



Priorización de nuevas vacunas e innovación al servicio de estrategias de vacunación

New vaccines prioritization and immunization-related innovation

Rodolfo Villena^{a,b}✉, Magdalena Bastías^c

^a Pediatra infectólogo, Departamento de Pediatría, Clínica Las Condes. Santiago, Chile.

^b Profesor Asociado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

^c Consultora independiente. Santiago, Chile.

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del Artículo:

Recibido: 02 11 2019.

Aceptado: 29 03 2020.

Palabras clave:

Nuevas vacunas, vaccínica, tuberculosis, virus respiratorio sincicial, *Streptococcus agalactiae*, enfermedad meningocócica invasora, vacunas producidas en plantas, parches de microagujas.

Key words:

New vaccines, vaccinomics, tuberculosis, respiratory syncytial virus, *Streptococcus agalactiae*, meningococcal invasive disease, vaccines produced plants, microneedle patches.

RESUMEN

La vacunación es el medio más efectivo para controlar la morbilidad y mortalidad relacionadas con enfermedades infecciosas. Para lograr esto, necesitamos vacunas inmunogénicas y seguras que faciliten y mejoren sus condiciones de transporte, almacenamiento y administración. Gracias a los avances en inmunología y bioinformática, es posible impulsar el descubrimiento de nuevas vacunas para enfrentar la tuberculosis, el virus respiratorio sincicial, el *Streptococcus agalactiae*, la enfermedad meningocócica invasora, entre otros. Así también, nuevas tecnologías, como la producción de vacunas utilizando plantas transgénicas y parches de microagujas, los cuales podrían facilitar la producción, disminuir los costos y efectos adversos. Sin embargo, no solo necesitamos las vacunas, sino que debemos conocer la epidemiología de las enfermedades prevenibles con vacuna para tomar decisiones fundadas, con el objetivo de planificar estrategias sanitarias, medir su impacto y evaluar la seguridad de su utilización, para alcanzar las metas de salud pública y la confianza de la población.

SUMMARY

Vaccination is the most effective strategy to avoid morbidity and mortality related to infectious diseases. To achieve this, we need immunogenic and safe vaccines that facilitate and improve its transport, storage and administration conditions. Thanks to current advances in immunology and bioinformatics, it is possible to boost the discovery of new vaccines to deal with tuberculosis, the respiratory syncytial virus, *Streptococcus agalactiae*, meningococcal invasive disease, among others. In addition to new technologies such as the production of plant-based vaccines, and microneedles patches, which can facilitate its production, reducing costs and adverse effects. However, vaccines is not the only thing that we need, because we must know the epidemiology and burden of disease to take informed decisions to design optimal strategies, measuring their impact and assessing the safety of their use in order to achieve the goals health and population confidence.

✉ Autor para correspondencia

Correo electrónico: rvillenam@clinicalascondes.cl

<https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2020.03.006>

e-ISSN: 2531-0186/ ISSN: 0716-8640/© 2019 Revista Médica Clínica Las Condes.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



INTRODUCCIÓN

Las vacunas y estrategias de vacunación constituyen la base de sistemas de salud efectivos y equitativos, convirtiéndose en el pilar central del acceso universal a la salud y en una de las inversiones más seguras y costo-efectivas para mejorar la calidad de vida y prevenir muertes¹. La vacunación es una herramienta comprobada para el control y eliminación de enfermedades infecciosas que amenazan la vida, estimándose que contribuye a evitar hasta tres millones de muertes anuales, además de favorecer el logro de 14 de los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible impulsados por las Naciones Unidas, desde la seguridad en salud global a la resistencia antimicrobiana¹⁻³. Con el paso del tiempo, todos los países del mundo han incorporado un calendario de vacunación como estrategia de salud pública⁴, los que varían según la condición epidemiológica, económica y estructural de cada país⁵. Entre los múltiples factores que limitan el acceso de los países de menores ingresos a las nuevas vacunas, se encuentran su alto costo y la falta de incentivos para su desarrollo, especialmente aquellas contra enfermedades desatendidas que afectan a dichos países^{6,7}.

La **vaccinómica** integra la inmunogenética e inmunogenómica con biología de sistemas y perfiles inmunológicos a través de análisis bioinformáticos. Su propósito es desarrollar nuevas vacunas que contribuyan a la comprensión del tipo de respuesta inmune inducida y necesaria para cada candidato de vacuna⁸. Para el diseño de ellas, es de vital importancia conocer la carga de enfermedad. La información de vigilancia epidemiológica y microbiológica para priorizar el desarrollo de una vacuna determinada, habitualmente, procede desde países de altos ingresos. Mientras los países de bajos y medianos ingresos (LMICs) dan cuenta del 85% de la población mundial y del 93% de los casos de enfermedades infecciosas, lo que genera un vacío de información necesaria para orientar las prioridades en desarrollo de nuevas vacunas⁹⁻¹¹.

El camino por seguir es largo, pasando por fases de estudio preclínico y posteriormente las fases clínicas, que evalúan la seguridad, inmunogenicidad y eficacia del producto, el que, habitualmente, se espera que sea administrable en forma simultánea con otras vacunas y adaptable a los distintos programas nacionales de inmunizaciones (PNI). Posterior al registro, comercialización y uso masivo de una vacuna, se recomienda monitorizar su seguridad, efectividad e impacto epidemiológico para comunicar de manera eficiente los hallazgos. De esta manera, los equipos que toman decisiones de políticas públicas pueden evaluar, impulsar y comunicar las medidas necesarias para el control de infecciones específicas.

