



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: Actualización en vacunas

El desarrollo de nuevas vacunas[☆]

Fernando González-Romo^{*} y Juan J. Picazo

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Clínico San Carlos, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España



INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 9 de junio de 2015

Aceptado el 10 de junio de 2015

On-line el 2 de septiembre de 2015

Palabras clave:

Desarrollo de vacunas

Vacunología

Vacunómica

R E S U M E N

Recientes e importantes avances en los campos de la inmunología, genómica, genómica funcional, inmunogenética, inmunogenómica, bioinformática, microbiología, ingeniería genética, biología de sistemas, bioquímica sintética, proteómica, metabolómica y nanotecnología, entre otros, facilitan nuevos enfoques en el desarrollo de vacunas. La mejor identificación de epítomos ideales, la potenciación de la respuesta inmunitaria gracias a los nuevos adyuvantes o la búsqueda de nuevas vías de administración son buenos ejemplos de avances que ya son una realidad y que favorecerán el desarrollo de más vacunas, su uso en grupos poblaciones indicados o el abaratamiento de su producción. Actualmente hay en desarrollo más de 130 nuevas vacunas frente a las enfermedades infecciosas más deseadas (malaria y VIH), las que más dificultades están planteando (CMV o VRS), graves infecciones reemergentes (dengue o ebola), enfermedades parasitarias cada vez más presentes en nuestro medio (enfermedad de Chagas o leishmaniasis), o emergentes infecciones bacterianas nosocomiales (*Clostridium difficile* o *Staphylococcus aureus*).

© 2015 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

Development of new vaccines

A B S T R A C T

Recent and important advances in the fields of immunology, genomics, functional genomics, immunogenetics, immunogenomics, bioinformatics, microbiology, genetic engineering, systems biology, synthetic biochemistry, proteomics, metabolomics and nanotechnology, among others, have led to new approaches in the development of vaccines. The better identification of ideal epitopes, the strengthening of the immune response due to new adjuvants, and the search of new routes of vaccine administration, are good examples of advances that are already a reality and that will favour the development of more vaccines, their use in indicated population groups, or its production at a lower cost. There are currently more than 130 vaccines are under development against the more wished (malaria or HIV), difficult to get (CMV or RSV), severe re-emerging (Dengue or Ebola), increasing importance (Chagas disease or *Leishmania*), and nosocomial emerging (*Clostridium difficile* or *Staphylococcus aureus*) infectious diseases.

© 2015 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

Introducción

Durante los últimos años hemos asistido a una explosión en el desarrollo de numerosos campos de la medicina gracias a los

avances científicos y tecnológicos puestos a su disposición, así como a la facilidad y rapidez para interaccionar y comunicar los hallazgos. Entre estas áreas, no cabe la menor duda de que el campo de las vacunas se ha convertido en uno de los más pujantes de la investigación biomédica. El temor a una grave pandemia de gripe, o el reciente brote de enfermedad por el virus ebola, son apenas 2 visibles ejemplos de la imperante necesidad de desarrollar nuevas vacunas eficaces y seguras y, además, de poder hacerlo en un tiempo récord. Los obstáculos para encontrar vacunas de alta eficacia frente a plagas como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o la malaria, a pesar del tiempo y de los

[☆] Nota: sección acreditada por el Consell Català de Formació Contínua de les Professions Sanitàries. Consultar preguntas de cada artículo en: <http://www.elsevier.es/eimc/formacion>

^{*} Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fgromo@salud.madrid.org (F. González-Romo).

Tabla 1

Razones por las que el clásico método de desarrollo de vacunas ya no es útil

- Suele utilizar un patógeno completo (vivo o atenuado)
- Ignora la genética poblacional (inmunogenómica)
- No es útil frente a virus hipervariables (VIH, hepatitis C, rinovirus. . .) o frente a patógenos complejos (parásitos, hongos, bacterias como *Mycobacterium tuberculosis*)
- Suele necesitar cadena de frío para la conservación del producto final
- Suele utilizar la misma cantidad y número de dosis para cualquier persona (en muchos casos, incluso, sin distinguir niños o adultos)
- Su desarrollo requiere largos y costosos ensayos clínicos de eficacia y seguridad en poblaciones no caracterizadas genéticamente
- Las nuevas vacunas salen con precios elevados, lo que va en detrimento de su empleo y favorece coberturas más bajas
- No permite una comprensión informada de un determinado riesgo genético individual para un efecto adverso a la vacuna

recursos invertidos, ponen de manifiesto que son necesarios nuevos enfoques en el desarrollo de vacunas.

La vacunología es la compleja ciencia multidisciplinar que se dedica al estudio de las vacunas en su más amplio sentido (incluyendo desde los componentes antigénicos hasta el impacto en la población de distintas estrategias de vacunación). Al igual que otras ciencias, también va evolucionando. La clásica metodología de producción de vacunas basada en un procedimiento empírico que seguía el paradigma «aísla-inactiva o atenúa-inyecta», que ha dominado el desarrollo vacunal hasta finales de la década de 1990 —con buenos resultados, salvando millones de vidas y erradicando de la faz de la Tierra una enfermedad vírica mortal como la viruela— parece haberse agotado hoy día por distintas razones (tabla 1) y no da respuesta a la demanda de protección frente a numerosas enfermedades infecciosas (tabla 2)^{1,2}.

Los recientes avances en inmunología, genómica (identificación y estudio de los genes, así como el conocimiento de su función de cara a crear copias de un organismo), genómica funcional (que rastrea esos genes y determina el papel que juega cada uno), inmunogenética (estudio de las variaciones genéticas individuales del huésped asociadas a diferencias individuales en la respuesta inmunitaria a un mismo antígeno), inmunogenómica (estudio de las variaciones genéticas a nivel poblacional asociadas a diferencias poblacionales en la respuestas inmunitarias), metabolómica (identifica y cuantifica metabolitos fruto de procesos químicos del metabolismo), bioinformática, microbiología, ingeniería genética, biología de sistemas, bioquímica sintética, proteómica, nanotecnología, etc., han dado un vuelco al desarrollo en vacunas que actualmente sigue el nuevo paradigma «descubre-valida-caracteriza-aplica»^{2,3}.

Durante la última década, vivimos «la segunda edad de oro de la vacunología» gracias a varios nuevos enfoques utilizados para encontrar candidatas a futuras vacunas. En este artículo se detallarán estos nuevos enfoques o estrategias, que se pueden dividir básicamente en los que se centran en el estudio genómico del agente infeccioso y los que, en cambio, se centran en el estudio de nuestra propia respuesta inmunitaria frente a ellos. Por otro lado, se encuentran los que buscan nuevas vías de administración. La mayoría de ellos se complementan (y hasta se solapan), y solo será de la combinación de los mismos de donde vayan surgiendo las vacunas del futuro (tabla 3). Al final, se resumirán algunas candidatas a futuras vacunas.

Tabla 2

Enfermedades infecciosas frente a las que la estrategia empírica encuentra limitaciones en el desarrollo de vacunas

- La infección natural no confiere inmunidad
- La infección no se controla con anticuerpos neutralizantes (p. ej., requiere inmunidad celular T)
- El periodo previo a establecerse la latencia es breve y ocurre días o semanas desde la infección a la incorporación en el huésped del ADN, permitiendo poco tiempo para la vacunación una vez que la infección ha ocurrido
- La inmunidad natural solo ocurre tras infecciones repetidas
- La inmunidad resultante de la infección natural previene la patología pero fracasa en la prevención de la diseminación de la enfermedad
- La exposición ocurre en un momento de inmadurez inmunitaria del huésped
- La inmunidad pasiva transmitida por la madre interfiere con la respuesta a las vacunas
- El agente infeccioso, y especialmente sus antígenos, muestran alto nivel de variabilidad genética
- Los anticuerpos formados tras la vacunación dan lugar a anticuerpos no neutralizantes que no protegen y además pueden incluso provocar daño

Estrategias dirigidas a la identificación de nuevos antígenos protectores

Vacunología inversa

Esta estrategia trata de seguir justo el camino contrario a la vacunología convencional. Concretamente, se selecciona virtualmente —partiendo de la secuencia completa del genoma de un microorganismo— una lista de genes responsables de la producción de potenciales proteínas que pudieran servir de antígenos y sean accesibles para los anticuerpos⁴. Suele denominarse «predicción *in silico*». Esta parte se realiza mediante complejos cálculos bioinformáticos y es la más delicada, puesto que hay que «alimentar» al ordenador con la suficiente información de calidad. A continuación se realiza la «caracterización experimental», que consiste en expresar las proteínas y purificarlas (p. ej., en una cepa de *Escherichia coli*) para ulteriormente inmunizar ratones con objeto de conocer *in vivo* la capacidad inmunógena y, especialmente, la actividad bactericida de los anticuerpos formados y establecer su correlación con marcadores humanos. De esta forma se pueden obtener —de forma relativamente rápida— vacunas de subunidades inmunógenas y más seguras que incorporen varias proteínas en su forma más natural y, por ello, con mayor efecto neutralizante^{1,4}.

El desarrollo de la vacuna frente a *Neisseria meningitidis* grupo B, fue pionera de esta estrategia y uno de sus mejores ejemplos. Partiendo de la secuencia genómica de la bacteria, con un total de 2.158 genes diferentes, se seleccionaron un total de 570 proteínas de superficie. De estas, en *E. coli* se podían clonar y expresar 350, de las que finalmente se compararon 35 proteínas con las cepas más frecuentemente productoras de infección, seleccionando un total de 7 antígenos conservados en esas cepas, y con ellos se comenzaron los primeros ensayos clínicos. En el año 2013 se comercializó esta primera vacuna, que incluye hasta 3 de estos antígenos: la proteína NadA, que se ha encontrado en la práctica totalidad de las cepas virulentas y se ha demostrado protectora; la proteína de unión al factor H, y el antígeno de unión a la heparina, todos ellos combinados con una vesícula de membrana externa de meningococo B¹.

