación de vacunas ocurre en animales acuáticos (trucha, sal-

món). La imposibilidad de una inoculación animal por animal a efectos prácticos y el medio acuático en el que viven estos animales, han hecho desarrollar métodos de inoculación en masa^{20,21}. La ruta de inoculación es el epitelio branquial, a veces sometiendo a los animales a cambios osmóticos. Junto con el flujo de agua a través de las branquias penetran también los antígenos presentes en el medio. Se han comprobado protecciones a la infección con estos métodos, aunque en su mayoría aún están en fase de experimentación²².

RESPUESTA HUMORAL/CELULAR

El efecto de protección a la infección que se busca con una vacuna no siempre se correlaciona con un nivel adecuado de anticuerpos inducidos, bien porque no es condición necesaria o porque no sólo interviene la inmunidad humoral, sino la celular.

La contribución relativa entre la inmunidad humoral y la inmunidad celular es desconocida. Tampoco se conoce si los determinantes antigénicos (epitopos) que inducen la inmunidad humoral son los mismos que los que inducen la inmunidad celular.

Debido a que la respuesta inmunitaria a muchas infecciones provoca respuestas a numerosos antígenos distintos, la identificación de antígenos inductores de inmunidad protectora sería deseable. La protección puede deberse a anticuerpos y/o a células, siendo distinta en cada caso la memoria o duración de la protección. Parece ser que la inmunidad celular participa de la protección mayoritariamente en el caso de microorganismos enteros comparados con antígenos purificados, pero todos estos procesos no están sistemáticamente estudiados. Para una mayor complicación, existen problemas particulares con parásitos que cambian sus antígenos de superficie entre infecciones (gripe, glosopeda) o bien en el curso de una misma infección (tripanomas); también los hay que infectan a las propias células del sistema in-

munitario neutralizando así las defensas del huésped (peste porcina, virus del SIDA, etc.).

El desarrollo de formulaciones con adyuvantes capaces de inducir inmunidad mediada por células no ha hecho sino empezar^{23, 24}. Según estos experimentos preliminares parece ser que las contribuciones relativas entre inmunidad humoral y celular se pueden controlar mediante la utilización de adyuvantes. Además para ser efectiva una vacuna no sólo debe inducir respuestas primarias, sino también memoria en ambas poblaciones de linfocitos B y T, y en este proceso también intervendrían los adyuvantes. La información acerca de estos fenómenos no está bien estudiada todavía.

En general, los linfocitos T cooperadores que interaccionan con los determinantes antigénicos (epítopos) capaces de inducir respuestas protectoras no reconocen la proteína antigénica nativa sino sólo un fragmento de la misma después de haber sido "procesada" y degradada, y siempre que se presente asociado a las moléculas de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad^{25, 26}. Sólo muy recientemente, en 1987²⁷ se ha comenzado a describir un análisis detallado de la interacción de un péptido inmunogénico con moléculas de clase II del MHC de ratón. Según estos primeros resultados las moléculas de clase II de los macrófagos interaccionan sólo con unos pocos residuos del péptido inmunogénico, cambiando su conformación de tal manera que puedan interaccionar a su vez con el receptor de antígeno de las células T. Estos resultados son una muestra de que queda mucho para llegar a comprender en detalle cómo se genera una respuesta inmunitaria, ya sea humoral o celular. Mientras estos mecanismos básicos no se conozcan, el avance en la utilización de VSA deberá esperar.

CONCLUSIONES

Uno de los principales problemas de las VSA es su baja inmunogenicidad. Uno de los principales objetivos de la investigación actual es, por lo tanto, cómo estimular la res-

puesta inmunitaria (tanto el nivel de anticuerpos sistémico y local como su duración y/o la respuesta celular) a un nivel suficiente para asegurar la protección contra la infección. Este problema es general también para el campo de las vacunas muertas y su actualidad está demostrada por el número de congresos últimamente dedicados a este tema, así como las recientes comunicaciones que aparecen en revistas especializadas.

Desgraciadamente, los experimentos definitivos en este campo han cambiado poco desde Pasteur, como las pruebas de protección o *challenge*. Estas pruebas utilizan la resistencia a la infección de animales de experimentación previamente inoculados con la supuesta vacuna. La vacuna adecuada para el antígeno/animal concreto es, hasta ahora, un problema de prueba-error que hay que optimizar en cada caso.

Con el progreso de la investigación es de esperar que esta situación vaya dejando paso a estrategias más racionales a medida que vayamos entendiendo los procesos mediante los que se comienza una infección y los que se siguen para elaborar una respuesta inmunitaria neutralizante en el huésped.

El estudio inmunológico de los animales que han resistido naturalmente una infección en comparación con aquellos que no la resistieron puede ser un modelo que ofrezca la posibilidad de identificar las respuestas inmunitarias exitosas. Se podría así profundizar en los mecanismos que hacen funcionar a una vacuna.