El Comité Consultivo sobre el Desarrollo de Productos para Vacunas (PDVAC, por sus siglas en inglés) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene la misión de acelerar el desarrollo de vacunas y tecnologías asociadas que son requeridas con urgencia para países LMICs¹². El PDVAC considera las nece-

sidades de salud pública, las probabilidades técnicas de obtener una vacuna exitosa y sus aspectos regulatorios, entre otros criterios, para establecer una sugerencia priorizada de agentes patógenos que requieren desarrollo de vacunas. Al 2019, las áreas de patógenos priorizados por el PDVAC son:

- Tuberculosis (TB)
- Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
- Malaria
- Influenza
- Virus respiratorio sincicial (VRS)
- *Streptococcus agalactiae* (SGB)
- Virus herpes simplex
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)
- *Shigella*
- Estreptococos del grupo A

Mientras que en tecnologías asociadas a inmunización, la priorización incluye vacunas en parches de microagujas, implantes de dosis sólida, dispositivos prellenados compactos autodescartables, formulaciones líquidas de cadena de temperatura controlada/estables al calor, jeringas autodescartables, que previenen lesiones cortopunzantes, combinación del monitor del vial de vacuna con el indicador de umbral de temperatura, entre otros¹³.

Por el perfil epidemiológico de diferentes enfermedades inmunoprevenibles en Chile, resulta relevante revisar la situación de desarrollo de vacunas en el área de la tuberculosis, VRS y SGB, además de la enfermedad meningocócica. Posteriormente, en la sección de nuevas tecnologías, revisaremos la experiencia en la producción de vacunas con el uso de plantas transgénicas, vacunas en parches de microagujas y vacunas cuyo desarrollo se basa en información genética, las cuales podrían optimizar los procesos de producción, adherencia y aceptabilidad de las vacunas, y contribuir a las coberturas y a enfrentar patógenos emergentes en plazos más breves.

NUEVAS VACUNAS

Tuberculosis

El reporte del Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis del Ministerio de Salud de Chile (MINSAL) da cuenta de un estancamiento en su incidencia a nivel país desde el 2010, con 13 casos por 100.000 habitantes, cifra que no permite entrar en la fase de eliminación avanzada. La tuberculosis de todas las formas (TBTF) afecta más a hombres que a mujeres y, según edad, a adultos mayores de 45 años (55,3%). Por región, la TBTF afecta más a la población de Tarapacá, Arica y Magallanes con incidencias de 23,7, 19,6 y 18,9 por 100.000 habitantes, respectivamente¹⁴.

El bacilo de Calmette-Guérin (BCG) es una de las vacunas más antiguas disponibles utilizadas en la actualidad y la única licenciada

contra TB. Sin embargo, su eficacia respecto de TB pulmonar es variable y controvertida, resultando insuficiente para resolver el problema global de TB, especialmente en países con altas endemias, por lo que el desarrollo científico en miras de obtener una nueva vacuna se mantiene vigente¹⁵. El desarrollo de vacuna contra TB posee más de 20 candidatos, utilizando diversas herramientas biotecnológicas, tales como ADN, vehículos virales, vacunas de subunidades, vacunas basadas en BCG recombinantes y mutantes auxótropos. Los que se encuentran en fase 3 de estudio clínico son, una vacuna para neonatos y menores de 1 año, tres para adolescentes y adultos, y dos para uso terapéutico¹⁶.

Dentro de las vacunas para menores de 1 año, destacan MTBVAC y VPM1002. MTBVAC utiliza una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* viva, atenuada a través de mutaciones en dos genes responsables de su virulencia, *phoP* y *fadD26*, lo que aumentaría el repertorio de antígenos tuberculosos presentados al sistema inmune, generando una respuesta más robusta contra TBTF. Su población objetivo son los recién nacidos y adolescentes. Los resultados de seguridad e inmunogenicidad de los ensayos de fase I y Ib en lactantes fueron adecuados, por lo que la fase clínica IIa en recién nacidos comenzó el 2019 y espera definir la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad, con fecha de término durante el 2020¹⁷. La VPM1002 es una vacuna basada en cepa de BCG recombinante listeriolisina-deficiente en ureasa C, que ha avanzado a fase II de estudio en lactantes expuestos y no expuestos al VIH en Sudáfrica. Su objetivo es reemplazar la BCG actual en recién nacidos, basado en que los datos preclínicos mostraron que es al menos tan segura e inmunogénica como BCG¹⁸. Es importante considerar que, por el momento, no hay en desarrollo vacunas inactivadas en recién nacidos, por lo que las consideraciones de seguridad para la población con VIH e inmunosuprimidos se mantienen en espera de más estudios.

Virus respiratorio sincicial

El Virus Respiratorio Sincicial (VRS) es el principal agente causante de hospitalizaciones infantiles por infección respiratoria aguda baja (IRAB) en menores de 5 años. En el mundo se estiman 30 millones de casos y 3,4 millones de hospitalizaciones anuales, alcanzando hasta ~60.000 muertes en menores de 5 años¹⁹. Alrededor del 45% de los ingresos y fallecimientos hospitalarios por esta causa ocurren en niños menores de 6 meses. El reporte del Instituto de Salud Pública (ISP) sobre circulación de virus respiratorios y vigilancia centinela reforzada durante el 2019, posiciona al VRS como el principal agente en Chile, dando cuenta de al menos el 40% de las infecciones respiratorias agudas graves, seguido por Influenza A con cerca del 20%²⁰.

Uno de los hitos en el desarrollo de vacunas contra VRS se remonta a 1966, donde se estudiaron prototipos de vacunación basados en su inactivación con formalina, pero, la inmunización no logró prevenir la neumonía vírica, sino que, por el contrario, se asoció a

intensificación de la enfermedad pulmonar inflamatoria en hasta un 80% de los sujetos vacunados²¹. Actualmente los avances en virología molecular y la comprensión de la inmunidad en las infecciones por el VRS han dado lugar a avances tecnológicos y científicos que han permitido más de 30 candidatos para distintas poblaciones objetivo, en distintas fases de estudio, con prototipos basados en subunidades o partículas virales, virus enteros vivos atenuados y vectores recombinantes virales o bacterianos^{22,23}.