Para paliar el problema que representa la diversidad genética de patógenos de una misma especie pero con múltiples cepas se está desarrollando el concepto del Pan-Genoma. En estos casos, como el de *Streptococcus agalactiae*, se comparan los genomas de distintas cepas y se identifican los genes compartidos (genoma *core*) y

Tabla 3

Ventajas e inconvenientes de las principales estrategias o enfoques actuales en el desarrollo de vacunas

Estrategia	Fortalezas	Debilidades
1. Identificación de nuevos antígenos protectores		
Vacunología inversa	Rápida y barata Identificación de antígenos bacterianos aunque sean escasos y aunque solo se expresen <i>in vivo</i> Útil en bacterias no cultivables	Solo es útil para antígenos proteicos (no identifica antígenos polisacáridos) Depende de la calidad de los datos introducidos en los ordenadores
Vacunología estructural	Selección de antígenos de mayor precisión Útil para el desarrollo de vacunas frente a patógenos intracelulares	El conocimiento de la biología de sistemas aún se está desarrollando
Inmunómica	Complementa la inversión en vacunología inversa Útil en el desarrollo de vacunas preventivas y terapéuticas Detecta antígenos que escapan incluso a la genómica Permite seleccionar antígenos inmunógenos aunque no sean dominantes	Depende de los avances en el conocimiento inmunológico Depende del estudio de muestras biológicas de individuos que han pasado la enfermedad o que han sido vacunados previamente
2. Adquisición o potenciación de la inmunogenicidad		
Vacunómica	Prácticamente engloba todas las estrategias en una Útil también en la evaluación de la respuesta inmunitaria a vacunas Útil también en la predicción de efectos adversos a vacunas	
Vacunología de sistemas	Permite el desarrollo de vacunas individuales Permite estudiar la interrelación con numerosos factores y controlar la mejor respuesta inmunitaria posible a las vacunas	Excesivo número de datos Datos difíciles de interpretar y discriminar su papel confusor
Nuevos adyuvantes	Respuestas innatas y adaptativas potentes Permiten el empleo de menores cantidades de antígeno	Possible mayor reactogenicidad
Sistemas de entrega	Permiten el desarrollo de nuevas vías de administración Pueden incorporar varios antígenos de forma segura Solventan el problema de administración de vacunas ADN	Possible mayor reactogenicidad local
Vacunación heteróloga	Algunos funcionan al mismo tiempo como adyuvantes Respuestas inmunitarias más potentes que el refuerzo con la misma vacuna Permite sacar gran rendimiento a las vacunas de ácidos nucleicos	Necesarias varias dosis con sus intervalos
Células dendríticas por sí mismas	Útil en el desarrollo de vacunas terapéuticas Evitar la necesidad de adyuvantes	Escaso papel en el desarrollo de vacunas profilácticas
Conjugación proteica a polisacáridos	Respuesta inmunitaria en menores de 2 años frente a polisacáridos Generación de memoria inmunitaria Mayor respuesta de anticuerpos que presentan mayor avidéz	No todos los polisacáridos responden igual a la conjugación
Adversómica	Evitan el fenómeno de tolerancia inmunitaria Permite conocer la respuesta inmunitaria individual a cada vacuna Mejora el perfil de seguridad y, por tanto, la confianza y las coberturas	Por sí misma, poco valor para desarrollar una nueva vacuna
3. Nuevas vías de administración		
Vacunas comestibles	Perpetuación de la vacuna de planta a planta Producción y distribución fácil y barata	Respuesta inmunitaria inferior a otras vías de administración
Vacunas mucosas	Similitud con el proceso de adquisición natural de la infección Inducción de respuestas sistemáticas y locales en la puerta de entrada de la infección	Capacidad para inducir la tolerancia sistémica periférica (falta de reconocimiento del antígeno) Possible degradación del antígeno (exposición a proteasas y nucleasas)
Vacunas transcutáneas	Comodidad y autoadministración Tiempo de liberación sostenido Varios antígenos simultáneos	Possible mayor reactogenicidad local

los específicos de cepas individuales (genoma prescindible)⁵. Los primeros son necesarios para el mantenimiento básico del ciclo de la vida. Los segundos se encargarían de las funciones para la adaptación, colonización o resistencia a antibióticos.

Vacunología estructural

La observación de que para conseguir una respuesta inmunitaria eficaz basta con el reconocimiento de determinados epítomos sin necesidad de la proteína antigénica completa condujo al desarrollo de esta innovadora estrategia¹. Dichos epítomos antigénicos se seleccionan gracias al conocimiento de las secuencias de los aminoácidos de las proteínas y de las estructuras secundarias y terciarias resultantes en su conformación tridimensional, organización de dominios y dinámica de superficie⁶. De hecho, el punto de partida para diseñar el componente final de la vacuna podría

ser la estructura cristalizada del complejo antígeno-anticuerpo⁷, de gran utilidad para frenar patógenos intracelulares identificando estructuras de la que se sirven para la unión y entrada en la célula⁸. Esta estrategia es complementaria a la vacunología inversa, pues puede servir para mejorar la inmunogenicidad de antígenos proteicos identificados por ella. Actualmente se trabaja en el desarrollo de una vacuna distinta frente al virus respiratorio sincitial (VRS), con prometedores resultados⁹, y otra de sus potenciales aplicaciones será la vacuna frente al VIH, mejorando como antígeno vacunal la proteína Env (única diana de los anticuerpos neutralizantes)⁶.

Inmunómica

La secuencia completa del genoma de un patógeno permite conocer potenciales proteínas, o sus epítomos, pero no todas llegan a expresarse e, incluso, entre los que sí lo hacen no todos tienen

la misma habilidad para unirse a los linfocitos incluso pareciendo dominantes¹⁰. Esta estrategia está encaminada al descubrimiento de genes que codifiquen péptidos que se unan ávidamente a los receptores de los linfocitos con el propósito de estimular su respuesta. A diferencia de la vacunología inversa no solo toma el análisis *in silico*, sino que parte también de muestras biológicas¹¹. Una variedad es el *enfoque antigenómico*, dado que utiliza suero de pacientes que se han recuperado de la infección para detectar pequeños fragmentos de epítomos con cuyas secuencias se identifican antígenos bacterianos. Recientemente su aplicación al neumococo identificó 144 antígenos, de los cuales 45 habían escapado a la genómica, tras estudiar su conservación, inmunogenicidad y localización se seleccionaron 24 para un modelo de sepsis letal de los que, finalmente, se obtuvieron 2 candidatos vacunales¹². Otra variedad es la *inmunómica inversa*, basada en la reacción de linfocitos de sangre periférica de pacientes con epítomos sintéticos de CMH clase I que sirven para monitorizar la proliferación de respuestas específicas de los linfocitos T¹³. Su aplicación se centra en epítomos del VIH.

Estrategias dirigidas a la adquisición o potenciación de la inmunogenicidad

Vacunómica

La vacunómica es el estudio de la genética y epigenética de los individuos, así como de otros factores del huésped, que contribuyen a las variaciones en la respuesta inmunitaria a las vacunas². Su aparición surge gracias a los avances en numerosos campos, entre los que destacan la inmunogenética, la inmunogenómica y la bioinformática. Proporciona un marco conceptual, tanto para el entendimiento (y la predicción) de la respuesta inmunitaria a las vacunas actuales, como para permitir el desarrollo de nuevas vacunas gracias al conocimiento de cómo el procesamiento de los antígenos, y otros polimorfismos génicos, afectan a la respuesta inmunitaria².

La vacunómica se está empleando también para desarrollar nuevos métodos de evaluación de la respuesta inmunitaria y de predicción de efectos adversos, para comprender cómo funcionan a nivel íntimo las vacunas clásicas, y para desarrollar vacunas terapéuticas y vacunas personalizadas. Este último punto es muy interesante, pues aboga por la posibilidad de crear vacunas para individuos concretos o, lo que es más realista, para grupos poblacionales concretos atendiendo a frecuencias de haplotipos y de supertipos de genes HLA. El concepto de vacunómica surgió en el año 2005¹⁴, y en 2010 fue declarada por la revista *Scientific American* como «uno de los conceptos científicos más innovadores de la década»².

Vacunología de sistemas

La respuesta inmunitaria a una vacuna va a depender no solo de la genética del huésped, sino también de otros factores como el microbioma humano, el metabolismo y factores de influencia ambiental como la dieta, las alergias o el estrés psicológico. Todos estos factores están al mismo tiempo interrelacionados entre ellos, haciéndose dependientes unos de otros. Gracias principalmente a los avances en la biología de sistemas y la bioinformática, la vacunología de sistemas intenta conocer los mecanismos moleculares que dictan las reglas de esta compleja red de interconexiones y su repercusión sobre la inmunidad para poder predecir la mejor respuesta a una vacuna y utilizarla en la fase previa de su desarrollo^{15,16}. Se trata por tanto de una estrategia de visión muy global, y amplia, que está íntimamente ligada al concepto de vacunómica, hasta el punto de confundirse una con la otra.

Curiosamente, el principal problema al que se enfrenta esta estrategia es el exceso de unos datos que ya de por sí son difíciles de interpretar, así como de discriminar su posible papel confusor. Este enfoque está obteniendo esperanzadores resultados en el campo del envejecimiento y la oncología. En el área de las vacunas se ha centrado en la predicción de la eficacia de las vacunas tomando como modelo la vacuna frente a la fiebre amarilla, pero en lo referente al desarrollo de vacunas está permitiendo explorar nuevos adyuvantes y nuevas vías de conocimiento en una futura vacuna frente al VIH¹⁷.

