



# RECURSOS NATURALES Y SOCIEDAD

REVISTA DIGITAL DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA



CENTRO DE INVESTIGACIONES  
BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S. C.



# Plantas como biofábricas de vacunas orales para animales

Plants as biofactories of oral vaccines for animals

**Resumen:** La producción de vacunas recombinantes en plantas inició hace casi 25 años con la producción de una vacuna proteica contra el virus de Newcastle para la industria avícola (Curtis y Cardineau, 1991).

La patente se consiguió en 2006 en los Estados Unidos de Norteamérica. Inicialmente, el concepto se probó en plantas pero posteriormente se extendió a las microalgas hace poco más de 10 años. En la actualidad, el CIBNOR desarrolla vacunas experimentales en plantas y microalgas marinas que puedan ser administradas vía oral y con el objetivo de contribuir a la salud de los animales de importancia en la producción de alimentos para el consumo humano. Durante 5 años de investigación

*Recursos Naturales y Sociedad*, 2016. Vol. 2 (1): 22-35.  
DOI:10.18242/RENAYSOC.2016.02.02.01.0003

Carlos Angulo<sup>1</sup>, Perla Carlos<sup>2</sup>, Beatriz Meza<sup>2</sup>, Cristhian Sánchez<sup>2</sup>, Rodrigo Celis<sup>2</sup>, Crystal Guluarte<sup>2</sup>, Silvia Martínez<sup>2</sup>, Raziél Sosa<sup>2</sup>, Abel Ramos<sup>2</sup>, Lizeth Valladares<sup>2</sup>, Ricardo Hernández<sup>2</sup>, Alejandro Dibene<sup>2</sup>, Sergio Barrera<sup>2</sup>, Ricardo del Tejo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Investigador, SNI nivel I, Grupo de Inmunología & Vacunología. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.

<sup>2</sup>Estudiantes que han contribuido en el desarrollo de vacunas en el CIBNOR, Grupo de Inmunología & Vacunología.



se ha logrado producir la primera vacuna oral contra la enfermedad paratuberculosis del ganado en plantas de alfalfa, aunque aún es necesario evaluarla en vacas, ovejas o cabras. El mismo concepto se ha explorado en las microalgas de nombre *Chlamydomonas* (dulceacuícola) y *Schizochytrium* (marina), y recientemente en la microalga marina *Phaeodactylum*. Sin embargo, en la presente revisión se expondrán los avances sobre el desarrollo de las vacunas comestibles producidas en plantas, lo que se le llama en el lenguaje científico “la frontera del conocimiento”, la contribución que está realizando el CIBNOR en el tema, y se ofrecerá una perspectiva de lo que probablemente contribuiremos en los próximos 5 a 10 años.

**Palabras clave:** Vacunas en plantas; inmunización de las mucosas; plantas como vehículos de administración oral; salud animal; seguridad alimentaria.

### Abstract

The first recombinant vaccine production began 25 years ago starting with a protein vaccine against the Newcastle virus affecting poultry industry (Curtis y Cardineau, 1991). In 2006, a patent was obtained in the United States of America. At the beginning, this concept was tested in plants, but it was extended to microalgae 10 years ago. Currently, CIBNOR develops experimental vaccines in plants and marine microalgae that can be administered orally with the objective of contributing to health of farming animals relevant in food production for human consumption. During the last 5 years of research, we have produced the first vaccine in alfalfa plants against paratuberculosis (Johnes disease) in livestock although it still needs to be assessed in cattle, sheep or goats. The same concept has been explored in

the microalgae *Chlamydomonas* (freshwater) and *Schizochytrium* (marine), and recently in the marine microalgae *Phaeodactylum*. In this review, however, we will set out recent advances on edible plant-based vaccine, which in scientific language is known as border line of knowledge, the contribution of CIBNOR in this research field, and a perspective of our potential contribution in the following 5 to 10 years.

**Key words:** Plant-based vaccines; mucosal immunization; plants as oral delivery vehicles; animal health; food security.