La vacuna de nano partículas de la glicoproteína F (gpF), en empaquetadas en su tercer trimestre, se encuentra en fase 3 de estudio, buscando imitar la protección conferida por el anticuerpo monoclonal contra gpF, palivizumab. El diseño del estudio implica un seguimiento de los lactantes hasta el año de vida, para evaluar seguridad y eficacia a través de IRAB por VRS médicamente significativa, definida como aquella que requiere hospitalización y/o con hipoxemia severa²⁴. Los resultados preliminares de este estudio muestran un perfil de seguridad adecuado para madres y lactantes. La sero-respuesta se alcanzó en el 99,4% de las madres, con un traspaso de IgG neutralizantes anti gpF semejantes a los aportados por palivizumab. La eficacia contra infección por VRS fue mayor en lactantes menores de 90 días (39,4%) y disminución de las hospitalizaciones relacionadas con IRAB por VRS (44,4%) e hipoxemia severa (48,3%). Los efectos protectores se observan hasta los 6 meses de vida, sin embargo, existe cierta heterogeneidad en los hallazgos, lo que mantiene en desafío a los investigadores²⁵.

En Chile, se encuentra en desarrollo una vacuna recombinante contra VRS utilizando BCG para expresar varios antígenos virales, como las proteínas M2 o N. La inmunización con estas cepas de BCG recombinantes confirieron protección en modelos de ratones y condujeron a un reclutamiento temprano de células T a los pulmones, logrando obtener menores cargas virales y un equilibrio en la respuesta Th1/Th2 después de una exposición controlada con VRS^{26,27}. Esta vacuna ha pasado de manera exitosa los estudios preclínicos y de manufactura, acorde a estándares internacionales. Actualmente, se encuentra en análisis de sus resultados obtenidos en Fase 1, que evaluó seguridad y tolerabilidad de dosis escaladas de la vacuna en varones sanos de 18 a 50 años, con un seguimiento a 180 días²⁸.

Además de las vacunas, destaca el desarrollo de anticuerpos monoclonales de vida media extendida MEDI8897, también en fase 3, que podría administrarse en dosis única intramuscular, presentando mayor afinidad que palivizumab, por lo que lograría neutralizar los aislamientos clínicos de VRS hasta 6 meses posterior a su administración al nacer o al inicio de la temporada de VRS^{29,30}.

Streptococcus agalactiae

El *Streptococcus agalactiae* (SGB) es uno de los principales agentes causales de sepsis neonatal, siendo un importante factor de morbimortalidad y de costos en salud pública, alrededor del

mundo. La sepsis por este agente se ha asociado a una letalidad entre 5 y 20% en países desarrollados, y a un importante porcentaje de secuelas entre los sobrevivientes³¹. En Chile, el boletín de vigilancia del ISP, 2014 a 2018, muestra un predominio del serotipo III (43%), seguido del serotipo Ia (21%) y Ib (14%). Por región del país, la mayor incidencia de enfermedad por SGB presenta variación anual, siendo las más afectadas las regiones de Los Ríos y de Aysén, con incidencias de 2,5 y 1,9 por 100.000 habitantes, respectivamente³².

El desarrollo de vacunas contra SGB en humanos incluye 2 candidatas. Su baja incidencia hace difícil demostrar la eficacia de alguna de estas vacunas, ya que se requeriría de un número muy alto de enrolados en los estudios fase 3 para lograr este objetivo. Por este motivo, la OMS está considerando subrogar su eficacia a la inmunogenicidad, como ocurre con las vacunas meningocócicas, basada en un correlato de protección de anticuerpos. Una vez logrado esto, se podrá avanzar de manera más rápida y a un menor costo hacia la disponibilidad del producto, sin la necesidad de un ensayo clínico de mayor envergadura para su licencia inicial. Una vez obtenida esta licencia, deberán desarrollarse más estudios para confirmar su eficacia clínica^{13,33}. La inmunidad inducida en la madre es transferida a través de la placenta a los recién nacidos, pudiendo proteger contra las sepsis de inicio precoz (<7 días de edad) y tardío (7-89 días de edad), lo que otorga una ventaja comparativa sobre las estrategias de prevención basadas en profilaxis antibióticas, las que no tienen acción sobre sepsis tardías. Una vacuna pentavalente, que incluya los serotipos Ia, Ib, II, III y V cubriría a nivel mundial el 86% de la sepsis precoz, el 93% de la sepsis tardía y el 97% de la enfermedad materna por SGB³⁴.

Existe una vacuna trivalente, para los serotipos de SGB Ia, Ib y III, conformada por polisacáridos conjugados con el toxoide *Corynebacterium diphtheriae* modificado (CRM197), que se administraría en dosis única desde las ≥ 24 semanas de gestación. Sus estudios clínicos han mostrado un adecuado perfil de seguridad para la madre y su lactante a 1 año del nacimiento. Respecto de su respuesta inmune, existiría una razón de transferencia de anticuerpos cercana a un 77% para el serotipo III, lo cual es similar a la encontrada en otras vacunas polisacáridas conjugadas, persistiendo elevados a los 3 meses de vida, sin claro efecto en la colonización vaginal de las gestantes. Sin embargo, en algunas condiciones específicas como el VIH materno, anticuerpos preexistentes específicos contra polisacáridos capsulares de SGB podrían influir en la magnitud de la respuesta inmune, y por ende comprometer su efectividad³⁵⁻³⁸.

Enfermedad meningocócica invasora

La enfermedad meningocócica invasora (EMI) es una de las principales causas de meningitis y sepsis en todo el mundo, con un importante impacto sanitario, social y económico dada su alta tasa

de letalidad y secuelas. *Neisseria meningitidis* serogrupos A, B, C, W, X e Y son los responsables de la mayoría de estas infecciones y su impredecible epidemiología incluye diferencias geográficas en la incidencia y distribución de serogrupos. En Europa predominan los serogrupos B (MenB), W (MenW) e Y (MenY), persistiendo el serogrupo C (MenC) en países que no incluyen la vacuna en su PNI. En África, el serogrupo A (MenA) fue la principal causa hasta la introducción de su vacuna conjugada monovalente, reportándose actualmente brotes por serogrupo X (MenX) y MenW. En las Américas predominan MenB, MenC, MenW y MenY, mientras que en Oceanía lo hacen MenB y últimamente MenW, a diferencia de Asia, donde no existe un aparente predominio particular³⁹. Como parte de una estrategia de control de EMI por MenW en Chile, iniciada en octubre 2012, comenzó la vacunación de niños con vacuna antimeningocócica conjugada cuadrivalente ACWY (MCV-ACWY) y a partir de enero 2014, el PNI introdujo MCV-ACWY conjugada con toxoide tetánico (TT) en una dosis a los 12 meses de edad⁴⁰, demostrando protección directa a la población vacunada⁴¹. A la semana epidemiológica 38 del 2019, la vigilancia de laboratorio del ISP confirmó 53 casos. El 49,1% fue por causa de MenB, 41,5% por MenW, 5,7% por MenC y 3,8% por MenY. La incidencia de enfermedad invasora por *N. meningitidis* se concentró en el menor de 1 año con 5,2 casos por 100.000 habitantes, seguidos por el grupo de 1 a 4 años con 0,7/100.000. En los menores de 4 años el 73% de los casos de EMI fueron a causa de MenB⁴².