Nuevos adyuvantes

Se trata de sustancias utilizadas para aumentar la respuesta inmunitaria a un antígeno, la mayoría a través de la activación de las células dendríticas y su capacidad para procesar y presentar antígenos y para atraer y activar linfocitos T¹⁸. Desde 1920 hasta hace poco eran ampliamente utilizadas las sales de aluminio, cuyo mecanismo exacto de acción sigue sin conocerse aún y se han visto relacionadas a algunas reacciones. Este hecho, junto a su deficiencia en estimular la inmunidad celular, ha promovido la búsqueda de nuevas sustancias. El primero de la nueva era de adyuvantes fue el MF59 (emulsión de aceite de escualeno en agua, Tween 80 y Span 85), que induce una gran respuesta de anticuerpos de mayor diversidad y afinidad en la vacuna de la gripe y se prepara para otros antígenos, como HIV o hepatitis C^{3,18,19}.

Entre los microorganismos es fácil encontrar unas determinadas estructuras —no presentes en las células eucariotas—, los «patrones moleculares asociados a los patógenos» (PMAP), que son reconocidos por nuestros receptores *Nod-like* (NLR), *Rig-like* (RLR) o *Toll-like* (TLR) y que son proteínas ancladas en las membranas de las células presentadoras de antígenos, y otras, cuya unión a los PMAP pone en marcha una cascada que termina con la liberación de IFN y FNT principalmente, aumentando el título y la afinidad de los anticuerpos y, por tanto, incrementando y modulando la respuesta inmunitaria específica frente al antígeno⁶. Con los TLR4 como diana principal, se utilizan los sistemas adyuvantes 01 (AS01, monofosforil lípido A, QS21 y medio liposomal), 03 (AS03, emulsión de aceite de escualeno en agua con alfa-tocoferol) y 04 (AS04, alumbre con monofosforil lípido A) en las vacunas frente al herpes zoster, malaria, papilomavirus y el virus de la hepatitis B¹. En vacunas frente al VIH, la tuberculosis o la malaria se prueba un agonista TLR4 sintético el glucopiranosil lípido A (GLA-SE)³. Entre los PMAP también se está ensayando el empleo de secuencias de citidina fosfato guanósina (CpG) sintéticas, con TLR9 como diana, que mimeticen el comportamiento del ADN bacteriano con resultados prometedores en vacunas mucosas por vía vaginal frente al herpes simple. En desarrollo se encuentran otras moléculas agonistas de TLR1/2 (Pam3CK4) o TLR7/8 (Resiquimod R848)³. Otros adyuvantes que estimulan la respuesta mucosa, tales como la toxina de *Vibrio cholerae*, la toxina lábil de *E. coli* enterotoxigénico (LT-K63), flagelina u otros lipopolisacáridos, muestran resultados prometedores¹⁸.

Las *citoquinas* se encuentran en el punto de mira de la investigación por sus importantes relaciones con la respuesta inmunológica. Una de las aplicaciones que podrían ofrecer es la modulación de la respuesta hacia el tipo celular o humoral, mediante la administración de IL-2, IL-12 e INFalfa o IL-4 e IL-10, respectivamente, aunque las mayores expectativas se han creado en su papel para la mejora de la memoria inmunológica. Las primeras candidatas son la IL-15 y la IL-7, que se ha visto favorecen la proliferación de linfocitos T CD8 memoria. El principal problema encontrado hasta el momento es su forma de administración, dosificación y seguridad. La administración intranasal de nanoemulsiones de aceite de soja junto a surfactantes catiónicos y aniónicos podría solventarlos²⁰.

Sistemas de entrega

Este término hace referencia a una estructura física que mejora las características bioquímicas del antígeno para poder asegurar su presentación al sistema inmunológico y aumentar en la medida de lo posible su inmunogenicidad. En muchos casos se trata de estructuras con función de vehículo del antígeno²¹. Una variedad puede estar representada por los *virosomas*. Se trata de fosfolípidos naturales o sintéticos formando vesículas esféricas que envuelven a un núcleo acuoso y a las cuales se les unen las glucoproteínas del virus que han sido separadas previamente. Son utilizados desde hace tiempo en las vacunas de la gripe y la hepatitis A²² y se cree que podrían ser de utilidad en la prevención de otras infecciones como la malaria²³ y la hepatitis C. Muy similares, los *sistemas espirales* (*cochleates*) alojan una gran variedad de productos en el interior de estructuras multicapas de fosfolípidos. Se han probado en las vacunas de ADN para que faciliten su paso a través de las membranas²¹. Otras funciones que presentan son las de proporcionar estabilidad, resistiendo a la degradación, o prolongar en el tiempo su liberación. Esta última función puede resultar de especial interés en el desarrollo de vacunas de administración mucosa. Un anestésico local, la bupivacaína, parece formar estructuras liposomales estables al mezclarse con vacunas ADN, lo que, unido a su efecto como adyuvante, lo hacen muy atractivo para el futuro.

Precisamente para una correcta absorción en la mucosa intestinal y llegada a las placas de Peyer evitando interferencias con los anticuerpos maternos, por ejemplo, se ha ensayado un *sistema de microencapsulación en polímeros biodegradables*²¹. Se favorece una liberación lenta y programada que podría hacer obviar dosis adicionales de vacunas. Por otro lado, podría permitir la incorporación de varios antígenos distintos. Las propias bacterias y virus, tras eliminar su genoma (perdiendo su virulencia), pueden utilizarse como vehículo de transporte de vacunas al incorporarles antígenos en su superficie. Bien una parte de ellas, como es el caso del empleo de las vesículas de membrana externa bacteriana (*fantasmas bacterianos*) o autoensamblando cápsides virales recombinantes (*partículas virus-like*)²⁴. O bien con bacterias o virus completos con o sin capacidad de replicación (ver apartado «Vacunas recombinantes por vectores»).

Vacunación heteróloga (estrategia de primosensibilización-refuerzo)

Se trata básicamente de «echar a andar» el sistema inmunitario con una primera vacuna para luego, en el momento justo, dirigir y expandir esa respuesta inmunitaria con una segunda vacuna, de distinta formulación, pero frente al mismo patógeno. Se trata de una estrategia derivada del uso de las vacunas de ADN por vectores que se está desarrollando con algún éxito en la investigación de vacunas frente al VIH y la malaria^{25,26}. Más concretamente consiste en la estimulación inicial del sistema inmunitario con estas vacunas de ADN plasmídico gracias a la reacción de proliferación de linfocitos T citotóxicos y a la producción de anticuerpos, para seguidamente administrar una diferente vacuna de subunidades frente a un antígeno compuesto o con un virus recombinante que exprese el mismo antígeno^{6,8}. La combinación de ambas vacunas se puede hacer por vías de administración diferentes.

Células dendríticas como vacunas por sí mismas

Estas células juegan un papel fundamental en el desarrollo de la respuesta inmune. Sus formas inmaduras tienen una elevada capacidad para captar, fagocitar y presentar antígenos en su superficie, y por ello son la principal diana de los adyuvantes²⁷. Por lo que surge una estrategia nueva para mejorar la respuesta a las vacunas: convertir las *células dendríticas como diana* de los antígenos.

Para dirigirlos a ellas se cuenta con varias posibilidades, como unirlos a anticuerpos específicos, a ligandos de moléculas de superficie o, una más plausible, la utilización de vectores con receptores en la superficie de la célula dendrítica^{8,28}. Este último enfoque se utiliza en el desarrollo de vacunas terapéuticas frente al VIH donde se administra a los pacientes infectados sus propias células dendríticas cargadas con su propio VIH pero inactivado.

Una vez presentado, el antígeno a la célula dendrítica estimula los linfocitos T. Para que este proceso tenga lugar, la célula debe sufrir un proceso de maduración que puede ser estimulado tanto por factores endógenos como exógenos, por lo que *favorecer la maduración de las células dendríticas* también representa una estrategia útil para la obtención de mejores vacunas²⁹. Por otro lado, la muerte de la propia célula dendrítica aumenta la respuesta inmunitaria, por lo que quizás el empleo de antígenos o moléculas que favorezcan la apoptosis podría mejorar la inmunogenicidad.

Por último, se ha visto que estas células pueden presentar antígenos también en la vía del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I que desencadena una fuerte respuesta de linfocitos T citotóxicos. Este fenómeno de *presentación cruzada* abre nuevas expectativas que podrían hacer innecesarios incluso los adyuvantes.

Conjugación de polisacáridos a proteínas

Era bien conocido hace ya muchos años que si bien las proteínas son buenos inmunógenos, los polisacáridos no lo son. Esto ha constituido un problema para la protección frente a algunos patógenos, cuyos antígenos protectores más relevantes tenían precisamente esta composición. Acoplar estos antígenos débiles a proteínas «portadoras», que pongan en marcha mecanismos de defensa frente a la proteína y además frente al polisacárido, favorece una mejor respuesta inmunitaria y permite su empleo en los niños menores de 2 años que no responden ni generan memoria inmunológica frente a los inmunógenos T independientes como los polisacáridos^{1,30}. Se ha utilizado en las vacunas frente a *Haemophilus influenzae* tipo b, neumococo o meningococo (excepto el serogrupo B, cuyo polisacárido es idéntico al ácido polisialico de algunas glucoproteínas humanas). Pero en el futuro se investiga en la obtención mediante esta técnica de vacunas frente a otras infecciones bacterianas como *Streptococcus agalactiae*³¹ y algunas responsables de infecciones nosocomiales, como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Adversómica

Las vacunas son víctimas de su propio éxito y conforme han logrado prácticamente hacer desaparecer numerosas enfermedades infecciosas, la atención de la población se ha tornado hacia sus efectos adversos cuando antes apenas eran percibidos. Al administrarse a población sana con intención de prevenir una infección en lugar de tratarla los estándares de seguridad que se les exigen en buena lógica son muy superiores a los de otros fármacos o productos biológicos. Al igual que ocurre con determinados fármacos, se sabe que no todos los individuos reaccionan de igual forma a una vacuna. Si bien la farmacogenómica se ocupa de la predisposición individual a sufrir efectos adversos a un fármaco, la adversómica lo hace con las vacunas. Se trata, por tanto, de la aplicación de la inmunogenómica y la biología de sistemas al entendimiento de las complejas interacciones que conducen a las reacciones adversas a vacunas a un nivel molecular³². Gracias a este conocimiento se podrán desarrollar nuevas vacunas más seguras que eviten o minimicen sus efectos adversos.