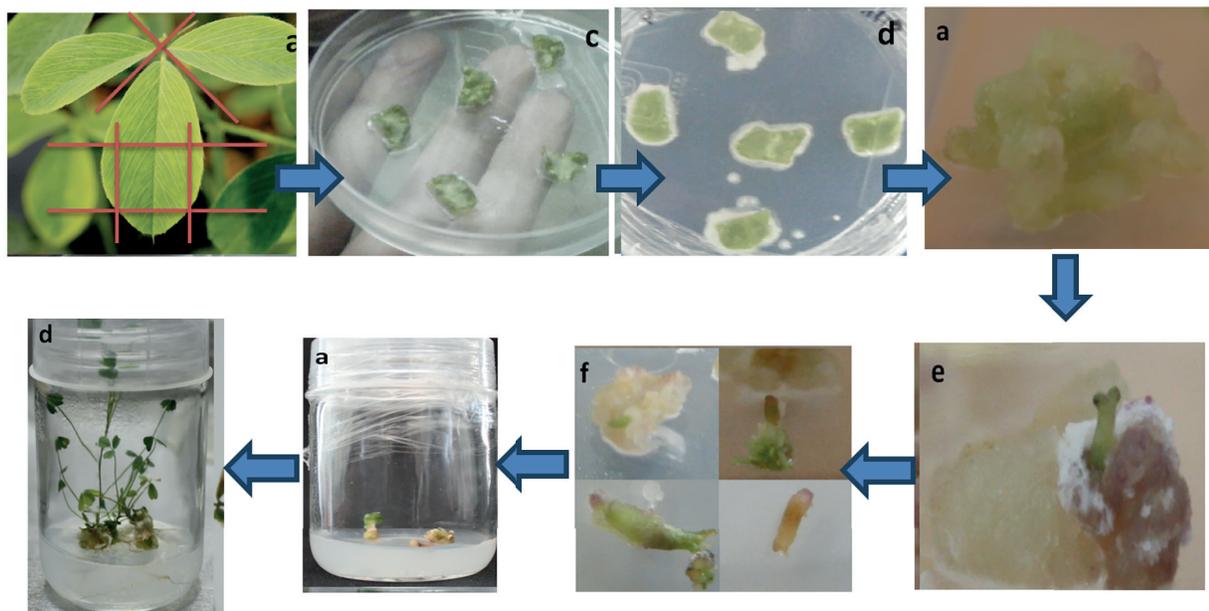
### Antecedentes

El concepto original fue la producción de vacunas orales como una estrategia de fácil administración, libre del uso de jeringas e indolora porque sería consumida, barata porque se evitaría los costos de purificación de la vacuna y de personal especializado para su aplicación, y además se evitaría la famosa “cadena de frío” cuyo fin es mantener a la vacuna a 4°C para evitar que se inactive

y cuyo costo llega a representar hasta el 90-95% del costo total de una vacuna. Lo anterior es particularmente relevante para los países en desarrollo y los más pobres cuyo acceso a los servicios de salud y electricidad son escasos. Un atractivo adicional que se ha resaltado es el hecho de que las plantas y las microalgas no poseen patógenos que infecten al humano,

los estudios realizados con vacunas orales producidas en plantas y microalgas se han centrado en modelos de ratón, y sobre todo, con enfoque biomédico para su uso en humanos. Algunos ejemplos incluso han llegado a pruebas en humanos y, aunque no se tiene una vacuna autorizada aún, ya se comercializa una enzima producida en células de zanahoria (Shaaltiel

como especies afectivas, silvestres y de importancia en la producción de alimentos, es menos estricta. Dado que el CIBNOR posee un programa académico orientado a la producción agropecuaria sustentable en zonas áridas, el quehacer en este tema de vacunas está orientado a resolver problemas de salud de los animales de importancia en la producción



Protocolo de transformación de alfalfa (*Medicago sativa* L.) mediada por *Agrobacterium tumefaciens* como sistema de producción de vacunas de *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. En esta figura se muestra paso a paso el proceso de transformación i regeneración: (a) explantes foliares de alfalfa en cortes de 0.5 cm<sup>2</sup>, (b y c) inoculación y co-cultivo de explantes con la bacteria *A. tumefaciens* encargada de transmitir el material genético que contiene el gen de la vacuna, (d) proceso de indiferenciación y formación de callos, (e y f) formación y aislamiento de embriones transgénicos, (g) proceso de diferenciación y regeneración de alfalfa, y (h) planta de alfalfa produciendo la vacuna.

mientras que las vacunas que se producen en células de animales y de insectos tienen el riesgo de contaminación con patógenos y por lo tanto se deben someter a una validación estricta de este aspecto. Hasta el momento, la mayoría de

et al., 2015). Notablemente, las regulaciones para la producción de vacunas en organismos como plantas y microalgas para su aplicación en humanos es rigurosa. En cambio, su potencial uso en animales de interés veterinario,

de alimentos para el consumo humano. Las vacunas orales generadas, como todas las vacunas que se producen en plantas y microalgas, son a base de componentes del patógeno (virus, bacteria o

parásito) llamadas proteínas. Los humanos también tenemos un gran número de proteínas en todo el cuerpo, pero curiosamente nuestro cuerpo detecta como componentes extraños a las proteínas de los patógenos que nos enferman. Lo mismo sucede en los animales.

Entonces, la base de las vacunas producidas en plantas y microalgas son proteínas del patógeno contra el que queremos proteger,



las cuales inducen mecanismos del sistema inmunológico que protegen contra el agente infeccioso. En la arena de vacunas para animales, varios patógenos infecciosos de importancia económica han llamado la atención para desarrollar vacunas a base de plantas y microalgas. De todas ellas, a continuación se describirán las plantas que se han utilizado para la producción y entrega oral de vacunas para su uso en animales.