Actualmente, las vacunas antimeningocócicas pentavalentes ABCWY y ACWYX se encuentran en distintas fases de estudio clínico. Respecto de vacunas ABCWY, la disponibilidad de dos nuevas vacunas recombinantes contra MenB (rMenB), 4CMenB y rLP2086, ha permitido el desarrollo de vacunas pentavalentes que contienen este serogrupo, existiendo dos candidatos en distintas fases clínicas de desarrollo. Ambas combinan los antígenos capsulares de MenA, MenC, MenW y MenY conjugados con CRM197 o TT, semejantes a sus presentaciones cuadrivalentes, con proteínas de membrana externa del serogrupo B, sin adyuvantes, presentando perfiles de seguridad y de inmunogenicidad semejantes a los obtenidos con sus MCV-ACWY y rMenB respectivas por sí solas. La vacuna que combina MCV-ACWY-CRM197 y 4CMenB se encuentra en fase II que, con dos dosis separadas por dos meses, presenta elevada inmunogenicidad contra los cinco serogrupos, con disminución de títulos a los 4 años y respuesta inmune favorable luego de una dosis de refuerzo⁴³⁻⁴⁶. La vacuna que combina rLP2086 con MCV-ACWY-TT completó su primer ensayo clínico en sujetos sanos entre 10 a 26 años, con 2 dosis, separadas por 6 meses⁴⁷. Por otro lado, se ha desarrollado una vacuna polisacárida conjugada con TT, contra serogrupos A, C, W, Y e X, para población entre 9 meses a 29 años en esquemas de dosis semejante al conocido para MCV-ACWY-TT^{48,49}, con promisorios avances y esperando completar sus estudios fase 3 durante el 2020. De esta forma, se espera que en los próximos años se encuentren licenciadas vacunas meningocócicas penta-

valentes para poder colaborar en cumplir la meta de disminución de meningitis inmunoprevenibles en un 80% para el 2030⁵⁰.

NUEVAS TECNOLOGÍAS

Producción de vacunas con plantas transgénicas

La producción de vacunas a través plantas transgénicas se ha utilizado para desarrollar productos biofarmacéuticos, ya que permiten una exposición antigénica adecuada de proteínas exógenas purificadas, lo que se denomina “agricultura molecular”. Este tipo de producción disminuiría los costos de producción, haciéndola alcanzable frente a diferentes necesidades, principalmente para enfrentar virus emergentes, potenciales pandemias y bioterrorismo. Algunas de las plantas utilizadas para el desarrollo de vacunas incluyen al tomate, papa, papaya, zanahoria, quínoa y tabaco⁵¹. Esta tecnología también ofrece ventajas en términos de almacenamiento y distribución sin cadena de frío, debido a la alta estabilidad de los antígenos expresados, los que se encapsulan biológicamente dentro de la planta y semilla. En general, la eficacia de estas vacunas está más desarrollada en animales. Entre las vacunas en fase de desarrollo se encuentra la influenza, dengue, virus papiloma humano, VIH, rotavirus, norovirus, rabia, TB, cólera, ETEC y malaria^{52,53}. La mayoría de los candidatos para uso humano se encuentran en fases preclínicas.

Existe en desarrollo una vacuna cuadrivalente contra la influenza derivada de partículas tipo virus producidas en plantas, las que expresan proteínas recombinantes de hemaglutinina producidas en *Nicotiana benthamiana*, una variedad de especies de tabaco que tiene una capacidad natural para producir proteínas a alta velocidad (4 a 10 días), disminuyendo el tiempo total de producción de vacunas antigripales a aproximadamente seis semanas, mucho más rápido que el proceso típico de seis meses con vacunas a base de huevo. En octubre del 2019 se cerró el estudio fase 3 para adultos sanos de 18 a 64 años, en que aproximadamente 5000 sujetos recibieron la vacuna cuadrivalente contra la influenza⁵⁴. Se espera prontamente disponer de los resultados de eficacia y seguridad demostrados en esta población, lo que la transformaría en la primera vacuna producida a través de plantas transgénicas que pueda optar a licencia en humanos.

Vacunas en parche de microagujas

Los parches de microagujas (MAPs por sus siglas en inglés) son un método de vacunación novedoso que busca superar las barreras de distribución de servicios de inmunización en LMICs y aumentar el acceso equitativo a las vacunas. Esto, ya que reducen el costo de transporte y distribución por su termoestabilidad y menor volumen, administración fácil y segura, y por la mayor aceptabilidad de parte del usuario^{55,56}. Los MAPs consisten en un conglomerado de miles de proyecciones de menos de un milímetro en un parche que se pone en la piel, que pueden ser descartables o absorbibles. Estas proyecciones atraviesan el estrato córneo

de la piel para liberar la vacuna en la epidermis o dermis, según el tamaño de la microaguja, zona donde se encuentra una alta densidad de células presentadoras de antígenos, pero además son suficientemente cortos para evitar el dolor⁵¹. El estado de desarrollo de vacunas MAPs se puede apreciar en base a dos criterios: la fase de estudio de la vacuna- conceptual, preclínico y clínico- y el estado de investigación del antígeno en estudio- en investigación o aprobado-. Mientras a la fecha la vacuna contra influenza es la única que se encuentra en fase clínica, en fase preclínica existen alrededor de veinte antígenos entre aprobados y en investigación, y siete en fase conceptual (Tabla 1).

