

## La vacunología en los albores del siglo XXI (I)

J.A. Navarro Alonso

### Introducción

La vacunología en los comienzos de este siglo se caracteriza por una serie de hechos relevantes. Algunos de ellos pueden generar cierta inquietud, entre los que destacan, entre otros, la aparición de enfermedades infecciosas emergentes, las desigualdades de los calendarios vacunales entre países industrializados y países en vías de desarrollo y el incremento de los fenómenos migratorios; en cambio, otros mueven al optimismo, como los progresos en las nuevas tecnologías y las importantes inversiones de las Administraciones Públicas y de las Organizaciones no Gubernamentales tanto en investigación y desarrollo como para colocar preparados vacunales en zonas geográficas remotas.

Por otra parte, hay datos que apuntan a que el campo de las enfermedades inmunoprevenibles va a experimentar un progreso no visto hasta ahora, de modo que la vacunación, en un futuro próximo, no solamente se consolidará como uno de los 10 grandes logros en la salud pública en las últimas décadas<sup>1</sup>, sino que es probable que se sitúe en primera posición.

La evolución de la vacunología se refleja en los trabajos científicos aparecidos en las revistas especializadas en los últimos años, de tal manera que, en el año 1990, se publicaron 2.300 artículos relacionados con vacunas, para pasar a 4.000 aproximadamente en 1999<sup>2</sup>. Otros datos que apoyan este creciente interés son los siguientes: *a)* entre los años 1988 y 1998, las cantidades que se invirtieron en investigación y desarrollo de nuevas vacunas pasaron de 500 a 1.000 millones de dólares; *b)* en ese mismo período las ventas de preparados inmunizantes se multiplicaron por 3, hasta alcanzar los 6.000 millones de dólares; *c)* las compañías de biotecnología pasaron de 12 a 72 entre 1988 y 1998, y *d)* el número de páginas de la revista *Vaccine* se

### Puntos clave

- La vacunología en los comienzos de este siglo se caracteriza por la aparición de enfermedades infecciosas emergentes, las desigualdades de los calendarios vacunales entre países industrializados y países en vías de desarrollo, el incremento de los fenómenos migratorios y los progresos en las nuevas tecnologías.
- Entre los grandes retos de la vacunología para los próximos años destacan las necesidades y disponibilidad de vacunas en países ricos y pobres, la seguridad vacunal y las nuevas tecnologías de aplicación.
- En los últimos tiempos se está observando, en algunas naciones no industrializadas, una caída en las coberturas de las vacunas incluidas en el Programa Ampliado de Vacunación de la Organización Mundial de la Salud.
- En los países industrializados es necesario mejorar la comunicación de los riesgos asociados a la vacunación y la formación al respecto del personal sanitario.
- En los países no industrializados es prioritario proporcionar a muy bajo coste económico el preparado, mejorar la accesibilidad a los puntos de vacunación, educar al personal sanitario nativo y desmitificar creencias populares y religiosas.

Jefe del Servicio de Prevención y Promoción de Salud. Programa Regional de Vacunaciones. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo. Murcia.

Correspondencia: J.A. Navarro Alonso.  
Servicio de Prevención y Promoción de Salud. Programa Regional de Vacunaciones. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo.  
C/ Ronda de Levante, 11.  
30008 Murcia.  
Correo electrónico: josea.navarro2@carm.es

Palabras clave: Vacunología. Perspectivas. Seguridad. Nuevas vías.

multiplicó por 7 entre 1984 y 1998<sup>3</sup>. Aun así, queda mucho por hacer, pues de los 56.000 millones de dólares anuales que se han gastado en el mundo en los últimos años, en investigación sanitaria, sólo el 10% se destinó a enfermedades que afectan al 90% de la población (tuberculosis y malaria, entre otras)<sup>2</sup>.