## Vacunas contra enfermedades causadas por virus.

Como se mencionó anteriormente, el concepto de vacunas en plantas se exploró precisamente para la obtención de una vacuna contra el *Virus del Newcastle* en células de tabaco en la Universidad de Arizona, Estados Unidos Americanos. En este caso, la detección del *Virus del Newcastle* en los sistemas de producción de pollos de engorda es motivo de restricción para su comercialización, lo que representa grandes pérdidas para el sector aviar considerando que la carne de pollo en países como México son indispensables en la dieta de las familias. Después de este trabajo

pionero han existido numerosos ejemplos de plantas que producen vacunas y las ventajas principales después de 25 años son: existen herramientas de laboratorio desarrolladas para su manipulación, existen procesos de escalamiento agrícola-industrial, y la propiedad de bioencapsulación de vacunas en plantas que permite conservar su efectividad a temperatura ambiente por varias semanas o meses. Entre los ejemplos, destaca el grupo de investigación del Dr. Andrés Wigdorovitz del Instituto de Virología en Argentina

que han trabajado para la producción de una vacuna en alfalfa contra la enfermedad fiebre aftosa del ganado (vacas, cabras, ovejas, y cerdos, y también enferma a búfalos y venados).

Sus resultados, y los de otros grupos de investigación en el mundo, han permitido demostrar que las vacunas son funcionales y potencialmente pueden proteger a los animales de esta enfermedad, aunque hasta el momento solo se han evaluado en ratones y cuyos. La importancia de esta enfermedad radica en el debilitamiento de los animales porque pierden el apetito y aparecen llagas en la boca y las patas; y consecuentemente disminuye la producción de leche y carne en las poblaciones de animales infectados. En este caso, la enfermedad fue erradicada en México en la década de los 1950, sin embargo continua siendo un problema de salud en Sudamérica (África y Asia) y el riesgo de reintroducción a México es

latente. Otras plantas que se han utilizado para producir proteínas del virus de la fiebre aftosa han sido tabaco, papa, tomate, arroz, el arbusto forrajero crotalaria (*Crotalaria juncea*) y es interesante que se haya explorado el Tabardillo (*Stylosanthes guianensis*), un arbusto común en la flora de Baja California Sur, que se le atribuyen varias propiedades medicinales y que es consumido con frecuencia por el ganado que se pastorea. De todas ellas, la vacunación por vía oral se ha evaluado en roedores usando plantas de tabardillo, crotalaria y arroz; demostrándose una protección parcial ya que 2 de cada 3 animales fueron protegidos ante la infección experimental. Aunque los resultados son alentadores, es necesario aumentar la eficiencia de las vacunas y evaluarlas en vacas, ovejas, cabras o cerdos. No obstante, en nuestro país existen enfermedades virales declaradas de atención prioritaria y existen ejemplos de plantas que se usan para la producción de vacunas orales. Los *Rotavirus* causan mortalidad e importantes pérdidas económicas en el sector pecuario

mundial. Ante este problema de salud animal, se ha logrado producir exitosamente proteínas del este virus a niveles de 0.06-1% de las proteínas totales de plantas como alfalfa, tabaco, tomate y una especie de quelite (*Chenopodium amaranticolor*) que es una hierba común en México. Todos las evaluaciones de vacunación se han realizado en ratones y la inmunización oral con las vacunas producidas en alfalfa, tabaco y quelite inducen respuestas de

También en maíz se produjo una vacuna contra la enfermedad de Newcastle que afecta a las aves productoras de huevo para plato y pollos de engorda.

protección de hasta el 60% (6 de cada 10 animales protegidos) ante un reto infeccioso con el *Rotavirus*. Otras enfermedades importantes del ganado que causan pérdidas en la producción de alimentos de origen animal son las causadas por Papilomavirus Bovino, Virus de la Lengua Azul y el Virus de la Diarrea Viral Bovina. En todos estos

casos se han usado proteínas que se encuentran en la superficie de los virus y se ha utilizado tabaco para su producción, con excepción de la proteína E1 del Virus de la Diarrea Viral Bovina que también se produjo en alfalfa. En estas investigaciones las vacunas fueron inyectadas. Sin embargo, lo que destaca de estos estudios es que además de usar los modelos de roedores, también se evaluó la efectividad de las vacunas en ovejas y vacas. En el caso de las ovejas, se usaron machos de 1 año de edad de la raza Merino, la cual es la más eficiente para la producción de lana a nivel mundial. En este estudio, se produjo una proteína del virus en plantas de tabaco. Luego, los animales se inyectaron 3 veces a los días 0, 21 y 24, vía subcutánea (50 microgramos por dosis por cada animal), con las proteínas producidas por las plantas. Como resultado relevante se encontró que los borregos vacunados produjeron anticuerpos en la sangre que fueron capaces de neutralizar a los virus, incluso con mayor eficiencia que la vacuna comercial después de los 90 días

que duró el estudio. En el caso de las vacas se usaron becerros de la raza Aberdeen Angus que son animales que producen excelentes filetes de carne que se catalogan como calidad suprema. Primero se produjo la vacuna en plantas de alfalfa y las proteínas vacunales se purificaron. Después, los becerros fueron inyectados 2 veces (al día 0 y al 30) vía intramuscular (3 microgramos por animal por cada dosis) con las proteínas producidas en alfalfa. Los resultados son altamente promisorios en vista de que los animales fueron completamente protegidos de la infección experimental con el virus.

