

VACUNAS DE VIRUS Y BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS

Juan Carrizo-Chuecos (1), Jacqueline de Izaguirre (2), José Levy Mizrahi (3)

Resumen

Existen numerosos patógenos de diferentes formas de vida como bacterias, parásitos y virus que causan enfermedades infecciosas diarreicas en los seres humanos. El objetivo de este artículo, es hacer un recuento de las vacunas autorizadas para patógenos virales como los rotavirus y bacterias como el cólera y tifoidea; asimismo y desde el enfoque del patógeno, su morfología desencadenante de inmunidad y técnicas de fabricación de vacunas; se presenta brevemente el progreso de vacunas contra Norovirus, *Shigella* y *Escherichia coli* enterotoxigénica. El rumbo de recientes investigaciones está dirigido a obtener vacunas que confieran inmunidad contra muchos serotipos de un mismo patógeno.

Palabras clave: Enfermedades entéricas. Vacunas. Norovirus. *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *E. coli* enterotoxigénica.

ENTEROPHATOGENIC VIRUS AND BACTERIA VACCINES

Abstract

There are numerous pathogens of different life form such as bacteria, parasites and viruses that cause diarrheal infectious diseases in humans. The objective of this article is to review the licensed vaccines for viral pathogens such as rotaviruses and bacteria as cholera and typhoid (Ti21a, Vi Polysaccharide) and also based on the pathogen, its morphology, immunity triggering and vaccine manufacturing techniques, the progress of vaccines against Norovirus, *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli*. The strategy of ongoing researches has been focused to develop vaccines that would confer immunity against many serotypes of the same pathogen.

Key words: Enteric diseases. Vaccines, Norovirus, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, Enterotoxigenic *E. coli*.

INTRODUCCIÓN

Existen bacterias, parásitos y virus que causan enfermedades infecciosas diarreicas (EID) y las vacunas se consideran un enfoque preventivo eficaz y práctico. Si bien hay vacunas disponibles para algunos patógenos entéricos (rotavirus y el cólera), no existen vacunas autorizadas para muchos otros entes virales y bacterianos. El objetivo de este artículo, es hacer un recuento de las vacunas autorizadas para virus y bacterias; y desde el enfoque del patógeno, su morfología, desencadenante de inmunidad y técnicas de fabricación de vacunas. Se presenta brevemente el progreso de vacunas contra Norovirus, *Shigella* y *Escherichia coli* enterotoxigénica.

VACUNAS CONTRA VIRUS

ROTAVIRUS

La infección por rotavirus es la causa más común de enfermedad diarreica severa en los niños menores de cinco

años; la primera infección suele ocurrir antes de los tres años (1,2,3,4). En Venezuela el rotavirus es responsable del 33% de los episodios de diarrea que requieren hospitalización (4). La principal forma de transmisión es fecal-oral, a través de la saliva o contacto cercano persona-persona. Altas concentraciones de virus son excretadas por las heces de personas infectadas (5,6).

El virus pertenece a la familia Reoviridae, poseen doble cápside proteica. En la capa interna, se encuentra el núcleo que contiene el genoma viral consistente en ARN de doble cadena con 11 segmentos, codificando cada segmento una proteína específica, seis proteínas estructurales y cinco no estructurales (7,8). Se describen siete serogrupos de rotavirus (serogrupos A a G). Los patógenos humanos pertenecen a los grupos A, B y C. Los del grupo A son los importantes desde el punto de vista de la salud pública (7). Entre los del grupo A se identifica un sistema binario de serotipaje para su reconocimiento, basado en las proteínas VP4 y VP7. La VP7 es una glicoproteína de ahí su nombre de tipo G, y la VP4 es una proteína sensible a las proteasas conocida como tipo P. Estas dos proteínas virales superficiales son los antígenos que inducen la producción de anticuerpos neutralizantes y son los blancos principales para el desarrollo de vacunas. Actualmente son clasificados según el genotipo, que es determinado por las diferencias entre las secuencias de cada cepa viral. Para los serotipos G se observa una perfecta correlación entre serotipo y genotipo lo cual no es igual para el serotipo P. La forma de descripción actualmente aceptada es: serotipo/genotipo G y el