Los primeros desarrollos de este campo se llevaron a cabo con el estudio de casos de epilepsias asociadas a la vacunación con difteria-tétanos-tos ferina (DTPa) en la que se descubrieron

alteraciones estructurales o genéticas como el síndrome de Dravet asociado a una mutación *de novo* en el gen de los canales de sodio (SCN1A) en la mayoría de los niños afectados^{2,32}. Otros estudios han encontrado asociaciones entre alteraciones y polimorfismos en determinados genes y efectos adversos a la vacuna de la viruela; enfermedad viscerotrópica asociada a la vacuna de la fiebre amarilla; síndrome de Guillain-Barré tras vacuna de la gripe; la artritis tras la vacuna de la enfermedad de Lyme, o más recientemente la narcolepsia y la vacuna pandémica de la gripe. En este último caso, se halló la presencia del alelo HLA-DQB1*06:02 en el 98% de los pacientes, aunque también en el 35% de los controles, por lo que de momento solo permitía concluir que era una causa necesaria pero no suficiente para su aparición³².

Empleo de nuevas vías de administración

Hace ya algún tiempo que se desterró la idea de que las vacunas tuviesen que administrarse exclusivamente por vía parenteral o en gotas orales. La búsqueda de vacunas más fáciles de administrar y más seguras repercute directamente en una mejor aceptación poblacional y mayores niveles de cobertura vacunal, así como en una más cómoda infraestructura vacunal, ya que en algunos casos la estricta cadena de frío podría verse solventada, mejorando la distribución a lugares poco accesibles y evitando fallos vacunales³⁰. Además, algunas de estas nuevas vacunas podrían resultar más baratas y fáciles de fabricar, lo que aumentaría la posibilidad de ser producidas directamente en países no desarrollados.

La tecnología transgénica nos permite incluir determinados genes de microorganismos patógenos en el ADN de plantas que los expresen en los alimentos, tales como patatas, plátanos, tomates, maíz, alfalfa, tabaco o incluso yogur³³. La ingestión del alimento crudo, que actúa como vector, permite la expresión del antígeno vacunal y la aparición de respuesta inmune, convirtiéndose en *vacunas comestibles*. Los principales retos a los que se enfrentan son la estabilidad vacunal, el mantenimiento de la tolerabilidad de los antígenos alimentarios, así como la eventual transformación del antígeno en el alimento. Se han expresado ya antígenos del virus Norwalk, influenza, papilomavirus humano, VIH, virus de la hepatitis B y hepatitis C y de *E. coli* enterotoxigénico³⁴. Actualmente se trabaja en la producción de sistemas alimentarios alternativos, como la presentación de estos alimentos en forma de tableta deshidratada o en cápsulas de gelatina.

Las mucosas están expuestas a los microorganismos y a los agentes externos, por lo que son lugares de intensa actividad inmunitaria, convirtiendo a las *vacunas mucosas* ideales frente a infecciones con esa puerta de entrada donde la inmunidad local juega mayor papel. El principal reto es la inducción de tolerancia sistémica periférica que impida el desarrollo de una respuesta adecuada y la estimulación de altos niveles de anticuerpos³⁰. Se investiga en la vía oral (en cápsulas y gotas), la vía rectal, la vaginal y la nasal. Esta última se emplea en la recientemente incorporada vacuna frente a la gripe, generando respuestas inmunitarias más rápidas, amplias y duraderas que con la vacuna inactivada vía parenteral.

Las *vacunas transcutáneas*, de reciente desarrollo, se administran por la vía tópica, para lo cual se requiere su aplicación en piel intacta, hidratada y previamente lavada, en una cantidad suficiente, sin utilizar la punción. Para permeabilizar el estrato córneo queratinizado se pueden utilizar dispositivos *inyectores sin aguja* que introducen líquido a alta presión, dispositivos que aprovechan pequeñas descargas (pulsos) eléctricas (electroestimulación/electroporación), abrasión, hidratación o parches con microagujas autoinyectables³⁰. De esta forma el antígeno entra en contacto en seguida con las células de Langerhans, muy abundantes en la dermis, que actúan como células presentadoras de antígenos. La administración

concomitante de un adyuvante como el ácido transretinoico hace que se estimulen células B y T, dando respuestas locales muy intensas. Actualmente se investigan las propiedades y las utilidades de los materiales a escala nanométrica como transportadores o vectores de antígenos.

Nuevos tipos de vacunas

El enfoque clásico de desarrollo vacunal dio lugar a distintos tipos de vacunas, como las vivas atenuadas, las inactivadas (enteras o fraccionadas), toxoides, de cultivos celulares y polisacáridas. Las modernas estrategias de desarrollo comentadas anteriormente han dado como fruto nuevos tipos de vacunas que se resumen a continuación.

Vacunas recombinantes

Con el ejemplo de la vacuna frente a la hepatitis B, este tipo constituye la primera gran vacuna tecnológica e inicio de la revolución en este campo. En primer lugar es imprescindible identificar el antígeno que pueda dar lugar a una respuesta protectora para posteriormente realizar la detección y la obtención del genoma responsable de la elaboración de este antígeno. Dicha porción del genoma se inserta en otro microorganismo (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*) de forma que fabrique el antígeno deseado en grandes cantidades que se recoge, y purifica, para obtener una vacuna de producción ilimitada y absolutamente segura³⁰. Más recientemente se ha aplicado para la producción de la vacuna del papilomavirus humano.

Vacunas recombinantes por vectores

Consisten en la introducción de genes en vectores vivos, microorganismos no patógenos para el hombre de forma natural, o tras someterlos a un proceso de atenuación, que ulteriormente inoculados aporten todas las ventajas que proporciona una vacuna viva facilitando la inducción de potentes respuestas de células T (incluidos LT citotóxicos)⁶. Vacunas prometedoras frente al citomegalovirus y el VRS emplean esta tecnología. El vector ideal es aquel que posea un genoma grande y que sea fácil de atenuar y producir. Otros vectores utilizados son enterobacterias como *Salmonella*, el bacilo de Calmette-Guérin y otros virus, como poxvirus, adenovirus y flavivirus³⁵.

Una variedad de estas vacunas son las llamadas *vacunas recombinantes vivas*. En este caso los genes de un virus se introducen en otro serotipo del mismo virus pero atenuado. Esta técnica se investiga en el desarrollo de una vacuna frente al virus parainfluenza y dengue introduciendo los genes de 2 y 3 serotipos en el interior de un tercero y cuarto serotipo atenuado, respectivamente³⁶. Otra variante reciente es la obtención de esos genes por procedimientos sintéticos en el laboratorio, vehiculizados en vectores modificados que pierden su capacidad de replicación, denominándose *vacunas de replicones*. Algunos alphavirus, tales como el virus Sindbis, el Semliki y el virus de la encefalitis equina venezolana, han mejorado sensiblemente este campo. Estos replicones tienen la capacidad de introducirse en el interior de las células humanas y expresar los genes insertados en su citoplasma, dando lugar a una inmunogenicidad incrementada pero sin llegar a replicarse³⁷.

Vacunas de ácidos nucleicos

El manejo de los ácidos nucleicos permite el desarrollo de vacunas de ADN «desnudo». Esta técnica consiste en la inoculación directa del ADN plasmídico circular bacteriano que codifica el antígeno que nos interesa mediante la previa inserción en él de los genes. La entrada de este ADN en la célula permitirá la vacunación

con respuestas inmunológicas celulares óptimas, aunque variables según la vía de administración. Por otro lado, puede desarrollar una buena memoria inmunológica, que podría depender de la propia persistencia del ADN¹. Las expectativas tras la experimentación animal en ratones se incrementaron enormemente; sin embargo, se están encontrando problemas en los modelos con primates y humanos que han frenado la confianza que se depositó en ellas. El desarrollo de estas vacunas se está aplicando en la protección frente a la malaria o el VIH⁶. La tecnología del ADN «desnudo» se utiliza no solo para generar protección directa frente a un agente sino también para identificar antígenos protectores mediante la experimentación en el laboratorio, y son prometedoras en el tratamiento del cáncer.

Las vacunas de ARN se basan en la administración de mRNA autoamplificante, presentando la ventaja sobre las anteriores de su mayor seguridad al evitar la posibilidad de integración del ADN en el genoma del huésped en forma de transposón y su mayor actividad citoplasmática^{1,6}. Desgraciadamente, su carga negativa y su hidrofilia impiden su acceso al interior de la célula, lo que, unido a su inestabilidad, impidió la apuesta por estas vacunas. En cambio, avances en su administración mediante vectores de entrada, o los más recientes sistemas no virales como nanopartículas lipídicas sintéticas, nanoemulsiones catiónicas o mecanismos de electroporación^{1,38,39}, han solventado el problema y actualmente representan una de las vacunas con mayor potencial de futuro por permitir la fabricación de vacunas frente a patógenos conocidos, o no, de forma rápida (varios días incluso) y barata mediante plataformas de fabricación genéricas que utilizan métodos completamente sintéticos sin necesidad de cultivos celulares y dando lugar a vacunas que producen potentes respuestas inmunitarias innatas y adaptativas³⁹. Estas características las convertirían en las vacunas ideales frente a pandemias de gripe o amenazas bioterroristas.