Si la idea de la VSA consigue tener éxito, sus ventajas serían numerosas. Así, se podrían fabricar vacunas multivalentes contra varios gérmenes de estructura y acciones distintas mediante la síntesis de péptidos que engloben los determinantes antigénicos implicados en el desarrollo de respuestas inmunitarias protectoras o neutralizantes contra gérmenes. Se podría también construir adyuvantes incorporados covalentemente a los subcomponentes antigénicos que contengan propiedades para interaccionar

adecuadamente con las moléculas del MHC de cada individuo, o mejor, de cada especie de forma que permitiera maximizar la inducción de la respuesta inmunitaria.

Quedaría por demostrar la posibilidad de producción de péptidos para cada patógeno, así como la economía de la síntesis química comparada con la ingeniería genética y la utilidad práctica de estos procesos comparada con la tradicional.

Bibliografía

1. Alonso CB, Coll JM, Herranz EL. La ingeniería genética en la biotecnología, 2.º Cuaderno CDTI n.º 4. Madrid, 1981.
2. Nervig RM, Gough PM, Kaeberle MZ, Whetstone CA. Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics. Iowa, Iowa St. University Press, 1986.
3. Chanock RM, Lerner RA. Modern approaches to vaccines. Molecular and chemical basis of virus virulence and immunogenicity. Nueva York, Cold Spring Harbour Laboratory, 1984.
4. Lerner RA, Chanock RM, Brown F. Vaccines 85: molecular and chemical basis of resistance to parasitic, bacterial and viral diseases. Nueva York, Cold Spring Harbour Laboratory, 1985.
5. Laver WG, Air GM. Immune recognition of protein antigens. Current communications in molecular biology. Nueva York, Cold Spring Harbour Laboratory, 1985.
6. Brown F, Chanock RM, Lerner RA. Vaccines 86: new approaches to immunization. Nueva York, Cold Spring Harbour Laboratory, 1986.
7. Harte PG, Cooke A, Playfair JHL. Specific monoclonal IgM is a potent adjuvant in murine malaria vaccination. Nature 1983; 302:256-258.
8. Morein B, Sundquist B, Hoglund S, Dalsgaard K, Osterhans A. Iscom a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. Nature 1984; 308:457-460.
9. Arnon R, Sela M, Parant M, Chedid L. Antiviral response elicited by a completely synthetic antigen with built-in adjuvanticity. Proc Natl Acad Sci USA 1980; 77:6.769-6.772.
10. Hopp TP. Immunogenicity of a synthetic HBsAg peptide: enhancement by conjugation to a fatty acid carrier. Mol Immunol 1984; 21:13-16.
11. Wilson T, Cave L. New commercial opportunities for liposomes emerge. Biotechnology 1983; abril: 149-154.

12. Allison AC, Gregoriadis G. Liposomes as immunological adjuvants. *Nature* 1974; 252:252-254.
13. Langer R. Polymeric delivery systems for controlled drug release. Industrial Liason Program of MIT 1980; 7-29.
14. Carayanniotis G, Barber BH. Adjuvant-free IgG responses induced with antigen coupled to antibodies against class II MHC. *Nature* 1987; 327:59-61.
15. Nishimura K, Nishimura S, Nishi N et al. Adjuvant activity of chitin derivatives in mice and guinea pigs. *Vaccine* 1985; 3:379-384.
16. Petrov RV, Khaitov RM, Zhdanov VM et al. Influenza virus antigens conjugated with a synthetic polyelectrolyte: a novel model of vaccines. *Vaccine* 1985; 3:392-400.
17. Jensen KE. Synthetic adjuvants: avridine and other interferon inducers. En: Nerving RM et al, ed. *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa, Iowa St. University Press, 1986; 79-80.
18. Moon HW. Mucosal immunity and the disease process. En: Nerving RM et al, ed. *Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics*. Iowa, Iowa St. University Press, 1986; 25-49.
19. Stark JM, Locke J, Heatley RV. Immunogenicity of lipid-conjugated antigens. 1. The influence of chain length and degree of conjugation on induction of antibody in mice. *Immunology* 1980; 39:345-352.
20. Coll J. *Acuicultura marina animal*, 2.^a ed. Madrid, Mundi Prensa, 1983.
21. Coll J. *Cría del cangrejo de río*. Barcelona, Hispano Europea, 1987.
22. Austin B. The future of bacterial fish vaccines. *Vaccine* 1984; 2:249-254.
23. Allison A, Byars NE. An adjuvant formulation that selectively elicits the formation of antibodies of protective isotypes and cell-mediated immunity. *J Immunol Methods* 1986; 95:157-168.
24. Silverman DHS, Krueger JM, Karnowsky ML. Specific binding sites for muramyl peptides on murine macrophages. *J Immunol* 1986; 136:2:195-2:201.
25. Babbitt BP, Allen PM, Matsueda G, Haber E, Unanue ER. Binding of immunogenic peptides to Ia histocompatibility molecules. *Nature* 1985; 317:359-360.
26. Allen PM, Matsueda GR, Evans RJ, Dunbar JB, Marshall GR, Unanue ER. Identification of the T-cell and Ia contact residues of a T-cell antigenic epitope. *Nature* 1987; 327:713-715.
27. Sette A, Buus S, Colon S, Smith JA, Miles C, Grey HM. Structural characteristics of an antigen required for its interaction with Ia and recognition by T-cells. *Nature* 1987; 328:395-399.