- 1) Pediatra Neonatólogo. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. ORCID: 0000-0002-0834-8621
- 2) Pediatra Infectólogo. Clínica Metropolitana. Caracas. Venezuela. ORCID:0000-0002-3563-9053
- 3) Pediatra. Centro Medico Docente la Trinidad. Caracas. Venezuela. ORCID: 0000-0003-2666-2144

Autor correspondiente: Dr. Juan Carrizo-Chuecos
Teléfono: +1 786 760 3071 / e-mail: carrizotercero@gmail.com

serotipo P con el genotipo que se enumera en corchetes, a manera de ejemplo G1P1A (7,9). Existen varias combinaciones antigénicas, más de 70 han sido identificadas en infecciones en el hombre, siendo las más frecuentes: G1, G3, G4, y G9 con P1A [8] y G2 con P1B [4] (7,8,9).

El virus infecta las células epiteliales de las vellosidades del intestino delgado, los enterocitos maduros, allí se replican (7). La entrada al enterocito se produce vía los glicolípidos de la superficie de las células directamente o a través de endocitosis dependiente del calcio. Una vez en el interior se replican y provocan afectaciones en las mitocondrias y retículo endoplásmico. Las lesiones en la mucosa se producen como resultado de la destrucción selectiva de las puntas de las vellosidades del intestino. El mecanismo principal de inducción de la diarrea es la disminución de la absorción de sal, glucosa y agua, como resultado del daño intestinal, y el reemplazo de células epiteliales de absorción por células secretoras de las criptas vellosas. Esto provoca diarrea de tipo osmótica (9,10).

VACUNAS CONTRA ROTAVIRUS

Un objetivo de una vacuna contra el rotavirus es duplicar el grado de protección contra la enfermedad que sigue a la infección natural pues debe semejar a la infección natural, proteger contra enfermedad moderada y severa, prevenir la hospitalización y reducir la mortalidad (7,10).

Vacuna RRV humano-rhesus / Rotashield

Es una vacuna tetravalente. Consiste en la cepa G3P [3] del mono rhesus como esqueleto y tres cepas reorganizadas, con proteína VP7 (reordenada) de G1, G2 y G4 para proteger contra los serotipos VP7 G1 a G4. Un régimen de tres dosis proporcionó eficacia del 70 al 90%. Se autorizó en 1998 y se retiró del mercado en 1999 debido a un bajo riesgo asociado con invaginación intestinal. Estudios posteriores mostraron que un régimen de dos dosis administradas en el primer y segundo mes producía protección del 64% sin efectos adversos de invaginación (11, 12).

Vacuna RV5 / RotaTeq®

Vacuna reordenada pentavalente bovina-humana. Contiene la cepa de rotavirus bovino G6P [5] como columna vertebral y de cinco cepas reagrupadas (G1P [5], G2P [5], G3P [5], G4P [5] y G6P [8]). Un esquema de tres dosis proporcionó 74% de eficacia contra cualquier enfermedad por rotavirus y 98% de eficacia contra una enfermedad grave en Europa y EE. UU. La eficacia en los países en desarrollo osciló de sólo 51% y 64% durante el primer año y de 20% y 46% en el segundo año (11, 13). Se administra vía oral a los niños en tres dosis; a los dos, cuatro, seis meses de edad (14).

Vacuna RV1, RIX4414 / Rotarix®

Vacuna monovalente de origen humano, a virus vivo atenuado de administración oral. Lleva la cepa G1P [8] atenuada en el paso de cultivo de tejidos que representa los antígenos VP4 y VP7 más comunes del rotavirus humano. En un régimen de dos dosis, produjo una eficacia similar a la de RotaTeq®, que varió del 38% al 97% contra la gastroenteritis

moderada a grave (11). El esquema de vacunación es de dos dosis; a los dos y cuatro meses de edad. Para RotaTeq y Rotarix la edad mínima de administración es de seis semanas y la edad máxima de administración es de 32 semanas con 0 días (14).

Rotavac

Es una vacuna monovalente. Lleva la cepa 116E (G9P [11]) viva atenuada naturalmente aislada de niños sin síntomas. Está autorizada en India, muestra protección del 56% y el 49% contra la hospitalización en el primer y segundo año de vida, y eficacia del 35% contra cualquier infección por rotavirus en un régimen de tres dosis (11,15).