Otro problema importante es la enfermedad hemorrágica de conejos causada por un virus del mismo nombre. Para producir y evaluar la vacuna oral se utilizó la proteína del virus VP60 y la planta de papa. Los conejos que fueron alimentados 4 veces (en el día 0, 21, 42 y 63) con una porción de papa que contenía una concentración de 500 microgramos de la proteína recombinante, observando que fueron protegidos por más tiempo ante una infección experimental con el virus respecto

a los animales que no consumieron la vacuna. Otro ejemplo notable fue la evaluación de una vacuna contra una enfermedad que afecta a la industria porcina. La enfermedad es causada por el virus de la gastroenteritis transmisible y la vacuna consistió de la proteína S de la envoltura (superficie) del virus producida en granos de maíz. La inmunización oral de lechones con 2 miligramos de la proteína S en maíz durante 10 días consecutivos antes del reto resultó en menores signos de la infección que los animales que fueron inyectados con una vacuna comercial.

También en maíz se produjo una vacuna contra la enfermedad de Newcastle que afecta a las aves productoras de huevo para plato y pollos de engorda. Los pollos alimentados oralmente con el maíz que producía la vacuna fueron protegidos completamente ante el reto infeccioso experimental al mismo nivel que la protección alcanzada con la vacuna comercial.

Otro problema importante de salud en la industria aviar es el virus de la bronquitis infecciosa y al respecto se producido la glicoproteína S1 del virus en papa.

En este estudio, la alimentación de pollos de 1 día de nacidos en 3 ocasiones (día 1, 7 y 14) con la papa-vacuna, que contenía 57.2 microgramos de la glicoproteína S1 del virus, protegió completamente a los animales de la infección experimental. Otra enfermedad altamente infecciosa y mortal en pollos de temprana edad es la enfermedad de Gumboro o enfermedad de bursitis infecciosa. La vacuna basada en la proteína VP2 de la cubierta del virus se produjo y almacenó en semillas de arroz. Al igual que el ejemplo anterior, se observó protección total de la infección experimental en pollos que fueron alimentados con arroz que contenía 10 miligramos de la proteína recombinante. Algo interesante que se notó fue que las lesiones de los animales tratados con la vacuna-arroz fueron menores que las que recibieron la vacuna comercial basada en el virus completo muerto.

## Vacunas contra enfermedades causadas por parásitos

En el campo de las enfermedades parasitarias existen varios esfuerzos para la generación de vacunas en plantas. El primer trabajo publicado fue en 2005 en el que se evaluó una vacuna contra la fasciolosis, una



enfermedad causada por la *Fasciola hepatica* que en su etapa adulta se alojan en el hígado del ganado bovino (vacas) y ovino (ovejas), de ahí su nombre. En este reporte, se usó el antígeno más prometedor como vacuna contra la fasciolosis: una proteasa tipo cisteína que produce el parásito y cuya función es ayudar en la digestión de tejidos durante su migración, alimentación y evasión de la detección del sistema inmune de defensa en los animales. Esta proteína se produjo en plantas de alfalfa y lechuga, y aunque no se ha evaluado en ganado, su capacidad para inducir una respuesta de defensa en ratones (2 dosis con 2 microgramos de proteína cada una) permitió descubrir que proteína era funcional cuando se producía en estas plantas y se administraba vía oral a los animales. Otro

parásito de importancia en la salud animal y humana es *Schistosoma japonicum*. Este parásito produce una proteína durante sus diferentes etapas de desarrollo, la Sj23, y su producción funcional se demostró en plantas de alfalfa. Aunque en este estudio no se realizaron experimentos en animales, los resultados encontrados sugieren que se puede producir esta vacuna en plantas de alfalfa. En cambio, la cisticercosis causada por el parásito *Taenia solium* es una enfermedad de preocupación mundial, tanto en animales como en seres humanos.

Los cerdos son los hospederos intermediarios, significa, que el parásito necesita obligatoriamente vivir una etapa de su vida en estos animales antes de infectar a su hospedero definitivo: el hombre.

La vacuna que se desarrolló bajo el concepto de vacuna oral en plantas se basó en una combinación de proteínas del parásito nombrada S3Pvac y se produjo en plantas de papaya. Aunque los resultados obtenidos en ratones vacunados indican 90% de protección ante la infección con esta vacuna, aún queda pendiente realizar los experimentos en cerdos para

comprobar su eficacia. El gusano de la hidátide es un parásito cuyo nombre científico es *Echinococcus granulosus* y cuya relevancia es importante para seres humanos y animales de importancia económica. Se descubrió que una de sus proteínas, la EG95, le ayuda a evadir las respuestas de defensa del hospedero (animal o humano) y poder sobrevivir. La vacuna oral que se desarrolló usando la EG95 se produjo en plantas de alfalfa.

