



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“REVISIÓN HISTÓRICA DE LA VACUNACIÓN EMPLEADA EN LA
EPIDIDIMITIS OVINA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

MONTALVO SANTIAGO MARCOS

ASESOR: Dr. RAFAEL VILLALOBOS GARCÍA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a:

Mis padres, por su apoyo, sus conocimientos brindados, comprensión, cariño y sobre todo por la educación que nos dieron a mí y a mis hermanos, los quiero mucho.

Roy, por ser un buen hermano, por abrirme los ojos cuando lo necesite para ver por qué camino tomar, por soportarme 25 años de vivir juntos y sobre todo por compartir conmigo las travesuras de la niñez, te quiero hermano.

Fanny, por ser mi hermanita, la mejor, por brindarme alegría cuando la necesitaba para olvidarme de mis problemas, por compartir 18 años de tu vida conmigo y seguir soportándome a pesar de todo, te quiero hermana.

Eunice, por ser mi apoyo, la luz de mi vida, mi amiga, mi confidente, el amor de mi vida, la fuente de mis alegrías, pero sobre todo por compartir tu vida conmigo, te amo.

Jessy, por ser mi amiga, darme consejos y apoyarme en momentos difíciles, por compartir buenos momentos, pero sobre todo por estar ahí sin importar cuales fueran las circunstancias.

Eva Alicia, por ser una buena consejera, abrirme las puertas de su casa, alimentarme sin restricciones cuando lo necesitaba, pero sobre todo por compartir momentos inolvidables a su lado.

José Luis Valenzuela, por permitirme ser parte de su familia y sobre todo por permitirme compartir muy gratos momentos en su compañía y que quedaran guardados siempre en mi memoria.

Fabis, por ser una buena niña, por ser una buena amiga y por todos los ratos de diversión que tuvimos juntos.

Raul Salvador, por ser un buen amigo, aceptarme como soy, por desvelarnos jugando videojuegos y compartir buenos momentos juntos.

Yolanda, por ser mi amiga y por todos esos pequeños momentos de diversión que pasamos en compañía de tu familia.

Dr. Rafael Villalobos, por compartir sus conocimientos conmigo, por brindarme su confianza, por su apoyo, por el tiempo que llevamos trabajando juntos desde el servicio social, pero sobre todo por permitirme conocerlo

Ross, por ser una buena compañera, por ser una muy buena amiga, por alentarme en los momentos difíciles, pero sobre todo por los momentos de felicidad y diversión que hemos compartido.

Mary, por ser una buena amiga, por ser mi guía en el mundo académico y por todos esos momentos inolvidables que hemos pasado, así como por echarme porras para terminar la tesis.

Comunidad de la baraja, gracias a todos y cada uno de los miembros de esta estupenda fraternidad, porque de todos y cada uno de ustedes me llevo algo, y a todos los llevo en mi memoria, les agradezco por aceptarme dentro de esta hermandad tal como soy, desde que me integre me sentí como en casa debido a que tenemos mucho en común pero sobre todo por compartir excelentes momentos todos juntos como una gran familia, siempre los llevare en mi corazón (gusano, pancha, Chema, ara, ary, borre, criski, danny, flecos, neutrón, evanences, Gary, flaca, jacki, more, güera, jessy, joy, largo, potter, nano, mark, mary, chango, mona, oli, alvin, quetza, grillo, roy, chaq, he-man, chory).

Pablo Arturo, por brindarme tu amistad desde que nos conocimos, por compartir muy gratos momentos, por apoyarme y alentarme a no darme por vencido por muy difíciles que parecieran las cosas.

Grupo 1152, a todo ese maravilloso grupo con el que empecé la carrera y con los que compartí y viví un bonito primer semestre así como con los que compartí una buena amistad y de los cuales me llevo muy gratos recuerdos.

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi facultad por la formación profesional de alta calidad que me impartieron y porque fui uno de los privilegiados en formar parte de esta institución Ahora solo me queda a poner en alto en nombre de esta distinguida institución

Sinodales, DESS. Rodolfo Cruz, Dra. Elizabeth Piñón, Dr. Enrique Salas, Dra. Susana Mendoza por sus consejos y comentarios durante la revisión de este trabajo.

Profesores, a todos y cada uno de los profesores que me impartieron las asignaturas durante la carrera ya que de todos y cada uno aprendí algo que me formo de manera profesional para enfrentar el mundo con las mejores armas del conocimiento.

José Garduño, porque me enseñó que el conocimiento adquirido en las diferentes asignaturas de la carrera tienen un fin integral, así como me mostro que si me esfuerzo lo suficiente puedo hacer un buen trabajo y salir adelante ante las adversidades.

Q. F. B. Marcos Montalvo Santiago

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	2
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	12
ÍNDICE DE TABLAS	13
RESUMEN.....	14
1 INTRODUCCIÓN	15
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 GENERAL.....	16
2.2 PARTICULARES.....	16
3 JUSTIFICACIÓN	16
4 METODOLOGÍA.....	17
5 ENFERMEDADES DE IMPORTANCIA VETERINARIA	18
5.1 ENFERMEDADES BACTERIANAS	18
5.2 ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS	20
5.3 ENFERMEDADES VÍRICAS.....	20
5.4 ENFERMEDADES PARASITARIAS	21
5.6 FACTORES AMBIENTALES.....	22
5.7 ENFERMEDADES EN EL GANADO OVINO	23
5.7.1 Generalidades.....	23
5.7.2 Epididimitis Infecciosa	24
5.7.3 Características del Género <i>Brucella</i>	25
5.7.4 Características del Género <i>Actinobacillus</i>	26
5.8 CONTROL DE ESTAS ENFERMEDADES	27
5.9 MEDICAMENTOS VETERINARIOS.....	27
6 FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA INNOVADORAS DE UTILIDAD PARA VACUNAS	28
6.1 INTRODUCCIÓN	28

6.2	LIBERACIÓN MODIFICADA.....	30
6.3	VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS SISTEMAS ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE FÁRMACOS.....	30
6.4	FACTORES QUE INFLUENCIAN EL DESARROLLO DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA EN ANIMALES.....	31
6.5	FABRICACIÓN DE DISPOSITIVOS DE LIBERACIÓN MODIFICADA.....	31
6.6	BIOMATERIALES.....	32
6.6.1	Introducción.....	32
6.6.2	Modo de Acción de los Biomateriales.....	33
6.7	MICROESFERAS.....	36
6.7.1	Antecedentes.....	36
6.7.2	Características.....	36
6.7.3	Forma de Liberación.....	36
6.7.4	Preparación de microesferas para liberación de fármacos.....	36
6.7.5	Propiedades fisicoquímicas de las microesferas.....	38
6.7.6	Aplicaciones de las microesferas.....	38
6.8	BIOADHESIVOS.....	40
6.8.1	Introducción.....	40
6.8.2	Antecedentes.....	40
6.8.3	Ventajas.....	41
6.8.4	Desventajas.....	41
6.8.5	Aplicaciones.....	41
6.8.6	Forma de Liberación.....	42
6.9	SISTEMAS TERAPÉUTICOS TRANSDÉRMICOS.....	43
6.9.1	Introducción.....	43
6.9.2	Antecedentes.....	43
6.9.3	Forma de Liberación.....	44
6.9.4	Aplicaciones.....	46
6.9.5	Ventajas.....	47

6.9.6 Desventajas	47
6.10 SISTEMAS OSMÓTICOS DE ADMINISTRACIÓN ORAL	48
6.10.1 Introducción	48
6.10.2 Antecedentes	48
6.10.3 Formas de Liberación	48
6.11 SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE LIBERACIÓN RETARDADA	54
6.11.1 Aplicaciones	55
6.11.2 Ventajas	55
6.11.3 Desventajas	55
6.12 SISTEMAS MICROPARTICULARES	56
6.12.1 Introducción	56
6.12.2 Antecedentes	57
6.12.3 Forma de Liberación	57
6.12.4 Ventajas	57
6.12.5 Aplicaciones	57
7 VACUNAS.....	58
7.1 ORIGEN DE LAS VACUNAS	58
7.2 CLASIFICACIÓN DE LAS VACUNAS.....	59
7.3 VÍAS CLÁSICAS DE ADMINISTRACIÓN DE VACUNAS	60
7.3.1 Vía Intradérmica.....	61
7.3.2 Vía Subcutánea o Hipodérmica.....	62
7.3.3 Vía Intramuscular	62
7.3.4 Vía Oral	65
7.4 INMUNORESPUESTA A LA VACUNACIÓN.....	65
7.5 INMUNOLOGÍA DE LA MUCOSA	66
7.6 ABSORCIÓN DE LAS PARTÍCULAS POR LAS IgM INTESTINALES.....	67
7.7 ABSORCIÓN DE LIPOSOMAS.....	69
7.8 VACUNAS BASADAS EN LIPOSOMAS	70
7.9 DISPOSITIVOS A BASE DE POLÍMEROS.....	72

8	FABRICACIÓN DE VACUNAS.....	72
8.1	FORMULACIÓN DE LAS VACUNAS.....	73
8.2	LOS ADYUVANTES.....	73
8.2.1	Aluminio y Sales del Calcio.....	74
8.2.2	Adyuvantes Oleosos.....	74
8.2.3	Liposomas.....	75
8.2.4	Nanopartículas y Micropartículas.....	75
8.2.5	Saponinas.....	76
8.2.6	Complejos Inmuno-Estimulantes (ISCOM).....	76
8.2.7	Bloques de Copolímero no-Iónicos.....	78
8.2.8	Productos Bacterianos y sus Derivados.....	78
8.2.9	Las Citoquinas como Adyuvante.....	79
8.3	ADYUVANTES Y LIBERACIÓN ANTIGÉNICA.....	80
8.4	ADYUVANTES PARA LAS VACUNAS MUCOSALES.....	80
8.5	EFFECTOS ADVERSOS Y RIESGOS POTENCIALES DE LOS ADYUVANTES.....	81
8.6	EL EFECTO ADYUVANTE DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN.....	81
8.7	VACUNAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN.....	82
8.8	IMPORTANCIA DE LAS VACUNAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA.....	83
9	DISCUSIÓN.....	85
10	CONCLUSIONES.....	85
11	PERSPECTIVAS.....	86
12	REFERENCIAS.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

§	Dólares
%	Porcentaje
±	Más-menos
≈	Aproximadamente
°C	Grados Celsius
®	Marca Registrada
°Á	Grados Amstrong
<i>A. equuli</i>	<i>Actinobacillus equuli</i>
<i>A. lignieresii</i>	<i>Actinobacillus lignieresii</i>
<i>A. seminis</i>	<i>Actinobacillus seminis</i>
<i>A. seminis</i>	<i>Actinobacillus seminis</i>
<i>A. suis</i>	<i>Actinobacillus suis</i>
a. c.	antes de cristo
<i>B. abortus</i>	<i>Brucella abortus</i>
<i>B. canis</i>	<i>Brucella canis</i>
<i>B. mellitensis</i>	<i>Bucella mellitensis</i>
<i>B. neotomae</i>	<i>Brucella neotomae</i>
<i>B. ovis</i>	<i>Brucella ovis</i>
<i>B. suis</i>	<i>Brucella suis</i>
BCG	Bacilo de Calmette y Guerin o vacuna de la tuberculosis
BOE	Bomba osmótica elemental
BOM	Bomba osmótica multicompartmental
BSA	albúmina sérica bovina

CMC	Carboximetilcelulosa
CO ₂	Dióxido de carbono
	Son regiones donde existe una gran concentración de
CpG	Pares de citosina y guanina enlazados por fosfatos, la "p" representa el enlace por un fosfato
CTL	linfocitos T citotóxicos
CTTH	n-benziloxycarbonil-l-tirosil-l-tirosina hexil ester
<i>D. immitis</i>	<i>Diraflaria immitis</i>
DNA	Acido desoxirribonucleico
DT	Toxoide de la difteria
et al.	Y otros
etc.	Etcétera
EVAC	Copolímero de acetato vinílico de etileno no biodegradable
FAE	Epitelio folículo-asociado
FCA	Coadyuvante completo de Freund
FDA	Food & Drug A
G	Gauges
GALT	Tejido linforeticular asociado al intestino
GITS	Sistema Terapéutico Gastrointestinal
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
H ₂ O	Agua
HDCV	Vacuna de la rabia
HPMC	Hidroxiopropilmetilcelulosa
hrs.	Horas
IFN	Interferon

IgA	Inmunoglobulina A
IgM	Inmunoglobulina M
IL1	Interleucina 1
IL10	Interleucina 10
IL12	Interleucina 12
IL6	Interleucina 6
ISCOM	Complejos Inmuno-Estimulantes
ISCOPEP 703	Es una fracción definida del extracto crudo del
A	árbol <i>Quillaia saponaria</i>
IV	Vía de administración intravenosa
LT	Exo-toxina lábil al calor de <i>E. coli</i>
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>M. haemolytica</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>
MDP	Muramil di péptido
min.	Minutos
ml	Mililitros
mm	Milímetros
Mm	Micrómetros
NALT	Tejido Linforeticular asociado a la nariz
NK	Natural Killer
nm	Nanómetros
°	Grados angulares
OMS	Organización Mundial de la Salud
OROS	Sistema Osmótico de Liberación Oral

<i>P. multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
PEG	Polietilenglicol
pH	$-\log [H^+]$
PI3	Parainfluenza 3
PLGA	polímero polivinílico (D-ácido L-láctico-co-glicólico)
POE	Polioxietileno
Pop	Polioxipropileno
QS21	Es una fracción definida del extracto crudo del árbol Quillaia saponaria
Quil A	Es una mezcla parcialmente purificada del extracto crudo del árbol Quillaia saponaria
<i>S. pullorum</i>	<i>Salmonella pullorum</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
slgA	Secretor de la inmunoglobulina A
Spp. ó sp.	Especie de las bacterias de manera genérica (sin especificar)
STT	Sistemas Terapéuticos Transdérmicos
<i>T. fetus</i>	<i>Tritrichomonas fetus</i>
TEM	Microscopia de transmisión de electrones
Tg	Temperatura de transición vítrea
TGI	Tracto gastrointestinal
Th ₁	Linfocitos T de tipo 1
Th ₂	Linfocitos T de tipo 2
VIH	Virus de inmunodeficiencia adquirida
ZGI	Zona gastrointestinal
¹²⁵ I	Yodo radiomarcado 125

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Epididimitis contagiosa del carnero: Inflamación del epidídimo y atrofia testicular.....	25
Figura 2. Esquema del proceso de preparación de microesferas	37
Figura 3. Esquema de cuatro tipos de parches adhesivos para liberación bucal de péptidos	42
Figura 4. Forma de liberación del sistema de reservorio o controlado de permeación con membrana	44
Figura 5. Forma de liberación del sistema matricial.....	44
Figura 6. Forma de liberación del sistema de difusión controlada vía matriz	45
Figura 7. Forma de liberación del sistema de difusión controlado mediante microreservorios	45
Figura 8. Penetración de las moléculas grandes mediante ultrasonido.....	46
Figura 9. Composición del sistema de bomba osmótica elemental	49
Figura 10. Bomba osmótica bicompartimental Push-pull.....	50
Figura 11. Diagrama de oros-CTmu Targeted multiple units	51
Figura 12. Esquema del sistema L-OROS® SOFTCAP™	51
Figura 13. Esquema del sistema L-OROS® HARDCAP™	52
Figura 14. Esquema del sistema L-OROS delayed liquid bolus delivery	52
Figura 15. Bombas osmóticas de porosidad controlada.....	53
Figura 16. Esquema de una tableta osmótica en forma de sAndwich.....	54
Figura 17. Algunas estructuras típicas de las microcápsulas	56
Figura 18. Vía intradérmica	61
Figura 19. Vía subcutánea o hipodérmica.....	62
Figura 20. Vía intramuscular.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Diferentes enfermedades bacterianas que afectan al ganado ovino	19
Tabla 2. Tipos de cubierta para tabletas.....	33
Tabla 3. Polímeros Mucoadhesivos ordenados por su fuerza adhesiva	34
Tabla 4. Clasificación cualitativa de poder de adhesividad de polímerbioadhesivos	35
Tabla 5. Respuesta total de los diferentes tamaños de partícula de Poliestireno después de la administración oral	68
Tabla 6. Agentes infecciosos de interés veterinario que han sido incorporados en las vacunas basadas en liposomas.	71
Tabla 7. Agentes infecciosos de interés veterinario que han sido incorporados en las vacunas basadas en ISCOM.	77
Tabla 8. Propiedades de la vacuna ideal	84

RESUMEN

Las formas farmacéuticas de liberación controlada son en la actualidad las más utilizadas para la dosificación de principios activos que ayudan a mantener la salud tanto en el área humana como en la veterinaria o aliviar las enfermedades que los aquejan, las formas farmacéuticas de liberación controlada son formas farmacéuticas que presentan ventajas de dosificación con respecto a otras formas farmacéuticas, entre ellas se encuentran la disminución de los efectos secundarios, el tiempo de actividad prolongado y el brindar protección a fármacos sensibles a ataques enzimáticos o degradación ácida debido al pH local. La epididimitis ovina contagiosa se define como una infección de los testículos y el epidídimo en los carneros. Esta condición puede ocurrir en fases agudas, subagudas y crónicas y es clínicamente detectada cuando el testículo se degenera y atrofia, resultando en subfertilidad o esterilidad. En la actualidad no se cuenta con una vacuna para aliviar la enfermedad ocasionada por la presencia de *Actinobacillus seminis* (*A. seminis*) por lo que es difícil erradicar esta enfermedad en el ganado ovino y esto trae consigo repercusiones de salud en los animales y repercusiones económicas, en el cuidado, reproducción y venta en la industria ganadera de ovinos. En este trabajo se recopiló la información necesaria para comprender el tema de elaboración de vacunas de liberación controlada que sirven para prevenir la epididimitis ovina provocada por *A. seminis*, por lo anterior es de suma importancia este trabajo porque de esta manera se logró adquirir el conocimiento necesario para que se realice una correcta inmunización con una sola administración, teniendo una liberación en diferentes tiempos y permitiendo así la inmunización de los animales, evitando un doble manejo para la posterior aplicación de una segunda dosis necesaria ya que es de interés para los seres humanos evitar las repercusiones tanto económicas como de salud pública.

1 INTRODUCCIÓN

Las formas farmacéuticas de uso veterinario han ido evolucionando a la par de las necesidades o nuevas enfermedades que aquejan a los animales, ya sean de producción o de compañía. En un principio la mayoría de los medicamentos eran sencillos, lo novedoso eran las suspensiones, formas farmacéuticas sólidas, algunas formas para administración rectal, y de lo último y más novedoso fueron los inyectables; hasta que se llegó a la era de las formas farmacéuticas de liberación controlada.

Al principio todas las formas farmacéuticas de uso veterinario eran destinadas a uso externo, como los ungüentos, geles, y los famosos y tan socorridos “baños medicinales”, los cuales consistían en un baño de aguardiente o vinagre; que tenían carácter curativo, pero también carácter preventivo.

En la actualidad los veterinarios conocen muy bien los medicamentos pero desconocen la elaboración de los mismos, es ahí donde puede colaborar un Farmacéutico, en conjunto con un Médico Veterinario, para desarrollar formas farmacéuticas novedosas, eficaces y más nobles en la administración para los animales en general, no importando el tamaño o número de estos (Ruiz, 2009).

Se debe hacer la recopilación de la información necesaria para desarrollar una formulación para vacunas de liberación controlada que permitan llevar a cabo la correcta inmunización del ganado ovino contra *A. seminis* que provoca la epididimitis contagiosa. Mediante la adaptación de las diferentes tecnologías de liberación controlada que permitirán controlar la liberación dentro de la vacunación, realizando una sola administración ya que por lo general se necesita de varias dosis para generar la inmunidad de los animales ante las bacterias, y de esta manera se disminuirá el manejo de estos ya que se evitará volver a dosificar la vacuna lo cual ayudará a que la experiencia de la vacunación sea lo menos traumática posible y por consiguiente no repercuta en el estado de salud de los mismos, ya que es de interés, por sus efectos sobre la salud tanto en humanos como en los ovinos y su repercusión económica en la industria ganadera.

Clínicamente, la epididimitis se caracteriza por semen de mala calidad. Las lesiones están referidas a cambios inflamatorios locales, generalmente irreversibles del epidídimo y los testículos. La vía venérea indirecta parecería ser la forma más común de infección y difusión de la enfermedad. El diagnóstico se puede realizar a través de la detección y/o aislamiento del agente, la detección de lesiones, cambios en el semen y a través de análisis serológicos. (Robles, 1998)

2 OBJETIVOS

2.1 GENERAL

- Realizar una investigación bibliográfica sobre el tema de las vacunas de liberación controlada que pueden ayudar a prevenir la epididimitis provocada por *A. seminis* siendo de interés veterinario por sus efectos sobre la salud de los ovinos y su repercusión económica.

2.2 PARTICULARES

- Describir y analizar los principales componentes de la formulación de vacunas de liberación controlada.
- Describir las diferentes formas farmacéuticas innovadoras que se pueden utilizar para desarrollar vacunas de liberación controlada.
- Investigar la mejor forma de inoculación del antígeno contra *A. seminis* que provoca la epididimitis en el ganado ovino.
- Recopilar la información bibliográfica, hemerográfica y cibergrafía necesaria para la comprensión del tema de vacunas de liberación controlada de uso veterinario que estará disponible para futuras referencias.

3 JUSTIFICACIÓN

La importación de ganado ovino a nuestro país ha superado el 50% del abasto nacional, lo que incrementa el riesgo de la introducción de enfermedades por algunos lotes que son desviados en su trayecto a la crianza. Este ganado de introducción puede diseminar diversas infecciones, tal es el caso de la epididimitis causada por *A. seminis* (Núñez, 2005).

En la actualidad no se cuenta con una vacuna para aliviar la enfermedad ocasionada por la presencia de *A. seminis* por lo que es difícil erradicar esta enfermedad en el ganado ovino y esto trae consigo repercusiones de salud en los animales y repercusiones económicas, en el cuidado, reproducción y venta en la industria ganadera de ovinos.

4 METODOLOGÍA

La metodología consistió en recopilar información bibliográfica, hemerográfica y de cibergrafía con respecto a los temas: Formas farmacéuticas, Fármacos de liberación controlada, Formas farmacéuticas de uso veterinario. Se realizó una búsqueda bibliográfica en formato de tesis de los temas: Bacterias involucradas en la epididimitis, Formulaciones de vacunas, Tecnología farmacéutica, Farmacia veterinaria, Formulación de vacunas, Formas farmacéuticas de liberación controlada, Enfermedades de interés veterinario, *A. seminis*, vacunas de uso veterinario, Apoyándose de diversos materiales.

Material:

Libros de formas farmacéuticas
Libros de fármacos de liberación controlada
Libros de formas farmacéuticas de uso veterinario
Revistas de tecnología farmacéutica
Revistas de farmacia veterinaria
Revistas de enfermedades veterinarias
Tesis de bacterias de interés veterinario
Tesis de formulaciones de vacunas
Tesis de tecnología farmacéutica
Cibergrafía de formulación de vacunas

Cibergrafía de formas farmacéuticas de liberación controlada
Cibergrafía de enfermedades de epididimitis ovina
Cibergrafía de *A. seminis*
Cibergrafía de vacunas de uso veterinario
Computadora que cuenta con:
Procesador de palabras
Navegador de internet
Base de datos SciFinder
Editorial Elsevier
Acceso a la base de datos de DGBiblio, la cual consta de libros, revistas, tesis, material de consulta de tipo digital.

5 ENFERMEDADES DE IMPORTANCIA VETERINARIA

5.1 ENFERMEDADES BACTERIANAS

Las bacterias causan enfermedades de distintas maneras, algunas producen poderosos venenos o toxinas; por ejemplo el *Bacilo botulinus*, el bacilo del tétanos, y el bacilo de la gangrena gaseosa. Otras bacterias causan la muerte local o generalizada de tejidos corporales, bloquean el flujo de la sangre o producen irritaciones graves. La salmonelosis y todas las enfermedades causadas por la bacteria del género *Salmonella* están muy extendidas. La diarrea blanca o pullorum, causada por la *S. pullorum*, amenazó a la industria avícola hasta que fue controlada tras someter a las aves afectadas a un análisis de sangre. Se conocen casi 2.000 tipos más de *Salmonella*, que pueden producir enfermedades en el ser humano y en los animales. La bacteria *S. typhimurium* es responsable de casi la mitad de los casos de la llamada intoxicación alimentaria en el hombre, así como de grandes pérdidas de aves y otros animales. Se cree que enfermedades a las que se atribuyó durante mucho tiempo un origen viral, como la psitacosis, o fiebre de los loros, están producidas por bacterias del género *Chlamydia*. Ciertas enfermedades graves que afectan tanto al hombre como a los animales pertenecen a este grupo.

La leptospirosis, debida a bacterias en forma de espiral, o espiroquetas, pertenecientes al género *Leptospira*, causa pérdidas entre el ganado vacuno, los perros y el hombre. Los estanques, los lagos y otras acumulaciones de agua actúan como reservorios, o focos de infección de la leptospirosis, y los roedores pueden ser transmisores de las enfermedades.

La tuberculosis puede ser causada por bacterias del género *Mycobacterium*. Los monos y otros primates que viven en zoológicos deben ser protegidos de la exposición a las bacterias procedentes de humanos afectados por la enfermedad por medio de cristales. Del mismo modo, las personas deben ser protegidas de las vacas afectadas por la enfermedad mediante controles periódicos de las vacas lecheras y por el examen de la carne destinada al consumo humano.

El carbunco o carbunco, enfermedad producida por el *Bacillus anthracis*, afecta a las personas y a los animales domésticos. Sus esporas, transportadas por el aire, y residentes en la piel de los animales o las aguas residuales, explican la repentina aparición de esta enfermedad bacteriana.

La pasteurelosis, así como cualquier otra infección causada por bacterias del género *Pasteurella*, como el cólera de las gallinas, producido por la *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), origina graves problemas, y afecta a la fauna silvestre, las aves domésticas (sobre todo a las gallinas), los conejos y otros animales.

Las bacterias diminutas de pared blanda del género *Mycoplasma* producen toda una variedad de enfermedades en los animales y el ser humano, como la pleuroneumonía en el ganado vacuno, la sinusitis infecciosa en los pavos y la enfermedad respiratoria crónica en los pollos. (Microsoft Encarta, 2009)

Para un productor de ovinos es necesario que evite que sus rebaños se reduzcan por enfermedades y pierda dinero en su trabajo a continuación en la Tabla 1 de se enlistan algunas de las enfermedades que afectan a los ovinos y que pudieran ser de importancia veterinaria por sus efectos a la salud pública.

Tabla 1. Diferentes enfermedades bacterianas que afectan al ganado ovino:

ENFERMEDAD	AGENTE ETIOLOGICO	GENERALIDADES DE LA ENFERMEDAD	MEDIDAS PREVENTIVAS	IMPORTANCIA MED. VET.	IMPORTANCIA SALUD PUBLICA
MASTITIS					
Bovinos Ovinos	Virus, hongos, bacterias: <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Bacterias coliformes <i>Corynebacterium</i> <i>Pseudomonas</i>	Ubres inflamadas, enrojecimiento, dolor, tumefacción, disminución de la producción de leche. Leche con grumos, sangre, suero o descamaciones Fiebre, decaimiento, Ocasionalmente muerte	Limpieza de las ubres y maquinaria de ordeño, del medio y de las manos de los ordeñadores, Usar toallas limpias. Ordeñar a las vacas infectadas al final de la ordeña	Disminución en la producción de leche. Pérdidas económicas.	Es de un peligro Significativo, por su posible contagio al ser humano, provocando diversas enfermedades que deterioran la salud
BRUCELOSIS					
Bovinos Humanos Perros Equinos Porcinos Ovinos	<i>Brucella:</i> <i>B. abortus</i> <i>B. bovis</i> <i>B. melitensis</i> <i>B. Suis</i> <i>B. ovis</i>	En hembras: infertilidad, Aborto o productos débiles o muertos y menor producción de leche En machos: epididimitis, orquitis e infertilidad En el hombre: fiebre ondulante y de malta.	Vacunas Brucella cepa 19 Aislamiento de los animales infectados	Pérdidas económicas por: - Decomisos - Baja en la producción de leche - Abortos	Causa en el hombre fiebre ondulante y de malta, la etapa crónica puede producir infertilidad.
TUBERCULOSIS					
Vacas Ovinos Cerdos equinos Hombre Aves	<i>Mycobacterium tuberculosis.</i> <i>M. bovis</i> <i>M. avium</i> <i>M. microti</i>	Enfermedad crónica respiratoria, con lesiones en ganglios linfáticos y pulmones (tubérculos caseificados) Produce fiebre, emaciación, tos crónica y neumonía.	Detección de animales infectados, control del movimiento de estos animales, vigilancia en mataderos	Pérdidas económicas, decomisos, certificación obligatoria para movilización de animales	Consecuencias Económicas para la población ya que es una zoonosis.