Rotasiil

Autorizada en India, vacuna pentavalente reordenada de bovinos y humanos (G1 [P5], G2 [P5], G3P [5], G4P [5], G9P [5]). Mostró eficacia del 33% contra la gastroenteritis grave por rotavirus en el primer año (11,15). Estas cuatro vacunas citadas están precalificadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

LLR-85, Rotavin-M1 y otras

LLR-85 está basada en una cepa de cordero (G10P [12]); autorizada en China con eficacia del 35 al 78%. Rotavin-M1 es una cepa humana atenuada (G1P [8]) y está autorizada en Vietnam. También se están desarrollando vacunas de subunidades, incluidas las monovalentes P2-VP8-P [8] y trivalentes VAC041 (P2-VP8-P [4] P [6] P [8]) (11).

NOROVIRUS

Los norovirus (NV) son ubicuos. En países de ingresos altos y medianos el norovirus es la causa más común de gastroenteritis pediátrica (16,17). No existe una vacuna autorizada para el norovirus (11). Se transmite a través de la ingestión de alimentos y agua contaminados, los brotes ocurren en preescolares, escuelas, institutos de atención para jubilados, hospitales y cruceros (11, 16,17).

Pertenece a la Familia: Calciviridae. Son virus de RNA de una sola cadena sin envoltura, estables al ácido y calor, y resistentes al éter. Genera un ARNm de expresión temprana y otro de expresión tardía (17,18,19). La región más variable de la cápside viral es el dominio P2, que contiene regiones presentadoras de antígeno y sitios receptores (regiones de unión) de hidratos de carbono de la célula blanco del NV (19,20).

Con la clonación del genoma (1990) se logró aplicar las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa en transcripción reversa (PCR-TR) y la secuenciación del virus. Otro avance lo constituye la expresión de la proteína de la cápside en sistemas de expresión de proteínas, como en baculovirus o en el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE). Esta proteína se autoensambla en partículas pseudovíricas o VLP (del inglés virus-like particles) con morfología y antigenicidad similares a las del virión infectivo. Las VLP se han utilizado para producir antígenos, determinar la respuesta de anticuerpos y para estudiar las interacciones entre las células susceptibles y el virus (18,20). El genoma del ARN consta

de tres marcos de lectura abiertos (ORF). Un ORF codifica una poliproteína escindida en siete proteínas no estructurales (NP1 a NP7), mientras que los otros dos ORF codifican la proteína de la cápside menor VP2 y la proteína de la cápside principal VP1. VP1 se compone de un dominio de capa conservador (S) y un dominio sobresaliente variable (P). Se han identificado siete genogrupos de norovirus y 40 genotipos, de ellos tres genogrupos (GI, GII y GIV) y 29 genotipos están asociados con gastroenteritis humana. Sin embargo, el genotipo 4 en el genogrupo GII, GII.4, es con mucho el más prevalente y es responsable de la mayoría de los casos de gastroenteritis aguda. Por lo tanto, GII.4 junto con el virus de Norwalk GI.1 identificado inicialmente están dirigidos principalmente en el desarrollo de vacunas contra el NV (11,18,19,20,22-24).

El mecanismo de la diarrea inducida ha sido poco investigado. Los estudios en biopsias duodenales revelaron ausencia de daño histológico pero estimulación de la secreción activa de Cl⁻ y función alterada de la unión estrecha, muy probablemente secundaria a la expresión reducida de ocludina y claudina-4 (proteínas de unión entre las células epiteliales) (16,17). En personas inmunocompetentes, se origina una enfermedad aguda, autolimitada y con buen pronóstico. La infección se presenta con vómitos, diarrea acuosa, dolor abdominal y náuseas con tiempo de incubación de 12 a 48 horas. Puede cursar con fiebre, mialgias, anorexia, dolor de cabeza y astenia. Los síntomas duran de 1 a 5 días. En inmunocomprometidos, el cuadro clínico como la excreción viral persiste por varias semanas (18). El vómito es síntoma cardinal del norovirus, clave para su transmisión y detectado en las muestras de emesis (17). El cuadro de gastroenteritis aguda, puede llevar a deshidratación grave y la muerte (11,16,17).