Las hojas que expresaban el antígeno en cantidades mínimas (0.05% del total de proteínas que posee la planta) fueron suficientes para proteger a 64% de los ratones inmunizados por vía oral, comparado con un grupo de ratones no inmunizados. Un parásito que también es importante por su potencial de transmisión al humano, es el gusano *Ascaris summ.*

En las larvas en el tercer estado de desarrollo (digamos juveniles) y en los adultos se encontró que producían una proteína en su piel, la cutícula. La proteína se nombró As16 y se logró producir en semillas de arroz en cantidades suficientes para inmunizar ratones,

pero desafortunadamente la inducción de respuestas inmunes fue débil.

Aunque se probó que es posible producir esta proteína en semillas de arroz y ser funcional en ratones, los esfuerzos siguientes son mejorar el nivel de producción de la proteína y aumentar la eficacia. Por último, una enfermedad persistente en todos los sistemas de producción de animales de interés para la obtención de alimentos de consumo humano es la coccidiosis.

Esta enfermedad es causada por un parásito microscópico, su cuerpo es una célula, pero es altamente infeccioso. Existen varias especies que infectan distintas especies animales (pollos, gallinas, cerdos, ovejas, cabras, vacas) pero todas pertenecen a la clasificación

(género) llamada *Eimeria*. La especie que ha llamado más la atención es *Eimeria tenella* por su importancia en la producción de pollo de engorda y cuyo control puede ser muy difícil en cada ciclo de producción. En este caso, la investigación permitió identificar la proteína EtMIC1 y EtMIC2 que se produjeron en hojas de tabaco.

La inmunización oral de pollos alimentados con hojas de tabaco que producían estas proteínas aseguró niveles de protección similares a la vacuna comercial basada en el uso del patógeno muerto. La ventaja de esta vacuna oral es importante si se considera que los costos para producir la vacuna del patógeno muerto son elevados y la técnica es laboriosa.

## Vacunas contra enfermedades causadas por bacterias

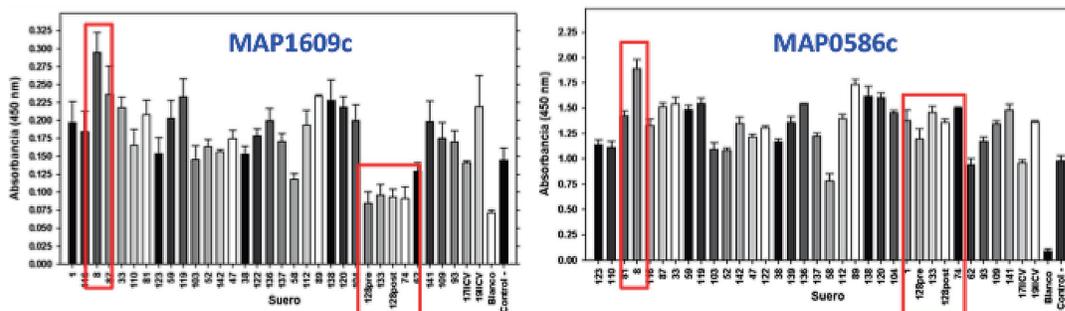
Existen menos esfuerzos orientados a la producción de vacunas orales en plantas contra bacterias infecciosas de los animales. Entre los problemas de salud animal causados por bacterias infecciosas tenemos a *la Escherichia coli* enterohemorrágica que en lechones causa mortalidades importantes. Esta bacteria también enferma a los seres humanos. Una proteína de la superficie de la bacteria llamada FaeG, que le ayuda a la bacteria a adherirse al intestino para poder alojarse ahí, se ha logrado expresar exitosamente en plantas de tabaco, alfalfa y semillas de cebada. En este caso, se usaron lechones de una mezcla de la reproducción de



2 razas (Padre: Finnish Landrace y Madre: Yorkshire) que son las razas comerciales más utilizadas en el mundo, incluida Baja California Sur. En estos lechones, la vacunación oral con 30 gramos de alfalfa productora de la proteína FaeG (4 miligramos) los protegió parcialmente de la infección al reducir el número de bacterias patógenas que lograron sobrevivir. Las plantas de tabaco y lechuga se han usado para la producción de otra proteína que produce esta

evaluarla en un modelo animal. *Mannheimia haemolytica* es una bacteria que coloniza las vías respiratorias de las vacas y provoca neumonía. Una de las proteínas de superficie de esta bacteria llamada GS60 se produjo en plantas de alfalfa. En este ejemplo se usaron conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos que se emplean para la producción de carne de conejo por su alto rendimiento y que es un modelo experimental. Para evaluar la vacuna se alimentaron

saber si la vacuna protegía a los animales, o mejor aún realizar el experimento en vacas o becerros, los resultados indican que esta vacuna administrada por vía oral es capaz de estimular una respuesta de defensa inmune contra la bacteria. Otra proteína de esta bacteria es la Lkt que se ha logrado producir en tabaco y en la planta forrajera trébol blanco, aunque no se ha evaluado su funcionalidad como vacuna oral.