Tabla 1. Fase de desarrollo de vacunas en Parche de Microagujas según estado de investigación del Antígeno

	CONCEPTUAL	PRECLÍNICO	CLÍNICO
Antígeno aprobado	<ul style="list-style-type: none"> •Pertussis •Fiebre amarilla •Encefalitis japonesa 	<ul style="list-style-type: none"> •Anthrax •BCG •Hepatitis B •Virus Papiloma Humano •Sarampión •Rubéola •Difteria •Polio inactivada •Toxoide tetánico •Rabia 	<ul style="list-style-type: none"> •Influenza estacional
Antígeno en investigación	<ul style="list-style-type: none"> •Cólera (conjugado) •MERS •Fiebre Lassa •<i>Escherichia coli</i> enterotóxica 	<ul style="list-style-type: none"> •Chikungunya •Hepatitis C •Herpes simple •Virus del Nilo •Occidental •VIH-1 •Ébola •Rotavirus •VRS •Zika •Influenza pandémica •Dengue •Malaria 	

Adaptado de Peyraud N. et al 2019⁵⁵

Vacunas en base a material genético

Las diferentes tecnologías de vacunas que utilizan información genética para su desarrollo incluyen los ácidos nucleicos o vectores replicativos, citometría de flujo multiparamétrica para obtener una mejor definición del fenotipo y función de las células involucradas en la inmunidad, múltiples técnicas para identificar anticuerpos monoclonales neutralizantes, utilización de los conocimientos de la estructura a nivel atómico para diseño de antígenos y la definición de linajes clonales de células B como una forma de entender la ontogenia de las respuestas inmunes efectivas. Todas ellas surgieron desde la investigación asociada al VIH y hoy son utilizadas ampliamente para el desarrollo de vacunas contra otros agentes infecciosos⁵⁷. El desarrollo de tecnologías de

transfección de células presentadoras de antígeno (CPA) *in vivo* permitió la inducción de respuestas inmunes adaptativas primarias, de larga duración, a un costo de producción rentable. Por estos motivos, se ha vislumbrado como una posibilidad para desarrollar estrategias inmuno-terapéuticas para el tratamiento de infecciones, cáncer, enfermedades autoinmunes, alergias y patógenos emergentes, como virus Zika, Ébola, influenza pandémica y SARS-Cov2^{58,59}. La secuenciación genética permite la identificación temprana de nuevos patógenos y la identidad de los genes que codifican proteínas estructurales que puedan ser inmunogénicas para el desarrollo de nuevas vacunas⁶⁰. Sin embargo, los estudios en humanos han presentado respuestas inmunogénicas menores a las esperadas, por lo que se han generado modificaciones para optimizar la respuesta inmune a través de la inclusión de promotores específicos de CPA para la transcripción, la disposición de múltiples secuencias de antígenos y uso de adyuvantes, entre otros⁵⁸. Los nuevos sistemas de manufactura y la vaccinología sintética, que utiliza información de secuencia genética viral para acelerar el desarrollo de una vacuna, son innovaciones importantes que pueden acelerar el desarrollo de una vacuna desde sus inicios y acortar el tiempo necesario para la fabricación y aprobación regulatoria para comenzar las pruebas de fase 1⁶⁰.

Adyuvantes

Los adyuvantes son agentes incorporados a las vacunas con el objetivo de reforzar la inmunidad y el desarrollo de células de memoria. El avance hacia vacunas menos reactogénicas determinó que en los procesos de purificación de antígenos se eliminaran algunos adyuvantes intrínsecos que poseían los patógenos, lo que implicaría una disminución de la respuesta inmune en magnitud y persistencia, especialmente para algunas poblaciones especiales, como los menores de 1 año, mayores de 60 años e inmunosuprimidos^{61,62}. El mecanismo de acción de los adyuvantes consistiría en inducir una inflamación local, la cual optimizaría la inmunogenicidad e inducción de células B de memoria. De esta forma, se obtendría un aumento en los títulos de anticuerpos y amplitud de la respuesta inmune, con una relación de células Th1/Th2 apropiada. Por otro lado, se lograría inducir inmunidad celular y requerir una menor dosis de antígeno para obtener una respuesta inmune eficaz, lo cual permitiría responder de mejor forma y en plazos más breves frente a agentes emergentes, disminuyendo los costos de producción^{61,62}. Dentro de los adyuvantes actualmente utilizados destacan los mencionados en la tabla 2. En general, los adyuvantes son considerados seguros, sin embargo, durante el 2010 se reportaron

Tabla 2. Adyuvantes aprobados clínicamente para uso en vacunas

Adyuvantes	Descripción	Mecanismo inmune propuesto	Aplicaciones en vacunas
Sales de aluminio	Hidróxido, fosfato	Activación de inflammasoma NLRP3 y caspasa-1 en CD, induce respuesta Th2	VHB, VHA, VPH, difteria, tétanos, VNC
AS01	Liposoma (contiene MLP y QS-21)	Activa las CPA que expresan TLR4, estimula citoquinas y la producción de moléculas coestimuladoras, promueve una respuesta de anticuerpos antígeno-específico y estimula células T CD8 +	Malaria, herpes zoster
AS02	Emulsión de aceite en agua (contiene MPL y QS-21)	Respuestas específicas de anticuerpos y células T CD8 + y CD4 + contra antígenos	Malaria
AS03	Emulsión de aceite en agua (contiene escualeno, polisorbato 80 y α -tocoferol)	Activación de NF-kB, producción de citoquinas y quimoquinas en el músculo y drenaje de NL estimula migración de monocitos, drenaje de CD y granulocitos a NL, mejorando las respuestas inmunitarias de las células T CD4 +	Influenza pandémica
AS04	MLP y sales de aluminio	Activa TLR4 en CD, inducción de citoquinas y activación de células T antígeno-específicas	VHB, VPH
MF59	Emulsión de aceite en agua	Rápida afluencia de células CD11b+, regulación positiva de citoquinas inflamatorias y quimoquinas, reclutamiento de CPA	Influenza estacional y pandémica
Virosomas	Vesícula lipídica que contiene proteínas virales inactivadas	Aumenta el título de anticuerpos	Influenza, hepatitis A

NLRP3: proteína 3 del receptor similar al dominio de unión a nucleótido; CD: células dendríticas; VHB: virus de la hepatitis B; VHA: virus de la hepatitis A; VPH: virus del papiloma humano; VNC: vacuna neumocócica conjugada; MPL: monofosforil lipídico; CPA: célula presentadora de antígenos; TLR4: toll like receptor 4; NF-kB: Factor nuclear kappa beta; NL: nodo linfático.