En esta primera entrega se pasará revista a los grandes retos de la vacunología para los próximos años. Entre ellos destacan las necesidades y disponibilidad de vacunas en

**TABLA 1** Comparación de la morbilidad máxima, mínima y actual, en enfermedades inmunoprevenibles seleccionadas, Estados Unidos (entre paréntesis figuran los años de los registros)

Enfermedad	Máxima	Mínima	1999
Sarampión	894.134 (1921)	86 (1999)	86
Parotiditis	152.209 (1968)	352 (1999)	352
Poliomielitis paralítica	21.269 (1952)	0 (1999)	0
Rubéola	57.686 (1969)	128 (1995)	238
Difteria	206.939 (1921)	0 (1995)	1
Tétanos	1.560 (1948)	33 (1999)	33
Tos ferina	265.269 (1934)	1.010 (1976)	6.031
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	20.000	230 (1999)	230
Reacciones adversas a vacunas	0	-	11.690 (1996)

Tomada de Centers for Disease Control and Prevention<sup>4</sup>.

**TABLA 2** Muertes anuales estimadas por enfermedades inmunoprevenibles en todo el mundo, en África y en el sudeste de Asia, 1999

Enfermedad	Muertes	África y Sudeste de Asia
Tuberculosis	1.669.000	86,21%
Tos ferina	295.000	-
Poliomielitis	2.000	86,2%
Tétanos	377.000	82,49%
Sarampión	875.000	88,2%
Difteria	4.000	-

Tomada de la Organización Mundial de la Salud<sup>5</sup>.

países ricos y pobres, la seguridad vacunal y las nuevas tecnologías de aplicación. En una segunda entrega se revisarán las nuevas vacunas profilácticas frente a enfermedades infecciosas prevalentes, las perspectivas de la inmunización terapéutica y las estrategias a diseñar para mejorar la adherencia a los programas de vacunación.

### Vacunación en países ricos y pobres

Resulta reconfortante comprobar cómo en los países industrializados el descenso de enfermedades prevenibles por vacunación ha sido espectacular, cuando se comparan las incidencias en la era prevacunacional con las de los últimos años (tabla 1); pero esta imagen resulta engañosa cuando observamos que 6 enfermedades frente a las que se dispone de vacunas más o menos efectivas causaron, durante el año 1999, alrededor de 3.000.000 de muertes en los países en vías de desarrollo (tabla 2), lo que hace cierta la frase de que «las vacunas no salvan vidas; la vacunación, sí»<sup>6</sup>. Este hecho no hace sino poner de manifiesto las bajas coberturas frente a enfermedades prevenibles por vacunación en países no industrializados. Concretamente, respecto de la rubéola, a mitad del año 2000 solamente el 2% de los países africanos y el 20% de los países del sudeste asiático

incluían la vacunación en sus calendarios sistemáticos. La vacuna antiparotiditis se encontraba en el calendario de vacunación del 24% de los países en vías de desarrollo en el año 1998; la de la hepatitis B tenía una cobertura mundial del 20% en 1999, y no se vacuna frente a la enfermedad invasora por *Haemophilus influenzae* tipo b en África, Asia y el Este de Europa, a pesar de ser esta bacteria la responsable de unas 500.000 muertes anuales en todo el mundo.

Además, en los últimos tiempos se está observando en algunas naciones no industrializadas una caída en las coberturas de las vacunas incluidas en el Programa Ampliado de Vacunación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Entre los años 1990 y 1998, Nigeria, Congo y la República Centroafricana pasaron de notificar coberturas del 80, el 46 y el 93% al 27, el 25 y el 53%, respectivamente. Entre los motivos que se aducen para explicar este desfavorable cambio se incluyen las guerras, la irrupción de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y cierta disminución del interés internacional por las políticas vacunales en los países no industrializados.

No obstante, existen motivos para la esperanza. En el mes de enero del año 2000, se constituyó la Global Alliance for Vaccines and Immunization, entidad formada por los sectores público y privado, en la que se integran, entre otros la OMS, la Unicef, el Banco Mundial, la Fundación Rockefeller y el Programa de Vacunas Infantiles de la Fundación Bill y Melinda Gates. Esta «alianza» tiene 4 cometidos fundacionales: a) erradicar la poliomielitis en el mundo; b) vacunar a más del 90% de la población; c) introducir en países en vías de desarrollo preparados vacunales de uso habitual en los países occidentales, y d) promover la investigación en enfermedades huérfanas (malaria y tuberculosis)<sup>7</sup>.