Reconocimiento de las proteínas vacunales Ag85B (MAP1609c) y MAP0586c de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* producidas en alfalfa por anticuerpos de ovejas con Paratuberculosis. En la figura se muestran barras y cada una representa el valor de reacción de anticuerpos del suero de animales infectados con *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* contra extractos de plantas de alfalfa productoras de la vacuna. Nótese la comparación con la barra "Control - (negativo)". Como se observa algunos anticuerpos de animales infectados presentaron mayor o menor reactividad (que el control negativo) contra los extractos de alfalfa.

bacteria para matar la células de los animales: la Toxina Shiga. Recientemente, esta toxina se ha producido en lechuga con una eficiencia de producción de 80 miligramos por cada 100 gramos de planta, sin embargo es necesario

a los conejos con 48 gramos de la alfalfa-vacuna por 5 días y se repitió la misma alimentación 14 días después. Se observó que las defensas de los animales contra la bacteria se fortalecían. Aunque no se hizo un reto infeccioso para

### Discusión académica

Sin lugar a dudas 25 años de biotecnología básica y aplicada al desarrollo de vacunas en plantas respaldan el uso de estos organismos como biofábricas de vacunas. El concepto que se

planteó desde su inicio fue contar con vacunas que pudiera ser distribuidas de forma global, más baratas que las convencionales y de fácil administración vía oral, principalmente para los países pobres y en desarrollo. Desde luego que las expectativas se orientaron y continúan enfocadas principalmente hacia su uso en humanos. Sin embargo, es importante mencionar que a pesar de los logros alcanzados y el desarrollo de estudios clínicos en

humanos con vacunas producidas en plantas, hasta la fecha no existe una vacuna comercial basada en estos organismos fotosintéticos.

Los desarrollos más prominentes en plantas ha sido la producción de anticuerpos neutralizantes contra virus o anticuerpos dirigidos a células del cuerpo que causan enfermedades crónico-degenerativas en humanos.

Sin embargo, este enfoque requiere forzosamente de la purificación de los anticuerpos, lo cual es un proceso muy costoso comparado con el enfoque de vacunas orales en las que se plantea no purificar las vacunas.

Además, el mantener una

vacuna o un anticuerpo purificado en refrigeración o en hielo para que conserve su actividad llega a representar el 90% del costo total. Es decir, si la vacuna cuesta mil pesos, novecientos pesos

del costo son necesarios para mantenerla a 4°C. El logro más importante del uso de plantas para ayudar a la salud humana es la comercialización de una enzima que se usa en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher y que es el único producto biofarmacéutico producido en plantas aprobado por la Agencia de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos. Lo anterior obedece a las restricciones rigurosas para cualquier producto biológico o químico para su empleo en humanos. Ante este panorama, el desarrollo de vacunas para animales posee la ventaja de que las regulaciones para su comercialización son

menos estrictas. Más aún, desde la declaratoria “El Decenio de las Vacunas 2011-2020” por la Organización Mundial de la Salud (OMS) han existido esfuerzos orientados a atender las

Los desarrollos más prominentes en plantas ha sido la producción de anticuerpos neutralizantes contra virus o anticuerpos dirigidos a células del cuerpo que causan enfermedades crónico-degenerativas en humanos.

enfermedades de los animales que se transmiten a los seres humanos. Tal es el caso del Convenio de la OMS-la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE)-la Agencia para la Agricultura y Alimentación (FAO) en donde han coordinado esfuerzos para atender este tipo de enfermedades infecciosos. Bajo el eslogan de “Una Sola Salud” se coordinan actividades de investigación, de sociabilización, de administración, y de atención hospitalaria, entre otras, para el desarrollo, distribución y aplicación de vacunas para animales contra enfermedades que pueden ser transmitidas al hombre. Este escenario actual ha recibido la



atención de médicos de seres humanos y médicos veterinarios para cooperar y colaborar en la atención de estas enfermedades. El desarrollo de vacunas en plantas se encuentra en este campo de acción y por ello muchos los ejemplos mencionados son patógenos que enferman a los animales y a los seres humanos. O bien, patógenos que por su importancia pueden colapsar la producción de alimentos para el consumo humano, como los recientes caso de gripe aviar (influenza aviar) en pollos y gallinas de postura de huevo para plato o el síndrome de la mortalidad temprana en los cultivos de camarón en nuestro país. Aquí la ventana de oportunidad para el desarrollo y comercialización de vacunas veterinarias en plantas está abierta y es prometedora en México y el mundo.