VACUNAS CONTRA NOROVIRUS

Como el NV no puede cultivarse con el sistema de cultivo celular actual, el desarrollo de vacunas de células enteras atenuadas se vuelve prohibible. En consecuencia, los candidatos a vacunas se basan principalmente en proteínas virales. La proteína de la cápside principal de norovirus VP1, cuando se expresa en células eucariotas, forma partículas similares a virus (VLP) para exhibir antigenicidad de manera similar a las partículas virales nativas. Además, el dominio P de VP1 después de unirse a un polipéptido y expresarse en cultivo celular también se agrega en partículas (partícula P). Por lo tanto, las partículas similares al virus VP1 y las partículas P del genotipo pandémico global GII.4 y los genotipos GI endémicos regionales son los antígenos primarios para el desarrollo de la vacuna contra el norovirus (11,23,24).

Vacuna GI.1 / GII.4 / VLP bivalente TAK-214

Takeda Pharmaceutical realizó un ensayo de eficacia de la vacuna candidato TAK-214 para evaluar la eficacia de la administración intramuscular. La vacuna utiliza antígenos de partículas similares a virus (VLP) y antígenos de los genotipos GI.1 y GII.4, como genogrupos que causan la mayoría de

las enfermedades (25). Esta vacuna VLP GI.1 / GII.4 es una continuación de VLP (Ligocyte) GI.1 monovalente. GI.1 VLP se diseñó inicialmente contra el virus Norwalk. Con GII.4 emergido como el genotipo más prevalente, se mejoró la vacuna agregando VLP GII.4 para ser candidato bivalente y administrarlo por vía intramuscular a adultos, quienes desarrollaron anticuerpos específicos de GI.1 y GII.4. Estos anticuerpos mostraron actividad neutralizante creciente de anticuerpos que boquean los antígenos del grupo histosanguíneos (HBGA, del inglés histo-blood group antigens) que actúan como receptores para el virus en el intestino y son los que protegen (11,22,23).

Desde 2019 se llevan estudios clínicos de fase 2 para evaluar la inmunogenicidad a largo plazo. Se estudia en tres ensayos (11, 21, 23, 25,26, 27, 28). Otros candidatos a vacuna que incluye trivalente GI.3 / GII.4 / rotavirus rVP6, P de partículas derivan de un dominio P modificada de VP1, y las proteínas VP1 adenovirus o alfavírus-vector también están en desarrollo (11-29).

Vacuna tetravalente

China autorizó en 2019, pruebas con una vacuna tetravalente que podría prevenir el 80 al 90 por ciento de las infecciones. El logro de una vacuna contra NV se ha dilatado puesto que las estrategias tradicionales de desactivación y atenuación fallan en el virus que no puede cultivarse; sumados a la diversidad de genotipos, las variaciones regionales y su propensión a mutar. Los ensayos clínicos están previsto duren 5 años (29).

Vacuna bivalente oral

Laboratorios Vaxart desarrolla una vacuna bivalente en tabletas. Sobre la base de que el patógeno infecta el intestino delgado; apuestan por una vacuna que produzca anticuerpos mucosos localmente en el intestino, además de anticuerpos sistémicos, así podría proteger mejor que una vacuna inyectable. Dos ensayos clínicos de Fase 1 con vacuna monovalente en tableta oral basada en la cepa de NoV GI.1, han demostrado amplias respuestas inmunitarias sistémicas y mucosas (30). Concluimos que hasta la fecha no se dispone de una vacuna específica para prevenir la infección por NV (11,30).

VACUNAS CONTRA PATOGENOS BACTERIANOS

VIBRIO CHOLERAEE

V. cholerae: bacteria Gramnegativa, no invasiva. La división enserogrupos se basa en los polisacáridos del antígeno somático (O). Hay más de 200 serogrupos de *V. cholerae*, pero sólo dos (O1 y O139) causan enfermedad epidémica. La protección cruzada entre estos dos serogrupos no se ha probado. Hay dos biotipos del serogrupo O1: El Tor y clásico. Ambos se clasifican en dos serotipos: Ogawa e Inaba. Lincep El Tores responsable de la séptima pandemia, que continúa en la actualidad desde 1961 (31).

V. cholerae coloniza el revestimiento epitelial del intesti-

no delgado y la toxina colérica, segregada por los serogrupos toxicógenos O1o O139, es la que afecta el intestino. La acción la toxina un receptor específico: el monosialosil granliósido GM-1.(B) toxina se une al GM-1 y libera la subunidad (A) activa, que ingresa a la célula hospedadora. Esta activación provoca pérdida masiva de líquido intravascular, extracelular y de electrólitos, particularmente sodio, potasio y bicarbonato con las deposiciones y los vómitos (31-32). Este patógeno se transmite por contaminación fecal del agua y los alimentos. Es una enfermedad de la pobreza (16,31).