En las naciones desarrolladas, en términos generales, el panorama es mucho más halagüeño, aunque la cobertura frente a algunas enfermedades en vías de erradicación no son precisamente las más idóneas para conseguir dicho ob-

jetivo. Como ejemplo, valga el caso del sarampión; en la República de Irlanda se declararon 1.560 casos durante los 10 primeros meses del año 2000<sup>8</sup>, las coberturas en el Reino Unido no llegan al 88%<sup>9</sup>, en Italia se sitúan en el 56%<sup>10</sup>, en Francia son del 80%<sup>11</sup> y en Suiza no alcanzan el 83%<sup>12</sup>. Algunos incidentes recientes que han intentado asociar la aparición de alguna patología con la administración de una vacuna, como la vacuna del sarampión y el autismo<sup>13</sup>, y la vacuna de la hepatitis B y la esclerosis múltiple<sup>14</sup> se encuentran, entre otros hechos, tras estas bajas coberturas. En síntesis, para disminuir la morbimortalidad por enfermedades inmunoprevenibles es necesario diseñar estrategias distintas según la región de que se trate: en los países industrializados, mejorar la comunicación de los riesgos asociados a la vacunación<sup>15</sup>, y en los no industrializados, no solamente proporcionar a muy bajo coste económico el preparado, sino también mejorar la accesibilidad a los puntos de vacunación, educar al personal sanitario nativo y desmitificar creencias populares y religiosas<sup>16</sup>.

### La seguridad vacunal

Durante la última década ha aumentado la preocupación, real o imaginaria, acerca de la seguridad vacunal y los efectos adversos provocados por la vacunación, lo que ha engendrado en países próximos al nuestro la aparición de los «movimientos antivacunas», lo cual no es de ninguna manera algo novedoso, pues ya se observó la aparición de estos movimientos con la primera vacuna, la viruela, que se utilizó profusamente.

Cuando se habla de seguridad vacunal, siempre hay que tener presente que las vacunas originan un espectacular descenso de la enfermedad diana, aunque ocasionalmente pueden provocar algún daño<sup>17</sup>. En la tabla 1 se puede observar cómo el espectacular descenso de las enfermedades inmunoprevenibles lleva parejo un incremento de la declaración de presuntos efectos adversos atribuidos a la vacunación. Discernir con lógica y raciocinio la causa y el efecto frente a la especulación o la mera asociación temporal, en lo que concierne a los efectos adversos, permitirá al clínico, en su relación con el paciente, decidir si va a promover el uso de una vacuna determinada<sup>18</sup>.

La situación actual, en algunos países, del balance entre los beneficios de un programa de vacunaciones, por una parte, y la seguridad vacunal y la aceptación de los riesgos en una sociedad intolerante, por otra, se puede expresar en el modelo del «efecto pirámide». En éste, la amplia base estaría constituida por los efectos positivos de una política mayoritaria de salud pública –uso de una vacuna para prevenir una enfermedad grave y prevalente–, y el agudo pico representaría el pequeño riesgo asociado a la vacunación. Mientras que en este último se situarían muy pocos sujetos que han sufrido daños o que perciben el riesgo de daño de una manera sustancial y aguda, en la base estaría representada la mayoría de la población, que se beneficia ampliamente de la vacunación, pero que no percibe las

**TABLA 3** Algunas asociaciones propuestas entre vacunas, adyuvantes o conservantes, y enfermedades

Enfermedad	Vacuna
Enfermedad inflamatoria intestinal	Sarampión
Autismo	Sarampión
Enfermedades desmielinizantes	Hepatitis B
Alopecia	Hepatitis B
Síndrome de la guerra del Golfo	Ántrax
Trastornos del desarrollo psicomotor	Utilización de timerosal
Diabetes mellitus tipo 1	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
Invaginación intestinal*	Rotavirus
Miofascitis macrofágica	Utilización de aluminio
Atopia cutánea	Sarampión
Asma	Tos ferina
Síndrome de Guillain-Barré*	Gripe
Fiebre neonatal*	Hepatitis B
Poliomielitis paralítica*	Poliomielitis oral (Sabin)
Artritis reumatoide	Hepatitis B
Muerte súbita del lactante	Tos ferina
Síndrome oculorrespiratorio*	Gripe

\*Únicas asociaciones demostradas.