SALMONELOSIS					
Aves Bovinos Cerdos Caballos Ovejas y cabras Hombre	<i>S. gallinarum</i> <i>S. pullorum</i> <i>S. typhimurium</i>	Molestia abdominal, gastroenteritis, diarrea, blanca, palidez de cabeza y cresta, septicemia, baja producción de huevo, shock y muerte	Vacunación específica contra el serovar (difícil). Las aves que sobreviven son portadoras	Pérdidas económicas, por muerte o contaminación en la granja.	Es común en las personas, ya que se ingieren carnes Y huevos contaminados. Produce la Fiebre tifoidea

5.2 ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS

Los hongos producen multitud de enfermedades graves en los animales, el *Aspergillus* puede causar necrosis en los pulmones, en el sistema nervioso y en otros órganos. Estos hongos pueden generar también productos tóxicos en los componentes de los alimentos, causando una micotoxicosis en los animales que los ingieran. La *Candida albicans*, puede causar la muerte a los pavos, a la perdiz nival, a los colibríes y a otros animales. Los hongos dermatofitos afectan a la piel de los animales y del ser humano. Los hongos transportados por el aire, como el *Coccidioides immitis* y el *Histoplasma capsulatum*, producen enfermedades pulmonares o generalizadas tanto en los animales como en las personas (Microsoft Encarta, 2009).

Algunas enfermedades producidas por hongos en los rumiantes son (García, 2000):

Mastitis fúngica. Recientemente se han descrito varios brotes graves de mastitis aspergilar con el resultado de un número importante de bajas como consecuencia de una generalización del proceso por diseminación del agente etiológico.

Criptococosis. Cursa en forma de cuadros pulmonares graves. Es posible que en un gran número de casos el diagnóstico se ha confundido con otras alteraciones, con lo que su incidencia real podría ser mucho mayor.

5.3 ENFERMEDADES VÍRICAS

Los agentes víricos son innumerables, y producen anemia infecciosa equina, la enfermedad de Newcastle, el cólera porcino, la viruela aviar, la rabia, el moquillo, la encefalitis, y muchas otras. Varios agentes víricos causan la formación de tumores en las aves domésticas, el llamado complejo leucémico, que produce enormes pérdidas económicas. Los virus de la gripe producen graves problemas en los cerdos, caballos y aves.

Algunos virus se propagan de madre a hijos a través de la placenta o el huevo, y presentan formas muy resistentes capaces de sobrevivir en el polvo. Otros virus requieren un contacto íntimo para su transmisión, y los hay que se transmiten a través de la picadura de artrópodos. Los virus no se limitan siempre a una sola especie de animales o a un único tejido u órgano. Por otra parte, la gravedad de algunas enfermedades puede ser mucho mayor en una especie o un tipo de tejido determinados. (Microsoft Encarta, 2009)

5.4 ENFERMEDADES PARASITARIAS

Los parásitos, que atacan a todos los animales, varían en tamaño, desde protozoos diminutos, hasta gusanos renales de un metro de longitud.

Ejemplos de enfermedades protozoarias son las coccidiosis, de gran importancia económica, y que afectan por lo general al intestino de los animales, como los conejos que son susceptibles a la coccidiosis hepática y los gansos a la coccidiosis renal; las malarias, infecciones transmitidas por artrópodos y causadas por los protozoos *Plasmodium*, *Leukocytozoon* o *Haemoproteus*, que afectan a los animales salvajes y a los de los zoológicos; las infecciones por flagelados, como la tricomoniasis, producida por el *Trichomonas gallinae* en las aves, o por el *T. fetus* en el ganado vacuno; y la tripanosomiasis, también conocida como nagana, surra, y durina, producida por flagelados relacionados con el agente productor de la enfermedad del sueño africana.

Los gusanos llamados helmintos forman un grupo grande y heterogéneo de parásitos que incluye a los gusanos cilíndricos (nematodos), la duela parásita (trematodo), las tenias (cestodos), los gusanos de cabeza espinosa (acantocéfalos), y los gusanos en forma de lengua (linguatúlidos).

Las formas larvarias de los gusanos cilíndricos producen considerables daños en los pulmones y otros órganos de algunos animales. Los gusanos *Capillaria* pueden atacar el revestimiento del tracto digestivo.

Los adultos del *Strongylus vulgaris* producen obstrucciones arteriales, con los consecuentes trastornos digestivos e incluso parálisis.

Las tenias, que en forma adulta suelen encontrarse en el intestino de los animales, presentan a menudo fases larvarias muy dañinas en los tejidos corporales de huéspedes secundarios. Las formas larvarias de la tenia canina forma grandes quistes en el hígado, los pulmones y otros órganos humanos y animales; la enfermedad recibe el nombre de equinococosis.

Las duelas, que tienen varios huéspedes en un ciclo vital complejo, pueden ser muy dañinas en sí mismas, como ocurre con las duelas hepáticas que afectan al ganado ovino, bovino y caprino; o pueden actuar como transmisores de otras enfermedades, como es el caso de las duelas que acarrean un agente infeccioso para los perros, que lo contraen de salmones o truchas infestadas. La urticaria del nadador en el ser humano se debe a la acción, en determinadas fases del desarrollo de las duelas que afectan a las aves acuáticas.

Los gusanos de cabeza espinosa (acantocéfalos), equipada con multitud de ganchos sólidos, la clavan en la pared intestinal. Son comunes en el petirrojo y otras aves.

Los linguatúlidos tienen un ciclo vital complejo, y atraviesan varias fases, una de ellas ocurre en los órganos internos de un huésped; después pasan a la fase adulta en las vías respiratorias de un huésped de otra especie.

Los artrópodos, que suelen ser parásitos externos, tienen algunas especies en las que todas o algunas de las fases se desarrollan en el interior del cuerpo del huésped. Producen daños a los animales al alimentarse de sus tejidos, generando sustancias tóxicas y sustancias sensibilizadoras y transmitiendo agentes patógenos.

Dentro de los artrópodos algunos insectos en su fase adulta son hematófagos, por ejemplo, mosquitos, cínifes, algunas moscas, pulgas, y piojos; otros son hematófagos en su fase larvaria; y los hay que se alimentan de tejidos, incluyendo las larvas de algunas moscas y algunos piojos. Las larvas de especies como el moscardón del buey producen graves daños en los tejidos y la piel del ganado, ya que migran a través de los tejidos y, tras perforar orificios en la piel para respirar, pasan a la fase de pupa. Los dípteros hematófagos transmiten a menudo protozoos a la sangre y arbovirus. En algunos casos una mosca áptera que ataca a las ovejas suele ser confundida con una garrapata.

Los piojos son de dos tipos, los que tienen mandíbulas masticadoras y los que tienen mandíbulas chupadoras. Son causa de irritación, transmiten agentes patógenos, y pueden producir anemia.

Todas las pulgas son hematófagas. Pueden transmitir tenias en fase larvaria, filarias y otros agentes patógenos. Hay una pulga capaz de matar a las aves jóvenes por un exceso de absorción de sangre.

Entre los arácnidos parásitos se incluyen los ácaros y garrapatas. Los ácaros pueden ser hematófagos externos, como el ácaro rojo de las aves, que afecta también al hombre y otros animales; también pueden ser parásitos internos, como el *Sternostoma*, que afectan a los pulmones y las vías respiratorias de los canarios y otras aves. Las garrapatas, de mayor tamaño que los ácaros, chupan sangre y transmiten agentes patógenos como protozoos, virus y bacterias. Las garrapatas pueden tener varios huéspedes en su ciclo vital (Microsoft Encarta, 2009).

5.6 FACTORES AMBIENTALES

El calor es un factor muy importante, en especial en los animales jóvenes cuyo pelaje o mecanismos fisiológicos protectores, no se han desarrollado aún. El enfriamiento o el exceso de calor pueden producir la muerte; en los machos puede producirse esterilidad por un aumento excesivo de la temperatura ambiental. La electricidad, en forma de rayos o de descargas inhibitorias de los mecanismos de retroalimentación celular, es siempre un riesgo para los animales. La radiación de alta frecuencia también es origen de graves problemas. Los animales poco pigmentados pueden sufrir daños por los rayos ultravioleta, e incluso las ondas de radar, a corta distancia, pueden matarlos. Los rayos X y la radiación atómica pueden dañar los tejidos formadores de la sangre, las células reproductoras y otros tejidos. Las heridas físicas habituales debidas a objetos u otros animales son siempre motivo de preocupación ya que pueden llevar a una infección bacteriana.

Las plantas venenosas pueden causar pérdidas graves, sobre todo en determinados lugares o en determinadas temporadas, como a comienzos de la primavera, cuando todavía no hay plantas de forraje disponibles. Algunas plantas sólo son venenosas en ciertas épocas, por ejemplo, el sorgo sudanés, que sólo es venenoso cuando está marchito o congelado. Otras plantas, como la dragontea, son siempre venenosas.

Los pesticidas, insecticidas, herbicidas, fungicidas y otras sustancias empleadas en el control de plagas y el control de malas hierbas producen enfermedades y la muerte si no se usan de forma apropiada. No obstante se culpa a los pesticidas de ser la causa de muertes de animales que en realidad se deben a enfermedades víricas o bacterianas no detectadas.

El uso excesivo o indebido de algunos fármacos causa la muerte a muchos animales. También los antibióticos de amplio espectro son letales en el alimento de los cobayas y un exceso de sal puede matar a los cerdos y los pollos.

El agua es esencial para la mayoría de las funciones corporales. La sobrealimentación, en especial cuando se trata de alimentos poco frecuentes en la dieta convencional, produce trastornos digestivos. Un animal sufrirá inanición si no dispone de alimento o si es dominado socialmente por otros animales.

Los requerimientos nutritivos y la complejidad de los animales, a pesar de muchos años de intensas investigaciones, siguen siendo poco conocidos. Cada especie, al igual que cada raza o variedad dentro de una especie, tiene diferentes necesidades. Un cachorro de dogo alemán o Gran danés, por ejemplo, sufriría raquitismo si fuera alimentado con una dieta propia de un cachorro de terrier. Las crías de faisanes y pavos requieren muchas más proteínas que los pollos. Ciertos piensos, o alimentos para animales, pueden predisponerlos a determinadas enfermedades. Por ejemplo, los colibríes desarrollan candidiasis cuando se les alimenta con miel, pero no cuando se les alimenta con jarabe de sacarosa. Los alimentos pueden contener también antivitaminas, que producen enfermedades por carencia de éstas (Microsoft Encarta, 2009).

5.7 ENFERMEDADES EN EL GANADO OVINO

5.7.1 Generalidades

Las enfermedades en el ganado ovino son muchas y muy variadas aunque las más comunes se producen por la presencia de bacterias coliformes causadas por variedades de *Escherichia coli* (*E. coli*), las infecciones pueden ser agudas, con una alta mortalidad cuando se trata de septicemias, o tratarse de infecciones crónicas que no acaban con la vida de los animales pero la mantienen en un estado precario y como vector contaminante para sus compañeros de recinto (Yamasaki, 2004).

Los diferentes mecanismos de los que disponen las bacterias patógenas son: la presencia de sustancias en sus cubiertas celulares (cápsula o pared celular) que dificultan la actividad de las células fagocíticas protectoras del animal o bien, que después de ser fagocitados les confieren resistencia a ser degradados, la presencia de toda clase de adhesinas como fimbrias o compuestos de sus paredes celulares como los ácidos lipoteicoicos, la presencia de endotoxinas propias de bacterias Gram negativas o la excreción de exotoxinas tanto por bacterias Gram positivas como Gram negativas, la excreción de enzimas extracelulares, entre otros, que les permitirán invadir y establecerse por organotropismo en las principales especies animales de interés zootécnico, provocándoles cuadros clínicos de diferente naturaleza (Yamasaki, 2004).

Las infecciones respiratorias de las ovejas aparecen como diferentes síndromes clínicos. Las infecciones suaves, agudas son generalmente debido al virus de la parainfluenza 3 (PI3). Un problema respiratorio suave pero crónico en el primer año de los corderos probablemente es causado por *Mycoplasma ovipneumoniae* probablemente en asociación con *Pasteurella* y PI3. La pulmonía bacteriana aguda resulta generalmente de la infección con *Pasteurella* del biotipo A. La infección con PI3 puede iniciar la invasión por *Pasteurella*. La infección por *Bordetella parapertussis* también se ha implicado. Los serotipos del biotipo T *M. haemolytica* (*Mannheimia haemolytica*) causan una septicemia aguda. Las prácticas de gestión agotadoras pueden ser un factor de predisposición (Martín, 1996).

Se destaca también la importancia en salud pública de algunos géneros bacterianos que provocan auténticas zoonosis, por lo que merecen especial atención.

A veces, las enfermedades pueden ser evitadas si se usan medidas de control preventivo y se hacen los tratamientos en su oportunidad. Un productor de ovinos debe conocer bien las enfermedades que puede tener su ganado. Así podrá prevenir esas enfermedades. Recuerde que prevenir es mejor que curar (Ameghino, 2000).

5.7.2 Epididimitis Infecciosa

La epididimitis ovina contagiosa se define como una infección de los testículos y el epidídimo en los carneros se considera una enfermedad económicamente importante, por sus efectos adversos sobre la fertilidad. Esta condición puede ocurrir en fases agudas, subagudas y crónicas y es clínicamente detectada cuando el testículo se degenera y atrofia como se observa en la Figura 1, resultando en subfertilidad o esterilidad. La epididimitis ovina produce daños en animales jóvenes y adultos, causando importantes pérdidas a la industria del ganado ovino. Esta enfermedad es un grave problema reproductivo, con notables alteraciones patológicas del tracto genital.

La difusión de la enfermedad entre carneros infectados y no infectados, como resultado del contacto directo entre animales fue demostrado por Buddle en 1955. También fue demostrada la transmisión de carneros infectados a ovejas preñadas y de un carnero sano luego de mantener un contacto sexual con una oveja sana que había sido montada previamente por un carnero infectado (Robles, 1998).

Entre los agentes etiológicos de la epididimitis existen varias especies bacterianas, como *B. ovis*, *A. seminis*, *Mannheimia haemolytica* (*Pasteurella haemolytica*), *P. multocida* y *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*). La ruta de entrada es comúnmente una herida en la mucosa genital; sin embargo, la ruta del *A. seminis* no ha sido investigada adecuadamente.

Esta patología se establece cuando los borregos alcanzan la madurez sexual, pero por ser una condición irreversible, también se diagnostica en carneros adultos. La patogenia de la epididimitis es incierta; Jansen sugiere que *A. seminis* es un microorganismo oportunista presente en la cavidad prepucial, capaz de colonizar las partes profundas del tracto genital, provocando epididimitis en los animales jóvenes más vigorosos y de mayor velocidad de crecimiento. Se ha sugerido que la lesión traumática del epidídimo, la subsiguiente liberación de histamina y la colección de pequeñas cantidades de fluidos ricos en proteínas, favorece la colonización por estos microorganismos. Estos traumatismos pueden causar la ruptura del conducto epididimal, iniciando la formación de granulomas espermáticos mediados por condiciones autoinmunes sin presencia de bacterias.

Se ha propuesto la participación de factores hormonales en la migración de los microorganismos desde la mucosa peniana hasta el epidídimo y el testículo, considerando los cambios que ocurren en el aparato reproductor durante la pubertad, especialmente en las células del epitelio epididimal. (Acosta, 2006)

Los informes acerca de la epididimitis causada por *A. seminis* son escasos. El primer aislamiento que se informó fue en Australia en 1960 por Baynes y Simmons, quienes describieron la epididimitis supurativa causada por un microorganismo Gram negativo pleomórfico en un carnero.

En 1968 Baynes y Simmons informaron que habían aislado un microorganismo de 3 carneros con epididimitis. El mismo año, en Nueva Zelanda, *A. seminis* fue aislado de un carnero con epididimitis y poliartritis. En México, el primer caso de epididimitis producido por *A. seminis* en animales importados de Nueva Zelanda, se informó en 1979. En 1988, Healey et al informaron que habían separado proteínas de cepas tanto de *A. seminis* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, aislados de carneros con epididimitis.

Las proteínas de los 2 aislamientos tuvieron un peso molecular semejante. Sin embargo, otras cepas identificadas como *Actinobacillus* spp. presentan diferentes perfiles proteicos, lo que condujo a la conclusión de que los diversos miembros del género *Actinobacillus* probablemente pueden ser aislados de carneros con epididimitis. (Núñez et al., 2006)

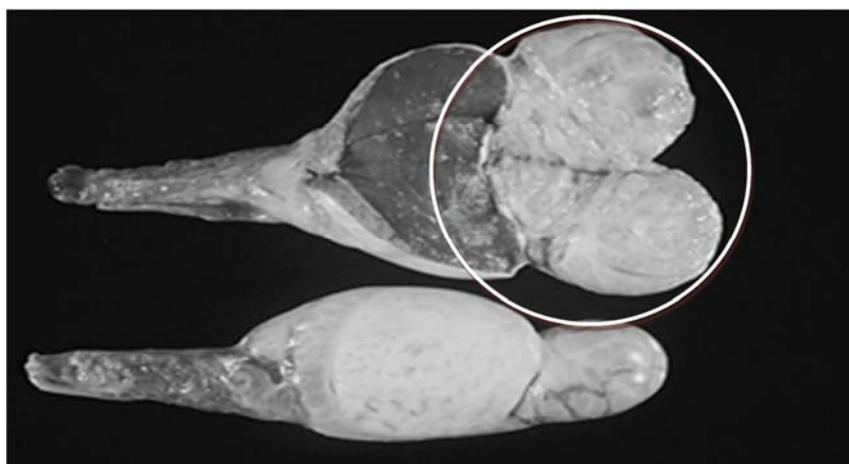


Figura 1. Epididimitis contagiosa del carnero: Inflamación del epidídimo y atrofia testicular
(<http://www.asmexcriadoresdeovinos.org>)

5.7.3 Características del Género *Brucella*

GÉNERO: *Brucella*.

Características generales: Son cocobacilos Gram negativos que miden 0.5-0.7 mm, no tienen agrupación específica, aerobios estrictos o microaerofílicos, no móviles, no forman esporas.

Características de *Brucella ovis*: Es un cocobacilo Gram negativo, no encapsulado que mide entre 0.7µm a 1.2 µm de largo por 0.5µm a 0.7 µm de ancho. Se tiñe de rojo con la coloración de Ziehl Neelsen modificada (Stamp et al., 1950) y se tiñe de azul con la coloración de Koster modificada (Buddle et al., 1953). Crece bien en medios basales como el tripticasa-soya, agar sangre y agar columbia, enriquecidos con 7% de suero o sangre desfibrinada en una atmósfera con un 10% a 20% de CO₂ y hasta el presente hay una sola biovariedad descrita para *B. ovis*. (Blasco, 1990)

Al igual que las otras brucellas, entra al organismo a través de las membranas mucosas. Sin embargo no está completamente claro cuál sería la principal ruta de entrada en condiciones naturales (Bulgin, 1990)

Especies importantes: *B. abortus* (9 biotipos), *B. mellitensis* (3 biotipos), *B. suis* (4 biotipos), *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*.

Hábitat: Parásitos del tracto genital, glándula mamaria y sistema retículo endotelial de animales portadores.

Factores de virulencia: LPS, resistencia a la fagocitosis (intracelulares facultativos).

Enfermedades producidas en animales: *B. abortus*: Abortos principalmente en bovinos, mal de cruz en equinos (asociados a *Actinomyces*), *B. melitensis*: Abortos en ovinos y caprinos principalmente, *B. suis*: Infertilidad y abortos en cerdos, *B. ovis*: Epididimitis e infertilidad en ovinos, *B. canis*: Abortos en perros.

Medios de cultivo y pruebas bioquímicas importantes: Agar triptosa o Agar Brucella. Algunos biotipos requieren la adición de suero y 5-10% de CO₂, el crecimiento es lento 2-5 días, la diferenciación de especies y biotipos se realiza mediante pruebas bioquímicas, inhibición por colorantes, pruebas de aglutinación con sueros monoespecíficos anti “A” y “M” y fagotipificación.

Pruebas complementarias de identificación: Inmunofluorescencia. Fagotipificación. ELISA. Aglutinación con sueros monoespecíficos A y M (Yamasaki, 2004).

5.7.4 Características del Género *Actinobacillus*

GÉNERO: *Actinobacillus*.

Características generales: Son bacilos pleomórficos Gram negativos, facultativos, no móviles.

Características de *Actinobacillus seminis*: Es una bacteria gram negativa de la familia *Pasteurellaceae* que está involucrada en la epididimitis ovina. Son coccobacillus 1×1 a $1.4 \mu\text{m}$, pleomórficos gram-negativos, el *A. seminis* se encuentra en cadenas o palizadas. Es inmóvil y no esporulado. Es anaerobio facultativo y tiene un metabolismo fermentativo; su crecimiento óptimo es en medios con un 10% de CO₂ a 37°C en medios enriquecidos con sangre o suero, produce pequeñas colonias después de 24 horas y colonias grandes y blancas (1 a 2 mm de diámetro) después de 48 hrs. (Núñez, 2005).

También es una bacteria reductora de nitratos, productora de catalasa y ácido sin la presencia de gas después de la fermentación de la glucosa, fructosa, arabinosa y xilosa y no reduce la urea o el indol. Este organismo es parte de la microflora normal de las mucosas de las membranas de las cavidades nasales y del hocico, el prepucio y el pene de la oveja en la pubertad, y es así como invade la mucosa de las membranas del pene durante este periodo para causar epididimitis que puede progresar hasta orquitis la cual puede resultar en infertilidad irreversible (Mbai, 1996).

Especies importantes: *A. lignieresii*, *A. suis*, *A. equuli*, *A. seminis*.

Hábitat: Parásitos del tracto respiratorio, gastrointestinal y genital de animales y hombre.

Factores de virulencia: Indefinidos.

Enfermedades producidas en animales: *A. lignieresii*: “lengua de madera” y abscesos en otros tejidos blandos en bovinos, abscesos en piel, pulmones, testículos y glándula mamaria en ovinos. *A. equuli*: Septicemia en potros, nefritis y artritis en potros y lechones, endocarditis, meningitis, metritis y abortos en equinos y porcinos adultos. *A. suis*: Septicemia, neumonía y artritis en cerdos. *A. seminis*: Orquitis y epididimitis en carneros.

Medios de cultivo y pruebas bioquímicas importantes: Agar sangre: colonias generalmente duras y enterradas en la superficie del agar. (Yamasaki, 2004)

A. seminis ha sido aislado en casos de epididmitis y a partir de muestras de semen en Australia, Nueva Zelanda, Estados Unidos de Norte América, México, Reino Unido y más recientemente en España (Acosta, 2006).

5.8 CONTROL DE ESTAS ENFERMEDADES

En el pasado, los programas gubernamentales han llegado a erradicar enfermedades devastadoras como la durina. La durina es una enfermedad contagiosa aguda o crónica de los solípedos de cría que se transmite directamente de animal a animal durante el coito. El organismo causante es *Trypanosoma equiperdum* y la melioidosis equina, así como la pleuroneumonía y la glosopeda vacuna, y han conseguido controlar enfermedades como la brucelosis y el cólera porcino. Las medidas de control que se practican en los programas actuales implican la cuarentena de los animales importados, la cooperación entre organismos para el control y estudio de las enfermedades de los animales, la inspección de las carnes rojas y de ave para minimizar el contagio de enfermedades de los animales al ser humano, y la inspección y evaluación de vacunas y otros productos farmacéuticos y biológicos en lo referente a su pureza, eficacia y seguridad. Las universidades y otros centros de investigación realizan estudios sobre las múltiples enfermedades que afectan a todo tipo de animales (Microsoft Encarta, 2009).

La eficacia contra nuevas y establecidas infecciones ofrece una variedad de opciones de control. La alta naturaleza contagiosa de la enfermedad y las dificultades prácticas para satisfacer las medidas de control, requieren que la vigilancia sea mantenida para aliviar las pérdidas que pueden resultar de la enfermedad.

La aplicación de formulaciones de liberación controlada para las ovejas ofrece una útil adición a las opciones de tratamiento y control (Forbes, 1999).

5.9 MEDICAMENTOS VETERINARIOS

Los medicamentos veterinarios en su mayoría son productos de liberación convencional, aunque en la actualidad son más los fármacos que se formulan en presentaciones de liberación modificada. Las presentaciones comerciales incluyen parasiticidas, fungicidas, vacunas, suplementos alimenticios, hormonas de crecimiento, fertilidad y reguladores del estro. Los productos de liberación modificada incluyen bolos ruminales, liberación parenteral y liberación tópica (English et al., 1999).

Los bolos intraruminales son usados principalmente para la liberación de suplementos alimenticios y parasiticidas. La liberación parenteral es la administración preferida para productos hormonales, algunos parasiticidas y antibióticos. La liberación tópica es usada principalmente para pesticidas y ectoparasiticidas. Para ello se emplean principalmente los aretes y collares moldeados o extruidos. Las vacunas son las formas más usadas para la inmunización de los animales mediante antígenos administrados en diversas formas (Ruiz, 2009).

A la fecha, la mayoría de los compuestos veterinarios comienzan a apuntar a la liberación modificada que incluyan antibióticos, agentes anti parasíticos, hormonas para la sincronización del estro, esteroides para el control de la fertilidad y promotores del crecimiento.

Estos compuestos están siendo formulados exitosamente en tecnologías que incluyen:

Sistemas de implantes subcutáneos, como implantes de oreja para la liberación de hormonas.

Sistemas veterinarios terapéuticos implantables que pueden liberarse durante un patrón pulsátil de orden cero (ej. antibióticos, promotores del crecimiento, somatotropin y parasiticidas).

Micro esferas y micro cápsulas para la inyección directa de drogas en el sitio de acción (ej. los empalmes equinos o la administración intramamaria en el tratamiento de mastitis bovina)

Formulaciones de liberación controlada de inyectables a base de aceites (ej. oxytetraciclina)

Formulaciones a base de aceite que son adicionadas directamente en la piel y que pueden liberar drogas por un mes (ej. productos anti parasíticos para uso en animales de compañía)

Etiquetas identificadores de animales (crotal) y collares para controlar moscas y ectoparásitos en ganado y animales de compañía, respectivamente. En ambos casos, los agentes activos son liberados sobre varios meses y son viables sobre toda la superficie del cuerpo por los movimientos normales de los animales.

Insertos oftálmicos que liberen los fármacos directamente en los ojos, incluyendo agentes antiglaucoma, drogas antibacteriales, compuestos antiinflamatorios y agentes midriáticos.

Dispositivos tópicos orales que se aplican directamente a la mucosa oral y se utilizan para prevenir o para tratar gingivitis y enfermedades periodontales en perros (Rathbone, 2002).

6 FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA INNOVADORAS DE UTILIDAD PARA VACUNAS

6.1 INTRODUCCIÓN

Una de las razones para desarrollar medicamentos de liberación modificada para el campo veterinario es la eficacia por largo tiempo, así como la minimización de la manipulación de animales y la reducción del estrés por una re administración, disminuyendo también el costo y tiempo gastado para el usuario final.

En la mayoría de los casos la duración de la acción del fármaco deberá estar diseñada dentro del concepto de liberación modificada y deberá tener un efecto por varios días, o por meses para cubrir una sesión entera como lo requiere el caso de pulgas y/o garrapatas para animales de compañía y animales de producción.