Vacunas peptídicas

La proteómica (genómica funcional a nivel de proteínas) permite la identificación de proteínas antigénicas virales y bacterianas, cuyo papel inmunizante no se había tenido en cuenta previamente, y determina el papel que cada una desarrolla en el proceso patogénico³⁰. El objetivo es localizar la porción de ADN en el genoma, mediante la secuenciación previa de sus aminoácidos, que permita ulteriormente producir en el laboratorio vacunas de péptidos sintéticos que pueden adoptar la configuración espacial adecuada (mimotopos). Otro método consiste en el *afeitado peptídico*, que consiste en el tratamiento de las células con bajas concentraciones de proteasas que liberan los péptidos de las superficies celulares siendo, posteriormente, identificadas por espectrofotometría de masas. Se está aplicando, por ejemplo, en el desarrollo de la vacuna frente a la enfermedad de Lyme. A pesar del gran avance logrado, siguen encontrándose dificultades en la síntesis estructural de proteínas que generen una correcta respuesta inmunológica³⁶.

Vacunas atenuadas e inactivadas molecularmente

Las clásicas vacunas de microorganismos vivos obtenidas mediante su atenuación tras pases seriados en cultivos son bien conocidas en la prevención de enfermedades víricas, pero en el caso de las bacterias constituye un método que puede llevar años sin buenos resultados. La tecnología génica puede mejorar la atenuación de virus y solventar la limitada capacidad para atenuar bacterias abriendo la posibilidad de este diseño de vacunas en el futuro. Esta técnica se basa en la posibilidad existente de generar un agente infeccioso completo a partir de la transferencia de ADN¹⁹. Se incluirían o sustituirían secuencias genéticas, obtenidas tras la inducción de mutagénesis, de cepas no virulentas o

experimentalmente para observar su comportamiento fenotípico. Se utiliza principalmente en investigación con virus como influenza, parainfluenza y VRS. Permite, por ejemplo, el desarrollo muy rápido de vacunas frente a variantes de virus emergentes como el H5N1.

Por otro lado, las técnicas clásicas de inactivación química de toxinas tienen el inconveniente de la pérdida de inmunogenicidad por alteración también de los epítomos que desencadenan la respuesta protectora. Otra ventaja que presentan estas vacunas es evitar dicha pérdida gracias a la alteración exclusiva de los genes que codifican la actividad biológica de la toxina. Se trataría de vacunas muy seguras y al mismo tiempo muy inmunogénicas⁴⁰. Esta técnica se utiliza en el desarrollo de vacunas frente a la tos ferina, el cólera y *E. coli*.

Vacunas con virus reordenados («reasortados»)

Cuando 2 virus de genomas segmentados se replican en una misma célula, genes de uno de los virus pueden quedar englobados en las nuevas partículas virales del otro por puro azar, y viceversa. Muchas de estas partículas no serán viables, pero otras tendrán la capacidad de generar inmunogenicidad sin virulencia. Mediante esta tecnología de «*reassortment*» se desarrolla la vacuna frente a la gripe, distinta de año en año, y se continúa investigando, como en el caso de la reciente vacuna frente a rotavirus³⁰.

Vacunas adaptadas al frío

La sensibilidad de determinados virus a temperaturas altas o bajas puede utilizarse para la selección de mutantes atenuadas. Esta técnica de *sensibilidad térmica* se ha utilizado para el desarrollo de una vacuna ya comercializada frente al virus de la gripe³⁰ y otra en desarrollo frente al VRS. En este caso se trata de una cepa mutante de menor virulencia seleccionada por su crecimiento en el laboratorio a bajas temperaturas en torno a los 25 °C.

Principales candidatas a vacunas en desarrollo

Según el «*Biologics Report*», actualmente se encuentran en fase de desarrollo más de 250 nuevas vacunas, de las que 134 están dirigidas a luchar frente a enfermedades infecciosas y el resto frente al cáncer, alergias o enfermedades autoinmunes⁴¹. Se trata de vacunas frente a bacterias, virus, hongos y parásitos frente a los que se emplean variadas técnicas de producción y estrategias como las anteriormente descritas. En la *tabla 4* se ha seleccionado el tipo de vacuna en fase más avanzada de desarrollo frente a distintos agentes infecciosos en el momento actual. Muchas son las que se van quedando por el camino, o no terminan de mostrarse eficaces. Sin entrar en excesivo detalle de cada una de ellas, a continuación se resumen algunos aspectos de las más ilustrativas.

Malaria

Es una enfermedad parasitaria producida por varias especies de *Plasmodium* y transmitida por el mosquito *Anopheles* que se estima infecta a más de 200 millones de personas y mata a más de 600.000. Se han intentado desarrollar vacunas atenuadas irradiando o modificando genéticamente los esporozoítos con poco éxito⁴². El desarrollo de una vacuna eficaz —como la RTS,S/AS01— se ha seguido con gran atención y muchas esperanzas, y aunque los últimos resultados han sido algo decepcionantes, parece que finalmente la vacuna verá la luz a finales del año 2015. Esta vacuna, basada en un único antígeno, la proteína recombinante del circumsporozoíto (CSP) de *P. falciparum* (responsable del 80% de la mortalidad mundial por malaria), es una vacuna pre-eritrocitaria y está orientada a proteger a los niños menores de 5 años frente

Tabla 4

Principales vacunas en desarrollo frente a agentes infecciosos para los que aún no hay vacuna comercializada (se señalan solo los tipos de vacuna en fase más avanzada de desarrollo)

Microorganismo	Tipo de vacuna en fase más avanzada de desarrollo
<i>Vacunas frente a bacterias</i>	
<i>Bacillus anthracis</i>	Proteína recombinante (rPA)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Proteína recombinante (OspA)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Proteína purificada
<i>Campylobacter jejuni</i>	Célula entera
	Subunidad proteica
	Proteína recombinante (ACE393)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Proteínas de membrana externa (DWA)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Proteína de membrana externa (MOMP)
<i>Clostridium botulinum</i>	Toxoide
	Vacuna recombinante AB
<i>Clostridium difficile</i>	Mutante de toxina
<i>Coxiella burnetii</i>	Inactivada en formalina
Endotoxina (sepsis por gramnegativos)	Lipopolisacárido detoxificado de <i>E. coli</i> O111:B4, Rc (J5)
<i>E. coli</i> enterohemorrágico	(Hasta 6 tipos diferentes)
<i>E. coli</i> enterotoxigénico	Célula entera muerta
<i>E. coli</i> (tracto urinario)	Adhesina anti-FimH
<i>Francisella tularensis</i>	Atenuada viva
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Proteínas de membrana externa
<i>Haemophilus influenzae</i> (NT)	Proteínas de membrana externa (HiN47)
<i>Helicobacter pylori</i>	Célula entera adyuvada con toxina mutante (E.c.)
<i>Legionella pneumophila</i>	Mutante atenuada
	Proteína de superficie purificada
<i>Listeria monocytogenes</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Mycobacterium leprae</i>	(Hasta 6 tipos diferentes)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Inactivada oral
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Proteína recombinante (Por)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Subunidades de proteína mayor de superficie
<i>Shigella dysenteriae</i>	Conjugada proteína-polisacárido
<i>Shigella flexnerii</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Shigella sonnei</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pentavalente y polímero de N-acetilglucosamina
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Epitopos multivalentes tipo-específicos (M)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Conjugada de PLS tipo Ia, Ib, II, III y V
<i>Trponema pallidum</i>	Proteínas de membrana
<i>Yersinia pestis</i>	Proteína de fusión F1-V
<i>Vacunas frente a virus</i>	
Chikungunya	Atenuada
Citomegalovirus	(Varios tipos diferentes)
Dengue	(Varios tipos diferentes)
Encefalitis equina occidental	Partículas enteras inactivadas
Encefalitis equina oriental	Partículas enteras inactivadas
Encefalitis equina venezolana	Inactivada y atenuada
Ebola	(Hasta 6 tipos diferentes)
Epstein-Barr	Subunidad glucoproteica (gp350)
Fiebre del Rift Valley	Inactivada y atenuada
Hantaan	ADN desnudo
Hepatitis C	Recombinante y genes proteicos (rVac w/3 NS)
Hepatitis D	Péptidos sintéticos
Hepatitis E	Proteína recombinante (expresada en <i>E. coli</i>)
Herpes simple tipo 1 y 2	Proteína recombinante (gD2)
Junin (fiebre hemorrágica argentina)	Atenuada
Lassa	(Varios tipos diferentes)
Marburg	ADN
Nipah	Glucoproteína G soluble y en vector (poxvirus)
Norwalk	(Varios tipos diferentes)
Parainfluenza	Atenuada (PIV3) al frío y bovina

Tabla 4 (continuación)

Microorganismo	Tipo de vacuna en fase más avanzada de desarrollo
SARS Co-V	Plásmido ADN e inactivada
Sendai	Recombinante
VIH	Plásmido ADN y vector vivo
VRS	Atenuada y subunidad proteica F purificada
West Nile	Virus quimérico YF17D/WNV
<i>Vacunas frente a parásitos</i>	
<i>Ancylostoma duodenale</i>	Proteína recombinante
<i>Brugia malayi</i>	Antígeno purificado (paramyosina)
<i>Entamoeba histolytica</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Leishmania major</i>	Atenuada o parásito entero muerto
<i>Leishmania amazonensis</i>	Parásito entero muerto
<i>Leishmania</i> spp. (múltiples)	Antígenos de superficie (gp63, 46 kD y lipofosfoglicano)
<i>Onchocerca volvulus</i>	Proteína recombinante
<i>Plasmodium falciparum</i>	RTS,S (proteína recombinante o péptido basado en el antígeno de circumsporozoito)
<i>Plasmodium vivax</i>	Proteína recombinante o péptido basado en el antígeno de circumsporozoito (CSP)
<i>Schistosoma mansoni</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Schistosoma haematobium</i>	Proteína recombinante (Sh28 GST)
<i>Schistosoma japonicum</i>	Antígeno recombinante o vacuna ADN
<i>Toxoplasma gondii</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Proteínas recombinantes
<i>Vacunas frente a hongos</i>	
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Candida albicans</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Coccidioides immitis</i>	Esférulas inactivadas por formalina
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Polisacárido capsular conjugado a toxoide tetánico
<i>Histoplasma capsulatum</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	(Varios tipos diferentes)
<i>Pythium insidiosum</i>	(Varios tipos diferentes)

a la malaria y disminuir así la gran carga de mortalidad infantil en algunos países²⁵. El ensayo clínico en fase III incluye más de 15.000 niños, y su primer análisis con datos de 6.000 de estos niños de entre 5 y 17 meses de edad mostró una eficacia del 55,8% para prevenir la enfermedad en los 12 meses posteriores a la tercera dosis y un 47,3% la malaria grave⁴³. En cambio, los resultados publicados más recientemente en lactantes entre 6 y 12 semanas de edad han mostrado una pobre eficacia del 30,1% de los vacunados, y a los 4 años desciende a un 16,8%, lo que ha desilusionado, pues es un nivel de protección insuficiente a nivel clínico para la OMS, a pesar de que se partió de un antígeno inmunodominante. Ya se están preparando varias vacunas, denominadas de segunda generación, basadas principalmente en inmunómica con el cribado de sueros de pacientes y en la vacunología de sistemas que se espera presenten una eficacia del 80% para el año 2025^{11,42}.