ventajas o lo hace indirectamente, motivado probablemente por un «efecto dilución» (el uso generalizado de una vacuna segura y efectiva elimina o disminuye el riesgo de padecer la enfermedad, lo que hace que la percepción del público sobre el valor de la vacuna, paradójicamente, disminuya). En este «efecto pirámide», los beneficiarios del programa no abanderarán las políticas vacunales, serán meros participantes pasivos en un teórico debate, pero los pocos que perciben riesgos sustanciales pueden luchar contra el programa, apasionada y estridentemente, pudiendo llegar a ser los únicos individuos que manifiestan su opinión<sup>17</sup>. Por consiguiente, los responsables de los programas de vacunación ya consolidados en la población se encuentran o se van a encontrar en una situación muy incómoda, que se caracterizaría por una alta cobertura vacunal, por una baja incidencia de enfermedades inmunoprevenibles y por una alta tasa de reacciones adversas presuntamente atribuibles a la vacunación, en la que en cualquier momento se puede desatar el pánico en los medios de comunicación y la pérdida de la confianza de la población<sup>19</sup>. En definitiva, se volvería a cumplir la aseveración de Dittmann<sup>15</sup>: «El mayor enemigo de una buena vacuna es su propio éxito».

Por tanto, ya que el mantenimiento del éxito de los programas vacunales pasa obligatoriamente por la seguridad de los preparados incluidos en los calendarios sistemáticos, y a la vista del incremento de voces que intentan asociar las prácticas vacunales con algunas enfermedades (tabla 3) y de la amplia repercusión que pueden tener sus afirmacio-

**TABLA 4** Vacunas que se precisan con urgencia. Mundo desarrollado y en vías de desarrollo<sup>a</sup>

Vacuna	N.º de veces citada en primer lugar	N.º de veces entre las 3 primeras	Casos/muertes (10 <sup>6</sup> )
<b>Mundo en vías de desarrollo</b>			
VIH	28	43	2 <sup>b</sup> /0,48
Malaria	17	49	300-500/1,5-2,7
Tuberculosis (mejorada)	3	18	3,4/2
<b>Mundo desarrollado</b>			
VIH	41	49	81 <sup>c</sup> /79
VRS	6	22	3737/4,6
Neumococo conjugada	3	19	153-576/40

<sup>a</sup>Respuesta de 67 investigadores de 18 países.

<sup>b</sup>Casos estimados según los datos de los últimos años.

<sup>c</sup>Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Tomada de Cohen<sup>25</sup>.

nes, merced, en parte, a las nuevas tecnologías de la comunicación, los grupos de expertos proponen que los médicos, enfermería y otro personal sanitario estén mejor formados e informados tanto sobre la vacunación en sí como sobre los aspectos riesgo/beneficio derivados de las prácticas vacunales<sup>20</sup>. La formación comenzaría durante su aprendizaje universitario y se extendería a lo largo de su ejercicio profesional, siendo responsabilidad de las Administraciones Públicas, a la vista de los conocimientos y actitudes de la población<sup>21</sup>, tanto la formación como la información<sup>22</sup>, la emisión de recomendaciones, la monitorización de la seguridad vacunal poscomercialización<sup>23</sup>, la implantación de registros nominales informatizados<sup>24</sup>, el mantenimiento de la gratuidad de los programas e incluso la habilitación de incentivos para los actos vacunales, evitando, a juicio del autor, la obligatoriedad de la recepción de vacunas.

**TABLA 5** Ventajas asociadas a la administración de vacunas por vía mucosa

Administración mucosa	Administración parenteral
Baja reactogenicidad	Alta reactogenicidad
Alta aceptación	Aceptación dependiente del dolor de inoculación
Respuesta en primer lugar de infección	Respuesta en lugares distantes
Respuestas locales y sistémicas	Respuestas sistémicas
Protección frente a infección y enfermedad	Protección generalmente frente a enfermedad
Facilidad de administración	Precisa de personal especializado
Bajo coste asociado al suministro	Alto coste asociado al suministro

Tomada de Medina y Guzmán<sup>28</sup>.