Las características fisiológicas de las diferentes zonas en las que puede haber liberación modificada difieren sustancialmente entre las especies. Las diferencias que existen en la piel de las distintas especies animales (espesor, composición, número de folículos capilares, etc.) pueden influenciar el diseño de preparaciones transdérmicas, donde el mecanismo de absorción es distinto. La variedad anatómica entre especies también puede influenciar el diseño del sistema de liberación como lo observado entre rumiantes y animales monogástricos (Rathbone et al., 1999).

El tamaño físico de un sistema de liberación para animales (particularmente animales de granja) puede ser mayor con respecto a los destinados para humanos. En animales la geometría es mayor, ya que en varios de los casos por motivos de peso se requieren grandes dosis para producir el efecto terapéutico deseado. Sin embargo varía el tamaño en las diferentes especies, no es lo mismo un bovino que un gato. La geometría de los sistemas de liberación es determinada por los dispositivos de administración, como los tirabolos, los aplicadores intravaginales, los implantadores, etc (Rathbone et al., 1999).

En los productos veterinarios los medios de administración deben ser considerados cuidadosamente, y formar parte del proceso de desarrollo del producto. Los aspectos de seguridad y de fácil empleo se pueden cubrir pero deberán tomarse diversas consideraciones adicionales:

- a) Idear cómo será administrado el sistema de liberación modificada.
- b) Garantizar la seguridad para la persona que administre a decenas de animales, a diversos intervalos de tiempo.
- c) Considerar si los dispositivos son fáciles de usar y si provocan alguna alteración en la salud del animal a causa de repetidas administraciones.
- d) Dar entrenamiento a personal sin experiencia previa, para que pueda realizar el proceso sin mayor problema.
- e) En el caso de ser posible lograr la estandarización de aditamentos o accesorios empleados en la administración del producto.
- f) Brindar en caso de ser necesario, un manual para el manejo de animales en momentos previos y durante la administración del producto, en el que se describan además los cuidados del producto.
- g) Lograr que el empaque en el que es presentado el medicamento resista varias condiciones del ámbito (condiciones extremas de humedad, manejo accidentado) a las que puede estar sujeto (plástico vs. vidrio).
- h) Lograr que los dispositivos de administración sean eficientes operativamente durante muchos años (incrementar la expectativa de vida de los dispositivos de administración).

Las características anatómicas y fisiológicas en el estómago de los rumiantes son relativamente complejas, por eso la administración de medicamentos es un desafío, que involucra mayor gasto de tiempo y costos, porque se tiene la necesidad de colocar a los rebaños en lugares que permitan la administración de los medicamentos. Entonces, es indispensable reducir el manejo de los animales durante las administraciones de fármacos lo que provee una de las más grandes oportunidades de aplicación de la tecnología de liberación modificada para la salud y producción de animales (Rathbone et al., 1999).

6.2 LIBERACIÓN MODIFICADA

La liberación modificada de fármacos es una tecnología relativamente nueva que ha sido desarrollada utilizando sistemas de liberación capaces de extender la liberación de fármacos así como la retención del mismo en el estómago o en otras cavidades del cuerpo, utilizando la bioadhesión y otras estrategias; no sólo para controlar los rangos de liberación, sino también el sitio en donde se desea que se lleve a cabo la liberación.

Los sistemas modernos de liberación modificada son capaces de producir sistemas en donde la liberación no es en gran medida influenciada por el ambiente del estómago. Los sistemas orales de liberación modificada son usualmente hechos de polímeros y los mecanismos de liberación generalmente son regulados por difusión, bioadhesión, degradación e hinchamiento o la generación de presión osmótica (Carino, 1999).

6.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS SISTEMAS ORALES DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE FÁRMACOS

Los sistemas orales de liberación modificada de fármacos presentan grandes ventajas como lo son: disminución en las fluctuaciones de concentraciones séricas del fármaco, mantienen concentraciones terapéuticas de forma estable por largos periodos, reducción en la cantidad de fármaco empleado para la elaboración de estos dispositivos y por consecuencia, una disminución en la toxicidad provocada por el fármaco. De igual forma se logra una disminución en la frecuencia de dosificación para el paciente y se evita el olvido en dosificaciones futuras.

Por otro lado, para que un sistema oral de liberación modificada comience a liberar el fármaco se requiere de tiempo para que el fármaco se encuentre dentro de concentraciones terapéuticas en sangre; esto puede representar una desventaja en este tipo de sistemas para el tratamiento de padecimientos en los cuales se requiera de un efecto terapéutico inmediato. El tratamiento de enfermedades crónicas requiere tratamientos prolongados; con la administración de estos dispositivos se puede observar que la concentración del fármaco en sangre puede acumularse y presentar niveles tóxicos; también puede ocurrir que las concentraciones alcanzadas por el fármaco en sangre se encuentren por debajo de las necesarias para observar el efecto terapéutico. Pero la principal desventaja para el paciente es que por lo general este tipo de formas farmacéuticas son de elevado costo.

Los medicamentos de liberación modificada pueden ser tomados solo una vez por día o por un intervalo de tiempo mayor. Esto es conveniente porque es más complicado tomar el medicamento tres o más veces al día. Sin embargo, no todos los fármacos son susceptibles para ser formulados en sistemas de liberación modificada, algunas de las propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas que deben cumplir son: tiempos de vida media muy cortos o muy largos, biotransformación significativa (gran efecto de primer paso), pobre absorción en el TGI, baja solubilidad, y concentraciones de fármacos por debajo de los efectos terapéuticos (Malinowski et al., 1999).

6.4 FACTORES QUE INFLUENCIAN EL DESARROLLO DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA EN ANIMALES

La liberación modificada para animales puede ser convenientemente dividida en dos amplias categorías que son: sistemas de liberación para animales de producción y sistemas para animales de compañía. Los animales de producción comprenden a los bovinos, ovinos, caprinos, suinos y aves ya que sus productos son destinados para el consumo humano. Como animales de compañía son considerados principalmente los perros, los gatos y los caballos. Aunque algunas otras especies de aves, los reptiles, los roedores y algunos mustélidos son clasificados como animales exóticos. Estas últimas especies representan solamente una pequeña porción del comercio de animales de compañía. Los sistemas de liberación que son desarrollados para las especies más conocidas o populares (perros y gatos) son los más comunes, mientras que las especies exóticas carecerán de dichos sistemas porque comercialmente no son tan comunes o usuales, pero también es un hecho que no garantizará el desarrollo de productos especializados para su cuidado.

Los más altos rendimientos de dólares en ventas de mercado dentro del campo de la veterinaria están en las áreas de antibióticos y endoparasiticidas, cada uno por más de \$500 millones de dólares solo en el año de 1997. Los productos biológicos son los que le siguen en proporción, con una ganancia muy cercana a \$500 millones de dólares. Esta categoría comprende a las vacunas para todas las especies. Los insecticidas y parasiticidas son la categoría de medicamentos más amplia, mientras que los hormonales y la categoría de nutricionales y vitamínicos son la proporción más remunerada del mercado (Rathbone et al., 1999).

6.5 FABRICACIÓN DE DISPOSITIVOS DE LIBERACIÓN MODIFICADA

La elaboración de medicamentos de liberación modificada puede ser definida como “el procesamiento de un agente bioactivo dentro de un producto terminado”. La liberación modificada puede ser una liberación continua, extendida, retardada, pulsátil o disparada. El agente bioactivo puede ser un fármaco para uso humano o veterinario, agente cosmético y agente biocida (incluyendo pesticidas, herbicidas, fungicidas y parasiticidas). El material usado para “secuestrar” y subsecuentemente liberar el agente activo es típicamente polimérico, sin embargo, otros materiales como ceras y grasas, también son empleados. Son varios los factores fisicoquímicos que controlan la liberación de agentes bioactivos en el paciente (English et al., 1999):

- a) pH local del sitio de llegada.
- b) Naturaleza hidrofílica o hidrofóbica del agente bioactivo.
- c) Solubilidad del activo en el ambiente local.
- d) Solubilidad del activo en la matriz de liberación.
- e) Permeabilidad del agua a la matriz de liberación.
- f) Permeabilidad de principio activo a través de la matriz de liberación.

g) Bioestabilidad de la matriz de liberación.

Las áreas más activas para el desarrollo, promoción, producción y ventas de productos de liberación modificada son la de medicamentos humanos, veterinarios, cosméticos y productos agrícolas.

En el área de medicamentos humanos, la liberación modificada comenzó con el empleo de recubrimientos de ceras, los cuales prolongaban la liberación de fármacos tomados por vía oral. La combinación de varios minipellets muy pequeños con variaciones en la solubilidad recubiertos por una cápsula de gelatina, dio como resultado la primera formulación en frío de liberación modificada.

Al paso del tiempo varios polímeros entéricos han sido desarrollados, éstos son insolubles en ambientes de bajo pH, pero se hinchan o disuelven en ambientes de pH elevados. Recubrir un fármaco con un polímero entérico, lo protegerá del pH del estómago mientras el comprimido pasa a otro lugar con un pH mayor para comenzar a liberarse, como lo podría ser el ambiente intestinal. Otros fármacos que no son convenientes para liberación oral y que con frecuencia se tienen que recubrir, son aquellos que poseen un mal sabor, olor o apariencia física. Por lo tanto el recubrimiento del comprimido enmascara este tipo de propiedades organolépticas y a su vez se obtiene el beneficio de la liberación modificada.

El ambiente químico del TGI es muy severo, el pH varía desde los valores más bajos de 0.9 a 1.5 en el estómago a los altos de 8.1 a 9.3 en el intestino. Una gran variedad de entidades químicas adversas, como son los jugos digestivos y enzimas están presentes en distintas concentraciones a través de todo el TGI. Estas entidades pueden o no reaccionar para desnaturalizar, inactivar o destruir algunos fármacos.

Muchos desarrollos de medicamentos han sido enfocados en la protección del fármaco a través de todo el TGI, para que éste llegue al sitio de acción, pueda absorberse y prolongue su estancia, mientras el fármaco comienza a liberarse. Existen productos muy elaborados que combinan varias tecnologías como el recubrimiento entérico, tamaño de partícula y bioadhesión para la liberación de fármacos hacia áreas dirigidas del TGI (English, et al., 1999).

6.6 BIOMATERIALES

6.6.1 Introducción

El término biomaterial engloba todos los materiales introducidos en los tejidos corporales con propósitos terapéuticos específicos, de diagnóstico, o con propósitos preventivos. Estos materiales deben ser *biocompatibles*, lo que significa que no deben causar ninguna respuesta adversa significativa del medio fisiológico que dañe el biomaterial; tras la interacción con los tejidos y fluidos corporales, deben *biodegradarse* en componentes no tóxicos, tanto química como físicamente, o por una combinación de ambas. Otros términos intercambiables para la biodegradación son la *bioerosión* y la *bioabsorción* (Sáez et al., 2004).

6.6.2 Modo de Acción de los Biomateriales

La *degradación heterogénea* ocurre en la superficie del material que está en contacto con el medio fisiológico. En este caso, la velocidad de degradación es constante y el material no degradado mantiene su integridad química durante el proceso.

La *degradación homogénea* supone un deterioro aleatorio en toda la masa de la matriz polimérica. Mientras el peso molecular del polímero decrece de forma continua, el material puede mantener su forma original y retener masa hasta que el polímero ha experimentado una considerable degradación (más del 90%), y alcanza un peso molecular crítico, en ese momento, comienza la solubilización y pérdida de masa (Sáez et al., 2004).

En la tabla 2 se mencionan los diferentes tipos de cubierta, la forma farmacéutica a las que es aplicada así como el propósito con que se hace, ya que lo primordial es asegurar la presencia de los principios activos en el organismo para obtener niveles terapéuticos que permitan mantener o aliviar la salud.

Tabla 2. Tipos de cubierta para tabletas (Porter, 2000)

TIPO DE CUBIERTA	DEFINICIÓN	PROPOSITO DE COBERTURA
Cubierta de azúcar	Tabletas cubiertas de azúcar y colorantes	Enmascarar principios activos con olores y/o sabores desagradables o aquellos sensibles a la luz o a la oxidación
Cubierta de película	Tabletas cubiertas con capas delgadas de materiales solubles en agua	Igual que el anterior
Cubierta entérica	Tabletas cubiertas con materiales que son insolubles en fluidos gástricos (ácidos), pero solubles en fluidos intestinales (alcalinos)	Usada para principios activos inactivados por acidez gástrica, para principios activos que irritan la mucosa estomacal o para retrasar el inicio de la acción
Granulos con cubierta de liberación lenta	Principios activos formulados en granulos y cubiertos con una sustancia serosa	Liberación retardada, liberación lenta o sostenida del principio activo

Tabla 3. Polímeros Mucoadhesivos ordenados por su fuerza adhesiva (Hunt et al., 1987)

POLIMERO EVALUADO	FUERZA ADHESIVA MEDIA (%)	DESVIACION ESTANDAR
Carboximetilcelulosa sódica	192.4	12.0
Ácido poliacrílico	185.0	10.3
Tragacanto	154.4	7.5
Poli(metilvinileter co-anhidro maléico)	147.7	9.7
Óxido de polietileno	128.6	4.0
Metil celulosa	128.0	2.4
Alginato sódico	126.2	12.0
Hidroxipropilmetil celulosa	125.2	16.7
Metiletilcelulosa	117.4	4.2
Almidón soluble	117.2	3.1
Gelatina	115.8	5.6
Pectina	100.0	2.4
Polivinilpirrolidona	97.6	3.9
Polietilenglicol	96.0	7.6
Alcohol polivinílico	94.8	4.4
Polihidroxietilmetacrilato	88.4	2.3
Hidroxietilcelulosa	87.1	13.3

Entre los principales polímeros utilizados para membranas de recubrimientos están los esteres de celulosa (acetato, triacetato, propionato y butirato de celulosa, entre otros), etilcelulosa y copolímeros derivados del ácido metacrílico. En cuanto a los derivados de celulosa, pueden incrementar su permeabilidad al agua con la adición de agentes plastificantes o de agentes hidrofílicos como los PEG. La etilcelulosa pura tiene un uso limitado como membrana de recubrimiento de sistemas osmóticos, debido a su baja permeabilidad al agua, pero combinada con HPMC mejora esta propiedad. Con los copolímeros derivados del ácido metacrílico se han realizado estudios empleándolos como

película de recubrimiento, en combinación con diferentes tipos y varias composiciones de polímero, comprobando su aplicabilidad en el diseño de este tipo de sistemas y estableciendo la posibilidad de utilización de dispersiones acuosas en vez de las orgánicas, comúnmente empleadas (Verma et al., 2000).

En la tabla 3 se ordenan los diferentes polímeros mucoadhesivos, que son utilizados en la formulación de los medicamentos, de acuerdo a su fuerza adhesiva que es la que les permite adherirse cerca del sitio de acción en donde se encuentran las células blanco, para poder liberar el principio activo durante más tiempo y así alcanzar los niveles terapéuticos necesarios para poder aliviar la enfermedad para la que fueron administrados.

Tabla 4. Clasificación cualitativa de poder de adhesividad de polímerbioadhesivos (Smart, 1984)

BUENO O EXCELENTE	Ácido poliacrílico, Alginato sódico, Carbopol e Hidroxipropilmetilcelulosa Carbopol 934 y EX 55, Carboximetilcelulosa sódica, Carragenato Goma guar, Hidroxietilcelulosa , Homopolímeros y copolímeros de ácido acrílico y butilacrilato Metil celulosa 10 cPs, PEG de peso molecular muy alto, Poliacrilamida Policarbofil, Tragacanto
MEDIANO	Ácido poliacrílico reticulado con sacarosa, Acido polimetacrílico Carbopol base con vaselina/parafina hidrofílica, Goma de karaya Hidroxipropilcelulosa , Gelatina
POBRE	Acacia, Ácido algínico, Agar-agar, Amilopectina, Carboximetilcelulosa cálcica Polihidroxietilmetacrilato (PHEMA), Metilcelulosa, mayor de 100 cPs, Pectina Polietilenglicol, Polivinilpirrolidona, Carragenato degradado, Dextranos

En la tabla 4 lo que se presenta es una clasificación de los bioadhesivos de acuerdo a su calidad adhesiva cualitativamente por la observación en experimentos realizados con ellos se les dio una etiqueta de buenos o excelentes bioadhesivos, medianamente adhesivos o si era una pobre adhesividad la que presentaban.

6.7 MICROESFERAS

6.7.1 Antecedentes

Fueron introducidas a mediados de 1970. Son partículas esféricas sin una distinción entre cubierta y núcleo y con un tamaño de partícula entre una y varias decenas de micras. Tienen una estructura monolítica, el fármaco queda incorporado dentro de una matriz polimérica, preparada a partir de materiales biocompatibles y con un gran espectro de velocidades de cesión y propiedades degradativas (Torrado y Cadórniga, 1989).

6.7.2 Características

Las características de la microesfera ideal serían: selectividad por el tejido diana, acoplamiento entre una liberación controlada y sostenida, así como evitar el daño en el tejido huésped (Torrado y Cadórniga, 1989).

6.7.3 Forma de Liberación

En cuanto a la liberación *in vitro* pasiva de fármacos desde microesferas monolíticas, ésta es característicamente bifásica, con una liberación inicial grande y rápida (efecto “burst”), seguida de una liberación mucho más lenta. También se ha comprobado, cómo la liberación del fármaco desde microesferas de menor tamaño, resulta mayor y más rápida durante la fase de liberación lenta. Probablemente, ello sea debido a que exhiben una mayor área superficial para la liberación. El uso de tamaños pequeños está indicado para la quimioembolización en la terapia del cáncer, y tamaños mayores son más recomendables, por ejemplo, en la utilización intraarticular.

El estado físico del fármaco en una microesfera, el tipo de matriz, las proporciones de fármaco y matriz, el grado y la naturaleza del entrecruzamiento, la interacción entre fármaco y matriz, y el medio de liberación influyen en la cesión del fármaco desde las microesferas. La liberación del fármaco tiene lugar a través de varias rutas, entre las cuales se pueden citar: la erosión de la superficie, la total desintegración, difusión, y una combinación de difusión y erosión o degradación (Torrado y Cadórniga, 1989).

6.7.4 Preparación de microesferas para liberación de fármacos

Existen muchos métodos para micro encapsular fármacos en biomaterial les para su administración. La Figura 2 ilustra la técnica de dispersión / emulsión seguida de eliminación de disolvente. Los tres procesos más frecuentemente utilizados son la separación de fases, la evaporación del disolvente y el secado en spray (Sato et al., 1988).

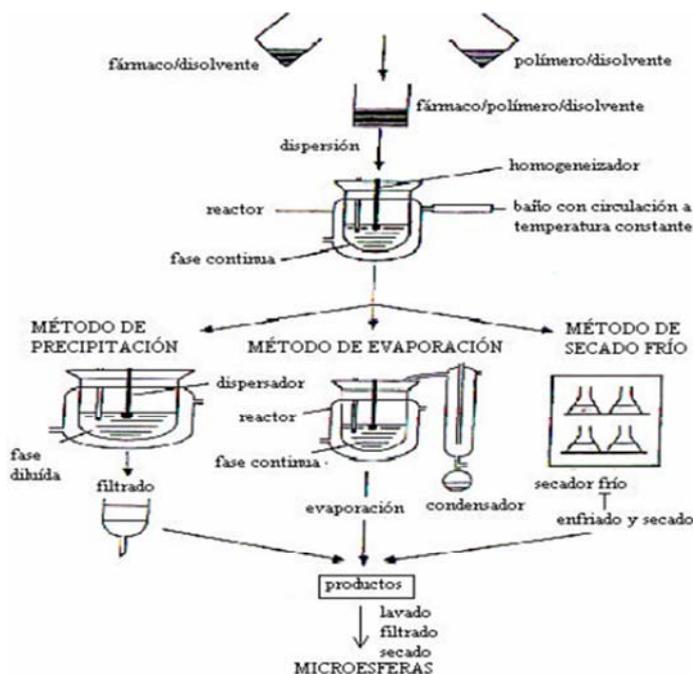


Figura 2. Esquema del proceso de preparación de microesferas (Sato et al., 1988).

El *proceso de separación de fases* requiere la emulsificación de la disolución de fármaco, o la suspensión de las partículas de fármaco en una disolución de polímero biodegradable. La adición de un segundo polímero causa la precipitación del primero en forma de gotas líquidas o partículas sólidas. La compactación de las microesferas se consigue por la adición de un precipitante, del que después se aíslan. Existen muchas variables de proceso en este método que deben ser caracterizadas y controladas para obtener un producto final satisfactorio. El tamaño de la microesfera estará determinado por las densidades de las fases disolventes, las velocidades de mezclado, el tipo de surfactante, la concentración y la temperatura. La porosidad estará influenciada por la composición de la fase dispersa y por la velocidad de eliminación del disolvente (Sato et al., 1988).

En los *procesos de evaporación del disolvente* se forma una triple emulsión (agua/aceite/agua) con el fármaco contenido en la fase acuosa interna, el polímero en un disolvente orgánico en la fase oleosa, y una fase acuosa externa. El disolvente es eliminado a baja presión (y normalmente a baja temperatura) para aumentar la viscosidad de la fase interna, seguida del aislamiento de las microesferas. Las variables del proceso, del mismo modo que en el caso anterior, deben controlarse con sumo cuidado, así como la presión durante la evaporación. Este proceso suele dar lugar a matrices relativamente no porosas.

En el *proceso de secado en spray* el fármaco en disolución acuosa o en forma de partículas sólidas es dispersado en una disolución de polímero disuelto en un disolvente. Esta mezcla se bombea hacia el atomizador de aire caliente del secador en spray donde las partículas se secan y se llevan a un separador para su recogida (Sato et al., 1988).

6.7.5 Propiedades fisicoquímicas de las microesferas

Las propiedades fisicoquímicas requeridas para las microesferas están gobernadas por el tipo de fármaco y la aplicación *in vivo* para la que se van a emplear.

Tamaño de partícula. Es un factor importante, ya que la ruta de administración Determinará el tamaño requerido para las microesferas.

Área superficial/porosidad. Las matrices de porosidad variable facilitan la modulación de la liberación del fármaco. Las microesferas porosas son esenciales para la liberación de sustancias de elevado peso molecular que no pueden difundir desde una matriz no-porosa; también son útiles para liberar sustancias que presentan elevada afinidad hacia el polímero y que no se liberan a menos que la matriz se degrade. La degradación del polímero puede ser controlada alterando la porosidad de la matriz, y de este modo también se controla la liberación del fármaco.

Contenido de fármaco/liberación del fármaco. Estas dos variables dependen de la dosis que se trate de alcanzar y la velocidad de dosificación del fármaco en cada tratamiento articular. Los medicamentos de baja potencia deben proporcionarse en dosis elevadas de modo que las microesferas deben estar muy cargadas de fármaco. El contenido de fármaco también depende de la cantidad del mismo que es capaz de aceptar la ruta de administración para la que ha sido diseñado.

Tiempos de biodegradación. El tiempo requerido para degradar las microesferas completamente viene gobernado por la ruta de administración y la frecuencia de las dosis. Por ejemplo, en las rutas por inhalación generalmente empleadas para terapias crónicas se requiere una rápida biodegradación para evitar acumulaciones en el sistema, así como en la liberación intravenosa, mientras que la liberación subcutánea o intramuscular puede tolerar cierta acumulación de partículas con degradaciones más lentas (Sáez et al., 2004).

6.7.6 Aplicaciones de las microesferas

Una de las aplicaciones farmacéuticas más importantes de las microesferas es en la liberación de medicamentos. La investigación actual en farmacología está enfocada en dos áreas diferentes pero complementarias: sistemas de liberación controlada y vectorización. El perfil de cesión depende de numerosos parámetros: tamaño, distribución, porosidad, degradabilidad, permeabilidad del polímero, etc. La vía de administración más ventajosa en principio para sistemas micro encapsulados poliméricos de liberación controlada es la parenteral, es decir, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular. Una vez suministradas, las microesferas pueden actuar como pequeños sistemas de reserva liberando lentamente el fármaco.

Los materiales más adecuados para esta vía de administración son los biodegradables ya que van a ser eliminados por el organismo a través de productos de degradación biocompatibles que se transforman en CO₂ y H₂O por las vías metabólicas usuales. La gran ventaja de estos sistemas microparticulados frente a soluciones alternativas como implantes es que, debido a su pequeño tamaño, pueden ser inyectados con una jeringa convencional, no necesitando por tanto intervención quirúrgica. Por otro lado, y aunque resulte paradójico, puede ser más fácil para una microesfera introducirse en una célula que para el fármaco libre, ya que una nano o micropartícula de tamaño adecuado es incorporada fácilmente como vacuola por fagocitosis (Sáez et al., 2004).

Son sistemas muy interesantes como transportadores de fármacos que no puedan administrarse con garantía por vía oral, como son los nuevos fármacos producto de la revolución biotecnológica, proteínas, péptidos, hormonas o enzimas, los cuales son degradados fácilmente por las enzimas del TGI. Además, se han descrito y ensayado clínicamente sistemas microparticulados poliméricos que incorporan anti cancerígenos (Wood et al., 1985), inmunosupresores (Yoshikawa et al., 1989), vitaminas (Sánchez et al., 1993), antibióticos, antibacterianos (Pavanetto et al., 1992), antiinflamatorios (Dubemet et al., 1987), vacunas (Eldridge et al., 1991).

La otra vía de investigación mencionada anteriormente de gran interés en este campo es la vectorización (“targeting”). La administración de un fármaco libre vía oral, intravenosa, etc., normalmente da lugar a una distribución sistémica del compuesto activo, cuando lo que está afectado es sólo un tejido, un área local o un tipo de células. Desde esta perspectiva tendría mucho más sentido conseguir una acción vectorizada del fármaco, sobre todo para aquellos compuestos de alta toxicidad (como los anti cancerígenos) o para aquellos con un bajo índice terapéutico. Por ejemplo, la administración mediante estos sistemas de liberación (microesferas, etc.) supone una mejora en la administración de los agentes anestésicos, reduciendo el número de dosis necesarias, evitando efectos tóxicos sistémicos y aumentando su concentración en el lugar deseado (Le Corre et al., 1997; Blanco et al., 1999; Estebe et al., 1995).

La producción de micro esferas de polímero biodegradable para incorporar vacunas antigénicas, introduce el riesgo de degradar el antígeno incluso durante la producción cuando solventes orgánicos son requeridos, o durante la biodegradación del polímero en vivo. El costo de producción de vacunas basadas en polímero puede ser prohibitivo, particularmente para su uso en ganado.

Sin embargo, un nuevo sistema de liberación controlada a base de colágeno se está desarrollando, para solucionar los problemas asociados con las técnicas de encapsulación poliméricas.

Los mini pelets de colágeno son dosificaciones de implantes sólidos cilíndricos que fueron desarrollados para la liberación controlada de proteínas terapéuticas como las citoquinas (Rathbone, 2002).

En su uso como vehículos de las vacunas de liberación controlada donde el antígeno es liberado en un perfil de primer orden por un periodo de una semana. Estos implantes tienen los beneficios de una fácil administración vía inyección subcutánea, completa biodegradación en vivo y la ausencia de pH extremos, presión o temperatura durante la producción asegurando la preservación de la integridad de las proteínas incorporadas (Lofthouse, 2001).

Existen varias propuestas para el uso de formulaciones de micro esferas en veterinaria. Las aplicaciones incluyen la liberación de vitamina B12, moxidectina, progesterona/ estradiol, estradiol e ivermectina.

El primer producto comercial viable veterinario basado en micro partículas fue lanzado en Nueva Zelanda, este producto contiene vitamina B12, recientemente se ha aprobado el uso de ProHeart®6 (moxidectina) para la protección de enfermedades causadas por *Dirafilaria immitis* en perros. El producto es provisto en dos viales separados que son mezclados antes de usarse, la aplicación subcutánea provee de protección durante seis meses.

El sistema de micro esferas monolíticas fue formulado para liberar su carga y terminar repentinamente la liberación, proporcionando una gota en los niveles de progesterona.

El estradiol fue formulado dentro de poli (DL-lactida) micro esferas las cuales administradas intramuscularmente inducen un estado de pseudoembarzo en las cerdas jóvenes.