Virus de la inmunodeficiencia humana

Se estima que ha matado ya a más de 30 millones de personas desde que se descubrieran los primeros casos en la década de 1980. Actualmente en el mundo se infectan 7.000 personas al día¹³. A pesar de que el tratamiento antirretroviral ha conseguido controlar la infección y convertirla casi en una enfermedad crónica que se estima supondrá un coste de 35 billones de dólares en el año 2030, la búsqueda de una vacuna eficaz es uno de los mayores retos actuales y cuenta con uno de los mayores presupuestos y gran atención mediática. Tres estrategias han alcanzado los ensayos clínicos: una proteína recombinante (gp120); una vacuna recombinante con adenovirus tipo 5 conteniendo los genes del VIH *gag*, *pol* y *nef*, y una estrategia de vacunación heteróloga con inducción mediante

vacuna con un poxvirus como vector y un refuerzo posterior con una vacuna monomérica gp120²⁶. Las 2 primeras estrategias se abandonaron por falta absoluta de eficacia. La tercera ha mostrado una eficacia del 31,2% en el ensayo clínico de fase III (RV144) que ha desanimado a investigadores y población por las expectativas creadas, pero que, siendo optimistas, ha demostrado por primera vez que la infección por el VIH puede ser prevenida mediante vacunación. No obstante, hay otras estrategias abiertas enfocadas al nivel atómico viral e inmunitario contra epítomos conservados de proteínas de envoltura que han mostrado eficacia para proteger a macacos frente al virus de la inmunodeficiencia de los simios (VIS)⁶. A su descubrimiento se ha llegado por inmunómica tras el estudio de los linfocitos B que permitió seleccionar Ac monoclonales neutralizantes con alto grado de hipermutación somática al que solo se llega tras largos periodos de exposición al antígeno.

Virus respiratorio sincitial

Es una importante causa mundial de morbilidad infantil, al provocar un grave cuadro de tracto respiratorio inferior. En el mundo, hasta 30 millones de niños menores de 5 años adquieren el VRS cada año, provocando la hospitalización del 10% y matando alrededor de 200.000⁴⁴. El desarrollo de esta vacuna es uno de los ejemplos más claros de la dificultad que supone este campo, como muestran los numerosos fracasos desde los años 1960. La primera vacuna se desarrolló inactivando el virus con formalina, pero generó una reacción inflamatoria pulmonar con infiltración de eosinófilos y neutrófilos que ha condicionado y enlentecido posteriores investigaciones. Los avances actuales han facilitado nuevas vías, como las abiertas frente a los 3 principales antígenos protectores: una vacuna de subunidades proteicas F (glucoproteína de fusión) purificadas (PFP-1 y PFP-2) en fase II de investigación; una vacuna frente a la glucoproteína de unión G (BBG2Na); otra frente a la nucleoproteína N (RSV-604), y otra frente a la proteína de la matriz M2^{9,45,46}. Para su extracción se emplean nanoemulsiones que rompen la envuelta viral y los antígenos se expresan en la superficie de vectores bacterianos como *Lactococcus lactis* o en virus como adenovirus o virus influenza quiméricos o virosomas⁴⁶. Por otro lado, también se insiste en el desarrollo de una vacuna intranasal atenuada por adaptación al frío.

Citomegalovirus

Provocan una infección grave en los pacientes inmunodeprimidos, así como alteraciones congénitas (sordera, retraso mental, alteraciones locomotoras), que se estima que cada año afectan a 8.000 recién nacidos en Estados Unidos⁴⁷. El desarrollo de una vacuna eficaz es una prioridad desde hace tiempo que ha cobrado mayor fuerza según avanza la era de los trasplantes, pero supone otro ejemplo de fracaso similar al del VRS. Hay varias estrategias de desarrollo abiertas en este momento, entre las que destacan las vacunas de antígenos individuales como la de glucoproteína B (CMV gB) recombinante adyuvada con MF59 que ha entrado en fase II y ha mostrado una eficacia del 50% en la prevención de la infección en mujeres seronegativas tras dar a luz, así como una menor duración de la viremia postrasplante y menor número de días de tratamiento antiviral en pacientes que recibieron un órgano sólido de donantes seropositivos^{47,48}. La otra estrategia en la que más se ha trabajado es la de vacunas con virus completos modificados, entre las que destaca la vacuna viva atenuada de la cepa Towne y la AD169, aunque los resultados de los ensayos clínicos han sido descorazonadores, con escasa eficacia. Probablemente agregando el complejo pentamérico gH a estos viriones se pueda mejorar su eficacia sin menoscabo de su seguridad⁴⁷.

Streptococcus agalactiae

En 2010 fue responsable a nivel mundial de casi 400.000 muertes en recién nacidos tras la transmisión vertical de madres colonizadas en mucosa vaginal o rectal, especialmente en países donde no se pueden realizar otras estrategias preventivas y terapéuticas. Durante las últimas décadas se describen cada vez más casos de infecciones en adultos con comorbilidad. En ambos casos, una vacuna eficaz supondría una magnífica herramienta para prevenir la infección, y la muerte. Los primeros intentos se centraron en una vacuna polisacárida en los años 1990, que dieron paso a la estrategia de conjugación de una proteína a polisacáridos frente a los serotipos Ia, II, III y V, de forma similar a como se hizo con las vacunas frente a *Haemophilus influenzae* tipo b, meningococo o neumococo. Si bien la vacuna conjugada frente a un único serotipo era inmunógena, su eficacia era insuficiente, y se desarrolló una vacuna de varios serotipos (Ia, Ib y III) que solo ha alcanzado la fase II^{5,31}. Como proteína *carrier* se había utilizado tanto el toxoide tetánico como la mutante de toxina diftérica CRM197, pero un reciente grupo ha utilizado en su lugar péptidos que generan más uniones glucano-CMH-II, resultando 50-100 veces más inmunógena⁴⁹. Por otro lado, también se ha aplicado la estrategia de vacunología inversa, tras su éxito con la vacuna frente a meningococo, seleccionando 589 proteínas de superficie, de las que 312 se expresaron en *E. coli* que se testaron en ratonas encontrando 4 posibles antígenos (3 de ellos *pili*) que en el modelo murino no están dando los resultados esperados⁵.

Enfermedad de Chagas

Producida por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, es un auténtico azote en algunos países de Sudamérica, como Bolivia, afectando a 11-18 millones de personas en el mundo y siendo responsable de una alta morbilidad cardíaca y gastrointestinal, matando al año a 13.000 personas aproximadamente⁵⁰. Este problema se ha extendido al resto del mundo, y especialmente a nuestro país, debido a la posibilidad de transmisión vertical de madre a hijo. El tratamiento es complicado por haber solo 2 posibles fármacos disponibles (benznidazol y nifurtimox), de difícil acceso, de elevados efectos secundarios y de limitada eficacia. Se trabaja en el desarrollo de vacunas preventivas con antígenos recombinantes de *T. cruzi*, vacunas por vectores (adenovirus o vaccinia), vacunas ADN, y una estrategia de vacunación heteróloga mediante inducción por ADN plasmídico y un posterior refuerzo con un vector viral (adenovirus) o con proteínas recombinantes adyuvada con IL-2 y citoquinas^{50,51}. Aunque ninguna se ha evaluado en humanos aún, este último enfoque es el más prometedor⁵⁰.

Leishmaniasis

Es una enfermedad que afecta a 12 millones de personas en el mundo (2 millones de casos nuevos cada año) con una amplia distribución geográfica, que incluye España, producida por un protozoo que es transmitido por un flebótomo como vector. Existen varias especies de protozoo y 2 formas clínicas de enfermedad: la cutánea y la visceral. La última es la más grave, con afectación sistémica y habitual fracaso al tratamiento, produciendo al año unas 20.000-30.000 muertes⁵². Desde hace siglos muchos pueblos han realizado la práctica de la «leishmanización», que consistía en la inoculación de *Leishmania major* (de forma similar a la variolización que se realizaba para evitar la viruela) para prevenir los casos cutáneos. Una vacuna frente a *Leishmania* sería muy interesante, ya que las distintas especies están tan relacionadas que serviría para prevenir todas las variadas enfermedades que produce y, además, muy probablemente podría tener valor terapéutico además de profiláctico⁵³. Hay suficientes evidencias experimentales para lograr el desarrollo de

una vacuna tras utilizar prácticamente todas las estrategias conocidas (parásito completo vivo, atenuado, modificado genéticamente, fraccionado, proteínas recombinantes, combinaciones poliproteicas, péptidos sintéticos, vacunas ADN, formulaciones liposomales, adyuvadas o, incluso, con antígenos salivales de flebótomo)⁵². A pesar de que algunas han mostrado cierto grado de eficacia, se están encontrando dificultades a la hora de convertirlas en una vacuna realmente funcional, aunque la reciente incorporación de nuevos adyuvantes puede acelerar su llegada.