### Nuevas vías de administración de vacunas

A la hora de escribir de nuevas vacunas, de novedosas técnicas de administración, de nuevos vehículos y de futuras combinaciones vacunales, hay que tener presente que las prioridades en necesidades de investigación sobre futuras vacunas no siempre coinciden entre los países industrializados y aquellos en vías de desarrollo, como se observa en la tabla 4. En ella se puede apreciar que, mientras que ambos están de acuerdo en la vacuna frente al virus de la inmunodeficiencia humana, los primeros demandan preparados contra enfermedades agudas, de alta prevalencia, pero no excesivamente graves, mientras que los segundos aspiran a disponer de vacunas frente a enfermedades «huérfanas», que, al margen de ser crónicas, provocan la muerte de varios millones de personas al año en el mundo. Por desgracia, la mayoría de las vacunas disponibles actualmente y las que aparecerán en un futuro próximo son de administración parenteral, lo que de alguna manera puede condicionar la aceptabilidad de los programas de vacunación<sup>26</sup>, a pesar de que en ciertos ámbitos pudiera persistir la idea de que la administración parenteral de productos farmacéuticos sería más efectiva que cualquier otra vía<sup>27</sup>.

Desde hace años se trabaja en vías alternativas, más seguras, menos dolorosas y con efectividad similar o superior a los preparados convencionales. El paradigma de esta vía alternativa es la vía mucosa, que aporta ventajas indudables respecto de la parenteral tradicional (tabla 5). En breve se dispondrá de una vacuna antigripal viva atenuada, adaptada al frío, de reagrupación de genes (6:2) para administración intranasal<sup>29</sup>. Se está ensayando, en humanos, la inmunización transdérmica mediante la aplicación tópica de un antígeno con un adyuvante, aprovechando la riqueza del estrato córneo de la piel en células inmunes de Langerhans, que transportarán el antígeno a los ganglios linfáticos de drenaje para inducir respuestas inmunes sistémicas<sup>30</sup>. En esta misma línea, se ha ensayado en animales la inmunización epidérmica sin aguja de una vacuna antigripal en polvo vehiculizada con gas helio<sup>31</sup>.

Otra vía de administración, muy prometedora fundamentalmente para países con escasez de recursos, es la mediada por plantas comestibles. Básicamente, la tecnología consiste en la localización del gen que codifica un antígeno capaz de desencadenar una respuesta inmune protectora e insertarlo en el plásmido de una bacteria. Ésta se pone en contacto con una hoja de la planta comestible, para que libere los genes al genoma de la célula de la hoja, y se deja crecer en un medio antibiótico apropiado. Una vez que se formen tallos y raíces, se planta el cogollo en un área geográfica próxima adonde se va a utilizar la resultante, se deja desarrollar y, una vez transformado en planta, se recolecta y prepara para consumir. Los interrogantes que puede plantear esta novedosa técnica se pueden sintetizar, entre otros, en: a) ¿cuándo sabremos que la planta está lista para la recolección?; b) ¿cómo calculamos la dosis?; c) ¿cómo sabremos

que la planta contiene la vacuna?, y d) ¿se mantendrá la potencia con el almacenamiento? En esta línea de investigación ya se dispone de ensayos del virus Norwalk<sup>32</sup> y del antígeno de superficie de la hepatitis B<sup>33</sup> vehiculizados ambos en patatas, y de toxinas de *Escherichia coli* enterotoxigénico en ese mismo tubérculo<sup>34</sup> y en trigo<sup>35</sup>.

### Nuevas tecnologías para el transporte de antígenos

Una de éstas la constituyen las vacunas de vectores vivos, en las que se inserta el gen responsable de la patogenicidad de un microorganismo en el genoma de otro previamente manipulado hasta hacerlo inocuo. El vector, administrado por vía mucosa y una vez en el huésped, no puede replicar sus proteínas estructurales, pero sí transfiere al núcleo celular el ARNm que codifica la proteína antigénica, la que estimulará la aparición de respuestas de linfocitos T citotóxicos<sup>36-38</sup>. Los vectores que actualmente se están ensayando son bacterianos (BCG, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus anthracis*, *Lactobacillus* spp. y *Staphylococcus* spp.) o víricos (poxvirus de aves y alfavirus).