Una preparación inyectable de micro esferas que contiene ivermectin en co –polimero poli (lactico-co-glicolico) fue desarrollada para proporcionar liberación prolongada del ivermectina para el control de parásitos del ganado (Rathbone, 2002).

6.8 BIOADHESIVOS

6.8.1 Introducción

El término relativamente nuevo de bioadhesión describe la capacidad de ciertas macromoléculas, sintéticas o biológicas, de adherirse a los tejidos del organismo. Teniendo en cuenta que la mayoría de las vías de administración de fármacos están revestidas de una capa de mucus, surgió la idea de adaptar el fenómeno de *adhesión* (unión durante un tiempo suficientemente prolongado de dos superficies por fuerzas interfaciales de tipo físico y/o químico) a la fijación de la forma farmacéutica a una zona concreta del cuerpo, desde donde se liberará el fármaco. Esto corresponde a un fenómeno de *bioadhesión* y más específicamente de *mucoadhesión*, dado que una de las superficies es una membrana mucosa (capa celular), o bien a la capa de mucina que recubre esta membrana superficial (Rodríguez et al., 2000).

6.8.2 Antecedentes

El nacimiento de las formas mucoadhesivas suele situarse sobre 1947 con el uso de la goma de tragacanto y los polvos adhesivos dentales que incorporaban penicilina para uso odontológico.

Posteriormente, se desarrolla el Orahesivo (carboximetilcelulosa sódica, pectina y gelatina) y Orabase (mezcla de carboximetilcelulosa sódica, pectina y gelatina en una base de aceite mineral/ polietileno), ambos excipientes mucoadhesivos para la cavidad oral. En los años 70, entre otros investigadores, destacan Chen y Cyr por sus trabajos en mucoadhesión. En este periodo ya se consiguieron preparados mucoadhesivos eficaces. Es en la década de los ochenta cuando se lleva a cabo una amplia y sistemática investigación en el tema, incidiéndose sobre las limitaciones que imponen las variables fisiológicas de los diferentes lugares de aplicación, el estudio e incorporación de nuevos polímeros bioadhesivos responsables de la interacción con las mucosas y se toman en consideración como una posibilidad relevante para el diseño de formas de liberación durante largos periodos de tiempo y cinética de cesión de orden cero (liberación controlada) (Rodríguez et al., 2000).

6.8.3 Ventajas

- a) Diversas y abundantes vías de administración desde donde puede obtenerse efectos terapéuticos sistémicos y/o localizados.
- b) En relación con las características fisicoquímicas del fármaco es posible presentarle en variadas formas farmacéuticas bioadhesivas adaptadas a la vía de administración óptima que den respuesta a las necesidades terapéuticas del paciente (Rodríguez et al., 2000).

6.8.4 Desventajas

El desarrollo de comprimidos bioadhesivos, en particular para la fijación en el estómago está asociado a numerosos problemas:

- a) La motilidad gástrica puede dificultar la adhesión u originar un desprendimiento del sistema;
- b) el pH estomacal, normalmente 1.5 a 3, no resulta el más conveniente para la bioadhesión,
- c) la renovación de la capa de mucina en el estómago provoca el desprendimiento del mucoadhesivo que queda inhabilitado para una posterior fijación por la mucina arrastrada;
- d) la zona de adhesión no es directamente accesible para conseguir, mediante presión, una primera adhesión.

La eficacia de la absorción nasal de fármacos puede verse afectada por algunos factores como el método y la técnica de administración, el lugar de deposición y la rápida eliminación de los fármacos desde la mucosa nasal. En general los sistemas vaginales pueden presentar ventajas sobre otras vías de administración. No obstante, como en otras mucosas, bucal, nasal, rectal, la biodisponibilidad y la acción local de los fármacos allí administrados no son muy altas (Rodríguez et al., 2000).

6.8.5 Aplicaciones

Se han estudiado y puesto en mercado comprimidos, formas multiparticulares (pelet, micro y nano partículas), pomadas, geles y películas o parches mucoadhesivos (Rodríguez et al., 2000).

Administración bucal.- parches mucoadhesivos, comprimidos bioadhesivos, geles mucoadhesivos

Administración oral.

Administración Nasal

Administración vaginal

Administración ocular

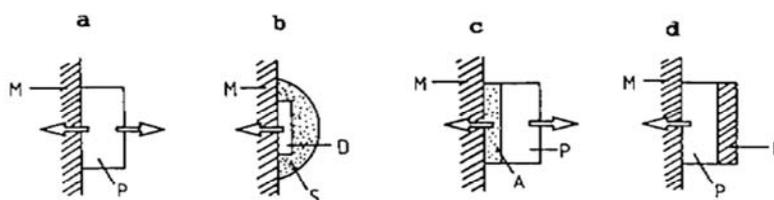
6.8.6 Forma de Liberación

Conceptualmente la forma farmacéutica bioadhesiva (o sistema bioadhesivo) se concibe como la inmovilización de un sistema portador de fármaco, sea en su lugar de acción, o a nivel de la membrana biológica que permite su absorción óptima. En el caso de que esté destinado a ejercer una acción local, el aumento de la concentración del principio activo durante un tiempo prolongado conlleva un crecimiento de la eficacia terapéutica. Cuando esté previsto que ejerza una acción sistémica, la inmovilización prolongada de una concentración adecuada de fármaco permite el paso de cantidades importantes de principio activo a través de la membrana, evitando pérdidas propias de ciertas vías de administración.

Las formas farmacéuticas bioadhesivas generalmente se aplican en seco por tanto con el polímero en forma no hidratada (en estado vítreo); al ir absorbiendo agua del lugar de fijación reducen por debajo de la temperatura ambiente la de transición del estado vítreo al gomoso T_g , manifestándose la plastificación del hidrogel. En estas condiciones de hidratación se efectúa la adhesión a las superficies biológicas.

Los *parches mucoadhesivos* (formas de liberación bucal), se presentan como sencillos discos adhesivos o bien sistemas compuestos por láminas superpuestas, como se muestra en la Figura 3 donde se observan los diferentes tipos de parches bucales de liberación modificada, que serán convenientemente fijados a la membrana mucosa durante un tiempo prolongado. El sistema puede estar concebido de modo que el fármaco que se va liberando sea simultáneamente absorbido a través de la mucosa bucal. Este tipo, denominado sistema de liberación unidireccional, libera el producto activo solo hacia la zona de mucosa bucal a la que está adherida consiguiendo así una actividad sistémica.

Los sistemas de liberación bidireccionales permiten la liberación del fármaco en dos sentidos, es decir hacia la zona mucosa ocupada por el bioadhesivo y en dirección opuesta, hacia la cavidad oral o la saliva, permitiendo una acción localizada (Rodríguez et al., 2000).



M (mucosa), P (polímero con péptido), D (deposito de fármaco), S (protector adhesivo), A (capa adhesiva), B (capa impermeable de refuerzo).

Figura 3. Esquema de cuatro tipos de parches adhesivos para liberación bucal de péptidos (Rodríguez, 2000).

Comprimidos bioadhesivos se han diseñado diferentes modelos. La mayoría concebidos como comprimidos de liberación controlada, modificados en su formulación para permitir la bioadhesión. Dado el fácil acceso al lugar, la fijación puede ayudarse con presión temporal del comprimido contra la mucosa. Los modelos matriciales incluyen el producto activo en un polímero bioadhesible que una vez adherido libera el fármaco por hinchamiento y erosión.

A diferencia de los comprimidos convencionales este tipo de comprimidos permite la ingesta de líquido así como el habla sin mayor dificultad.

Geles mucoadhesivos para la mucosa sublingual o gingival, creados con el fin de incrementar el tiempo de permanencia en la mucosa oral y mejorar la absorción, permiten conseguir al tiempo un cierto grado de liberación sostenida del fármaco. Los requisitos importantes para el uso de la vía nasal son dosificaciones muy pequeñas y la exigencia, para la forma de administración, de no interferir en el movimiento de los cilios de las células epiteliales. Por ello, debe pensarse en la administración de pequeñas partículas sólidas (polvo y, en general, micro y nano partículas) o bien líquidos acuosos de baja viscosidad, finamente dispersados (aerosolizado o nebulizado) (Rodríguez et al., 2000).

6.9 SISTEMAS TERAPÉUTICOS TRANSDÉRMICOS

6.9.1 Introducción

Los Sistemas Terapéuticos Transdérmicos (STT) propiamente dichos son sistemas de liberación sostenida; y por tanto, su objetivo es el de suministrar el medicamento a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante (Allevato, 2007).

6.9.2 Antecedentes

La aplicación de medicamentos a través de la piel mediante emplastos, ungüentos y linimentos se conoce desde la Grecia antigua, Hacia fines del siglo XIX surgió la idea de la impenetrabilidad de la piel, a partir de observaciones de que medicamentos cuyos efectos tóxicos eran severos por vía oral, resultaban inefectivos si se los aplicaba sobre la piel. Esta teoría demoró hasta el siglo XX la concepción de la piel como un portal de penetración de fármacos.

A finales de 1970 aparecen los primeros **Sistemas Terapéuticos Transdérmicos** propiamente dichos: sistemas de soporte de principios activos de acción sistémica, con liberación programada, constante y sostenida del fármaco (Allevato, 2007).

6.9.3 Forma de Liberación

Se reconocen varios sistemas de diseño:

- Sistemas de reservorio o Sistema controlado de permeación con membrana: el fármaco está contenido en un reservorio y se libera a través de una membrana polimérica porosa de permeabilidad selectiva que crea un sistema de liberación controlada. La capa de polímero asegura un buen contacto del parche con la piel (Allevato, 2007). En la Figura 4 se puede observar el esquema que describe las partes que conforman este tipo de parches transdérmicos de liberación controlada.

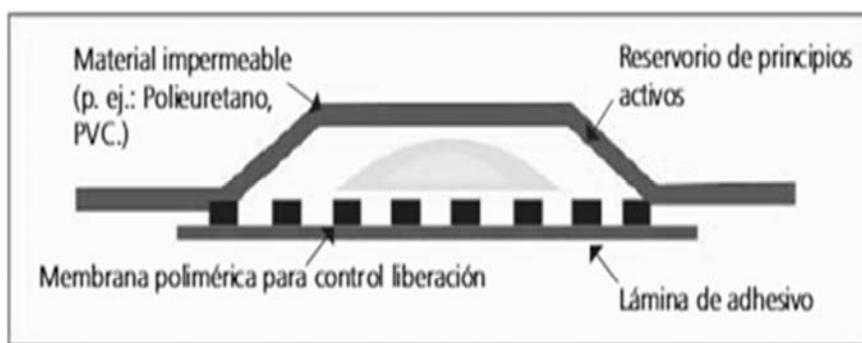


Figura 4. Forma de liberación del sistema de reservorio o sistema controlado de permeación con membrana (<http://www.escaparates.com>).

- Sistemas matriciales: están constituidos por un disco polimérico hidrofílico o hidrofóbico, de grosor y área definidas, en el cual está uniformemente dispersado el fármaco. El entramado del polímero controla la liberación de acuerdo a los excipientes involucrados en la formulación (Allevato, 2007). En la Figura 5 se puede observar el esquema que describe las partes que conforman este tipo de parches transdérmicos de liberación de sistema matricial.

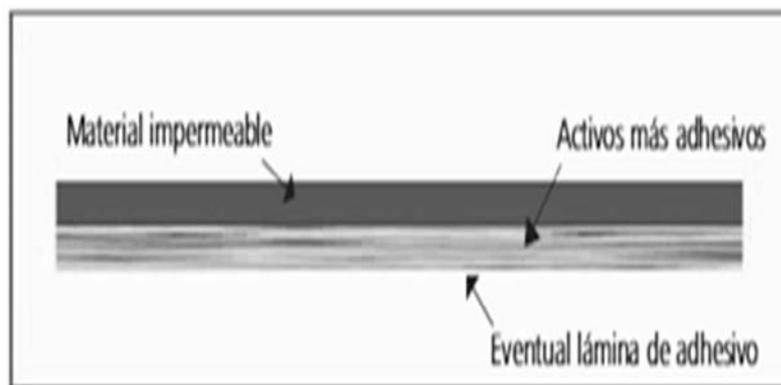


Figura 5. Forma de liberación del sistema matricial (<http://www.escaparates.com>).

- Sistema de difusión controlada vía matriz: los principios activos están dispersos en la matriz de polímero y después situados bajo un disco de material impermeable y oclusivo. La liberación de los principios activos es regulada por la matriz polimérica (Allevato, 2007). En la Figura 6 se puede observar el esquema que describe como está compuesto este tipo de parches transdérmicos de liberación controlada de matriz.

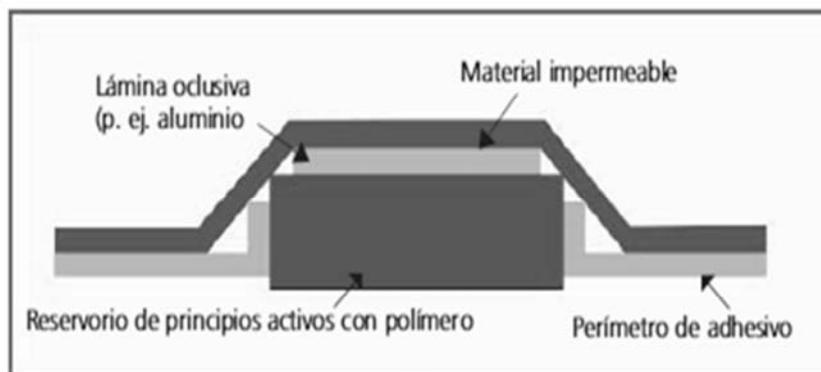


Figura 6. Forma de liberación del sistema de difusión controlada vía matriz (<http://www.escaparates.com>).

- Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios: la droga está suspendida en una solución soluble en agua, la cual es homogeneizada en un polímero lipofílico que forma microesferas. El mismo se aplica bajo una lámina oclusiva e impermeable. La liberación de los principios activos está controlada por los compartimentos del fluido y del polímero (Allevato, 2007). En la Figura 7 se pueden observar los componentes que conforman los parches transdérmicos de liberación de sistemas de difusión controlado mediante microreservorios.

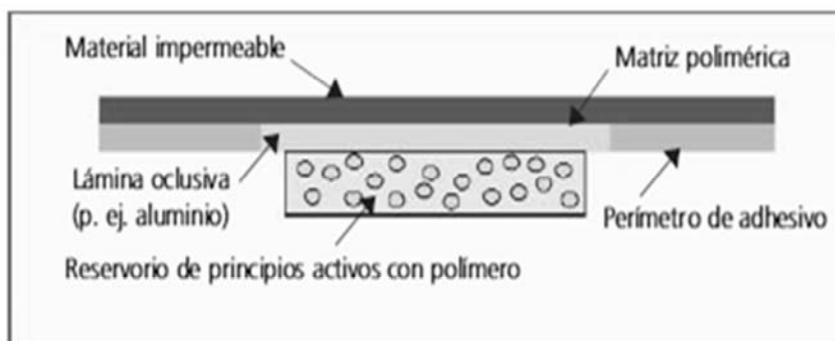


Figura 7. Forma de liberación del sistema de difusión controlado mediante microreservorios (<http://www.escaparates.com>).

Existen dos tipos de parches: activos y pasivos.

El transporte pasivo de medicamentos a través de la piel se efectúa mediante una difusión por los tortuosos espacios intercelulares y en función de una gradiente de concentración (Pareja, 1996).

En el transporte activo son numerosos los principios activos que no poseen la capacidad intrínseca de atravesar la piel de manera eficiente, por lo que ha sido necesaria la búsqueda de vías para modificar esta barrera difusional. Las innovaciones en el área de sistemas incluyen la incorporación de métodos físicos (corriente eléctrica, voltaje, calor, radiofrecuencia, campos magnéticos, ultrasonido), en la Figura 8 se esquematiza como atraviesan ciertas moléculas la barrera impuesta por la piel mediante ultrasonido, para incrementar el flujo de fármacos a través de la piel a la vez que permiten liberación controlada. La mayoría de estos métodos se basa en la aplicación de corrientes y/o campos eléctricos para facilitar el pasaje, a través de la piel, de macromoléculas biológicamente activas (ADN, proteínas y péptidos) (Allevato, 2007).



Figura 8. Penetración de las moléculas grandes mediante ultrasonido (Pareja, 1996).

6.9.4 Aplicaciones

Parches adhesivos. Los parches adhesivos son la forma de presentación de los sistemas transdérmicos conocida desde hace 20 años para el tratamiento de enfermedades sistémicas (Allevato, 2007).

Anestesia. Se ha diseñado un sistema para la anestesia cutánea tópica durante procedimientos superficiales (FDA, 2004).

Acné. Se ha desarrollado un sistema transdérmico con microagujas para tratar el acné conteniendo un gel compuesto por ácido ascórbico, peróxido de benzoilo y carboximetilcelulosa sódica (Lee et al., 2003).

Cosmética. Están en desarrollo parches cosméticos microelectrónicos, ultra finos, flexibles, para restituir la elasticidad e hidratación de la piel (Allevato, 2007).

Fotodaño. Se desarrolló una fórmula para la estimulación de la melanogénesis con el propósito de prevenir el fotodaño (Emerging technologies.Pharmaceutical & Diagnostic Innovation, 2005).

Cuidado de heridas. La FDA ha aprobado un sistema de liberación transdérmica sostenida de oxígeno para tratar úlceras de piel por diabetes, lesiones gangrenosas, infecciones postquirúrgicas; úlceras de decúbito, amputaciones, injertos de piel, quemaduras y lesiones por congelamiento. También se ha ensayado un gel que combina amitriptilina al 1% con 0.5% de ketamina para tratar la eritromelalgia. Se ha desarrollado un parche transdérmico multicapa liberador de óxido nítrico (Allevato, 2007).

6.9.5 Ventajas

Esta vía cutánea provee una alternativa para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administrados por otras vías, para terapias prolongadas y de reemplazo. Los fármacos aplicados sobre la piel, sobre un sitio bien definido, permiten al fármaco difundir desde el estrato córneo hasta la hipodermis e ingresar al torrente sanguíneo produciendo un efecto sistémico (Allevato, 2007).

La piel es el órgano de más fácil acceso del cuerpo humano.

Liberación gradual y flujo controlado en el tiempo con máxima absorción.

Ingreso de una cantidad constante de principio activo con niveles sanguíneos uniformes, constantes y sostenidos

La administración de activos a través de la piel elimina el efecto de primer paso hepático.

Útil para sustancias de semivida de eliminación muy corta, generalmente 6 a 8 horas.

Permite disminuir la frecuencia de administración y la dosis de principio activo.

El material impermeable y oclusivo aumenta la sudoración y evita la evaporación y la oxidación de los activos más delicados.

Uso sencillo, indoloro, buena aceptación, optimiza la adherencia al tratamiento.

Eliminación de restricciones dietarias asociadas con el uso oral.

6.9.6 Desventajas

La aplicación de pomadas, lociones o cremas sobre la piel intacta, con o sin masaje obtiene grandes variaciones en la magnitud y duración del efecto farmacológico, así como niveles sanguíneos muy variables, debido a las diferencias en la permeabilidad intrínseca de la piel y sus condiciones y la naturaleza del vehículo. (Pareja, 1996).

La amplia mayoría de los pacientes (97%) reporta algún tipo de reacción cutánea en el sitio de aplicación del parche. Además de las molestias cutáneas obvias, la dermatitis interfiere con la absorción de droga y reduce la eficacia terapéutica (Musel, 2006).

6.10 SISTEMAS OSMÓTICOS DE ADMINISTRACIÓN ORAL

6.10.1 Introducción

Los comprimidos osmóticos son formas farmacéuticas recubiertas de liberación controlada con características de diseño y funcionamiento especiales. En este tipo de sistemas, la presión osmótica controla la liberación de los fármacos, fundamentándose en el aprovechamiento de esta propiedad coligativa de las sustancias no volátiles cuando están en solución (Verma, 2002).

El sistema de liberación osmótica, es uno de los medicamentos de liberación controlada con más participación en el mercado en el mundo.

6.10.2 Antecedentes

Desde finales de la década de 1930 se empezó a trabajar en el diseño de sistemas que permitieran modificar la liberación de fármacos. Lipowski obtuvo la primera patente con la elaboración de una forma farmacéutica de administración oral que lograba una liberación lenta y constante del principio activo después de la ingestión. Sin embargo, la primera forma de dosificación de acción sostenida diseñada bajo el principio de Lipowski fue introducida hacia 1952. (Lazarus, 1959). El primer dispositivo que empleó los principios osmóticos para liberar un fármaco fue desarrollado en 1955 por Rose y Nelson.

En 1971 se concedió una patente a Stolzenberg, que describe un inyector de pistón accionado por la presión osmótica. Por esa misma época, Higuchi y Leeper propusieron una serie de variaciones de la bomba de Rose y Nelson, y Theeuwes y col. modificaron aún más lo existente hasta diseñar la bomba osmótica elemental (BOE) (Verman et al., 2000).

6.10.3 Formas de Liberación

En esencia, todos los sistemas osmóticos se encuentran constituidos por un comprimido (núcleo) que contiene el fármaco, rodeado por una membrana semipermeable. La liberación del principio activo se logra por el empuje de este a través de un orificio en la membrana. De este modo se obtiene una cinética de liberación de orden cero (Ansel et al., 1999). Si se formulan de manera adecuada tanto el núcleo como la membrana, se logra que el proceso de liberación sea independiente del pH del medio y de las condiciones de agitación (Theeuwes et al., 1991).

6.10.3.1 Bomba Osmótica Elemental (Boe)

Es el sistema más simple, conocido como OROS[®] (*Osmotic Release Oral System*) o GITS[®] (*Gastrointestinal Therapeutic System*) Consta de un núcleo osmótico que contiene el fármaco (con o sin agentes osmóticos) cubierto por una membrana semipermeable, provista de un orificio, (en el centro de una de las caras del comprimido) por donde ocurre la liberación, todos estos componentes se observan en la Figura 9 (Suñé, 2000).

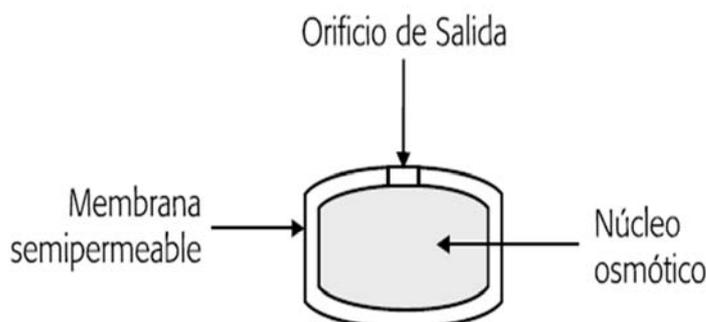


Figura 9. Composición del sistema de bomba osmótica elemental[®] (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

Este dispositivo utiliza el gradiente osmótico entre el medio gastrointestinal y su interior, como mecanismo de liberación del principio activo. Una vez administrado, el núcleo osmótico al entrar en contacto con los fluidos acuosos, absorbe agua a una velocidad que está determinada por la permeabilidad de la membrana frente al fluido biológico y por la presión osmótica del núcleo (Baena et al., 2006).

6.10.3.2 Bombas osmóticas multicompartimentales (BOM)

Estos dispositivos pueden ser divididos en dos categorías principales, dependiendo si una de las cámaras se expande en la otra (sistema *push-pull*[®]) o si las cámaras son rígidas y mantienen su volumen constante, aun estando en funcionamiento (Santus et al., 1995).

6.10.3.3 Bomba Osmótica Aspirante-Impelente

Este sistema es conocido como *push-pull* OROS[®]. Consiste en dos compartimentos separados por un diafragma elástico, recubiertos por una membrana semipermeable. La capa inferior contiene un polímero hidrófilo (agente polimérico osmótico) capaz de formar un hidrogel expandible que empuja el compartimento superior, que contiene el fármaco. Este comprimido osmótico actúa mediante el efecto combinado de la hidratación de sus dos compartimentos de modo que, inicialmente, el compartimento de principio activo absorbe agua suficiente para

formar una suspensión o solución que será expulsada a través del orificio de salida tan pronto como se inicie la formación de un fluido en su interior y se dé la expansión y empuje por parte del compartimento inferior, previamente hidratado (Suñé, 2000), en la Figura 10 se puede observar una representación de los componentes mencionados anteriormente.

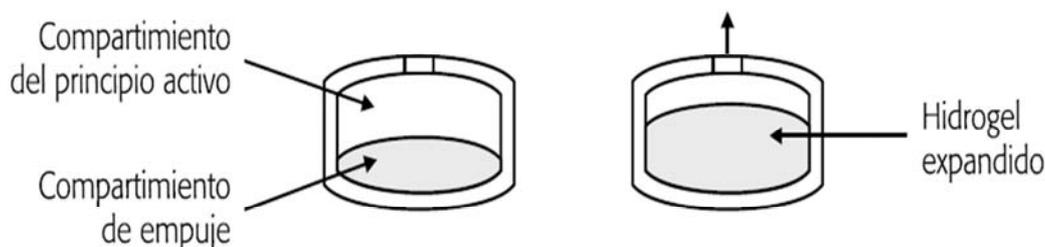


Figura 10. Bomba osmótica bicompartimental Push-pull® (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

6.10.3.4 Bombas Osmóticas con una Segunda Cámara no Expandible

Este grupo puede a su vez subdividirse en dos subgrupos, dependiendo de la función que cumpla la segunda cámara. En el primer subgrupo, en la segunda cámara se logra la dilución de la solución saturada antes de salir del dispositivo. Esto es muy útil para el caso en el que la solución saturada del fármaco al entrar en contacto con el TGI causa una irritación que genera algún riesgo. El segundo grupo consta de dos BOE independientes en una misma tableta. El dispositivo es capaz de liberar el fármaco simultáneamente a partir de cada una de las BOE (Santus et al., 1995).

6.10.3.5 Bombas Osmóticas con Liberación Dirigida al Colon

Estos dispositivos poseen un recubrimiento gastrorresistente externo que bloquea el paso de agua hacia el interior del sistema en el medio ácido del estómago, retrasando la liberación del principio activo hasta que el sistema haya alcanzado el colon. Una vez allí, el recubrimiento gastrorresistente se disuelve completamente, quedando expuesta la membrana semipermeable y a partir de este instante la liberación del principio activo se produce a velocidad constante. Con el fin de mejorar la distribución del principio activo en el colon, pueden fabricarse sistemas con múltiples unidades individuales contenidas en una cápsula de gelatina dura que se disuelve rápidamente en el estómago, en la Figura 11 se muestra de manera general como estaría conformada esta bomba osmótica múltiple encapsulada. De este modo, pueden quedar repartidos varios dispositivos a lo largo del colon al salir del estómago en forma espaciada de acuerdo con el vaciado gástrico (Gupta et al., 2005).

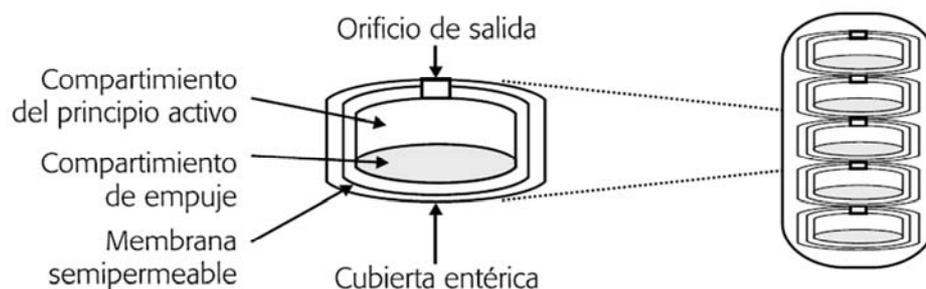


Figura 11. Diagrama de oros-CTmu, Targeted multiple units (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

6.10.3.6 Bombas Osmóticas que Contienen Formulaciones Autoemulsificables

En este sistema se encuentra la tecnología L-OROS[®] SOFTCAP[®], adecuada para la liberación controlada de formulaciones líquidas lipofílicas autoemulsificables, de forma que cuando el fármaco en solución es liberado en el TGI, forma gotas muy pequeñas (<100nm - microemulsión), incrementando la solubilidad del fármaco y por tanto su biodisponibilidad. La formulación líquida del principio activo está contenida dentro de una cápsula blanda de gelatina, rodeada en su orden por una película de barrera, una cámara osmótica y una membrana semipermeable que controla la velocidad de liberación. El orificio de entrega es formado a través de las tres capas, el Figura 12 se muestra como está conformado este tipo de sistema de liberación controlada. Cuando el sistema está en contacto con el ambiente acuoso, el agua permea a través de la membrana externa y activa la película osmótica produciendo su expansión y la compresión de la cápsula de gelatina blanda, generando una presión hidrostática dentro del sistema, que induce a la formulación líquida a salir a través del orificio (Dong et al., 2002).