Dengue

Está producido por 4 serotipos distintos de un flavivirus transmitido por la picadura de un mosquito (*Aedes*). Se trata de una infección emergente, pues si a mitad del siglo xx solo afectaba a unos pocos países del Sudeste asiático y Sudamérica, hoy día la OMS estima que hasta el 20% de la población mundial está en riesgo en más de 100 países endémicos, produciéndose entre 50-100 millones de infecciones en el mundo al año⁵⁴. En muchos casos apenas da síntomas, o produce un cuadro pseudogripal, pero en otros casos genera una fiebre hemorrágica o el síndrome de shock del dengue de extrema gravedad. Se busca una vacuna eficaz desde los años 1930 (incluso Albert Sabin llegó a atenuar una cepa), pero sin éxito, pues su desarrollo se enfrenta a importantes requisitos, como la eficacia frente a los 4 serotipos del virus, de forma duradera y segura, y ello con las limitaciones de la ausencia de marcadores subrogados de protección y de un modelo animal^{54,55}. Son varias las que se encuentran en investigación en el momento actual, y la más avanzada (en fase III) es una con una mezcla de 4 virus quiméricos. Se parte de otro flavivirus, el virus de la fiebre amarilla, que se atenúa y se recombina con genes de la premembrana (prM) y la envuelta (E) de cepas salvajes de los 4 serotipos de virus dengue⁵⁵. Los ensayos en fase II en Tailandia y en Sudamérica mostraron elevada eficacia frente a 3 serotipos, pero en Tailandia la eficacia frente al serotipo 2 (el más agresivo) solo alcanzó un 3,5%. Se cree que pueda deberse a mutaciones en la proteína E en el genotipo Asia 1 del serotipo 2 viral circulante en Tailandia⁵⁴. Los resultados en más de 31.000 participantes del ensayo en fase III en Asia⁵⁶ y Sudamérica⁵⁷ muestran una eficacia global del 56 y del 65%, respectivamente, aunque en Sudamérica es del 95% frente a las formas graves frente a los 4 serotipos.

Ebola

El virus del ebola es un filovirus incluido junto a otras 3 familias de virus entre los virus de fiebre hemorrágica. Produce una enfermedad aguda con elevada fiebre, cefalea, mialgias, dolor abdominal, hemorragias y coagulación intravascular diseminada³⁷. Descrito por primera vez en 1976, existen 5 especies que pueden diferir hasta un 40% en su secuencia de aminoácidos. Los principales brotes están producidos por las especies Zaire (ZEBOV), Sudan (SUDV) y Bundibugyo (BDBV), con porcentajes de mortalidad entre el 20-90%. El reciente brote durante 2014 ha afectado a más de 14.000 personas, matando a más de 5.000⁵⁸, y ha puesto al mundo entero en alerta, permitiendo acelerar de forma espectacular el desarrollo de vacunas en las que se venía trabajando desde los años 1990. Las principales estrategias empleadas han sido las vacunas inactivadas por formalina, calor o irradiación UV; de subunidades proteicas purificadas; de ADN; de virus *like-particles* formados con proteínas de matriz VP40 y glucoproteínas del virus o con estrategias de primovacunación-refuerzo, y las basadas en virus atenuados como vectores recombinantes que expresen glucoproteínas del virus ebola^{37,58,59}. Entre los vectores se han empleado virus con capacidad para replicarse, como el virus de la estomatitis vesicular (VSVdeltaG-ZEBOV, actualmente en ensayo en fase III), el virus de la rabia (RabV-based EboV), el virus parainfluenza humano tipo 3

(rHPIV3), el citomegalovirus o el virus vaccinia Ankara modificado (actualmente en ensayo en fase I), o virus no replicativos como el *replicones* de virus de la encefalitis equina venezolana (VEEV RP) o adenovirus. Esta última (rAd5), usada como dosis de refuerzo tras una vacuna de ADN, fue la primera en demostrar eficacia del 100% en primates no humanos. Desgraciadamente los humanos tenemos inmunidad previa a este serotipo de adenovirus, por lo que se buscan otros serotipos de virus humanos (Ad26 o Ad35), sin gran éxito⁵⁹, y finalmente un adenovirus derivado de chimpancé (ChiAd3) que codifica la glucoproteína de la especie Zaire (GP EBOV) se ha convertido en el vector de la vacuna en fase de desarrollo más avanzada, habiendo superado los ensayos de inmunogenicidad y seguridad de fase I en humanos sanos en enero de 2015 en el Reino Unido y comenzando el ensayo acelerado en fase III apenas unos días después en Liberia, que incluirá a unas 30.000 personas⁶⁰.

Clostridium difficile

Esta bacteria anaerobia está muy presente en el ambiente gracias a su forma esporulada, que facilita su supervivencia y transmisión. Una vez en el intestino, numerosos estímulos del huésped la hacen germinar, especialmente los relacionados con la reducción de la flora comensal normal que tiene lugar tras tratamientos antimicrobianos de amplio espectro. La germinación con la expresión de proteínas de superficie que favorecen la adherencia, colonización y daño celular inicial, y la producción de 2-3 potentes toxinas (TcdA, TcdB y, en menor frecuencia, la toxina binaria), generan un importante daño epitelial responsable de un síndrome diarreico que en los casos más graves puede conducir a una colitis pseudomembranosa fulminante^{61,62}. Actualmente ha emergido como la primera causa de diarrea nosocomial, aumentando su incidencia en los hospitales europeos hasta el doble entre 2005 y 2008⁶². La primera estrategia de vacunación surgió hace más de 30 años, intentando generar un toxoide mediante inactivación de la toxina con formalina dado que los anticuerpos frente a las toxinas prevenían la infección, en menor grado las recurrencias y rara vez la colonización. Actualmente una vacuna muy similar, pero purificada y adyuvada, es la de desarrollo más avanzado (se acaba de completar un ensayo en fase II) con buenos resultados⁶². Junto a ella, una vacuna de toxina modificada genéticamente y otra vacuna recombinante de la proteína de fusión son las únicas que han alcanzado la evaluación clínica en humanos y todas tienen como objetivo la prevención primaria en adultos. Con intención de prevenir también la colonización, la producción de esporas y la transmisión, se buscan otras estrategias, aunque solo en modelos animales: las vacunas de antígenos de superficie proteicos, las de polisacáridos y las vacunas de ADN⁶¹.

Staphylococcus aureus

Las infecciones hospitalarias producidas por *S. aureus* son cada vez más temidas por su elevado nivel de resistencia, mal pronóstico y elevada incidencia, especialmente en pacientes ancianos, con comorbilidad, inmunodeprimidos y quirúrgicos. La primera vacuna que se evaluó en humanos fue la de polisacáridos capsulares tipo 5 y 8 conjugados a la exotoxina A recombinante de *Pseudomonas aeruginosa* con resultados dispares y escasa eficacia para prevenir la bacteriemia⁶. La segunda más avanzada, una vacuna con un único antígeno altamente conservado de *S. aureus* (IsdB), fracasó en el último estudio en fase IIb/III al no lograr eficacia para reducir las infecciones graves postoperatorias en pacientes sometidos a cirugía cardíaca. Otros enfoques empleados han sido los toxoides de Leucocidina Panton-Valentine y las vacunas de células enteras⁶³. Las futuras estrategias deberán abordar la necesidad de incluir en una misma vacuna varios antígenos entre sus factores de virulencia y sus mecanismos defensivos, dados los complejos y abundantes

sistemas de adaptación al huésped que posee y que le permiten colonizar numerosos nichos distintos y escapar al sistema inmunitario. Actualmente se están buscando mejores marcadores de protección y se buscan estrategias para lograr estimular no solo la inmunidad humoral sino también la celular, y en modelos con ratas se han logrado esperanzadores resultados con *fantasmas bacterianos* de *S. aureus*⁶⁴.