Otra manera de transportar antígenos la constituyen las vacunas de ácidos nucleicos. Mediante esta técnica, por vía oral, intramuscular, subcutánea intradérmica o transdérmica, y utilizando una «pistola de genes»<sup>39</sup>, se administra un plásmido que incluye el gen que codifica una proteína patógena. Las células del huésped captan el ADN extraño, lo expresan y fabrican la proteína correspondiente, que permanece en el interior de la célula para unirse posteriormente al complejo mayor de histocompatibilidad clase I. Esta molécula transporta la proteína a la superficie de la célula, donde estimula los linfocitos CD8 citotóxicos. Las ventajas de este sistema son evidentes: a) induce expresión de antígenos que se parecen más a los epítopes víricos; b) induce inmunidad duradera; c) podría prescindir de la «cadena del frío»; d) puede permitir la creación de vacunas para agentes que no pueden crecer en cultivos, y e) pueden asociarse varios fragmentos de ADN de varios patógenos, con lo que disminuirían los actos vacunales. Sin embargo, también genera una serie de interrogantes: a) ¿puede insertarse en el genoma del huésped pudiendo dar lugar a una disrupción de genes normales?, ¿o a activación de oncogenes?, ¿o a transformación maligna de las células del huésped?, y b) si el ADN expresa durante largo tiempo el antígeno, ¿podrá dar lugar a tolerancia o a un ataque a los tejidos que expresan el antígeno<sup>39,40</sup>? Ya se dispone de experiencias en animales con una vacuna frente al herpes simplex tipo 1<sup>41</sup> y frente al sarampión<sup>42</sup>, y en humanos frente a la malaria<sup>43</sup> y frente a la hepatitis B<sup>44</sup>.

### Bibliografía

- Centers for Disease Control and Prevention. Ten great public health achievements (United States, 1900-1999). MMWR 1999; 48:241-3.

- Evolving vaccines [editorial]. Nat Med 1999;5:1089.
- All aboard, next time around [editorial]. Children Vaccine Initiative Forum 1998;18:2-5.
- Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases (The Pink Book). 6th ed. Washington DC: Department of Health and Human Services. Public Health Foundation, enero 2000.
- World Health Organization. The World Health Report 2000. Health systems: improving performance. Geneva: World Health Organization, 2000.
- Booy R. Getting Hib vaccines to those who need it. Lancet 1998;351:1446-7.
- Global Alliance for Vaccines and Immunization. A partnership for children's health. Disponible en: <http://www.vaccinealliance.org>
- Fitzgerald M, O'Flanagan D. Immunisation uptake statistic for Ireland. Epi-Insight 2000;1:4.
- Public Health Laboratory Service. Cover Programme. July to September 2000. Commun Dis Rep CDR Wkly 2001;11:1-4.
- Salmaso S, Rota M, Ciofi Degli Atti M, Tozzi A, Kreidl P and the ICONA Study Group. Infant immunization coverage in Italy: estimates by simultaneous EPI clusters of regions. Bull World Health Organ 1999;77:843-51.
- Lévy-Brhul D, Pebody R, Veldhuijzen I, Valenciano M, Osborne K. Réseau Européen de surveillance séroépidémiologique. ESEN: une comparaison des programmes de vaccination ROR. Bull Epidémiol Hebdomadaire 1999;3:9-11.
- Paget W, Zimmerman H, Vorkauf H and the Sentinella Working Group. A national measles epidemic in Switzerland in 1997: consequences for the elimination of measles by the year 2007. Eurosurveillance 2000;5:17-21.
- Wakefield A, Murch S, Anthony A, Linnell J, Carsson D, Malik M, et al. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive development disorders in children. Lancet 1998;651:637-41.
- El País Digital. Francia suspende la vacunación escolar contra la hepatitis B. Sábado 3 de octubre de 1998, n.º 883.
- Dittmann S. Vaccine safety: risk communication - a global perspective. Vaccine 2001;19:2446-56.
- Streefland P. Public doubts about vaccination safety and resistance against vaccination. Health Policy 2001;55:159-72.
- Poland G, Jacobson R. Vaccine safety: injecting a dose of common sense. Mayo Clin Proc 2000;75:135-9.
- Chen R, DeStefano F. Vaccine adverse events: casual or coincidental. Lancet 1998;351:611-2.
- Chen R. Vaccine risks: real, perceived and unknown. Vaccine 1999;17(Suppl 3):41-6.
- Bedford H, Elliman D. Concerns about immunisation. BMJ 2000;320:240-3.
- Ñiguez Carbonell JC, Bernal González PJ, Navarro Alonso JA, Amoraga Bernal JF, Fernández Saez L, Saura Robles T. Conocimientos, actitudes y creencias de los padres de la Región de Murcia sobre las vacunaciones de sus hijos. An Esp Pediatr 2001;54(Suppl 5):53.
- Chen R, Hibbs B. Vaccine safety: current and future challenges. Pediatr Ann 1998;27:445-55.
- Jacobson R, Adegbenro A, Pankratz S, Poland G. Adverse events and vaccination -the lack of power and predictability of infrequent events in pre-licensure study. Vaccine 2001;19:2428-33.
- Bernal González PJ, Navarro Alonso JA, Luna T. Registro nominal de vacunación de la Región de Murcia. Vacunas. Investigación y Práctica 2000;1:137-40.
- Cohen J. Bumps on the vaccine road. Science 1994;265:1371-3.
- Woodin K, Rodewald L, Humiston S, Carges M, Schaffer S, Szilagy P. Physician and parent opinions. Are children becoming