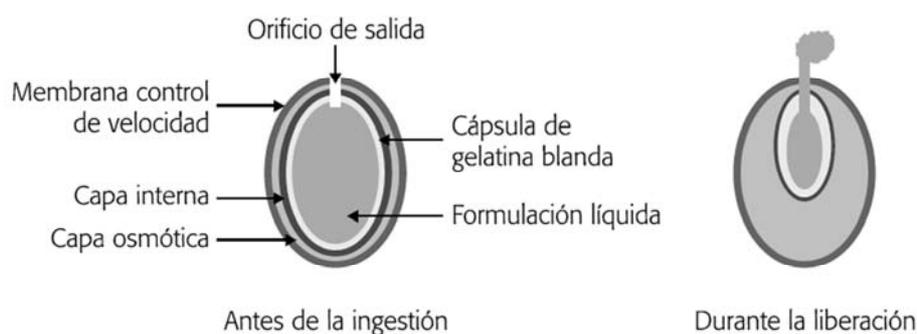


Figura 12. Esquema del sistema L-OROS[®] SOFTCAP[®] (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

El sistema L-OROS[®] HARDCAP[®], similar al anterior, consta de un compartimento líquido de fármaco, una película de barrera y una cámara osmótica, contenidas en una cápsula dura de gelatina, cubierta finalmente con una membrana semipermeable. El orificio para la entrega del compuesto activo va desde la membrana hasta la película que contiene el fármaco en solución o suspensión, en la Figura 13 se describe gráficamente como está constituido este tipo de liberación modificada. Cuando el sistema entra en contacto con el medio acuoso, el agua es embebida a

través de la membrana semipermeable, expandiendo la cámara osmótica, la cual ejerce una presión contra la película de barrera, liberando el fármaco a través del orificio de entrega (Gupta et al., 2005).

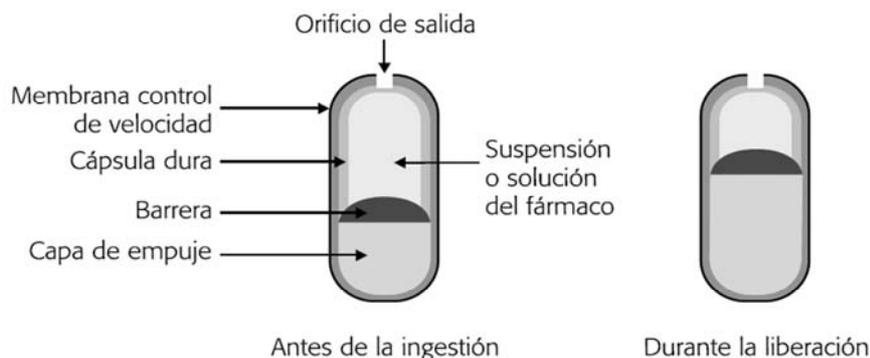


Figura 13. Esquema del sistema L-OROS® HARDCAP® (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

El sistema L-OROS® de liberación retardada permite entregar el fármaco, a partir de formulaciones líquidas, después de transcurrido un determinado tiempo. Este sistema está compuesto de tres compartimientos: uno formado por placebo (ejerce la acción retardante), otro que contiene el compuesto activo y el tercero que corresponde a una cámara osmótica, los cuales están rodeados por una membrana semipermeable que controla la velocidad de liberación (Gupta et al., 2005), en la Figura 14 se muestra como están constituidos estos compartimientos para esta forma de liberación modificada.

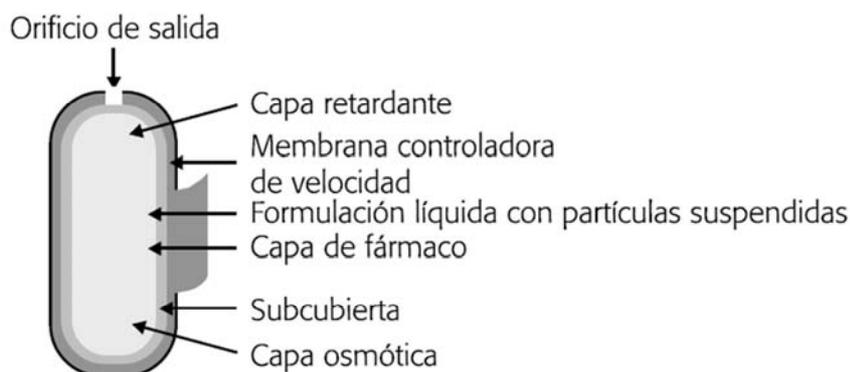


Figura 14. Esquema del sistema L-OROS® delayed liquid bolus delivery (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

6.10.3.7 Bombas Osmóticas de Porosidad Controlada

Este tipo de sistemas contienen aditivos solubles en agua en la membrana de cubrimiento, los que se disuelven en contacto con el agua, formando microporos. Como resultado se obtiene que la membrana se haga permeable al agua y a los solutos disueltos, en la Figura 15 se observa cómo están conformadas estas bombas así mismo se observa como de una membrana semipermeable pasa a una membrana porosa controlada. El mecanismo para la liberación del fármaco a partir de este sistema es principalmente osmótico con una pequeña proporción de liberación por difusión simple (Verma et al., 2002).

Existen bombas osmóticas modificadas para fármacos insolubles, que constan de partículas de agentes osmóticos recubiertas con una película elástica semipermeable mezcladas con el fármaco insoluble, y comprimidas posteriormente en forma de tableta. Esta tableta se recubre finalmente con una membrana semipermeable en la que se crea el orificio de liberación. Al entrar en contacto con el fluido biológico, el agua penetra a través de las dos membranas hasta llegar a las partículas del agente osmótico, que se hinchan y empujan el fármaco insoluble hacia el orificio de liberación (Suñé, 2000).

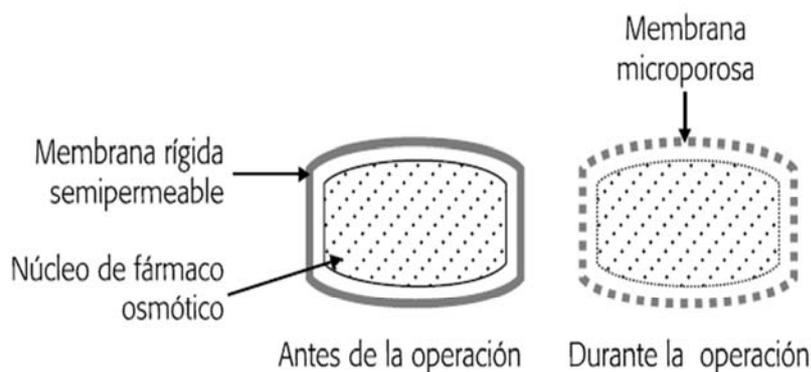


Figura 15. Bombas osmóticas de porosidad controlada (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

6.10.3.8 Comprimido Osmótico Monolítico

Es un sistema que favorece la liberación de fármacos insolubles en agua hasta por 24 horas. Consiste en la dispersión de un agente soluble en agua (agente osmótico) en una matriz polimérica. El fármaco insoluble es suspendido en la matriz y la cinética de liberación de orden cero está dada tanto por el efecto osmótico como por la capacidad del polímero de mantener el fármaco suspendido. La tableta formada es recubierta por una membrana semipermeable, sobre la que se genera el orificio de liberación. La limitante de este sistema radica en que se puede tener hasta un máximo de 30% de fármaco (Liu et al., 2000).

6.10.3.9 Tableta Osmótica Tipo Sándwich (SOTS®)

Consta de una cámara osmótica ubicada en medio de dos compartimentos de fármaco, los que a su vez están cubiertos con una membrana semipermeable. Los dos compartimentos interactúan con el medio externo a través de dos orificios de entrega (uno en cada lado de la tableta), en la Figura 16 se muestra la conformación de este tipo de sistemas osmóticos de liberación controlada. Después de que el sistema entra en contacto con el medio acuoso, la cámara de presión osmótica que contiene agentes poliméricos, se hidrata y el fármaco es liberado a través de los orificios de entrega (Liu et al., 2000).

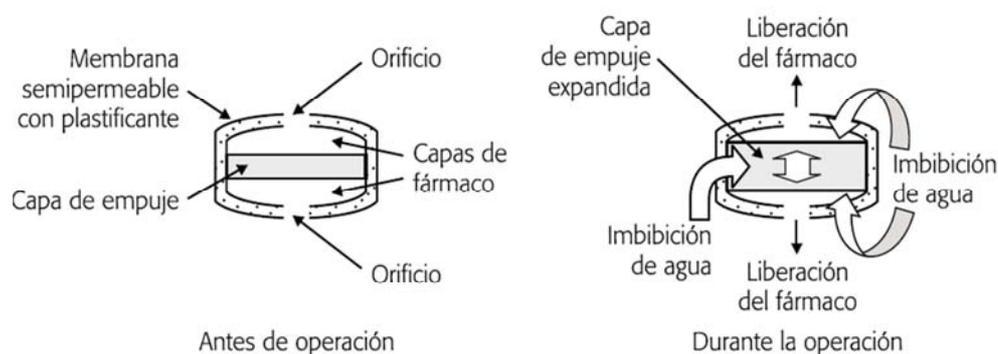


Figura 16. Esquema de una tableta osmótica en forma de sandwich® (<http://www.farmacia.unal.edu.co>).

6.11 SISTEMAS MULTIPARTICULADOS DE LIBERACIÓN RETARDADA

Están compuestos por *pellets* que contienen el fármaco, con o sin agente osmótico, recubiertas con una membrana semipermeable como el acetato de celulosa. Al entrar en contacto con un entorno acuoso, el agua penetra en el núcleo y forma una solución saturada de los componentes solubles. El gradiente de presión osmótica favorece la entrada del agua, originando una rápida expansión de la membrana y dando lugar a la formación de poros en la superficie. El fármaco y el ingrediente osmótico son liberados a través de estos poros, siguiendo una cinética de orden cero. (Verma et al, 2002). Un estudio realizado con acetaminofén en un sistema de este tipo demostró liberación con cinética de orden cero después de un tiempo de latencia determinado (Schultz, 1997).

En otro estudio realizado con maleato de clorfeniramina, en el que se evaluaron diferentes agentes osmóticos y membranas de recubrimiento, se encontró que el mecanismo de liberación en este tipo de sistemas es complejo, involucrando no sólo la presión osmótica y la difusión pasiva, sino otros fenómenos como la inducción de la presión osmótica, la ruptura de la cubierta y la posible disolución y erosión de la película de HPMC (Heng et al., 2004).

6.11.1 Aplicaciones

Los sistemas de liberación osmótica también han sido utilizados para el diseño de productos de aplicación en medicina veterinaria. Es el caso de la ivermectina, formulada como bomba osmótica, garantizando una cinética de liberación de orden cero y un efecto por 135 días (Zingerman et al., 1997).

El sistema de tableta osmótica tipo sándwich ha sido empleado para nifedipina en el tratamiento de la hipertensión arterial y la angina de pecho.

6.11.2 Ventajas

Como se puede apreciar, la mayor ventaja de este tipo de sistemas es la posibilidad de conseguir cinéticas de orden cero que no se ven afectadas por condiciones fisiológicas como el pH, la presencia de alimentos, las condiciones hidrodinámicas y enzimáticas del medio, aspectos a los que es indiferente siempre y cuando se haya hecho una correcta elección de la membrana semipermeable. Estos sistemas permiten formular fármacos de una amplia gama de solubilidades debido a su gran versatilidad. Cabe resaltar que las velocidades de liberación para estos sistemas son mayores comparadas con las de aquellos cuyo mecanismo es la difusión convencional, y altamente predecibles y programables, debido a la posibilidad de modulación (Gupta et al., 2005).

6.11.3 Desventajas

A pesar de las ventajas que estos sistemas evidencian, en la literatura se han reportado estudios que demuestran diferencias en los perfiles de liberación de sistemas osmóticos de nifedipina, fabricados en las mismas condiciones. Mediante imágenes de resonancia magnética se estableció que no existía uniformidad en el recubrimiento de la tableta, dando lugar a diferentes espesores de membrana, causante del comportamiento observado (Shapiro et al., 1996).

Además se han manifestado problemas de obstrucción GI en pacientes con úlcera péptica preexistente, así como serias reacciones GI (hemorragia y perforación) asociadas a la liberación de soluciones concentradas de compuestos irritantes de la mucosa gástrica (Buri et al., 1985).

6.12 SISTEMAS MICROPARTICULARES

6.12.1 Introducción

El tamaño de las micro cápsulas puede variar entre 5 μ y 2 mm, mientras que las micro esferas tienen un tamaño que oscila entre 1 μ y 1000 μ y las nano cápsulas entre 10nm y 1000nm, siendo estas dos últimas micro cápsulas de tipo matricial, en la Figura 17 se muestran las estructuras más comunes de los sistemas microparticulares. La preparación de las micro cápsulas puede realizarse mediante distintas tecnologías, tales como:

- Coacervación simple por evaporación de disolvente en una emulsión.
- Coacervación simple por extracción de disolvente en una emulsión.
- Depósito interfacial de polímeros biodegradables en una emulsión múltiple.
- Recubrimiento en lecho fluido.
- Polimerización interfacial.
- Nebulización en corriente de aire a temperatura controlada (Suñé, 2000).

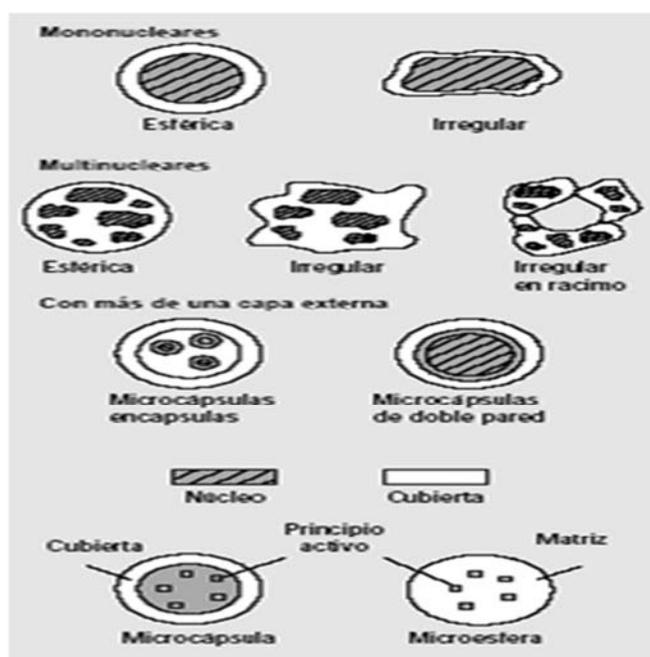


Figura 17. Algunas estructuras típicas de las microcápsulas (<http://www.ub.es>).

6.12.2 Antecedentes

Si bien la microencapsulación de partículas como recurso tecnológico aparece en los años 1930, aplicándose inicialmente en la fabricación de papel carbón, el notable desarrollo que ha experimentado esta técnica y la aparición de polímeros sintéticos de naturaleza bien definida y de carácter biodegradable, ha posibilitado plantear su uso en medicación parenteral (Suñé, 2000).

6.12.3 Forma de Liberación

Incluidos en diversas formas farmacéuticas de administración parenteral, las micro cápsulas, micro esferas o nano cápsulas se obtienen por micro encapsulación del fármaco: proceso en que se deposita una cubierta muy delgada de materiales poliméricos alrededor de las partículas del principio activo, ya sean sólidas o líquidas.

Este recubrimiento abarca toda la superficie de la partícula, que actúa como sustrato, siendo su aspecto externo igual a la de una sustancia pulverulenta sólida. Las partículas así recubiertas pueden encontrarse individualizadas o, por el contrario, estar dispersas en una matriz: en este caso, se tratará de micro cápsulas multinucleares (Suñé, 2000).

6.12.4 Ventajas

El uso de películas de este tipo de polímeros proporciona una liberación controlada y constante del fármaco durante largo tiempo, a la vez que se degradan originando monómeros de fácil metabolización por parte del organismo, no tóxicos y fácilmente eliminables (Suñé, 2000).

6.12.5 Aplicaciones

Existen medicamentos con nanoesferas de noretisterona, utilizada como anticonceptivo con una duración de 3 a 6 meses, habiéndose también elaborado formulaciones con progesterona y levonogestrel. Otros grupos farmacológicos en donde también se han desarrollado formulaciones inyectables de liberación controlada conteniendo microcápsulas, microesferas o nano partículas son los antagonistas narcóticos (naltrexona), anestésicos locales (lidocaína), esteroides (dexametasona, acetónido de triamcinolona), quimioterápicos (doxorubicina, cisplatino) y antibióticos (ampicilina, oxitetraciclina) (Suñé, 2000).

7 VACUNAS

7.1 ORIGEN DE LAS VACUNAS

La vacuna (del latín *vaccinus*-a-um, 'vacuno'; de *vacca*-ae, 'vaca') es un preparado de antígenos que una vez dentro del organismo provoca una respuesta de ataque, denominada anticuerpo. Esta respuesta genera memoria inmunológica produciendo, en la mayoría de los casos, inmunidad permanente frente a la enfermedad. La primera vacuna descubierta fue la usada para combatir la viruela por Edward Jenner en 1796.

La viruela fue la primera enfermedad que el ser humano intentó prevenir inoculándose a sí mismo con otro tipo de enfermedad. Se cree que la inoculación nació en la India o en China alrededor del 200 a. c. En China, a los pacientes que sufrían tipos leves de viruela se les recogían fragmentos de pústulas secas para molerlas hasta conseguir una mezcla con aspecto de polvo que luego se le introducía por la nariz, esperando que esto les inmunizara. En 1718, Lady Mary Wortley Montague informó que los turcos tenían la costumbre de inocularse con fluidos tomados también de casos leves de viruela. Lady Montague inoculó a sus propios hijos de esta manera (<http://es.wikipedia.org>).

En 1796, durante el momento de mayor extensión del virus de la viruela en Europa, un médico rural de Inglaterra, Edward Jenner, observó que las recolectoras de leche adquirían ocasionalmente una especie de «viruela de vaca» o «viruela vacuna» (cow-pox) por el contacto continuo con estos animales, y que luego quedaban a salvo de enfermar de viruela común. Efectivamente se ha comprobado que esta viruela vacuna es una variante leve de la mortífera viruela «humana». Trabajando sobre este caso de inoculación, Jenner tomó viruela vacuna de la mano de la granjera Sarah Nelmes. Insertó este fluido a través de inyección en el brazo de un niño de ocho años, James Phipps. El pequeño mostró síntomas de la infección de viruela vacuna. Cuarenta y ocho días más tarde, después de que Phipps se hubiera recuperado completamente de tal enfermedad, el doctor Jenner le inyectó al niño la infección de viruela humana, pero esta vez no mostró ningún síntoma o signo de enfermedad (De Arana, 1994).

En 1881 lleva a cabo Louis Pasteur su audaz y brillante experimento público en comprobación de la efectividad de la vacuna antiantráxica ideada por él, en la granja, hoy histórica, de Pouilly-le-Fort. El desarrollo del experimento fue como sigue: "El 5 de mayo inyecta 24 carneros, 1 chivo y 6 vacas con 58 gotas de un cultivo atenuado de *Bacillus anthracis*. En mayo 17, estos mismos animales fueron inoculados nuevamente con la misma cantidad de un cultivo menos atenuado, o sea más virulento. En mayo 31 se realizó la prueba suprema. Se inyectaron con cultivos muy virulentos, todos los animales ya vacunados, y además, 24 carneros, 1 chivo y 4 vacas no vacunados, que sirvieron como grupo testigo a la prueba. En junio 2, una selecta y nutrida concurrencia apreció los resultados, que fueron los siguientes: Todos los carneros vacunados estaban bien. De los no vacunados, 21 habían muerto ya, 2 más murieron durante la exhibición ante la propia concurrencia y el último al caer de la tarde de ese día. De las vacas, las 6 vacunadas se encontraban bien, mientras que las 4 no vacunadas mostraban todos los síntomas de la enfermedad y una intensa reacción febril". Al comunicar estos resultados, Pasteur introdujo los términos de vacuna y vacunación que provienen de la palabra latina *vacca*, fruto de los resultados obtenidos al inocular el virus de la vacuna (cow-pox); en la terminología médica como homenaje a Jenner, su ilustre predecesor (<http://es.wikipedia.org>).

En las pasadas dos décadas, hemos atestiguado la aparición de numerosas tecnologías de liberación de fármacos que se han desarrollado independientemente de cualquier condición específica del compuesto o de la enfermedad. Es interesante observar que esta tendencia también se ha observado recientemente dentro de la industria veterinaria

En el manejo de sistemas extensos de ganado existen problemas cuando el acceso a un stock de vacunas está limitado a una por año. Por esta razón se busca el desarrollo de un método para una vacunación de dosis sencilla que permanezca (Lofthouse, 2001).

Los métodos de liberación controlada fueron diseñados primeramente para proveer liberaciones farmacéuticas y ahora son investigadas para su uso como vacunas.

La potencial reducción en el cuidado animal (resultante en un decremento del estrés al animal y salvaciones económicas) es una fuerza de movimiento mayor en el descubrimiento de varios sistemas para animales de granja.

7.2 CLASIFICACIÓN DE LAS VACUNAS

Las vacunas se clasifican en dos grandes grupos:

- Vacunas vivas o atenuadas
- Vacunas muertas o inactivadas

Existen varios métodos de obtención:

Vacunas avirulentas preparadas a partir de formas no patógenas del microorganismo patógeno.

Vacunas posificadas a partir de organismos muertos o inactivos.

Antígenos purificados.

Vacunas genéticas.

Las vacunas se administran por medio de una inyección, o por vía oral (tanto con líquidos como con tabletas).

Las vacunas pueden estar compuestas de bacterias o virus, ya sean vivos o debilitados, que han sido cultivados con tal fin. Las vacunas también pueden contener organismos inactivos o productos purificados provenientes de aquellos primeros. Hay cuatro tipos tradicionales de vacunas:

Inactivadas: microorganismos dañinos que han sido tratados con productos químicos o calor y han perdido su peligro. Ejemplos de este tipo son: la gripe, cólera, peste bubónica y la hepatitis A. La mayoría de estas vacunas suelen ser incompletas o de duración limitada, por lo que es necesario más de una dosis.

Vivas atenuadas: microorganismos que han sido cultivados expresamente bajo condiciones en las cuales pierden sus propiedades nocivas. Suelen provocar una respuesta inmunológica más duradera, y son las más usuales en los adultos. Por ejemplo: la fiebre amarilla, sarampión o rubeola y paperas.

Toxoides: son componentes tóxicos inactivados procedentes de microorganismos, en casos donde esos componentes son los que de verdad provocan la enfermedad, en lugar del propio microorganismo. En este grupo se pueden encontrar el tétanos y la difteria.

Subunitarias: más que introducir un microorganismo atenuado o inactivo entero dentro de un sistema inmune, un fragmento de este puede crear una respuesta inmunitaria. Un ejemplo característico es la vacuna subunitaria contra la hepatitis B, que está compuesta solamente por la superficie del virus (superficie formada por proteínas).

La vacuna contra la tuberculosis por ejemplo, es la llamada vacuna BCG (Bacilo de Calmette y Guerin, que debe su nombre a sus descubridores) se fabrica con bacilos vivos atenuados y por tanto no es contagiosa de esta enfermedad (<http://es.wikipedia.org>).

Dentro de las vacunas de nueva generación que se han ido desarrollando para combatir las enfermedades contagiosas que aquejan en la actualidad al mundo se encuentran:

Vacunas de subunidad. En caso de que la inmunidad protectora se base en ser dirigida contra una o dos proteínas del organismo, proteínas que a menudo son superficiales, los antígenos purificados pueden ser utilizados como una vacuna eficaz, bien definida. Para las enfermedades que son causadas por las toxinas producidas por el agente infeccioso (tal como difteria, tétanos, y cólera), la subunidad pueden ser toxoides inactivos hechos de las bacterias. Las subunidades pueden también ser polisacáridos superficiales (según lo utilizado para la vacuna del Hemophilus influenzae) o proteínas virales específicas (como en la vacuna de Hepatitis B) Hay gran potencial en este tipo de vacuna porque el desarrollo de la tecnología del DNA recombinante puede permitir la síntesis del antígeno deseado (epitopes) en grandes cantidades y bien definidas. Sin embargo, el problema más grande en el desarrollo de este tipo de vacuna es la identificación de los epitopos que poseen suficiente antigenicidad para producir inmunidad de largo plazo.

Vacunas de DNA. Vacunas en las cuales las células del recipiente son transferidas para que produzcan una proteína inmunogénica (a menudo una subunidad), están siendo trabajadas por muchos investigadores en la actualidad.

7.3 VÍAS CLÁSICAS DE ADMINISTRACIÓN DE VACUNAS

Las vacunas deben administrarse siguiendo las indicaciones del producto prospecto, por tratarse de la vía que con toda probabilidad minimizará los efectos secundarios y asegurará la máxima eficacia en el proceso de inmunización.

Los preparados vacúnales de administración parenteral o inyectables pueden aplicarse en distintos lugares según su composición y la vía recomendada (<http://www.vacunasaep.org>).

7.3.1 Vía Intradérmica

Introducción de una pequeña cantidad de antígeno vacunal o producto biológico en la dermis.

La localización empleada es la superficie palmar del antebrazo o en la parte superior del brazo.

Es esencial poner especial atención a la técnica y a la profundidad del pinchazo, pues si éste se realizase de manera subcutánea en vez de intradérmica, la cantidad de masa antigénica que recibiría el paciente sería sustancialmente inferior. Con esta administración se introduce menor masa antigénica (0,01 ml a 0,1 ml), que si se inyecta incorrectamente y podría suponer una menor eficacia de la vacuna.

Para asegurar que el producto inyectado se deposite en la dermis y no en el tejido celular subcutáneo se debe utilizar una aguja de un calibre entre 25 a 27 Gauges y una longitud entre 16-18 mm.

La punción se realizará colocando la aguja con el bisel hacia arriba, manteniendo un ángulo de 15° paralelo al eje longitudinal del antebrazo (<http://www.vacunasaep.org>).

La inyección ha de ser lenta y, si se realiza correctamente, aparecerá una pápula en el punto de inyección que desaparecerá espontáneamente tras unos minutos en la Figura 18 se observa la manera adecuada en la que tiene que introducirse la aguja de la jeringa para conseguir que sea de forma intradérmica.

Esta vía se utiliza para la administración de las vacunas BCG y rabia (HDCV).

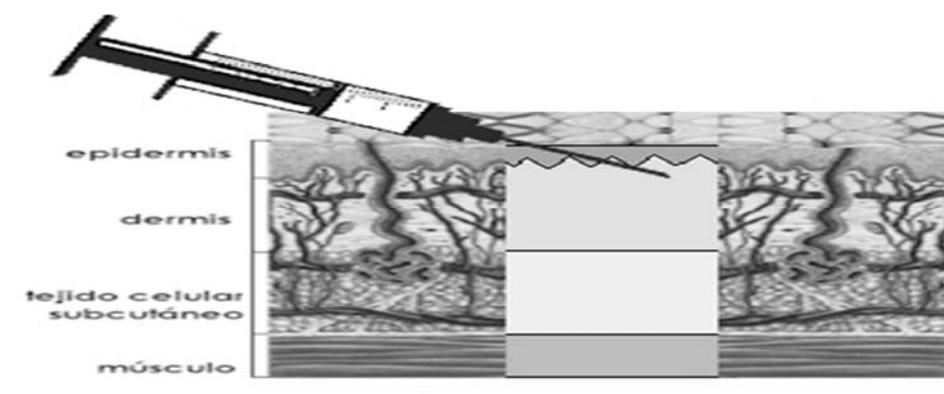


Figura 18. Vía intradérmica (<http://www.vacunasaep.org>).