Adaptado de Ho NI, et al 2018⁶²

eventos de narcolepsia-cataplexia en personas de 4 a 18 años, por la pérdida de hipocretinas en el hipotálamo, la cual habría sido secundaria al uso de un adyuvante, denominado ASO3, en una vacuna antiinfluenza, actualmente descontinuada⁶³. Otros adyuvantes como ASO4, MF-59 o aluminio utilizados en distintas vacunas no han sido asociados a esta condición⁶⁴.

DISCUSIÓN

La vacunación es el medio más efectivo para controlar la morbi-mortalidad de enfermedades infectocontagiosas. Según la OMS, se estima en más de 2,5 millones las muertes infantiles prevenidas por ellas cada año en todo el mundo¹. Variados compromisos de la OMS incluyen a las vacunas como parte de las herramientas para lograr metas sanitarias, como lo son el control de la diarrea y neumonía en menores de 5 años, el control de las hepatitis virales y meningitis bacterianas en todo el mundo, la erradicación de polio, control de sarampión y tuberculosis, entre otros. Para lograr estos compromisos necesitamos vacunas más inmunogénicas y seguras, que faciliten y mejoren sus condiciones de transporte, almacenamiento y administración. Además, debemos mejorar nuestra comprensión del sistema inmune de los distintos grupos poblaciones a los cuales estén dirigidas estas vacunas y de las caracterizaciones moleculares de los distintos agentes. Gracias a los avances inmunológicos y de bioinformática actuales, como la vacunómica, es posible impulsar el descubrimiento de nuevas vacunas que antes se consideraban imposibles, junto con ampliar los horizontes hacia nuevos objetivos, como las

infecciones emergentes y la inmunoterapia, para prevenir enfermedades neurodegenerativas o el cáncer.

La incorporación de alguna de estas nuevas vacunas en nuestro PNI, como estrategias neonatales para controlar la TBTF, o las bronquiolitis por el VRS; o la implementación de vacuna pentavalente meningocócica en los menores de 1 año y/o adolescentes; y finalmente la vacunación de embarazadas para prevenir el VRS y la enfermedad por SGB, serían una gran contribución a la salud pública, disminuyendo la morbi-mortalidad por estos patógenos y sus enfermedades asociadas. De la misma forma, el disponer de una vacuna contra el virus Hanta o contra el VIH también debe ser considerado una prioridad para Chile, dada la alta letalidad y carga de enfermedad que representa cada uno de ellos.

Las vacunas han traído grandes beneficios a nuestras sociedades, ayudando al desarrollo de poblaciones más sanas, sin embargo, por sí solas no son suficientes, sino que requieren de nuestro compromiso y de que se favorezca la infraestructura y logística para lograr que sean administradas, ya que es el acto de la vacunación nuestro objetivo real para poder mantener las enfermedades inmunoprevenibles bajo control. Lo anterior implica y sostiene el desafío en investigación e innovación para lograr las metas sanitarias y la confianza de la población. Existen numerosas vacunas en camino, por lo que debemos priorizar sus necesidades y generar información local sobre carga de enfermedad, mientras en el presente hagamos el mejor uso de las vacunas que tenemos disponibles.

Declaración de conflicto de interés

Rodolfo Villena ha participado en proyectos de investigación en vacunas para GSK y consultorías para Pfizer y Sanofi Pasteur. Magdalena Bastías no tiene conflictos de interés

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. SAGE 2018 Assessment Report of the Global Vaccine Action Plan [Internet]. 2018. Available from: https://www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/sage_assessment_reports/en
2. GAVI The Vaccine Alliance. Learn about immunisation's key role in achieving 14 of the 17 Sustainable Development Goals [Internet]. 2019. Available from: <https://www.gavi.org/about/ghd/sdg/>
3. World Health Organization. Health topics: Immunization [Internet]. [cited 2019 Feb 8]. Available from: <https://www.who.int/topics/immunization/en/>
4. World Health Organization. Immunization, Vaccine and Biologicals. National programmes and systems [Internet]. [cited 2019 Feb 8]. Available from: https://www.who.int/immunization/programmes_systems/en/
5. World Health Organization. Childhood vaccines at all-time high, but access not yet equitable [Internet]. 2009. Available from: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2009/state_immunization_20091021/en/
6. Wilson P. Giving developing countries the best shot: An overview of vaccine access and R&D [Internet]. 2010. Available from: https://www.msf.org.uk/sites/uk/files/Vaccine_Report_201005111518.pdf
7. Institute of Medicine (US) Committee on Review of Priorities in the National Vaccine Plan. Vaccine and Global Health. In: Priorities for the National Vaccine Plan. Washington, DC.: National Academies Press (US); 2010.
8. Poland G, Ovsyannikova I, Kennedy R, Haralambieva I, Jacobson R. Vaccinomics and a new paradigm for the development of preventive vaccines against viral infections. *OMICS*. 2011;15(9):625-36.
9. Kaddar M, Milstein J, Schmitt S. Impact of BRICS' investment in vaccine development on the global vaccine market. *Bull World Health Organ*. 2014;92:436-46.