### Retos

Los principales retos del desarrollo de vacunas en plantas son 2: (1) el bajo nivel producción de proteínas vacunales comparado con los sistemas convencionales (bacterias y levaduras); y (2) la baja

inducción de respuesta de defensa mediante la administración oral de plantas que producen las vacunas.

En el caso de la baja producción de proteínas vacunales los esfuerzos se dirigen a aplicar estrategias de ingeniería genética novedosas que en combinación con el uso de plantas específicas puedan producir más de estas proteínas. Para la baja inducción de respuesta inmune el reto es un poco más complejo por lo siguiente: la respuesta normal de un animal o un ser humano a la administración oral de una planta es su digestión para aprovechar sus nutrimentos y el cuerpo es tolerante a las proteínas que tiene una planta, es decir son su alimento y las reconoce como seguras, no dañinas. Esto quiere decir, que cuando se administra una dosis de material vegetal que produce una vacuna, ésta será digerida como cualquier otro alimento, lo que afecta la eficacia de la vacuna. Para sobrellevar lo anterior existen 2 estrategias principales: (1) evaluar caso a caso la(s) dosis y las veces que tiene que aplicarse la vacuna; y (2) usar un potenciador de la respuesta inmune de defensa.

De mayor importancia para este reto es encontrar sustancias que induzcan una respuesta inmune benéfica, no patológica como las que inducen los patógenos. Este reto ha llevado a la búsqueda de nuevos potenciadores y los más empleados hasta el momento para la vacunación oral usando plantas son la toxina del cólera (producida por la bacteria *Vibrio cholerae*) y la toxina termolábil (producida por la bacteria *Escherichia coli*).

### Consideraciones finales y perspectivas en los próximos 5 a 10 años

El CIBNOR dedica sus esfuerzos a la solución de problemas relacionados con la producción de alimentos seguros e inocuos de origen animal. Entre sus actividades se encuentra la producción de vacunas que sean efectivas, de bajo costo y de fácil administración para los animales de interés económico y de importancia en la producción de alimentos. En los últimos 5 años se han identificado proteínas candidatas para producir vacunas contra la bacteria *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), que causa la paratuberculosis de

vacas, cabras y ovejas. Esta bacteria causa una enfermedad intestinal provocando diarrea intermitente, inflamación del intestino y eventualmente la muerte de los animales. Como consecuencia, disminuye la producción de carne y leche de las poblaciones de animales infectados. La distribución de esta enfermedad es mundial y ha sido declarada de importancia global por la Organización Mundial de la Salud Animal, el homólogo de la OMS de los seres humanos, por su importancia en la producción de alimentos. En México, las pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad en el ganado productor de leche se estiman en 10 mil pesos por vaca infectada por año. Por ello se hace necesario implementar estrategias que permitan su control, prevención y curación.

Además, resulta interesante que todas las micobacterias, como *Mycobacterium bovis* que causa la tuberculosis bovina y *Mycobacterium tuberculosis* que causa la tuberculosis humana, se parecen en un 98 a 99% desde el punto de vista genético (esto es lo mismo que el parecido genético

entre los simios y el ser humano).

Por lo tanto, los hallazgos y vacunas efectivas que puedan funcionar contra esta micobacteria podrían tener aplicaciones en otras enfermedades causadas por micobacterias patógenas en otros animales o incluso en seres humanos. Partiendo de la genética (el genoma) de MAP, en el CIBNOR se ha encontrado que existen proteínas asociadas a la superficie de esta bacteria. Con la ayuda de programas de computadora que predicen la respuesta inmune de un animal contra esas proteínas, se han seleccionado varias de ellas para su producción en plantas de alfalfa y germinados de maíz. En alfalfa, la producción de 2 de estas proteínas (Ag85byMAP0586c) se ha efectuado exitosamente puesto que son reconocidas por anticuerpos de ovejas con paratuberculosis.

También, la alimentación con 4 dosis (una por semana) de alfalfa-vacunas en ratones induce la producción de anticuerpos contra dichas proteínas. La siguiente etapa comprenderá la realización de un reto infeccioso en los ratones que permita saber si las vacunas orales producidas en alfalfa

protegen contra la infección. En germinados de maíz, los resultados aún están en fase de ingeniería y producción por lo que es necesario saber si los germinados producen la proteína funcional y después hacer los bioensayos en ratón para saber si son capaces de inducir respuestas de defensa inmune. Por otra parte, es interesante el hecho de que las plantas son capaces de producir anticuerpos funcionales, de entrega oral y dirigidos a las mucosas donde la mayoría de las infecciones microbianas ocurren. En la actualidad se ha demostrado la capacidad de algunas plantas como tabaco, maíz y tomate, entre otras (Vasilev et al., 2016). Finalmente, se ha explorado el potencial de microalgas dulceacuícolas y marinas para la producción de vacunas orales. En este tema se usa la microalga de agua dulce *Chlamydomonas reinhartii*, que constituye el modelo de estudio más empleado en el mundo para la producción de vacunas orales. De especial interés son las microalgas marinas *Schyzochitrium* sp. y *Phaeodactylum tricornutum*, que se emplean para la producción de biomoléculas de interés biomédico



y cosmético a través de procesos industriales bien establecidos. Lo anterior es un ventaja pensando en que los procesos de producción industrial de vacunas en estas microalgas serán implementados fácilmente. Dadas nuestras condiciones ambientales y recursos naturales en Baja California Sur, el interés por emplear el abundante recurso de agua marina con el que disponemos para el cultivo de microalgas marinas hace más interesante esta línea de investigación.