7.3.2 Vía Subcutánea o Hipodérmica

Introducción del preparado vacunal debajo de la piel, en el interior del tejido celular subcutáneo.

Las inyecciones subcutáneas pueden aplicarse en:

La cara antero lateral del muslo en los niños menores de un año.

En la parte superior del brazo, región del músculo deltoides, en niños mayores de un año y adultos.

Para una correcta administración se debe insertar la aguja en el pliegue producido al pellizcar con los dedos la piel y el tejido celular subcutáneo.

Se recomienda una aguja de calibre entre 25 a 27 Gauges y de longitud entre 16-18 mm. (<http://www.vacunasaep.org>).

El ángulo de inyección de la aguja con respecto a la piel debe ser de 45° en la Figura 19 se observa la manera adecuada en la que tiene que introducirse la aguja de la jeringa para conseguir que sea de forma subcutánea tiene que tener un ángulo de 45°.

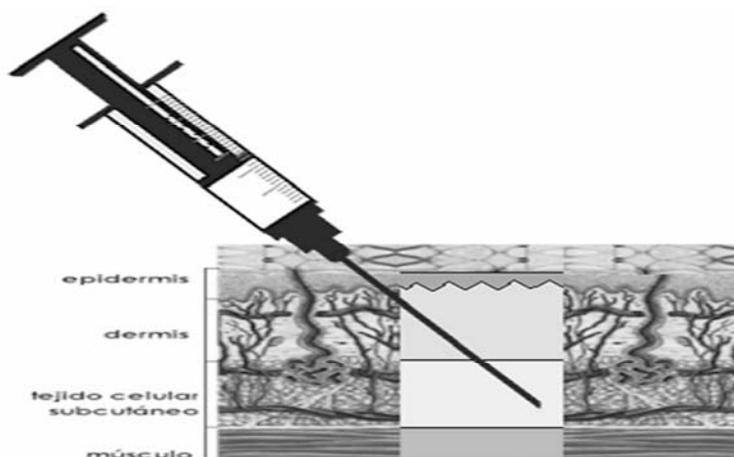


Figura 19. Vía subcutánea o hipodérmica (<http://www.vacunasaep.org>).

7.3.3 Vía Intramuscular

Las vacunas que se administran por vía intramuscular tienen la particularidad de quedar depositadas en un tejido altamente vascularizado pero, comparado con las dos vías anteriormente expuestas, intradérmicas y subcutáneas, es pobre en células presentadoras de antígenos. Por ello es necesario que el producto vacunal permanezca un tiempo más prolongado en el lugar de inoculación para así garantizar que se produzca una estimulación inmunitaria

adecuada. Estas vacunas contienen adyuvantes con los que se combina en forma de partículas, es decir, el antígeno está absorbido en una sustancia gelatinosa (hidróxido o fosfato de aluminio) que actúa como depósito y lo va liberando durante un periodo de tiempo prolongado.

Por tanto:

deben administrarse en zonas anatómicas de masa muscular profunda para que así la absorción del antígeno sea óptima y, al tiempo, el riesgo de lesión vascular o neurológica sea mínimo.

en los recién nacidos, lactantes y niños menores de 12 meses, el lugar indicado para la inyección intramuscular de preparados vacunales es la zona superior y antero lateral del muslo correspondiente a la masa muscular del vasto externo. Para localizar el punto de inyección se divide en tres partes iguales el espacio entre el trocánter mayor del fémur y la rodilla y se traza una línea media horizontal que divida el muslo. En el tercio medio de la parte externa del muslo, justo encima de la línea horizontal, se encuentra el punto de inyección. La mejor posición para sujetar al niño es la de decúbito supino. Así el músculo estará más relajado.

entre los 18 y 36 meses, es aconsejable realizar una valoración individualizada de la musculatura de cada paciente para elegir el lugar adecuado. A partir de los 18 meses, la región anatómica más aconsejable y de mayor preferencia es el deltoides. El punto de inyección se encuentra delimitado por un triángulo de base en el borde inferior del acromion y del vértice inferior debajo del lugar de inserción del músculo deltoides. A pesar de ello es mejor valorar individualmente en cada niño que el músculo tiene suficiente grosor y está bien desarrollado. De no ser así, es conveniente usar el vasto externo aunque pueda provocar cierto grado de dolor en la extremidad utilizada al caminar en los días siguientes a la vacunación.

Está desaconsejada, especialmente en los lactantes, la inyección intramuscular en la región glútea (cuadrante superior externo de los glúteos) para evitar así posibles lesiones en el nervio ciático y otras complicaciones locales y evitar que por la gran cantidad que contiene de tejido graso profundo, la vacuna quede inadecuadamente depositada en músculo y la absorción del antígeno sea incorrecta.

Las vacunas que contienen adyuvantes deben inyectarse profundamente en la masa muscular y jamás deben administrarse de forma subcutánea o intradérmica ya que pueden provocar irritación local, inflamación, formación de granulomas e incluso necrosis.

Es importante recordar que:

la elección de la aguja realiza en función de la edad y lugar anatómico elegido para la punción para asegurar una correcta administración.

con una aguja de longitud inadecuadamente corta se corre el riesgo de inyectar en el tejido graso subcutáneo en vez de en el tejido muscular; si, por el contrario, la longitud de la aguja es excesiva cabe la posibilidad de lesionar estructuras neurovasculares u óseas.

la intensidad de las reacciones locales tras la vacunación está más en relación con la longitud de la aguja utilizada que con su calibre. Es la longitud y no el calibre, lo que aumenta la reactividad de una vacuna. Se produce

menor reactividad a mayor longitud. Ahora bien, hay que definir la longitud adecuada porque la utilización de agujas muy largas puede conllevar riesgos para el niño en la punción del periostio.

En los niños menores de dos meses, la aguja recomendada es la de 16 mm de longitud (25 G, cono de color naranja) con un ángulo de inyección de 90° en la Figura 20 se observa la manera adecuada en la que tiene que introducirse la aguja de la jeringa para conseguir que sea de forma intramuscular que para esto tiene que ser de 90° (<http://www.vacunasaep.org>).

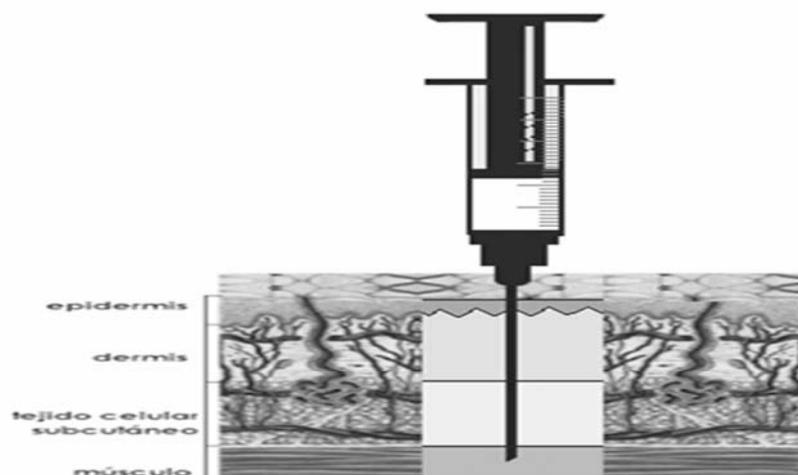


Figura 20. Vía intramuscular (<http://www.vacunasaep.org>).

A partir de los cuatro meses de edad, la aguja recomendada es la de 25 mm de longitud (23 G, cono de color azul), con un ángulo perpendicular (90°). Si la masa muscular es reducida, la aguja puede insertarse de forma ligeramente oblicua, con un ángulo superior a 65° (<http://www.vacunasaep.org>).

Cuando un producto veterinario farmacéutico inyectable y particularmente uno de liberación controlada es desarrollado se debe tener cuidado en que las cantidades del fármaco en el sitio de la inyección permanezcan bajo los límites autorizados por qué pueden ocurrir pérdidas financieras para el granjero si el animal muere por cualquier razón.

El sistema Artigel® consiste en polímeros biodegradables disueltos en un portador biocompatible. Cuando el sistema polimérico líquido es inyectado este forma un implante sólido al contacto con los fluidos acuosos del cuerpo. Si un fármaco es incorporado a la solución polimérica este es encerrado dentro de la matriz polimérica solidificada. El fármaco es entonces liberado al tiempo que se degrada el polímero.

La solidificación ocurre desde la administración subcutánea de esta preparación líquida. Subsecuentemente la hidrólisis de este co-polímero resulta en un patrón de liberación del antígeno que resulta en un incremento en los niveles de suero de anticuerpos por más de 90 días siguiendo una sencilla inyección (Rathbone,2002).

7.3.4 Vía Oral

Si se utilizan viales monodosis, se darán directamente en la boca.

En el caso de viales multidosis se administrará con el gotero especial que suministra el fabricante con la vacuna.

Si hubiese regurgitación o vómito en los primeros 5-10 minutos tras la administración de la vacuna, es necesario administrar una nueva dosis. Si la segunda dosis no es retenida y vuelve a vomitar o regurgitar, hay que valorar posponer la administración para otra visita sin considerar dicha dosis en el número total necesario para la correcta inmunización.

La lactancia materna no interfiere en la inmunización (<http://www.vacunasae.org>).

Los sistemas veterinarios orales (ruminales) modificados (controlados) se desarrollan para entregar su contenido por periodos extensos (hasta varios meses).

La mayoría de las formas orales humanas de dosificación de liberación modificada caen dentro de una de las siguientes categorías, una categorización similar se hace para los sistemas ruminales:

- 1.- Matriz: el fármaco es envuelto en una matriz polimérica y la liberación toma lugar por la partición del fármaco en la matriz polimérica y su liberación al medio. La liberación del fármaco por estos sistemas puede ser sensible a los efectos de la comida y el pH gastrointestinal contenido.
- 2.- Sistemas de reservorio: la forma de dosificación consiste de un núcleo de fármaco rodeado por una membrana que es limitante de la tasa de liberación. La liberación del fármaco por estos sistemas puede ser sensible a los efectos de la comida y el pH gastrointestinal contenido.
- 3.- Sistemas osmóticos: la presión osmótica es usada para la completa liberación del fármaco. Este evento ocurre independientemente del pH u otros parámetros fisiológicos. Este mecanismo puede ser usado para la liberación de fármacos a tasas predeterminadas (Rathbone, 2002).

7.4 INMUNORESPUESTA A LA VACUNACIÓN

La inmunorespuesta a la infección natural está generalmente caracterizada por una respuesta inicial del anticuerpo al patógeno seguido por una respuesta prolongada de la memoria con la exposición continua. Sobre la primera exposición a un antígeno, el sistema inmune responde por un aumento en los niveles del anticuerpo del suero (en el plazo de 2-4 semanas), seguidos por una baja relativamente rápida de los niveles del anticuerpo. Sin embargo, esta exposición inicial al antígeno realza la capacidad del cuerpo de responder debido a la proliferación de esos linfocitos específicos para ese antígeno particular. El sistema inmune se prepara, y convierte cualquier exposición a otro o al mismo antígeno generalmente más grandes, más rápidas, y más duraderas que la primera (Abbas et al., 1991).

Para aprovecharse de estas inmunorespuestas naturales, las vacunas necesitan ser presentadas en una dosis inicial y entonces se requieren revacunaciones para alcanzar inmunidad duradera. Es esta limitación natural la que representa uno de los desafíos más difíciles del desarrollo de un eficaz y extenso programa de vacunación.

De hecho, la organización mundial de la salud (OMS) estima que solamente 70% de la gente en los países en vías de desarrollo que reciben la dosis inicial de una vacuna, vuelven para la revacunación, llevando a una pérdida extraordinaria de recursos limitados y de población bajo vacunación. En vista de que la tecnología de liberación controlada tiene una gran promesa en la mejora de estos números con el desarrollo de vacunas que combinarían una inmunización inicial y los aumentadores de presión en un solo tiro o una dosis, y así librar este obstáculo que se presenta por el sistema inmune del cuerpo (Carino, 1999).

7.5 INMUNOLOGÍA DE LA MUCOSA

Muchas de las primeras obras en el desarrollo de vacunas se han concentrado en la inducción de la inmunidad humoral basada en el anticuerpo hacia patógenos específicos. Este tipo de inmunidad se confiere dentro de la circulación sanguínea y es el más eficaz contra los organismos que tienen una presencia significativa o parte de su ciclo vital dentro de la circulación sanguínea. Sin embargo, el gran reparto del trabajo reciente se ha centrado en el desarrollo de las nuevas vacunas que inducen inmunidad de la mucosa. La liberación por mucosa, es lo más a menudo posible por la ruta oral, y las vacunas de liberación controlada han demostrado ser eficaces en la inducción de este tipo de inmunidad.

Una inmunorespuesta enfocada en las superficies de la mucosa puede ser suficiente para prevenir la colonización de estas superficies y por lo tanto ayudar a prevenir la extensión del patógeno incluso antes de que entre en circulación sanguínea. Esta inmunorespuesta de la mucosa se caracteriza por una respuesta del secretor de la inmunoglobulina A (sIgA) hacia el antígeno en las superficies de la mucosa (gastrointestinales, respiratoria, rectal, vaginal, etc.). Hay evidencia de que todos estos sitios están ligados, por lo tanto la vacunación en cualquier mucosa superficial, tal como la pared del intestino después de una dosificación oral, inducirá las respuestas de secretores de IgA no sólo en esa mucosa específica localizada también en los otros sitios de la mucosa. Esta característica del sistema inmune de la mucosa, aunque algo simplificada según lo indicado, tiene grandes implicaciones para el desarrollo de vacunas de la mucosa eficaces.

Más del 70% de la producción de anticuerpos y linfocitos del sistema inmune es parte de la mucosa y se localiza en la zona intestinal. En vista de su tamaño y penetrabilidad y del hecho de que todas las vacunas actualmente disponibles (excepto el virus oral de la poliomielitis) se dan sistémicas y no obtienen una inmunorespuesta de la mucosa significativa, es seguro decir que la inmunología de la mucosa tiene todavía que ser explotada a su capacidad máxima. La promesa más grande del desarrollo de vacunas de liberación controlada es que mantiene el potencial aprovechamiento de esta barrera natural de gran alcance a la infección (Shalaby, 1995).

El sistema inmune de la mucosa ha basado su desarrollo en un sistema complejo para tratar los muchos antígenos presentes en la superficie de la mucosa. Hay dos áreas para procesar el antígeno donde la inmunorespuesta de la mucosa puede inducirse: el tejido linforeticular asociado al intestino (GALT por sus siglas en inglés) y el tejido linforeticular asociado a la nariz (NALT por sus siglas en inglés), que poseen estructuras celulares similares. El GALT se compone de las placas de Peyer; (tejido linfoide situadas en los pequeños intestinos, sobre todo en el íleo terminal), los folículos aislados linfoides del apéndice, y los nodos de linfa mesentéricos. El GALT se cubre de un

epitelio especial, el epitelio foliculo-asociado (FAE), que es formado por las IgM, que degradan los antígenos y las micropartículas intestinales y las entregan al tejido linfóide subyacente. Aquí, las células de antígeno-presentadoras muestran los antígenos a los linfocitos Th₂ y B, que pueden entonces hacer un recorrido sistémico a los sitios de la mucosa del determinante.

Estos sitios del determinante incluyen, pero no se limitan a la zona gastrointestinal (ZGI), y las zonas genitourinarias y respiratorias. En estos sitios, las células B se estimulan para secretar IgA.

La mayoría del trabajo sobre las vacunas de liberación controlada en mucosa se centra en intentar inmunizar el GALT entregando el antígeno en liposomas o microesferas termoplásticas directamente a las IgM de las placas de Peyer siguiendo la administración oral. Por lo tanto, la comprensión de las interacciones entre las macropartículas lumenales y las células que forman el FAE son críticas al diseño de vacunas para una inmunorespuesta de la mucosa (Carino, 1999).

7.6 ABSORCIÓN DE LAS PARTÍCULAS POR LAS IgM INTESTINALES

Las IgG son las Inmunoglobulinas G, una clase importante de inmunoglobulinas en la sangre, también son conocidas como globulinas gamma. Estas son la clase más abundante de anticuerpos encontrados en el suero sanguíneo y linfático, estos anticuerpos IgG trabajan para luchar contra las bacterias, hongos, virus y partículas extrañas. (<http://dermatology.about.com>), la molécula puede ser descrita de otra manera como se compone de dos fracciones la Fragmento de unión al antígeno (Fab) y un Fragmento cristalizante (Fc), la Fab incluye el antígeno de la combinación de los sitios, la región Fc consta de los restantes dominios de secuencias constantes de las cadenas pesadas y contiene células de unión y el complemento de los sitios de unión (<http://www.biology-online.org>).

Las IgM son la clase de anticuerpos circulantes en la sangre del cuerpo, los anticuerpos IgM son los primeros anticuerpos que aparecen en respuesta a una exposición inicial a un antígeno, también son conocidas como globulinas M (<http://dermatology.about.com>).

Desde 1961, era sabido que el intestino es una barrera imperfecta para las pequeñas micropartículas. Fue demostrado que granos de poliestireno de 220-Å de diámetro cruzaron las células epiteliales gastrointestinales y aparecieron en el hígado siguiendo la administración oral a ratas. Otro trabajo, 17 años más tarde, demostró que las partículas disponibles en el comercio del poliviniltolueno de 2-µm alimentadas crónicamente a ratones se acumularían en la placa de Peyer, vellosidades intestinales, y nodos linfa mesentéricos. Sin embargo, la conexión de este fenómeno al desarrollo potencial de sistemas vacvíneos orales de liberación controlada todavía no se realiza. Ahora existe un cuerpo de trabajo en donde los investigadores intentan documentar la absorción de micropartículas alimentadas oralmente, específicamente por las IgM que forman la placa de Peyer, y establecer la viabilidad de una vacuna de liberación controlada oral. Tales partículas con una afinidad para la absorción por el parche de Peyer se podrían utilizar para encapsular un antígeno y para obtener una inmunorespuesta de la mucosa (Carino, 1999).

La microscopía ha sido el método más común usado para seguir la absorción de microesferas o de otras micropartículas cerca del epitelio de la ZGI. Particularmente, la microscopía óptica se ha utilizado extensivamente. Los conejos se han utilizado con frecuencia como modelo animal en este tipo de investigación por poseer un

número relativamente grande de placas de Peyer; en sus zonas del tracto gastrointestinal (TGI) comparado con otros mamíferos. En un estudio específico, la microscopía óptica fue utilizada para demostrar el desplazamiento de micropartículas de poliestireno fluorescente, a través de la pared intestinal de los conejos. El movimiento temporal de éstas 600 a 700 microesferas a través de la superficie epitelial del folículo asociado (FAE) fue seguido después de su instilación intraluminal. El desplazamiento ocurrió en un lapso de 10 minutos, aproximadamente una cantidad igual de tiempo se necesitó para que cruzaran el epitelio. Los autores estimaban que 5% de la dosis intraluminal se incorporó al FAE. Estos resultados implicaron que el desplazamiento de micropartículas termoplásticas ocurrió rápidamente en la placa de Peyer; y se podía potencialmente utilizar para la liberación de vacunas (Carino, 1999).

En otro estudio, alimentando crónicamente microesferas de poliestireno de diversos tamaños (50 nm a 3 μ m) fue demostrado que aparecían en la placa de Peyer de la rata, vellosidades, hígado, bazo, y nodos linfa mesentéricos. No se vio ninguna microesfera en corazón, riñón, o pulmones. Las microesferas radiomarcadas con ^{125}I permitieron la cuantificación de microesferas en tejidos y demostró, que las microesferas más pequeñas tenían generalmente mayor absorción que las partículas más grandes como se muestra en la Tabla 5. Sin embargo, algunas observaciones interesantes, que fueron hechas particularmente, fueron cuando se examinaron las microesferas más grandes (3 μ m) pues parecían demostrar tener la mayor absorción (Carino, 1999).

Tabla 5. Respuesta total de los diferentes tamaños de partícula de Poliestireno después de la administración oral (Carino, 1999).

TAMAÑO DE LAS MICROESFERAS DE POLIESTIRENO	CAPTACIÓN (%)
50nm	33.7 \pm 3.7
100nm	25.9 \pm 3.2
300nm	9.5 \pm 1.25
500nm	13.7 \pm 1.2
1 μ m	4.6 \pm 0.7
3 μ m	\approx 12

Las microesferas de 1- μ m, no fueron observadas en la circulación sanguínea o en el hígado como las microesferas más pequeñas. Esto es explicado debido a que un gran número de microesferas de 3- μ m eran fijadas por adsorción e inmobilizadas dentro de la capa submucosal de la placa de Peyer; y por lo tanto no se permitió la circulación. La más pequeña de las microesferas fue desplazada rápidamente en la capa serosal y apareció en la circulación. El trabajo histológico acerca del mismo grupo indicó que la mayor parte de la absorción de estas microesferas ocurrió en la placa de Peyer; y de las partículas en el hígado que estaban principalmente en las células de Kupffer (los macrófagos) o células endoteliales que forman las sinusoides.

Otros métodos que también se han utilizado para la identificación y/o la cuantificación de las microesferas, incluyen la microscopía con focal, la microscopía electrónica, extracción del polímero del tejido seguido de la cuantificación por la impregnación de cromatografía en gel, y flujo citométrico.

Todos estos estudios llegaron a conclusiones similares: las micropartículas de polímero menores a $10\mu\text{m}$ de diámetro pueden entrar al GALT, alrededor de 1 hrs. después de la administración oral, y tienen futuro como portadores del antígeno para usos de vacunas de liberación controlada.

Aunque la absorción de las partículas se haya demostrado usando las microesferas duras, no biodegradables, está claro que los polímeros biodegradables serían más útiles para el desarrollo de un sistema de liberación controlada. El polímero, polivinílico (D, ácido L-láctico-co-glicólico) (PLGA), bajo la talla de partículas de $1\text{-}\mu\text{m}$ hasta las microesferas de $10\text{-}\mu\text{m}$, también se ha demostrado que pueden ser transportadas a las placas de Peyer del conejo; seguido de la instilación intraluminal. Este sistema tiene ventajas sobre el otro mencionado, el PLGA es biodegradable y se tiene ya estudiado y utilizado extensivamente como el portador dentro de numerosos dispositivos de liberación controlada. La microscopía electrónica demuestra que las microesferas de este copolímero están retenidas por encima de las IgM y desplazadas hacia el tejido linfático subyacente al cabo de 1 hrs. Esta absorción rápida de PLGA de las microesferas y sus características biodegradativas han desarrollado trabajos extensos con este polímero en usos vacvíneos.

Otro de los polímeros degradables, especialmente anhídridos polivinílicos, tienen también demostradas las características de la absorción del objeto expuesto. Estudios de luz y microscopía electrónica de transmisión con microesferas de $0.5\text{-}5\ \mu\text{m}$ en diámetro fabricadas de polivinílico anhídrido (fumárico-co-sebáceo) demuestran que existe un desplazamiento a través del epitelio de la zona GI. Las esferas fueron vistas rápido alrededor de 1 hrs. después de la alimentación y fueron observadas en la placa de Peyer; a las 3, 6, 12, y 24 hrs. Siguiendo de la administración oral (Carino, 1999).

7.7 ABSORCIÓN DE LIPOSOMAS

Los liposomas son moléculas de colesterol y fosfolípidos en los que se pueden incorporar antígenos, producen inmunidad humoral y han sido usados durante muchos años como vehículos para dosificar los antígenos para las vacunas (Martínez, 2006).

Además de microesferas termoplásticas, los estudios anteriormente mencionados también tienen la finalidad de determinar el grado de la absorción de liposomas administrados oralmente. Por ejemplo una absorción significativa después de la administración intraluminal de un marcador fluorescente, la 6 carboxifluoresceína, que fue considerada solamente cuando se absorbieron los liposomas mayores de 374 nanómetros y con por lo menos el 25% de las moléculas de fosfatidilserina fue observada predominantemente en la placa de Peyer ileal; en ratas, y comparado en el pequeño intestino más próximo.

Los autores sugirieron que estos resultados indican por lo tanto que estos liposomas se podían utilizar para apuntar específicamente a la placa de Peyer; para poder observar la aplicación en la estabilidad de estos liposomas en las condiciones ásperas de la zona gastrointestinal (ZGI), también se demostró que los liposomas hechos de distearoilfosfatidilcolina o dipalmitidilfosfatidilcolina, fosfatidilserina, y colesterol eran estables en condiciones gástricas simuladas, bilis, y líquidos pancreáticos (Tomizawa et al., 1992).

Estos resultados prestan mayor ayuda a la creencia de que tales liposomas podían entregar con éxito los antígenos a la placa de Peyer; y fueron vistos incorporarse a la placa de Peyer; después de la administración oral. Esta hipótesis fue proporcionada por un estudio en el cual fueron administrados liposomas etiquetados intraluminalmente para aislar los lazos intestinales de ratas que fueron considerados dentro de las vesículas endocíticas en las IgM de la placa de Peyer; con microscopía de transmisión de electrones (TEM). Muchos otros investigadores, antes y después de estos resultados, han utilizado los liposomas cargados de antígeno para obtener inmunorespuestas (Carino, 1999).

7.8 VACUNAS BASADAS EN LIPOSOMAS

Según lo mencionado anteriormente, el problema más grande con la subunidad en las vacunas es su inmunogeneticidad disminuida. Un gran número de materiales, conocidos como coadyuvantes, puede reforzar respuestas inmunes a los antígenos débiles. Éstos incluyen antígeno incompleto de Freund; una emulsión agua en aceite que contiene el antígeno, coadyuvante completo de Freund; (FCA), la misma emulsión agua en aceite incluye bacilos muertos de tuberculosis, hidróxido de aluminio (alumbre), y otros. Sin embargo, el alumbre es el único material aprobado para el uso humano los otros son absolutamente tóxicos; el FCA causa granulomas indeseables en el sitio si es inyectado. El alumbre se ha demostrado que puede ser inadecuado en muchas situaciones debido a variaciones en su efecto adyuvante con diversos antígenos y las formulaciones. A pesar de sus diferencias en estructura, la mayoría de los coadyuvantes se usan por su capacidad de aumentar las inmunorespuestas en la formación de emulsiones o depósitos con el antígeno y lentamente liberarlo durante el tiempo. Su comportamiento es semejantemente a los sistemas de liberación controlada y, de hecho, se ha sabido durante muchos años que los liposomas actúan como coadyuvantes inmunológicos.

En el trabajo de antígeno basado en liposomas, en ratones inmunizados con el toxoide de la difteria (DT) cargados en varias capas, los liposomas cargados con antígeno, hechos de la lecitina del huevo, colesterol, y el ácido fosfatídico demostraron mayores inmunorespuestas primarias y secundarias que los ratones administrados libremente con DT. Estos resultados fueron observados con las tres diferentes rutas probadas de la administración, intravenosa, subcutánea, e intramuscular. A diferencia de los otros tipos de coadyuvantes, los liposomas no causaron ningún granuloma u otra reacción inmune indeseada en el sitio de la inyección. Este trabajo fue seguido por muchas otras exploraciones con la posibilidad de aprovecharse de esta característica coadyuvante y la seguridad evidente de los liposomas para producir vacunas. Hay ciertamente una gran cantidad de variaciones posibles al diseñar vacunas basadas en liposomas (Carino, 1999).

En la tabla Tabla 6 se muestra un listado de algunos agentes infecciosos de interés veterinario para los cuales se han creado vacunas con los antígenos adecuados para lograr una inmunización en los animales y así evitar que su salud se vea deteriorada.