10. European Vaccine Manufacturers. Worldwide major vaccine manufacturers in figures [Internet]. 2004. Available from: <http://www.vaccineseurope.eu/wp-content/uploads/2012/12/Worldwide-Major-Vaccine-Manufacturers-in-Figures-2004.pdf>
11. GAVI The Vaccine Alliance. Health Equity [Internet]. Available from: <https://www.gavi.org/vaccineswork/value-vaccination/health-equity>
12. World Health Organization. Product Development for Vaccines Advisory Committee [Internet]. 2014. Available from: <https://www.who.int/immunization/research/committees/pdvac/en/>
13. Product Development for Vaccines Advisory Committee. The 6th Annual meeting of the WHO Product Development for Vaccines Advisory Committee (PDVAC). Geneva; 2019.
14. Ministerio de Salud- Gobierno de Chile. Tuberculosis Informe de Situación Chile 2014. 2015.
15. Villena R. BCG 1948 - 2014: ¿la misma cepa? *Neumol Pediatr.* 2015;10(4):189-93.
16. Tuberculosis Vaccine Initiative. TBVI [Internet]. Current TB vaccine pipeline. [cited 2019 Oct 20]. Available from: <https://www.tbvi.eu/what-we-do/pipeline-of-vaccines/>
17. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. Dose-Defining Safety and Immunogenicity Study of MTBVAC in South African Neonates [Internet]. 2018. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03536117>
18. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. Study to Evaluate Safety and Immunogenicity of VPM1002 in Comparison With BCG in Newborn Infants in South Africa [Internet]. 2011. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01479972?term=VPM1002&draw=2&rank=3>
19. Shi T, McAllister D, O'Brien K, Simoes E, Madhi S, Gessner B, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. 2017;390(10098):946-58.
20. Instituto de Salud Pública-Gobierno de Chile. Informe de Circulación de Virus Respiratorios al 22-10-2019 [Internet]. 2019. Available from: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2019/10/Informe_circulacion_virus_respiratorios_SE42_22-10-2019.pdf
21. Acosta P, Caballero M, Polack F. Brief History and Characterization of Enhanced Respiratory Syncytial Virus Disease. *Clin Vaccine Immunol.* 2015;23(3):189-95.
22. Powell M. The pipeline for RSV vaccines. 2018.
23. Vaccine Resources. RSV Vaccine and mAb Snapshot [Internet]. 2019. Available from: https://vaccineresources.org/files/RSV-snapshot-2019_04_05_April_High_Resolution.pdf
24. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. A Phase I Randomized, Observer-Blinded, Dose-Ranging Study in Healthy Subjects 24 to <72 Months of Age [Internet]. 2014. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02296463?term=prepare%2C+novavax&cond=Respiratory+Syncytial+Virus+%28RSV%29&draw=2&rank=1>
25. Munoz P. Phase 3 prepare study: Efficacy and safety of an rsv vaccine administered to Pregnant women for the prevention of rsv lower Respiratory tract infection in infants Preliminary data report. 2019.
26. Rey-Jurado E, Kalergis A. Immunological Features of Respiratory Syncytial Virus-Caused Pneumonia—Implications for Vaccine Design. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):556.
27. Soto J, Galvez M, Rivera C, Palavecino C. Recombinant BCG Vaccines Reduce Pneumovirus-Caused Airway Pathology by Inducing Protective Humoral Immunity. *Front Immunol.* 2018;9:2875.
28. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. A Study to Assess Safety, Tolerability and Immunogenicity of the Live Attenuated hRSV Vaccine rBCG-N-hRSV (EVA-VRSO1) [Internet]. 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03213405?cond=RSV&cntry=CL&draw=2&rank=1>
29. Domachowske J, Khan A, Esser M, Jensen K, Takas T, Villafana T, et al. Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of MEDI8897, an Extended Half-life Single-dose Respiratory Syncytial Virus Prefusion F-targeting Monoclonal Antibody Administered as a Single Dose to Healthy Preterm Infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2018;37(9):883-92.
30. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. A Study to Evaluate the Safety and Efficacy of MEDI8897 for the Prevention of Medically Attended RSV LRTI in Healthy Preterm Infants. (MEDI8897 Ph2b) [Internet]. 2016. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02878330?term=MEDI8897&cond=RSV&draw=2&rank=1>
31. Seale A, Bianchi-Jassir F, Russell N, Kohli-Lynch M, Tann C, Hall J, et al. Estimates of the burden of Group B Streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis.* 2017;65(suppl_2):S200-19.
32. Instituto de Salud Pública-Gobierno de Chile. Vigilancia de laboratorio enfermedad invasora Streptococcus agalactiae, Chile 2014-2018. *Bol Vigil Lab* [Internet]. 2019;9(5 mayo). Available from: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/BoletinAgalactiae-09092019A.pdf>
33. Seale A, Baker C, Berkley J, Madhi S, Ordi J, Saha S, et al. Vaccines for maternal immunization against Group B Streptococcus disease: WHO perspectives on case ascertainment and case definitions. *Vaccine.* 2019;37(35):4877-85.
34. Dzanibe S, Madhi S. Systematic review of the clinical development of group B streptococcus serotype-specific capsular polysaccharide-based vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2018;17(7):635-51.
35. Madhi S, Cutland C, Jose L, Koen A, Govender N, Wittke F, et al. Safety and immunogenicity of an investigational maternal trivalent group B streptococcus vaccine in healthy women and their infants: a randomised phase 1b/2 trial. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(8):923-34.
36. Madhi S, Koen A, Cutland C, Jose L, Govender N, Wittke F, et al. Antibody Kinetics and Response to Routine Vaccinations in Infants Born to Women Who Received an Investigational Trivalent Group B Streptococcus Polysaccharide CRM197-Conjugate Vaccine During Pregnancy. *Clin Infect Dis.* 2017;65(11):1987-1904.
37. Donders G, Halperin S, Devlieger R, Baker S, Forte P, Wittke F, et al. Maternal Immunization With an Investigational Trivalent Group B Streptococcal Vaccine: A Randomized Controlled Trial. *Obs Gynecol.* 2016;127(2):213-21.
38. Heyderman R, Madhi S, French N, Cutland C, Ngwira B, Kayambo D, et al. Group B streptococcus vaccination in pregnant women with or without HIV in Africa: a non-randomised phase 2, open-label, multicentre trial. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(5):546-55.
39. Villena R, Safadi M, Valenzuela M, Torres J, Finn A, O'Ryan M. Global epidemiology of serogroup B meningococcal disease and opportunities for prevention with novel recombinant protein vaccines. *Hum Vaccines Immunother.* 2018;14(5):1042-57.
40. Valenzuela M, Mañalich J, Diaz J, Linazasoro I, Castillo L, Morales A, et al. Plan de acción nacional frente a la emergencia de la cepa W-135 responsable de Enfermedad Meningocócica Invasora en Chile, 2012-2013. *Rev Med Chil.* 2019;147:776-86.
41. Villena R, Valenzuela M, Bastías M, Santolaya M. Meningococcal invasive disease by serogroup W and use of ACWY conjugate vaccines as control strategy in Chile. *Vaccine.* 2019;37:6915-21.
42. Instituto de Salud Pública-Gobierno de Chile. Informe de Resultados de Vigilancia de Laboratorio Enfermedad Invasora Neisseria meningitidis SE 38 2019 [Internet]. 2019. Available from: http://www.ispch.cl/sites/default/files/Informe_Neisseria_meningitidis_SE_1-38-2019_v2.pdf
43. Sáez-Llorens X, Beltran-Rodriguez J, Novoa J, Mensi I, Keshavan P, Toneatto D. Four-year antibody persistence and response to a booster dose of a pentavalent MenABCWY vaccine administered to healthy adolescents and young adults. *Hum Vaccin Immunother.* 2018;14(5):1161-74.
44. Saez-Llorens X, Aguilera Vaca D, Abarca K, Maho E, Graña M, Heijnen E, et al. Immunogenicity and safety of investigational vaccine formulations against meningococcal serogroups A, B, C, W, and Y in