Conclusión

La combinación de todas las estrategias y herramientas descritas anteriormente permitirá el advenimiento de nuevas vacunas cuyo desarrollo no se ha podido lograr mediante la estrategia empírica tradicional, y lo conseguirán, además, de una forma rápida, más barata y más segura para la población. La mayoría comparten campos de conocimiento, e incluso sus denominaciones van modificándose al englobarse unas en otras, resultando difícil clasificarlas. No obstante, entre ellas destaca especialmente la vacunómica, en la que muchos engloban otros enfoques como la vacunología de sistemas o la adversómica, y que podrá estudiar los fenotipos y los genotipos individuales correlacionando los polimorfismos genéticos de la población con una determinada predisposición a sufrir la infección, una concreta respuesta inmunitaria a la vacunación, una dosificación vacunal ajustada, una adecuada vía de administración vacunal o una mayor o menor probabilidad de sufrir un efecto adverso a la vacunación. Esto conducirá a la posibilidad en un futuro muy cercano de diseñar vacunas personalizadas para cada individuo o grupo poblacional, más seguras, baratas, fáciles de conservar y administrar y frente a patógenos emergentes y pandémicos como el dengue, VIH, malaria, *Clostridium difficile*, etc.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Finco O, Rappuoli R. Designing vaccines for the twenty-first century society. *Front Immunol.* 2014;5:12.
- Poland GA, Kennedy RB, McKinney BA, Ovsyannikova IG, Lambert ND, Jacobson RM, et al. Vaccinomics, adversomics, and the immune response network theory: Individualized vaccinology in the 21st century. *Semin Immunol.* 2013;25:89–103.
- Olafsdottir T, Lindqvist M, Harandi AM. Molecular signatures of vaccine adjuvants. *Vaccine.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.04.099>.
- Heinson AJ, Woelch CH, Newell ML. The promise of reverse vaccinology. *Int Health.* 2015;7:85–9.
- Chen VL, Avci FY, Kasper DL. A maternal vaccine against group B *Streptococcus*: Past, present, and future. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 4:D13–9.
- Delany I, Rappuoli R, de Gregorio E. Vaccines for the 21st century. *EMBO Mol Med.* 2014;6:708–20.
- Dormitzer PR, Grandi G, Rappuoli R. Structural vaccinology starts to deliver. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10:807–13.
- Nabel GJ. Designing tomorrow's vaccines. *N Engl J Med.* 2013;368:551–60.
- McLellan JS, Chen M, Joyce MG, Sastry M, Stewart-Jones GB, Yang Y, et al. Structure-based design of a fusion glycoprotein vaccine for respiratory syncytial virus. *Science.* 2013;342:592–8.
- Soria-Guerra RE, Nieto-Gomez R, Govea-Alonso DO, Rosales-Mendoza S. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: Implications on vaccine development. *J Biomed Inform.* 2014;53:405–14.
- Doolan DL, Apte SH, Proietti C. Genome-based vaccine design: the promise for malaria and other infectious diseases. *Int J Parasitol.* 2014;44:901–13.
- Giefing C, Meinke AL, Hanner M, Henics T, Bui MD, Gelbmann D, et al. Discovery of a novel class of highly conserved vaccine antigens using genomic scale antigenic fingerprinting of pneumococcus with human antibodies. *J Exp Med.* 2008;205:117–31.
- Koff WC, Russell ND, Walport M, Feinberg MB, Shiver JW, Karim SA, et al. Accelerating the development of a safe and effective HIV vaccine: HIV vaccine case study for the Decade of Vaccines. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 2:B204–8.
- Poland GA, Ovsyannikova IG, Jacobson RM, Smith DI. Heterogeneity in vaccine immune response: The role of immunogenetics and the emerging field of vaccinomics. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82:653–64.
- Pulendran B. Systems vaccinology: Probing humanity's diverse immune systems with vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:12300–6.
- Pulendran B, Li S, Nakaya HI. Systems vaccinology. *Immunity.* 2010;33:516–29.
- Hagan T, Nakaya HI, Subramaniam S, Pulendran B. Systems vaccinology: Enabling rational vaccine design with systems biological approaches. *Vaccine.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.072>.
- Mount A, Koernig S, Silva A, Drane D, Maraskovsky E, Morelli AB. Combination of adjuvants: The future of vaccine design. *Expert Rev Vaccines.* 2013;12:733–46.
- De Gregorio E, Rappuoli R. From empiricism to rational design: A personal perspective of the evolution of vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:505–14.
- Wong PT, Leroueil PR, Smith DM, Ciotti S, Bielinska AU, Janczak KW, et al. Formulation, high throughput in vitro screening and in vivo functional characterization of nanoemulsion-based intranasal vaccine adjuvants. *PLoS One.* 2015;10:e0126120.
- Beg S, Samad A, Nazish I, Sultana R, Rahman M, Ahmad MZ, et al. Colloidal drug delivery systems in vaccine delivery. *Curr Drug Targets.* 2013;14:123–37.
- Holzer BR, Hatz C, Schmidt Sissolok D, Gluck R, Althaus B, Egger M. Immunogenicity and adverse effects of inactivated virosome versus alum-adsorbed hepatitis A vaccine: A randomized controlled trial. *Vaccine.* 1996;14:982–6.
- Poitl Frank F, Zurbriggen R, Helg A, Stuart F, Robinson J, Gluck R, et al. Use of reconstituted influenza virus virosomes as an immunopotentiating delivery system for a peptide-based vaccine. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:496–503.
- Chroboczek J, Szurgot I, Szolajski E. Virus-like particles as vaccine. *Acta Biochim Pol.* 2014;61:531–9.
- Birkett AJ, Moorthy VS, Loucq C, Chitnis CE, Kaslow DC. Malaria vaccine R&D in the Decade of Vaccines: Breakthroughs, challenges and opportunities. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 2:B233–43.
- Fernandez-Tejada A, Haynes BF, Danishefsky SJ. Designing synthetic vaccines for HIV. *Expert Rev Vaccines.* 2015;14:815–31.
- Mellman I, Steinman RM. Dendritic cells: Specialized and regulated antigen processing machines. *Cell.* 2001;106:255–8.
- Steinman RM, Pope M. Exploiting dendritic cells to improve vaccine efficacy. *J Clin Invest.* 2002;109:1519–26.
- Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecq S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:767–811.
- Picazo JJ, González-Romo F. Futuro en el desarrollo de vacunas. *Rev Esp Quimioter.* 2007;20:371–4.
- Madhi SA, Dangor Z, Heath PT, Schrag S, Izu A, Sobanjo-Ter Meulen A, et al. Considerations for a phase-III trial to evaluate a group B *Streptococcus* polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnant women for the prevention of early- and late-onset invasive disease in young-infants. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 4:D52–7.
- Whitaker JA, Ovsyannikova IG, Poland GA. Adversomics: A new paradigm for vaccine safety and design. *Expert Rev Vaccines.* 2015;14:935–47.
- Jain A, Saini V, Kohli DV. Edible transgenic plant vaccines for different diseases. *Curr Pharm Biotechnol.* 2013;14:594–614.
- Rybicki EP. Plant-based vaccines against viruses. *Virol J.* 2014;11:205.
- Liu MA. Immunologic basis of vaccine vectors. *Immunity.* 2010;33:504–15.
- Garcia-Sastre A, Mena I. Novel vaccine strategies against emerging viruses. *Curr Opin Virol.* 2013;3:210–6.
- Hong JE, Hong KJ, Choi WY, Lee WJ, Choi YH, Jeong CH, et al. Ebola hemorrhagic fever and the current state of vaccine development. *Osong Public Health Res Perspect.* 2015;5:378–82.
- Brito LA, Kommarreddy S, Maione D, Uematsu Y, Giovani C, Berlanda Scorza F, et al. Self-amplifying mRNA vaccines. *Adv Genet.* 2015;89:179–233.
- Ulmer JB, Mansoura MK, Geall AJ. Vaccines 'on demand': Science fiction or a future reality. *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10:101–6.
- Rappuoli R, Pizzia M, del Giudice G, de Gregorio E. Vaccines, new opportunities for a new society. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:12288–93.
- Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. *Biologics 2013 Report* [consultado 24 Ago 2015]. Disponible en: <http://www.phrma.org/sites/default/files/2488/biologics2013.pdf>
- Chia WN, Goh YS, Renia L. Novel approaches to identify protective malaria vaccine candidates. *Front Microbiol.* 2014;5:586.
- Agnandji ST, LeBl B, Fernandes JF, Abossolo BP, Methogo BG, Kabwende AL, et al. A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. *N Engl J Med.* 2012;367:2284–95.
- Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: A systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010;375:1545–55.
- Anderson LJ. Respiratory syncytial virus vaccine development. *Semin Immunol.* 2013;25:160–71.
- Gomez RS, Guisile-Marsollier I, Bohmwald K, Bueno SM, Kalergis AM. Respiratory syncytial virus: Pathology, therapeutic drugs and prophylaxis. *Immunol Lett.* 2014;162:237–47.
- Wang D, Fu TM. Progress on human cytomegalovirus vaccines for prevention of congenital infection and disease. *Curr Opin Virol.* 2014;6:13–23.
- McVoy MA. Cytomegalovirus vaccines. *Clin Infect Dis.* 2013;57 Suppl 4:S196–9.
- Avci FY, Li X, Tsuji M, Kasper DL. A mechanism for glycoconjugate vaccine activation of the adaptive immune system and its implications for vaccine design. *Nat Med.* 2011;17:1602–9.
- Gupta S, Garg NJ. A two-component DNA-prime/protein-boost vaccination strategy for eliciting long-term, protective T cell immunity against *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Pathog.* 2015;11:e1004828.
- Quijano-Patandez I, Dumonteil E. Advances and challenges towards a vaccine against Chagas disease. *Hum Vaccin.* 2011;7:1184–91.

52. Joshi S, Rawat K, Yadav NK, Kumar V, Siddiqi MI, Dube A. Visceral leishmaniasis: Advancements in vaccine development via classical and molecular approaches. *Front Immunol.* 2014;5:380.
53. Alvar J, Croft SL, Kaye P, Khamesipour A, Sundar S, Reed SG. Case study for a vaccine against leishmaniasis. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 2:B244–9.
54. Ghosh A, Dar L. Dengue vaccines: Challenges, development, current status and prospects. *Indian J Med Microbiol.* 2015;33:3–15.
55. Yauch LE, Shresta S. Dengue virus vaccine development. *Adv Virus Res.* 2014;88:315–72.
56. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, Ismail HI, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: A phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2014;384:1358–65.
57. Villar L, Dayan GH, Arredondo-Garcia JL, Rivera DM, Cunha R, Deseda C, et al. Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in children in Latin America. *N Engl J Med.* 2014;372:113–23.
58. Ye L, Yang C. Development of vaccines for prevention of Ebola virus infection. *Microbes Infect.* 2014;17:98–108.
59. Marzi A, Feldmann H. Ebola virus vaccines: An overview of current approaches. *Expert Rev Vaccines.* 2014;13:521–31.
60. Mullan Z. Ebola vaccines: An uncertain future? *Lancet Glob Health.* 2015;3:e113.
61. Ghose C, Kelly CP. The prospect for vaccines to prevent *Clostridium difficile* infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:145–62.
62. Leuzzi R, Adamo R, Scarselli M. Vaccines against *Clostridium difficile*. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10:1466–77.
63. Jansen KU, Girgenti DQ, Scully IL, Anderson AS. Vaccine review: *Staphylococcus aureus* vaccines: Problems and prospects. *Vaccine.* 2013;31:2723–30.
64. Vinod N, Oh S, Park HJ, Koo JM, Choi CW, Kim SC. Generation of a novel *Staphylococcus aureus* ghost vaccine and its immunogenicity against virulent challenge in rats. *Infect Immun.* 2015;83:2957–65.