El tamaño de la vesícula, la composición de lípido, el cargamento del antígeno (incluyendo cuánto y donde se carga el antígeno), y la composición de la superficie de los liposomas pueden ser todos modificados para intentar optimizar el efecto adyuvante sobre el antígeno deseado. Sin embargo, una gran variedad de formulaciones liposómicas han demostrado una inmunogeneticidad creciente, sugiriendo que las características liposómicas específicas tales como tamaño, composición, y carga pueden ser menos importantes para los sistemas adyuvantes que el acto simple de la liberación del antígeno; que es retardado por su interacción con los lípidos. La tecnología

de liposoma se ha aplicado a diversos tipos de antígeno-bacteriano, de protozoarios, virales, proteínas, y otras (Gregoriadis et al., 1996).

De hecho, ha habido alrededor de 100 (y contando) patentes internacionales publicadas para las variaciones en este tipo de tecnología. Sería imposible describir todos los sistemas que se han explorado (Carino, 1999).

Tabla 6. Agentes infecciosos de interés veterinario que han sido incorporados en las vacunas basadas en liposomas (Bowersock, 1999).

ORGANISMO	HOSPEDERO	PRUEBAS HECHAS EN ANIMALES
Virus		
Rabia	Animales domésticos y salvajes	Ratones, mapaches en vitro
Newcastle	gallinas	Gallinas
Virus-1 del herpes bovino	ganado	Ratones, conejos
Influenza Aviar	Pavos, gallinas	Pavos
Leucemia bovina	ganado	Ratones
Virus de patas y bocas	Ciervos y alces (animales con pesuñas)	Cerdos de guinea
Bacterias		
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Gallinas	Gallinas
<i>Salmonella enteritidis</i>	Pavos	Pavos
<i>Staphylococcus spp</i>	ganado	Ovejas
<i>Escherichia coli</i>	ganado, cerdos	Ratones
<i>Protozoarios, gusanos, etc.</i>		
<i>Áscaris suum</i>	-	-
<i>Nippostrngylus brasiliensis</i>	-	-
<i>Toxoplasma gondii</i>	Ovejas, cabras, etc.	Ratones

7.9 DISPOSITIVOS A BASE DE POLÍMEROS

Muchos trabajos han sido elaborados con base en formulaciones basadas en polímeros para vacunas de liberación controlada, en la actualidad la aplicación de esta tecnología, es mediante la liberación de un antígeno de un dispositivo polimérico hecho de copolímero de acetato vinílico de etileno no biodegradable (EVAC), cada anticuerpo se formó durante más de 6 meses en ratones. Con este trabajo, el modelo de EVAC, un pellet de 1mm cargado de antígenos (albumina, la gama globulina) fue implantado subcutáneamente en ratones; la respuesta inmune era comparable para el antígeno emulsionado en FCA.

Se han usado tres proteínas diferentes para causar diferentes respuestas al anticuerpo, que, como se consideraba, las proteínas más grandes causaron la liberación lenta, causando así un efecto adyuvante mayor y la respuesta inmune esperada. Estos resultados son muy alentadores y se ha comenzado un nuevo campo de solicitud de este tipo de polímeros de antígenos cargados (Carino, 1999).

8 FABRICACIÓN DE VACUNAS

La fabricación de vacunas veterinarias tiene características particulares que deben tomarse en consideración al aplicar y evaluar el sistema de garantía de la calidad. Dado el número considerable de especies animales existentes y de agentes patógenos asociados a ellas, la variedad de productos fabricados es muy amplia, mientras que el volumen de fabricación suele ser reducido; de ahí que se trabaje generalmente por grupo de productos. Además, debido a la naturaleza misma de la fabricación (fases de cultivo, ausencia de esterilización final, etc.), los productos deben ser particularmente bien protegidos contra la contaminación y la contaminación cruzada. El medio ambiente también debe ser protegido, especialmente cuando la fabricación requiere la utilización de agentes patógenos o de agentes biológicos exóticos y el personal debe ser particularmente bien protegido cuando la fabricación requiere la utilización de agentes biológicos patógenos para las personas (<http://www.veterinaria.org>).

Habida cuenta de todos estos factores y de la variabilidad inherente a los productos inmunológicos, el sistema de garantía de la calidad desempeña un papel sumamente importante. Es imprescindible que las vacunas sean fabricadas con arreglo a un sistema codificado y reconocido que comprenda especificaciones en cuanto al material, los locales y la calificación del personal, así como en cuanto a la garantía de la calidad y la periodicidad de las inspecciones. Debe instaurarse un sistema unánimemente aceptado de inspección de las instalaciones, llevada a cabo por inspectores cualificados y especializados, para garantizar la confianza.

A efectos del análisis del riesgo, los países deben establecer un sistema de clasificación de las vacunas veterinarias basado en diversos criterios como, por ejemplo, los agentes patógenos utilizados como principio activo, sus características y el riesgo que representan.

Si se trata de vacunas que contienen vectores vivos, se debe evaluar la inocuidad del vector para las especies a las que se destina y a las que no se destina la vacuna, así como para las personas. Se debe vigilar atentamente cualquier modificación eventual del tropismo de los tejidos o de la gama de organismos huéspedes del recombinante.

El sistema de clasificación de riesgos en los sistemas de calidad debe tener en cuenta el origen, la naturaleza y el uso manifiesto de los productos biológicos. El hecho de proceder a análisis genéricos del riesgo y de elaborar procedimientos genéricos de certificación y garantía de la calidad permite el suministro continuo de productos, sin repetir innecesariamente las evaluaciones del riesgo, que son caras y requieren recursos considerables. Una vez realizada, la evaluación del riesgo puede ser vinculada a parámetros apropiados de fabricación y control (<http://www.vacunasaep.org>).

Existen ciertas consideraciones para el desarrollo de las vacunas veterinarias que diferencian a estas de las vacunas para los seres humanos en algún sentido.

Una de las más importantes de éstas es el costo, puesto que, dependiendo de la especie vacunada, el alto costo puede imposibilitar el uso de tipos seguros de vacunas. La creciente importancia en el diseño de las vacunas veterinarias es la capacidad de distinguir entre los animales infectados y los vacunados (Brun et al., 2008).

8.1 FORMULACIÓN DE LAS VACUNAS

FORMULACIÓN

En toda vacuna pueden diferenciarse cuatro tipos de elementos (composición de una vacuna):

El *componente activo*, que es realmente el responsable de la respuesta inmune protectora.

El *líquido de suspensión*, en el que va disuelto o emulsionado el componente activo para que sea posible su administración.

Sustancias preservantes o conservantes cuya función es evitar que se produzca la contaminación de la vacuna por bacterias u hongos durante su almacenamiento y transporte.

Sustancias adyuvantes, que aumentan la respuesta del individuo al componente activo de la vacuna (<http://www.viajarsano.com>).

8.2 LOS ADYUVANTES

Los adyuvantes son tema de interés desde el inicio de la vaccinología. Recientemente esta temática ha recibido mayor atención por el auge de nuevas vacunas (a partir de epitopes, subunidades) que son débiles desde el punto de vista de su inmunogenicidad. El desarrollo de la biotecnología y la Ingeniería Genética así como el conocimiento creciente de los elementos regulatorios de la respuesta inmune, han permitido favorecer el logro de la respuesta deseada.

Una de las definiciones clásicas de adyuvante los define como "sustancia que usada en combinación con el antígeno vacunal supera los niveles de inmunidad alcanzados con el empleo de la vacuna sola."

Para Allyson y Byars 1990 " es un agente que aumenta la inmunidad específica a un antígeno, un vehículo una sustancia usada para liberar el antígeno, y una formulación adyuvante, la combinación de adyuvante y el vehículo apropiado".

Según Cox y Coulter 1992 "una sustancia o procedimiento que provoque un incremento específico en la inmunogenicidad del componente vacunal".

Una respuesta inmune deseada varía dependiendo del agente microbiano y debe ser favorecida por el adyuvante. Lo que se sustenta en los elementos esenciales de la inmunidad a diferentes agentes infecciosos: bacterias, virus, y parásitos y debe tenerse en cuenta al momento del diseño de una vacuna en particular (Martínez, 2006).

8.2.1 Aluminio y Sales del Calcio

El aluminio y las sales del calcio son adyuvantes relativamente débiles que principalmente inducen respuesta tipo Th_2 y poca o casi ninguna inmunidad a mediación celular lo que los hace no adecuados para los microorganismos en los que la inmunidad celular es imprescindible para la protección. Las sales de calcio raramente se utilizan pero las sales de aluminio son ampliamente utilizadas en las vacunas de uso veterinario y la cantidad de aluminio varía con la vacuna.

Se consideran adyuvantes seguros. Los efectos adversos serios son poco frecuentes aunque pueden ocurrir reacciones alérgicas y granulomas (Martínez, 2006).

Entre las formulaciones adyuvantes que tienen como base los compuestos de aluminio, Cooper y colaboradores han combinado el hidróxido de aluminio con g-inulina (polisacárido procedente de algas) en un nuevo adyuvante denominado algamulina. Diversos antígenos comerciales han sido potenciados por la algamulina, entre los que se encuentran los toxoides diftérico y tetánico, el virus sincitial respiratorio, la proteína E7 del virus del papiloma humano, la glicoproteína D del virus herpes tipo 2, el virus completo de la influenza, Haemophilus influenzae, el conjugado peptídico del antígeno 2 de superficie de merozoítos de Plasmodium falciparum, el extracto de esperma de ratón (vacuna anticonceptiva), y membranas de micoplasma porcino (Rubido et al., 2000).

8.2.2 Adyuvantes Oleosos

En general las emulsiones de aceite son adyuvantes más fuertes que el aluminio, en el sentido que inducen tanto respuesta Th_1 como Th_2 , pero a costa de incrementar las reacciones en el sitio de inyección y los granulomas. En la actualidad se emplean otras opciones que no resulten tóxicas (Martínez, 2006).

8.2.3 Liposomas

Los liposomas son glóbulos sintéticos formados por capas de lípidos que encapsulan las sustancias terapéuticas, son vesículas de colesterol y fosfolípidos que parecen membranas de la célula. Estos adyuvantes pueden incorporar antígenos dentro del lumen o en la membrana. Ellos pueden inducir inmunidad humoral y, en algunos casos, activan la respuesta inmune celular mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL). Los liposomas se han usado durante años como vehículos para dosificar y son seguros. Se les ha añadido inmunomoduladores para aumentar la eficacia de los mismos pero también pueden aumentar los efectos adversos (Martínez, 2006).

Su adyuvancia depende del número de capas, la carga, la composición y el método de preparación. Su uso potencia tanto la inmunidad humoral como la mediada por células para antígenos de naturaleza proteica y polisacárida. El tiempo de vida medio de los antígenos incorporados en liposomas en la sangre es notablemente prolongado, lo que asegura una mayor exposición de antígeno (Rubido et al., 2000).

8.2.4 Nanopartículas y Micropartículas

Las Nanopartículas y Micropartículas son partículas sólidas diminutas hechas de polímeros biodegradables, sobre todo de cianoacrilatos y copolímeros poli (lactico-co-glicólico). Las nanopartículas difieren de las micropartículas sólo en su tamaño. Los polímeros que se usan en estos adyuvantes también son usados como material de sutura, prótesis o portadores de fármacos y se piensa que no son tóxicos. En estudios preliminares, ningún efecto adverso serio ha sido observado. Tienen la habilidad de formar un depósito a largo plazo que puede eliminar el antígeno durante varios meses. Las mezclas de micropartículas de eliminación -rápida y eliminación -lenta teóricamente deben proporcionar ambos tipos de inmunización: primaria y de refuerzo en una sola inyección. En ratas, una dosis de toxoide tetánico con un adyuvante de micropartículas logró una inmunidad comparable a 3 dosis con sales de aluminio.

Los adyuvantes de micropartículas pueden proteger a los antígenos incorporados contra las condiciones difíciles tales como el pH bajo, las sales biliares y enzimas. Por esta razón, ellas pueden ser particularmente interesantes para vacunas orales e intranasales. Los problemas técnicos en su fabricación pueden ser una desventaja porque el proceso de encapsulación puede alterar los antígenos y puede disminuir su habilidad de estimular el sistema inmune.

Se está probando las Nanopartículas y las Micropartículas en animales de compañía incluso los caballos así como en peces, ganado bovino y cerdos (Martínez, 2006).

Ofrecen la ventaja de una fácil administración y la habilidad de adaptar el perfil de liberación. Existen varias propuestas para el uso de formulaciones de micro esferas en veterinaria. Las aplicaciones incluyen la liberación de vitamina B12, moxidectina, progesterona/ estradiol, estradiol e ivermectina.

El primer producto comercial viable veterinario basado en micro partículas fue lanzado en Nueva Zelanda, este producto contiene vitamina B12, más recientemente se ha aprobado el uso de ProHeart®6 (moxidectina) para la protección de enfermedades causadas por *Dirafilaria immitis* (*D. immitis*) en perros. El producto es provisto en dos

viales separados que son mezclados antes de usarse, la aplicación subcutánea provee de protección durante seis meses (Rathbone, 2002).

8.2.5 Saponinas

Las saponinas son glicósidos tensoactivos que contienen un núcleo hidrofóbico de estructura triterpenoide, y cadenas de carbohidratos enlazadas al triterpeno que conforman regiones hidrofílicas. Entre las propiedades asociadas a las saponinas de *Q. saponaria* Molina, se incluyen: un excelente efecto adyuvante para antígenos tanto T-dependientes como T-independientes, y la estimulación de isotipos asociados a respuestas de células T auxiliaadoras de tipo 1 (Th1). Esta clase de adyuvantes induce, además, respuestas de linfocitos T citotóxicos (CTL), propiedad asociada usualmente con vectores virales. Las saponinas también potencian vacunas administradas por las vías mucosales (Rubido et al., 2000).

Las Saponinas son extraídas del árbol *Quillaia saponaria*. El extracto crudo de este árbol se llama saponina. La saponina Quil A y Spikoside[®] A. son mezclas parcialmente purificadas y QS21 y ISCOPREP 703[®] A son fracciones definidas.

La Quil A se usa ampliamente en medicina veterinaria y se ha usado en vacunas para el ganado bovino, cerdos, caballos, perros, y gatos que incluyen virus de la influenza equina, parvo virus canino. Es un producto heterogéneo compuesto por 23 picos diferentes de saponinas detectables por cromatografía líquida de alta presión, que se une al colesterol de la membrana de los eritrocitos y los rompe provocando efectos colaterales indeseables (Rubido et al., 2000).

Son seguras, pero la seguridad depende de la ruta de administración, especies, y la saponina específica. Inyecciones intravenosas de fragmentos menos purificados puede producir toxicidad, probablemente debido a hemólisis. Inyecciones de Quil A se toleran bien en ovejas y ganado, se reporta alguna toxicidad en gatos (Martínez, 2006).

8.2.6 Complejos Inmuno-Estimulantes (ISCOM)

Los Complejos inmune-estimulantes (ISCOM) son estructuras en forma de jaula que contienen saponinas, colesterol, y fosfolípidos. En vacunas veterinarias, la saponina es a veces Quil A. Los ISCOM pueden inducir respuestas Th₁ y CTL así como Th₂ pueden ser adyuvantes eficaces en gatos, perros, ganado bovino, caballos, cerdos, ovejas, pavos, conejos y ratones. Estos se han usado con más de 20 patógenos virales, bacterianos, y parasitarios, con buenos resultados (Martínez, 2006).

Combinan las ventajas de un sistema portador particulado con la presencia de un coadyuvante incorporado (Quil A) y por lo tanto se ha encontrado para ser más inmunogénico mientras que quita la actividad hemolítica de la saponina, produciendo menos toxicidad.

Estas vacunas han demostrado ser seguras y efectivas en numerosos animales y tratamientos clínicos, incluyendo vacunas contra el cáncer, contra bacterias, contra virus, contra parásitos. En la Tabla 7 se enlistan los agentes

infecciosos de interés veterinario, los cuales mediante sus antígenos se han podido formular vacunas basadas en ISCOM, y para los cuales se ha conseguido la inmunización.

Tabla 7. Agentes infecciosos de interés veterinario que han sido incorporados en las vacunas basadas en ISCOM (Bowersock, 1999).

ORGANISMO	HOSPEDERO	PRUEBAS HECHAS EN ANIMALES
Virus		
Newcastle	Gallinas	Gallinas
Rabia		Ratones
Influenza equina	Caballos	Ponis
Influenza Aviar	Aves de corral	Pavos
Herpes equino	Caballos	Potros
Pseudorabia	Cerdos	Cerdos, ratones
Bovinos infectados		
Rhinotracheitis	Ganado	Conejos
Leucemia felina	Gatos	Conejos, gatos
Leucemia bovina	Ganado	Ratones, Becerros
Distemperia canina	Focas	Focas
Diarrea viral bovina	Ganado	Becerros
Adenovirus bovino	Ganado	Conejos, ganado
Inmunodeficiencia felina	Gatos	Gatos
Bacterias		
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Gallinas	Gallinas

<i>Rhodococcus equi</i>	Caballos	Ratones
<i>Francisella tularensis</i>	Gatos	Ratones
<i>Clostridium tetani</i>	Caballos	Ponis
<i>salmonella</i>	Pavos	Pavos
<i>Protozoarios, gusanos, etc.</i>		
<i>Neospora caninum</i>	Perros	Perros
<i>Trichinella spiralis</i>	Cerdos	Ratones
<i>Echinococcus granulosus</i>	Perros, ovejas	Ratones
<i>Boophilus microplus</i>	Ganado	Ovejas, ganado
<i>Toxoplasma gondii</i>	Ovejas, cabras	Ovejas

8.2.7 Bloques de Copolímero no-Iónicos

Los bloques de copolímeros no-iónicos son adyuvantes sintéticos compuestos de bloques hidrofóbicos de polioxipropileno (POp) flanqueados por bloques de polioxietileno (POE). Los bloques de copolímeros no iónicos se consideran como adyuvantes, pueden reforzar la inmunidad humoral de varios antígenos virales, bacterianos y parasitarios y pueden inducir CTL (Martínez, 2006).

8.2.8 Productos Bacterianos y sus Derivados

Históricamente, las preparaciones de cultivos completos de bacterias muertas por calor se usaron como adyuvantes crudos. El ejemplo más famoso es el uso de micobacterias en el adyuvante completo de Freud (FCA). Más recientemente, Siwicki y colaboradores encontraron que preparaciones liofilizadas de *Propionibacterium avium* KP-40 muertas por calor podrían reforzar la respuesta de anticuerpos a un antígeno co-administrado. Para el uso en vacunas modernas, tales preparaciones bacterianas deben refinarse y a menudo desintoxicarse.

El Muramil di péptido (MDP) es el componente activo de un peptidoglicano inmunomodulador de Micobacteria. El MDP tiene efectos adversos como fiebre, artritis, y uveítis, Se han preparado derivados menos tóxicos. Los derivados hidrofílicos como el treonil MDP, murabutide, nor-MDP, N-acetilglucosaminil-MDP inducen principalmente respuesta tipo Th₂. Los derivados Lipofílicos de MTP-PE tienden a inducir reacciones tipo Th₁.

Las toxinas bacterianas también pueden actuar como adyuvantes. Se ha probado la toxina de cólera y la exo-toxina lábil al calor de *E. coli* (LT). Estas 2 toxinas son adyuvantes mucosales prometedores en algunos modelos animales. Ellas parecen inducir respuestas humorales fuertes así como LTC. Para el uso en mucosas, ambas, la LT y las toxinas de cólera deben ser mutadas a formas menos tóxicas (Martínez, 2006).

8.2.9 Las Citoquinas como Adyuvante

Las citoquinas son uno de los principales mediadores-efectores de la respuesta inmune capaces de regular un amplio espectro de funciones biológicas que incluye respuesta inmune e inflamatoria, reparación tisular, respuesta injerto huésped y la hematopoyesis, por lo que pueden ser usadas para "dirigir" la respuesta inmune, de aquí su potencialidad como adyuvantes.

Como se señaló anteriormente la definición de los patrones Th₁ (relacionado con inmunidad a mediación celular) y Th₂ (relacionado con inmunidad humoral) representó un avance indudable en la posibilidad de "orientar" la respuesta inmune.

La Interleucina 12 (IL12) se ha probado para prácticamente todos los patógenos intracelulares y de acuerdo a los aspectos señalados con relación a la inmunidad a microorganismos se desprende que la respuesta Th₁ es la deseada para todas aquellas infecciones microbianas intracelulares. El efecto beneficioso de la respuesta Th₁ con la secreción de Interferon (IFN) contra *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *L. monocytogenes*, *Rickettsia sp.* *Chlamydia sp.* *L. neumophila* así como *Plasmodium sp.*, *Leishmania sp.*, *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*.

El Bovino es uno de los elementos responsables de la respuesta protectora. En Anaplasmosis bovina se plantea que el IFN por las células NK (Natural Killer) las que contribuyen en las defensas tempranas durante infecciones bacterianas, parasíticas y virales. La IL12 facilita el desarrollo de clones de linfocitos Th₁. En contraste una regulación negativa de IL12 en la fase aguda de una infección puede ser el evento clave en el establecimiento de una infección crónica. La IL12 promueve la respuesta protectora endógena. Durante la infección IL12 estimula la producción de IFN.

Existen varios problemas que permanecen antes de que las citocinas puedan incorporarse rutinariamente en las vacunas. Estas proteínas son a menudo específicas para cada especie y sólo un número limitado de citocinas han sido clonadas en las especies de importancia veterinaria. Además, los modelos de ratones no siempre reflejan lo que puede ocurrir a las especies de importancia veterinaria. Por ejemplo, la IL10 en ratones puede cambiar el equilibrio de las respuestas Th₁ y Th₂, pero en ganado la IL10 no tiene el mismo efecto. Algunas citocinas pueden no ser suficientemente estables para las vacunas. La toxicidad también es una preocupación. La mayoría de las citocinas sólo se produce en cantidades pequeñas durante la respuesta inmune y principalmente actúan localmente. Si grandes cantidades entran en la circulación sistémica existe el peligro potencial de que se provoque un shock severo y muerte.

Se puede encontrar una dosis optima para algunas citocinas, evitando dosis pequeñas inefectivas o grandes dosis tóxicas o inmunosupresoras. Para otras citocinas, la dosis eficaz puede ser similar a la dosis tóxica. Para superar algunas de estas dificultades, se están desarrollando los derivados menos tóxicos de IL1 e IL6. Una vía alternativa para disminuir la toxicidad es usar los inductores de citocinas.

Finalmente no resulta obvio reiterar que es esencial el esclarecimiento de la inmunopatología de la enfermedad para la correcta selección de una citoquina como adyuvante (Martínez, 2006).

8.3 ADYUVANTES Y LIBERACIÓN ANTIGÉNICA

Liberación por pulsos de antígenos: Existe en la actualidad una tendencia a incorporar los antígenos a polímeros que liberan estos lentamente o en dosis por pulsos.

Las ventajas de este tipo de liberación antigénica que puede generar son las siguientes:

Pueden implantarse por vías subcutánea.

Administración de dosis múltiples.

Puede coadyuvar a dominar el bloqueo de los anticuerpos maternos.

Puede proteger a los antígenos de la administración oral.

Como principal desventaja se señala que el antígeno debe mantenerse estable durante y después de su incorporación en el polímero (Martínez, 2006).

8.4 ADYUVANTES PARA LAS VACUNAS MUCOSALES

Las vacunas mucosales pueden tener ventajas significativas por encima de las vacunas sistémicas. Los beneficios pueden incluir los efectos adversos disminuidos, administración más fácil e inducción de inmunidad en el punto natural de entrada para un patógeno. La acción del adyuvante puede ser un factor importante en el éxito de estas vacunas. Los adyuvantes deben poder superar las condiciones adversas, particularmente en el TGI. La combinación óptima del adyuvante-antígeno debe inducir anticuerpos en superficies de mucosas así como las respuestas inmunes sistémicas.

Los candidatos para ser adyuvantes para las vacunas mucosales incluyen liposomas, micropartículas y nanopartículas, citocinas, ISCOM, lípidos monofosforilados A, CpG, y toxinas ADP-RIBOSILATING detoxicadas, ADP-RIBOSILATING desintoxicadas. Las micropartículas y las nanopartículas son particularmente interesantes porque ellas pueden ser las únicas capaces de proteger antígenos contra el bajo pH, las sales biliares, y enzimas del tracto digestivo (Martínez, 2006).

8.5 EFECTOS ADVERSOS Y RIESGOS POTENCIALES DE LOS ADYUVANTES

Los efectos adversos de los adyuvantes están influenciados por las interacciones de los adyuvantes específicos y el antígeno y pueden ser fiebre, artritis, uveítis, anorexia y letargia. Teóricamente, los adyuvantes también pueden aumentar la probabilidad de reacciones autoinmunes. Dosis excesivas de IL12, una citocina propuesta como adyuvante, se ha asociado a las enfermedades autoinmunes. Se han detectado Auto-anticuerpos después de la vacunación con las vacunas contra distemper canino, rabia y parvo virus, y una asociación temporal también se ha sospechado entre la anemia hemolítica autoinmune y vacunaciones en perros. Los Adyuvantes también pueden tener efectos adversos específicos relacionados a su naturaleza química. Por ejemplo, algunos adyuvantes de saponina pueden producir hemólisis si se inyectan vía intravenosa (IV).

Los adyuvantes causan reacciones locales como inflamación, granulomas o abscesos estériles. En perros, las vacunas más frecuentemente asociadas con reacciones locales son rabia o combinaciones del distemper; en gatos, las vacunas de la rabia se relacionan a menudo con reacciones locales no-neoplásticas. Sin embargo la mayoría de estas reacciones son pasajeras.

Por estas razones se hacen muchas consideraciones: Primero, la inflamación severa puede entrapar los antígenos en el sitio de la inyección y puede evitar que sean reconocidos por el sistema inmune. Segundo, algunos adyuvantes pueden dar como resultado pérdidas por producir decompósitos en canales de los animales destinados para la alimentación humana. Ciertas vacunas que contienen aluminio, por ejemplo, pueden causar grandes granulomas en ovejas. Los granulomas están asociados particularmente con adyuvantes y pueden tomar semanas o meses para disolverse.

No existe un adyuvante ideal esto se justifica por razones que van desde la biología del microorganismo hasta aspectos tecnológicos, parámetros de calidad del producto final, reacciones adversas. Para seleccionar un adyuvante para una vacuna, debe entenderse que el mejor adyuvante no siempre es el mismo para todos los antígenos y situaciones. El adyuvante óptimo depende de las especies animales, patógenos específicos, el antígeno de la vacuna, ruta de inmunización, y el tipo de inmunidad que se necesita.

El conjunto de elementos señalados permiten tener la posibilidad más cercana a partir el conocimiento acumulado acerca de la interacción microorganismo –hospedero de obtener vacunas más cercanas a nuestras necesidades en medicina veterinaria. No obstante quedan muchos elementos que deben considerarse para lograr este objetivo como son los riesgos en la producción de las mismas (Martínez, 2006).

8.6 EL EFECTO ADYUVANTE DE LOS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN

Además del efecto adyuvante ganado por la liberación lenta de un antígeno, un cierto número de individuos han teorizado que más allá de los efectos adyuvantes intrínsecos de los sistemas de liberación controlada, otros sistemas biodegradables pueden ser diseñados para que posean un adyuvante añadido en forma de productos de degradación. Un polímero biodegradable basado en poli (CTTH-iminocarbonato) se degrada en n-benziloxicarbonil-l-tirosil-l-tirosina hexil ester (CTTH), que es un potente adyuvante inmunológico como el adyuvante completo de Freud

(FCA). Fue supuesto que un antígeno entregado en una matriz de tal material se beneficiaría por los efectos adyuvantes de los productos de degradación.

La albúmina sérica bovina (BSA) cargada en este polímero y entregado subcutáneamente en ratones realmente obtuvo una respuesta inmune mucho mayor que la BSA cargada en un polímero de control comparable, hecho de EVAC. Esto proporciona pruebas para la idea de que hay en verdad una diferencia entre el efecto adyuvante de los diferentes polímeros y que el efecto no puede ser únicamente atribuido a la liberación lenta del antígeno de estos dispositivos. Aunque esto sea un concepto muy interesante y uno que seguramente debería ser considerado para la selección de los polímeros específicos para su empleo en las formulaciones de vacunas, la investigación no es mucho más específica a lo largo de los trabajos publicados hasta la fecha (Martínez, 2006).