- pincushions from immunizations? *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995;149:845-9.
27. Poland G. Current paradoxes and changing paradigms in vaccinology. *Vaccine* 1999;17:1605-11.
  28. Medina E, Guzmán C. Use of live bacterial vaccine vectors for antigen delivery: potential and limitations. *Vaccine* 2001;19:1573-80.
  29. Mendelman P, Cordova J, Cho I. Safety, efficacy and effectiveness of the influenza virus vaccine, trivalent, types A and B, live, cold-adapted (CAIV-T) in healthy children and healthy adults. *Vaccine* 2001;19:2221-6.
  30. Glenn G, Taylor D, Li X, Frankel S, Montemarano A, Alving C. Transcutaneous immunization: a human vaccine delivery strategy using a patch. *Nat Med* 2000;6:1403-6.
  31. Chen D, Endres R, Erikson Ch, Weis K, McGregor M, Kawoka Y, et al. Epidermal immunization by a needle-free powder delivery technology: immunogenicity of influenza vaccine and protection in mice. *Nat Med* 2000;6:1187-90.
  32. Tacket C, Mason H, Losonsky G, Estes M, Levine M, Arntzen Ch. Human immune responses to a novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. *J Infect Dis* 2000;182:302-5.
  33. Richter L, Thanavala Y, Arntzen Ch, Mason H. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nature Biotech* 2000;18:1167-71.
  34. Tacket C, Mason H, Losonsky G, Clements J, Levine M, Arntzen Ch. Immunogenicity in humans of a recombinant bacterial antigen delivered in a transgenic potato. *Nat Med* 1998;4:607-9.
  35. Streatfield S, Jilka J, Hood E, Turner D, Bailey M, Mayor J, et al. Plant-based vaccines: unique advantages. *Vaccine* 2001;19:2742-8.
  36. Ogra P, Faden H, Welliver R. Vaccination strategies for mucosal immune responses. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:430-45.
  37. Aristegui J. Nuevas vacunas para el siglo XXI. *An Esp Ped* 2001; 54(Suppl 4):41-4.
  38. Liu M. Vaccines for the 21 st century. *BMJ* 1999;319:1-4.
  39. Webster R. Potential advantages fo DNA immunization for influenza epidemic and pandemic planning. *J Infect Dis* 1999; 28:225-9.
  40. McDonnell W, Askari F. Molecular medicine. DNA vaccines. *N Engl J Med* 1996;334:42-5.
  41. Suter M, Lew A, Grob Ph, Adema G, Ackerman M, Shortman M, et al. BAC-VAC, a novel generation of (DNA) vaccines: a bacterial artificial chromosome (BAC) containing a replication-competent, packaging-defective virus genome induces protective immunity against herpes simplex virus 1. *Proc Nat Acad Sci USA* 1999;96:12697-702.
  42. Polack F, Lee S, Permar S, Manyara E, Nousari H, Jeng Y, et al. Successful DNA immunization against measles: neutralizing antibody against either the hemagglutinin or fusion glycoprotein protects rhesus macaques without evidence of atypical measles. *Nat Med* 2000;6:776-81.
  43. Le T, Coonan K, Hedstrom R, Charoenvit Y, Sedegah M, Epstein J, et al. Safety, tolerability and humoral immune responses after intramuscular administration of a malaria DNA vaccine to healthy adult volunteers. *Vaccine* 2000;18:1893-901.
  44. Swain W, Fuller D, Wu M, Barr L, Fuller J, Culp J, et al. Tolerability and immune responses in humans to a powderject DNA vaccine for hepatitis B. *Dev Biol Stand* 2000;104:115-9.