La perspectiva en 5 años es contar con vacunas orales evaluadas en los animales domésticos que puedan ser adoptadas por productores ganaderos o empresarios visionarios. Dado que el CIBNOR, como institución pública, dedica sus esfuerzos al bienestar de la sociedad a través de la investigación científica y desarrollo tecnológico, el Grupo de Inmunología & Vacunología tiene esa visión, y se dedica a la producción de vacunas en plantas y microalgas, y a la investigación y desarrollo tecnológico para ofrecer soluciones frente a los problemas de salud de los animales de importancia económica regional y mundial.

### Agradecimientos

Al CONACYT por el financiamiento de los proyectos CB-2010-01-151818, INFR-2014-01-225924 y PDCPN2014-01-248033. A los colaboradores del CIBNOR, de Instituciones Nacionales e Instituciones de otros Países por su entusiasta ayuda. En especial, a todos los Estudiantes que con entusiasmo, pasión y dedicación han contribuido al quehacer del CIBNOR en su región, país y en el mundo. Los Autores agradecemos al Lic. Gerardo Hernández el diseño gráfico editorial y a la Ms.C. Diana Dorantes la revisión del Idioma Inglés del Abstract.

### Literatura citada

#### (recomendada para su lectura científica)

1. Jantan, I., W. Ahmad, B.A. Abbas. 2015. *Plant-derived immunomodulators: an insight on their pre-clinical evaluation and clinical trials*. *Frontiers in Plant Science* 6:655.
2. Liew, P.S. y M. Hair-Bejo. 2015. *Farming of Plant-Based Veterinary Vaccines and Their Applications for Disease Prevention in Animals*. *Advances in Virology* 2015: 936940.
3. Ruiz, V., M.V. Mozgovoij, M.J. Dus Santos, A. Wigdorovitz. 2015. *Plant-produced viral bovine vaccines: what happened during the last 10 years?* *Plant Biotechnology Journal*. 13(8):1071-1077.
4. Jacob, S.S., S. Cherian, T.G. Sumithra, O.K. Raina, M Sankar. 2013. *Edible vaccines against veterinary parasitic diseases-current status and future prospects*. *Vaccine* 31(15): 1879-1885.
5. Kolotilin, I., E. Topp, E. Cox, B. Devriendt, U. Conrad, J. Joensuu, E. Stöger, H. Warzecha, T. McAllister, A. Potter, M.D. McLean, J.C. Hall, R. Menassa. 2014. *Plant-based solutions for veterinary immunotherapeutics and prophylactics*. *Veterinary Research* 45: 117.
6. MacDonald, J., K. Doshi, M. Dussault, J.C. Hall, L. Holbrook, G. Jones, A. Kaldis, C.L. Klima, P. MacDonald, T. McAllister, M.D. McLean, A. Potter, A. Richman, H. Shearer, O. Yarosh, H.S. Yoo, E. Topp, R. Menassa. 2015. *Bringing plant-based veterinary vaccines to market: Managing regulatory and commercial hurdles*. *Biotechnology Advances* pii: S0734-9750(15)30020-3.
7. Shaaltiel Y, Gingis-Velitski S, Tzaban S, Fiks N, Tekoah Y,

Aviezer D. Plant-based oral delivery of  $\beta$ -glucocerebrosidase as an enzyme replacement therapy for Gaucher's disease. *Plant Biotechnology Journal* 13:1033-1040.

#### Cita de este artículo

---

Angulo, C. \*, P. Carlos, B. Meza, C. Sáñez, R. Celis, C. Guluarte, S. Martínez, R. Sosa, A. Ramos, L. Valladares, R. Hernández, A. Dibene, S. Barrera, R. del Tejo. 2016. Plantas como biofábricas de vacunas orales para Animales. *Recursos Naturales y Sociedad*, 2016. Vol. 2 (1): 22-35. DOI:10.18242/RENAYSOC.2016.02.02.01.0003

---

*Sometido: 10 de noviembre de 2015*

*Revisado: 27 de enero de 2016*

*Aceptado: 06 de Abril de 2016*

*Editora asociada: Dra. Thelma Castellanos Cervantes*

*Idioma Inglés Abstract: Ms.C. Diana Dorantes*

*Diseño gráfico editorial: Lic. Gerardo Hernández*