8.7 VACUNAS DE ÚLTIMA GENERACIÓN

Por definición, una vacuna es un material que induce una resistencia inmunológica mediada a una enfermedad pero no necesariamente infección. Es importante entender esta distinción al desarrollar nuevas vacunas como la colonización por un organismo patológico donde sea aceptable si la enfermedad puede ser controlada. Los diversos tipos de vacunas incluyen organismos vivos o inactivos así como subunidades o DNA. Todas estas formas de vacunas se pueden potencialmente alcanzar por la liberación controlada.

Las nuevas tecnologías han impactado en la vaccinología moderna en tres aspectos fundamentales:

- Nuevas formas de producción de vacunas
- Nuevas presentaciones antigénicas
- Nuevas estrategias de obtención y diseño.

Las estrategias que se utilizan para la generación de estas vacunas han permitido el desarrollo de diferentes generaciones de vacunas dentro de las cuales se destacan algunas por el impacto que han tenido o que van a tener en un breve período de tiempo (Kaufman, 1996).

Hoy día se están desarrollando y probando nuevos tipos de vacunas:

Conjugadas: ciertas bacterias tienen capas externas de polisacáridos que son mínimamente inmunológicos. Poniendo en contacto estas capas externas con proteínas, el sistema inmunitario puede ser capaz de reconocer el polisacárido como si fuera un antígeno (un antígeno puede ser una proteína o un polisacárido). Este proceso es usado en la vacuna *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) del tipo B (también conocido como bacilo de Pfeiffer).

Vector recombinante: combinando la fisiología (cuerpo) de un microorganismo dado y el ADN (contenido) de otro distinto, la inmunidad puede ser creada contra enfermedades que tengan complicados procesos de infección.

Vacuna de ADN: vacuna de desarrollo reciente, es creada a partir del ADN de un agente infeccioso. Funciona al insertar ADN de bacterias o virus dentro de células humanas o animales. Algunas células del sistema inmunitario reconocen la proteína surgida del ADN extraño y atacan tanto a la propia proteína como a las células afectadas.

Dado que estas células viven largo tiempo, si el agente patógeno (el que crea la infección) que normalmente produce esas proteínas es encontrado tras un periodo largo, serán atacadas instantáneamente por el sistema inmunitario. Una ventaja de las vacunas de ADN es que son muy fáciles de producir y almacenar. Aunque en 2006 este tipo de vacuna era aún experimental, presenta resultados esperanzadores.

Vacunas por subunidades (recombinantes o purificadas) que han estado basadas en los criterios de selección de antígenos de virulencia lo que ha permitido vacunas más eficaces, seguras, de bajo costo relativo y de respuestas inmunes más específicas y duraderas.

Vacunas vivas atenuadas por mecanismos moleculares: La sustitución de los métodos convencionales de atenuación ha eliminado uno de los peligros potenciales de las vacunas atenuadas: la reversión de la patogenicidad.

Vacunas por péptidos sintéticos: La síntesis de péptidos en el laboratorio abrió la posibilidad de utilizarlos como vacunas. Las premisas para el uso de los péptidos sintéticos como vacunas estuvieron sentadas en que los anticuerpos generados por inmunizaciones con péptidos sintéticos eran capaces de reconocer proteínas nativas.

Es importante aclarar que, mientras la mayoría de las vacunas son creadas usando componentes inactivados o atenuados de microorganismos, las vacunas sintéticas están compuestas en parte o completamente de péptidos, carbohidratos o antígenos. Estas vacunas sintéticas suelen ser consideradas más seguras que las primeras (<http://es.wikipedia.org>).

8.8 IMPORTANCIA DE LAS VACUNAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

La inmunización contra enfermedades infecciosas es indiscutiblemente la intervención más eficaz para mejorar la salud pública. Hay alrededor de 50 formulaciones vacvíneas actualmente disponibles en Estados Unidos (Keusch y Bart, 1998), pero permanece una gran necesidad mundial de vacunas eficaces contra las diversas enfermedades, pues solamente representan una pequeña minoría de todas las enfermedades contagiosas. También, hay todavía la necesidad de la mejora de las vacunas existentes. Estas necesidades son particularmente evidentes en el mundo en desarrollo, donde las enfermedades infecciosas continúan siendo una de las causas principales de morbilidad y mortalidad a pesar de los programas de vacunación a gran escala (Lambert, 1993). Además, la aparición de un gran número de organismos fármacorresistentes, tales como micobacteria tuberculosis multifármacorresistente, y patógenos para los cuales el tratamiento totalmente eficaz tiene todavía que ser desarrollado, especialmente el VIH, también ha destacado la necesidad de medidas preventivas mejoradas.

Un número de autores han descrito la vacuna ideal y las diferentes características que tendría que poseer. Lo más importante es que una vacuna ideal tendría la capacidad para obtener la inmunorespuesta apropiada para el patógeno considerado. Muchas infecciones bacterianas y virales pueden ser paradas con éxito por los anticuerpos del suero que confieren inmunidad contra los microorganismos intracelulares, tal como la *M. tuberculosis*, que requieren una respuesta transmitida por células. Algunos patógenos, por ejemplo el VIH, pueden ser controlados mejor por una combinación de ambos tipos de inmunidad. Idealmente, la inmunorespuesta debe ser de largo plazo, preferiblemente para la vida. No debe bajo ninguna circunstancia causar la enfermedad que se supone va a prevenir y debe poseer efectos secundarios mínimos. Para hacer el extenso uso de la vacuna económicamente factible, la

vacuna debe ser administrada fácilmente en una dosis simple, preferiblemente cerca del nacimiento para iniciar la protección cuando la gente es más vulnerable, y las condiciones de la producción deben ser bien definidas y reproducibles. Finalmente, la vacuna en sí misma debe ser bastante estable para mantener inmunogenicidad ante la administración sin el uso de una cadena fría costosa (Helland et al., 1990).

Ningunas de las vacunas existentes cumplen todos los requisitos para ser ideal. Sin embargo, el uso de tecnologías de liberación controlada puede tener en cuenta el desarrollo de las vacunas que mejor se acerquen a todos estos criterios, que se resumen adentro de la Tabla 8.

Los tipos de vacunas de liberación controlada existentes hasta ahora caen en dos tipos, liposoma o en polímero-basado en microesferas, éstas han recibido la mayor atención. Un especial énfasis es vertido en la inmunología de la mucosa y el desarrollo de las formulaciones orales de liberación controlada. Este trabajo no es exhaustivo en su alcance con los trabajos realizados hasta ahora sobre el tema pero debe servir como buen punto de partida en la descripción de algunos de los conceptos dominantes y de los progresos en la tecnología vaccínea de liberación controlada, con énfasis sobre sistemas termoplásticos del liposoma y polímero-basado en microesferas (Carino, 1999).

Tabla 8. Propiedades de la vacuna ideal (Carino, 1999).

CONSIDERACIONES BIOLÓGICAS	CONSIDERACIONES ECONÓMICAS
Confiere inmunidad permanente	Administración en una sola dosis
No causa la enfermedad	Condiciones de producción reproducibles
Efectos adversos mínimos	Estable sin una cadena en frío
Administración parenteral	No se necesita personal con formación médica para su administración

9 DISCUSIÓN

Las vacunas de uso veterinario son fabricadas en función de la especie y del tamaño de los animales a los que serán administradas, lo cual hace que sea difícil llegar a tener una dosis adecuada de antígeno disponible para que se lleve a cabo la inmunización, además aunado a esto es todavía más difícil realizar una formulación adecuada para una liberación controlada puesto que se tienen que tomar en cuenta más parámetros (tipo de vacuna, propiedades de los antígenos, tipo específico de animal que será administrado, fisiología del mismo, etc.) para asegurar una inmunización correcta de estos, pero gracias a la implementación de la tecnología de liberación controlada que sirve para desarrollar vacunas que permiten mejorar la calidad de vida de los ovinos se puede evitar un manejo excesivo de los animales y de esta manera se evita estresarlos, lo cual es muy importante si estos son destinados para la producción de algún producto para consumo humano o si son sementales que requieren buena salud para asegurar una buena reproducción y así de esta manera poder mantener su salud y la de las crías a las que dan origen, ya que esto trae consigo repercusiones económicas para los ganaderos y a la salud pública, por el consumo de los productos que de estos se originan (leche, queso, carne, etc.), por lo cual en base a la información encontrada en las diversas fuentes de información consultadas para la realización de esta tesis podemos observar que existen diferentes maneras de realizar las formulaciones para las vacunas de uso veterinario, pero las más adecuadas para la especie que se está tratando en este trabajo (ovinos) y poder lograr la inmunización mediante liberación controlada, está referida en los artículos, “Vacunas veterinarias, retos, estrategias y expectativas”, de Siomara Martínez, Miriam Pedroso Reyes y Belkis Corona González, en este artículo se trata la información referente a los diferentes tipos de tecnologías de liberación modificada con uso como adyuvantes (saponinas, aluminio y sales de calcio, liposomas, nanopartículas y micropartículas, citoquinas y los Complejos inmune-estimulantes) que se utilizan actualmente en la producción de vacunas en la rama veterinaria, para facilitar y mejorar la inmunización de los animales en que son administradas, también contiene la información necesaria para tener los cuidados en su utilización como diferentes adyuvantes en estas, en este otro artículo “Modified release drug delivery in veterinary medicine” de J. Michael Rathbone y N. Marilyn Martínez, está contenida la información correspondiente al uso de las microesferas en productos farmacéuticos destinados a los animales específicamente en rumiantes y pequeñas especies en los cuales tuvo éxito el uso de esta tecnología de liberación modificada para la administración de diferentes principios activos para el alivio y el cuidado de la salud de estas especies, y por último, “Adyuvantes vacunales: estado actual y nuevas tendencias” de Julio C. Rubido Aguilar y María de Jesús Angulo Leal, se encuentra la información referente al uso comprobado de saponinas, microesferas y liposomas como adyuvantes para la introducción de antígenos contra diversas bacterias en animales así como su uso de liberación modificada para obtener en una sola administración y una adecuada inmunización, también están descritas las ventajas y desventajas de su uso con este fin, como se describe anteriormente ya se han probado algunas vacunas en experimentos sobre el ganado ovino y han demostrado que la mejor manera de inoculación de los antígenos contra algunas bacterias son: mediante la elaboración de liposomas cargados de antígeno, así como las micropartículas (microesferas) y los componentes inmuno-estimulantes (ISCOM), por lo cual para *A. seminis*, se ha determinado que es de igual manera viable este tipo de vacunas contra esta bacteria que es de nuestro interés por que produce la epididimitis ovina y de esta manera se puede asegurar una buena cantidad disponible de antígeno para llevar a cabo la correcta la inmunización de los animales.

10 CONCLUSIONES

Se realizó la recopilación de la información necesaria Mediante la investigación exhaustiva de información bibliográfica, hemerográfica y cibergrafía para poder entender el tema de las de vacunas de liberación controlada de uso veterinario que sirven en la prevención de la epididimitis provocada por *A. seminis* que es del interés de los humanos por sus efectos sobre la salud de los ovinos y su repercusión económica en la ganadería. Esta nueva base de datos generada queda disponible para futuras referencias.

Se lograron conocer los principales componentes utilizados en la formulación de vacunas de liberación controlada.

Se identificaron las formas farmacéuticas innovadoras que pueden ser utilizadas en el desarrollo de vacunas de liberación controlada, dentro de las cuales están: las bombas osmóticas, liposomas, parches transdérmicos, los biomateriales, las microesferas, los componentes inmuno-estimulantes (ISCOM) y las micro partículas.

En base al análisis de la información obtenida, se considera que son las micro esferas, la elaboración de liposomas cargados con antígeno y los componentes inmuno-estimulantes (ISCOM), como las mejores formas de inoculación del antígeno contra *A. seminis* para conseguir la inmunización y así erradicar la epididimitis en el ganado ovino.

11 PERSPECTIVAS

Para dar continuidad a este proyecto se propone realizar la parte experimental de la elaboración de las vacunas dentro del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal.

Se deberían realizar las vacunas de tal forma que se les incorpore dentro de la formulación un antígeno verdadero ayudado de la tecnología de liberación controlada, para poder caracterizar su liberación por medio de estudios *in vitro*.

Una vez caracterizado el perfil de liberación, se deberán realizar pruebas biofarmacéuticas en ovinos y cuantificar la inmunorespuesta.

El presente queda como información actualizada de tal manera que se crea una base de información de primera mano que puede ser utilizada en un futuro para realizar estudios sobre el mejoramiento de las formulaciones de las vacunas existentes que se puedan utilizar en el cuidado de la salud de los animales ya sea de producción o de compañía.

Al desarrollar las vacunas de liberación controlada se ayudara así a la industria ganadera a prevenir y aliviar la epididimitis ovina para mejorar la calidad de vida de las ovejas y que puedan seguir siendo animales de producción y reproducción dentro de la práctica ganadera.

12 REFERENCIAS

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (1991). Cellular and Molecular Immunology, Saunders, Philadelphia, P.Schultz y Kleinebudde, A new multiparticulate delayed release system. Part I: Dissolution properties and release mechanism, *J. Control. Release.* **47**: 181.

Acosta Dibarrat, Jorge, Díaz Aparicio, Efren, Arellano Reynoso, Beatriz, Tórtora Pérez, Jorge. (2006). Inducción experimental de epididimitis en ovinos por inoculación intrauretral por *Actinobacillus seminis*: estudio Bacteriológico, Serológico e Histopatológico. *Técnica pecuaria en México* **44** (2): 257-267.

Allevato, Miguel Angel. (2007). Sistemas Terapéuticos Transdérmicos Actualizaciones Terapéuticas Dermatológicas y Estéticas **30**: 154.

Anmeghino, C. Enríque. (2000). Enfermedades de ovinos influenciadas por el ambiente y manejo. Jacapo, ReIlguera y GarballZo. Serie Crianzas Ganado Ovino. Instituto nacional de investigacion agraria, INIA. Lima Perú. Septiembre. Primera reimpression.

Anmeghino, C. Enríque. (2000). Enfermedades parasitarias del ganado ovino. Serie Crianzas Ganado Ovino. Instituto nacional de investigacion agraria, INIA. Lima Perú. Septiembre. Primera reimpression.

Baena, Yolima, Aragón, Marcela, Sandoval, Plinio A., Rosas, Jaiver E., D'León, Luisa F. Ponce. (2006). Sistemas osmóticos de administración oral, *Revista colombiana de ciencias químico farmacéuticas* **35** (2): 192-211.

Blanco, M. D., Bernardo, M.V., Gómez, C., Muñiz, E., Teijón, J. M. (1999). Bupivacaine-loaded comatrix formed by albumin microspheres included in a poly(lactide-co-glycolide) film: in vivo biocompatibility and drug release studies. *Biomaterials* **20**: 1919-24.

Blasco, J.M. (1990). *Brucella ovis*. Animal Brucellosis. Boca Raton, Florida. USA. p.p. 453.

Bowersock, L. Terry, Martin, Stephen. (1999). Vaccine delivery to animals. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **38**: 167-194.

Brun, Alejandro, et. al. (2008). Antigen delivery systems for veterinary vaccine development Viral-vector based delivery systems. *Vaccine.* **26** (51): 6508-6528.

Buddle, M.B., Boyes, B.W. (1953). A brucella mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. *The Australian Veterinary Journal.* **29**: 145-153.

Bulgin, M.S. (1990). *Brucella ovis* excretion in semen of seronegative, clinically normal breeding rams. *Journal of the american veterinary medical association.* **196**: 313-315.

Buri, P., Puisieux, F., Doelker, E., Benoit, J.P. (1985). *Formes Pharmaceutiques Nouvelles: aspects technologique biopharmaceutique et medical, Technique et Documentattion, Paris.* pp. 175-196.

Carino, G. (1999). Vaccine Delivery. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. volumen 1 & 2. Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. 993-1006.

De Arana, Amurrio José Ignacio. (1994). Historias curiosas de la medicina. Espasa Calpe. Madrid.

Dong L., K. Shafi, P. Wong and J. Wan. (2002). L-OROS[®] SOFTCAP[®] for Controlled Release of Non-Aqueous Liquid Formulations. Drug Delivery Technology. **2**. (1).

Dubemet, C., Benoit, J. P., Couarraze, G., Duchène, D. (1987). International Journal of Pharmaceutics. Microencapsulation of nitrofurantoin in poly(ϵ -caprolactone): tableting and in vitro release studies. **35**: 145-156.

Eldrige, J. H., Staas, J. K., Meulbrock, J. A., mcghee, J. R., Tice, T. R., Gilley, R. M. (1991). Biodegradable microspheres as a vaccine delivery system. Molecular Immunology **28**: 287.

Emerging technologies. Pharmaceutical & Diagnostic Innovation. (2005). Let There Be Light: epitan's Melanogenesis Technology Could Create New Pharmaceutical Markets. **3** (3): 7-9.

English, J., Dang W. Y Zhao Z. (1999). Fabrication of controlled-delivery devices. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, volumen 1 & 2, Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons, Inc. U.S.A.

Estebe, J. P., Le Corre, P, Chevanne, F., Malljdant, Y., Le Verge, R. (1995). Prolongation of spinal anesthesia with bupivacaine-loaded (DL-lactide) microspheres. Anesthesia & Analgesia **81**: 99-103.

FDA. (2004). approves pain-patch lidocaine delivery system. Journal of Drugs in Dermatology, July-August.

Forbes, A.B., Pitt, S.R., Baggott, D.G., Rehbein, S., Barth, D., Bridi, A.A., Carvalho, L.A., O'Brien, D.J. (1999). A review of the use of a controlled-release formulation of ivermectin in the treatment and prophylaxis of Psoroptes ovis infestations in sheep Veterinary Parasitology **83**: 319–326.

García, Marta Eulalia, Blanco, José Luis. (2000). Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. Revista Iberoamericana de Micología. Madrid, España. **17**: S2-S7.

Gregoriadis G., Gursel, I., Gursel, M., McCormack, B. J. (1996). Liposomes as immunological adjuvants and vaccine carriers. *Journal of Controlled Release*, **41**(1-2):49-56.

Gupta, V., Verma, S., Nanda, A., Nanda, S. (2005). Osmotically controlled drug delivery. Drug Delivery Technology. **5** (1).

Helland, D.E., Hey, A.W. (1990). A short review of biotechnological methods of relevance to modern vaccine development. Scand J Infect Dis Suppl **76**: 32-38.

Heng, P.W.S., Hao, J., Chan, L.W., Chew, S.H. (2004). Influences of osmotic agents in diffusion layer on drug release from multilayer coated pellets. Drug Development and Industrial Pharmacy **30**: 213.

<http://dermatology.about.com/library/bldefigg.htm>

<http://es.encarta.msn.com> (© 1997-2009 Microsoft Corporation)

<http://es.wikipedia.org>

<http://pdf.rincondelvago.com/vacuna-contra-la-brucelosis.html>

<http://www.asmexcriadoresdeovinos.org/empezar/imagenes/fotos/fig7.jpg>

<http://www.biology-online.org/dictionary/Igg>

<http://www.escaparates.com/visual/constructorie.asp.intiddatosempresa=718&idpagina=4&CO>

<http://www.farmacia.unal.edu.co>

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras/97/material/ACTIVIDAD%20PRESENCIAL%20OBLIGATORIA%205%202009.doc>

<http://www.revistaciencias.com/publicaciones/epzyeezulyrwfvsxn.php>

<http://www.ub.es/legmh/capitols/sunyenegre.pdf>

http://www.vacunasaep.org/profesionales/administracion_vacunas_vias.htm

http://www.vacunasaep.org/profesionales/administracion_vacunas_vias.htm

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080807/080718.pdf>

<http://www.viajarsano.com>http://www.viajarsano.com/vac_asp.html

Hunt, G., Kearney, P., Kellaway, I.W. (1987). Mucoadhesive polymers in drug delivery systems. In: Johnson P. Y Lloyd- Jones J.G. (eds). Drug delivery systems. Fundamentals and techniques. Ellis Horwood, Series in biomedicine. Chichester: 180-199.

Istituto di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria, Laboratorio Universitario di Virologia "V. Cilli", Università di Perugia, Italy (Received for publication 23 January 1996).

Kaufman, S. (1996). Concepts in vaccine development. Ed. Walter de Gruyter. Berlin

Lambert, R.R.H. (1993). *Revue Medicale de la Suisse Romande* **113**: 193-198.

Lazarus, J., Cooper, J. (1959). Oral prolonged action medicaments: their pharmaceutical control and therapeutic aspects. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 11 (5): 257-290.

Le Corre, P., Rytting, J. H., et. al. (1997). In vitro controlled release kinetics of local anaesthetics from poly (D, L-lactide) and poly(lactide-co-glycolide) microspheres. *Journal of Microencapsulation Miro and Nano Carriers* **14** (2): 243-255.

Lee, T.W. et al. (2003). Hydrogel patches containing triclosan for acne treatment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **56** (3): 407-12.

Liu L., Ku, J., Khang, G., Rhee, J. M., Lee, H. B. (2000). Monolithic osmotic tablet system for nifedipine delivery. *Journal of Controlled Release* **67**: 309.

Lofthouse, Shari, Nagahara, Shunji, Sedgmen, Bradley, Barcham, Garry, Brandon, Malcolm, Sano, Akihiko. (2001). The application of biodegradable collagen minipellets as vaccine delivery vehicles in mice and sheep. *Vaccine*. **19**: 4318–4327.

Malinowski H. y Marroum P. (1999). Food and Drug Administration Requirements for Controlled Release Products, *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery Volumen 1 & 2*, Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. p 381-395.

Martin, w. B. (1996). respiratory infections of sheep. *Comp. Immun. MicrobioL infect. Dis. Italy* **19**(3): 171-179.

Martínez, Siomara, Pedroso Reyes Miriam, Corona González Belkis. (2008). Vacunas veterinarias, retos, estrategias y expectativas. *Revista salud animal*.

Mathiowitz E., (1999) *Encyclopedia of Controlled drug delivery*, volumen 1 & 2, Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons. Inc. U. S.

Mbai, K, Munyua, S.J.M., Gathumb, P. K., Mbiuk, S.M. (1996). Actinobacihis seminis as a cause of ram infertility in Kenya. *Small Ruminant Research*. **2** (1): 227-231.

Musel, A., Warshaw, E. (2006). Cutaneous Reactions to Transdermal Therapeutic Systems. *Dermatitis* **17** (3): 109-122.

Nuñez, Alma L. (2005). Identificación y Empleo de Proteínas de Actinobacillus seminis como Candidatos a Antigenos para su Diagnóstico. Tesis de doctorado en Ciencias de la producción y de la salud animal, FES Cuautitlán, UNAM, México.

Núñez, Alma L., Salas, Enrique, de la Garza, Mireya, Díaz, Aparicio Efrén, Tenorio, Víctor. (2006). Identification of an immunogenic protein of Actinobacillus seminis that is present in microvesicles. Articles from Canadian Journal of Veterinary Research are provided here courtesy of Canadian Veterinary Medical Association.

Pareja B. (1996). Dermofarmacia. La Piel y los sistemas transdérmicos. *Folia Dermatológica Peruana* **7** (1).

Pavanetto, F., Conti, B., Genta, I., Giunchedi, P. (1992). Solvent evaporation, solvent extraction and spray drying for polylactide microsphere preparation. *International Journal of Pharmaceutics* **84** (2): 151-159.

Porter, S.C. (2000). Coating of Pharmaceutical Dosage Forms en Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20 ed.) Lippincott Williams & Wilkins.

Rathbone, J. Michael, Martinez, N. Marilyn. (2002). Modified release drug delivery in veterinary medicine. Drug Discovery Today **7** (15): 823-829.

Rathbone, M., Witchey-Lakshmanan, L., Ciftci K. (1999). Veterinary applications. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery volumen 1 & 2, Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. 1006-1037.

Robles, C. A. (1998). epididimitis contagiosa de los carneros por brucella ovis. Revista de Medicina Veterinaria **79**: (1).

Rodríguez, I.C., Cerezo, A., Salem, I.I. (2000). Sistemas de liberación Bioadhesivos. Ars Pharmaceutica **41** (1): 115-128.

Rubido, Aguilar Julio C., Angulo, Leal María de Jesús. (2000). Adyuvantes vacunales: estado actual y nuevas tendencias. Biotecnología Aplicada **17**: 147-160.

Ruiz, Daniel. (2009). Desarrollo de bolos intraruminales por el método de extrusión en caliente. Tesis de licenciatura de QFB, FES Cuautitlán, UNAM, México.

Sáez, Virginia, Hernández, Estibaliz, Sanz, Lucio, Katime, Issa. (2004). Liberación controlada de fármacos. Revista Iberoamericana de Polímeros **5** (2):83-101.

Sánchez, A., Vila-Jato, J. L., Alonso, M. J. (1993). Development of biodegradable microspheres and nanospheres for the controlled release of cyclosporin A. International Journal of Pharmaceutics **99**(2,3): 263-273.

Santus G., Baker, R.W. (1995). Osmotic Drug Delivery: A review of the patent literature. Journal of Controlled Release **35** (1).

Sato, T., Kanke, M., Schroeder, H. G., Deluca, P. P. (1988). Porous Biodegradable Microspheres for Controlled Drug Delivery. I. Assessment of Processing Conditions and Solvent Removal Techniques. Pharmaceutical Research **5** (1): 21-30.

Schultz, P., Kleinebudde. (1997). A new multiparticulate delayed release system. Part I: Dissolution properties and release mechanism. Journal of Controlled Release **47**: 181.

Shalaby, W.S. (1995). Development of Oral Vaccines to Stimulate Mucosal and Systemic Immunity: Barriers and Novel Strategies. Clinical Immunology and Immunopathology **74**(2): 127-134.

Shapiro, M., Jarema, M.A., Gravina, S. (1996). Magnetic resonance imaging of an oral gastrointestinal-therapeutic-system (GITS) tablet. Journal of Controlled Release **38**: 123.

Smart, J.D. (1984). The evaluation of mucosa-adhesives for le control of gastrointestinal transit. Phd Thesis. The University of Wales.

Stamp, J.T., Mcewen, A.D., Watt, J.A., Nisbet, D.T. (1950). Enzootic abortion in ewes. 1- transmission of the disease. *The veterinary record* **62**: 251-254.

Suñé, J. M. (2000). *Nuevas Aportaciones Galénicas a las Formas de Administración*. Ferrer Grupo. Barcelona. España. p.p. 41-47.

Theeuwes, F., Wong, P.S.L., Yum, S.I. (1991). Drug Delivery and Therapeutic Systems, in: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Edited by Swarbrick, J., Boyland, J.C., Marcel Dekker. U.S.A. **4**: 303-316.

Tomizawa, H. et al. (1992). Uptake of Phosphatidylserine Liposomes by Rat Peyer's Patches Following Intraluminal Administration. *Pharmaceutical Research* **10**(4): 549-552.

Torrado, J. J., Cadórniga, R. (1989). Albumin microcapsules, microspheres and nanoparticles as new systems of medication administration. *Farmacia Clinica* **6**(10):724-733.

Verma, R. K., Krishna, D. M., Garg, S. (2002). Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. *Journal of Controlled Release* **79** (7): 27.

Verma, R. K., Mishra, B., Garg, S. (2000). Osmotically Controlled Oral Drug Delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **26**: 695.

Wood, R. W., Li, V. H. K., et. al. (1985). Ocular disposition of poly-hexyl-2-cyano[3-14C]acrylate nanoparticles in the albino rabbit. *International Journal of Pharmaceutic* **23**(2): 175-183.

Yamasaki Maza, Alberto, Velazco Zebuada Ma. E. (2002). Bacterias de interes veterinario. *Medicina veterinaria* **19**(1):1-11.

Yoshikawa, H., Nakao, Y., Takada, K., Muranishi, S., Wada, R. T., Tabata, Y., Hyon, S. H., Ikada, Y. (1989). Targeted and sustained delivery of aclarubicin to lymphatics by lactic acid-oligomer microsphere in rat. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **37**: 802.

Zingerman, J. R., Cardinal, J.R., Chern, R.T., Holste, J., Williams, J.B., Eckenhoff, B., Wright, J. (1997). The in vitro and in vivo performance of an osmotically controlled delivery system - IVOMECS[®] SR bolus. *Journal of Controlled Release* **47** (1).