- healthy adolescents. *Hum Vacc Immunother*. 2015;11(6):1507-17.
45. Welsch J, Senders S, Essink B, Klein T, Smolenov I, Pedotti P, et al. Breadth of coverage against a panel of 110 invasive disease isolates, immunogenicity and safety for 2 and 3 doses of an investigational MenABCWY vaccine in US adolescents - Results from a randomized, controlled, observer-blind phase II study. *Vaccine*. 2018;36(35):5309-17.
 46. Szenborn L, Block S, Jackowska T, Konior R, D'Agostino D, Smolenov I, et al. Immune Responses to Booster Vaccination With Meningococcal ABCWY Vaccine After Primary Vaccination With Either Investigational or Licensed Vaccines: A Phase 2 Randomized Study. *Pediatr Infect Dis*. 2018;37(5):475-82.
 47. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. A Trial to Describe the Immunogenicity and Safety of 2 Doses of Bivalent rLP2086 (Trumenba) and a Pentavalent Meningococcal Vaccine in Healthy Subjects >=10 to <26 Years of Age [Internet]. 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03135834>
 48. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. Study to Assess Immunogenicity & Safety of Pentavalent Meningococcal Vaccine (NmCV-5) [Internet]. 2019. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03964012?cond=meningococcal&draw=2&rank=4>
 49. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. Clinical Study of Meningococcal ACYWX Conjugate Vaccine, in 12-16 Month Olds [Internet]. 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03295318?cond=meningococcal&draw=4>
 50. World Health Organization. Defeating meningitis by 2030-Report of the first meeting of the Technical Taskforce [Internet]. 2018. Available from: https://www.who.int/immunization/research/Defeating_meningitis_2030_TTFJuly2018_report.pdf
 51. Waheed M, Ismail H, Gottschamel J, Mirza B, Lössl A. Plastids: the green frontiers for vaccine production. *Front Plan Sci*. 2015;6:1005.
 52. Waheed M, Sameeullah M, Khan F, Syed T, Ilahi M, Gottschamel J, et al. Need of cost-effective vaccines in developing countries: What plant biotechnology can offer? *Springerplus*. 2016;22(5):65.
 53. Criscuolo E, Caputo V, Diotti R, Sautto G, Kirchenbaum G, Clementi N. Alternative Methods of Vaccine Delivery: An Overview of Edible and Intradermal Vaccines. *J Immunol Res*. 2019;2019.
 54. NIH U.S. National Library of Medicine ClinicalTrials.gov. Efficacy, Safety, and Immunogenicity of a Plant-Derived Quadrivalent Virus-Like Particles Influenza Vaccine in Adults [Internet]. 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03301051>
 55. Peyraud N, Zehrung D, Jarrahan C, Frivold C, Orubu T, Giersing B. Potential use of microarray patches for vaccine delivery in low- and middle- income countries. *Vaccine*. 2019;37:4427-34.
 56. Guillermet E, Alfa D, Mai L, Subedi M, Demolis R, Giersing B, et al. End-user acceptability study of the nanopatch™; a microarray patch (MAP) for child immunization in low and middle-income countries. *Vaccine*. 2019;37:4435-4443.
 57. Graham B, Sullivan N. Emerging viral diseases from a vaccinology perspective: preparing for the next pandemic. *Nat Immunol*. 2018;19(1):20-8.
 58. Hobernik D, Bros M. DNA Vaccines—How Far From Clinical Use? *Int J Mol Sci*. 2018;19:3605.
 59. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2020;
 60. Graham B, Mascola J, Fauci A. Novel Vaccine Technologies Essential Components of an Adequate Response to Emerging Viral Diseases. *JAMA*. 2018;319(14):1431-2.
 61. Garcia A, De Sanctis J. An overview of adjuvant formulations and delivery systems. *APMIS*. 2014;122(4):257-67.
 62. Ho N, Huis In 't Veld L, Raaijmakers T, Adema G. Adjuvants Enhancing Cross-Presentation by Dendritic Cells: The Key to More Effective Vaccines? *Front Immunol*. 2018;13(9):2874.
 63. Nohynek H, Jokinen J, Partinen M, Vaarala O, Kirjavainen T, Sundman J, et al. AS03 adjuvanted AH1N1 vaccine associated with an abrupt increase in the incidence of childhood narcolepsy in Finland. *PLoS One*. 2012;7(3):e33536.
 64. Edwards K, Lambert P, Black S. Narcolepsy and Pandemic Influenza Vaccination: What We Need to Know to be Ready for the Next Pandemic. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38(8):873-6.