Vacunas

La OMS tiene precalificadas tres vacunas orales de células enteras muertas (OCV): Dukoral, Shanchol y Euvichol (11,31). Las dos últimas son idénticas en términos de cepas pero han sido formuladas por dos fabricantes distintos que utilizan diferentes métodos. La vacuna inyectable preparada con cepas de *V. cholerae* inactivadas con fenol todavía se fabrica en algunos países; la OMS no recomienda su uso principalmente porque su eficacia es limitada y la duración de la protección escasa (31).

WC-rBS / Dukoral®

Vacuna monovalente a base de células enteras inactivadas con formalina y por calor de *V. cholerae* O1(cepas clásica y El Tor, Inaba y Ogawa) además de la subunidad B de la toxina del cólera recombinante. Consta de 1 mg de proteína recombinante de la subunidad B de CT (rBS) y *V. cholerae* O1 muerta (10 11 UFC, cuatro cepas, dos biotipos clásicos y dos biotipos El Tor, $2,5 \times 10^{10}$ UFC de cada biotipo) (11, 31). Se presenta como granulado efervescente para suspensión oral y se debe administrar con disolución amortiguadora de bicarbonato, para impedir que la subunidad B de la toxina sea destruida por los ácidos gástricos. Se muestra en viales de una dosis, de 3ml, junto con el amortiguador de bicarbonato (sobre de gránulos efervescentes). La vacuna y amortiguador se mezclan con 150 ml de agua para su administración a los mayores de 5 años y con 75 ml de agua para administrar a niños de 2 a 5 años. El tiempo de conservación de la vacuna es de tres años a 2-8 °C; a 37 °C permanece estable durante un mes (31).

Para protección continuada se administra una única dosis de recuerdo dentro de los dos años en el caso de adultos y niños a partir de los 6 años de edad, y dentro de los seis meses en niños de edades comprendidas entre los 2 años y menores de 6 años. Si han transcurrido hasta dos años desde la última vacunación para los adultos y hasta seis meses para los niños entre 2 años y menores de 6 años, se debería administrar una única dosis de recuerdo. En caso de que hayan transcurrido más de dos años desde la última vacunación (más de seis meses para los niños desde 2 años y menores de 6 años), se deberá repetir el ciclo de vacunación primaria. La vacuna es segura para embarazadas y personas con infección por VIH o con inmunodeficiencia por otras causas. No se recomienda el uso de Dukoral® en niños menores de 2 años (31,33). Estudios arrojan eficacia del 85% (11). La vacuna induce la producción intestinal de anticuerpos (IgA) de 70% a 100% y

también anticuerpos en suero. Se estima que la duración de la protección es de 2 años (31,33). Importante es la observación de la eficacia de Dukoral® contra *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET) ya que la toxina B colérica es similar en estructura y funciones a la toxina termolábil ECET y se ha observado inmunidad cruzada entre ambas (31).

Bivalentes 01-0139 / Shanchol / mORCVAX®

Shanchol / mORCVAX® es un preparado bivalente de los serotipos 01 y 0139 sin suplementos de subunidad B de la toxina de cólera. Basada en otra vacuna elaborada en Vietnam (31) en 2004, mORCVAX fue reformulada con los requisitos de la OMS. El proceso incluyó el reemplazo de una cepa que producía altos niveles de toxina por las dos cepas de *V. cholerae* de la vacuna sueca original y la duplicación de las cantidades de antígeno lipopolisacárido. Finalizados los ensayos de fase II en India y Vietnam, en 2009 fue autorizada con el nombre mORCV en Vietnam (solo uso local) y de Shanchol en India (uso para India y mercado internacional). Como no contienen la subunidad B de la toxina no protege contra ECET (11,31,34). Shanchol se suministra en viales de una dosis; mORCVAX en viales de una dosis y de cinco dosis. El tiempo de conservación de la vacuna es dos años a 2-8 °C. Hay estudios que demuestran estabilidad a temperatura ambiente. De acuerdo con el fabricante, Shanchol se debe administrar por vía oral en dos dosis líquidas con un intervalo de 14 días a personas de 1 año o mayores. Se recomienda una dosis de refuerzo al cabo de dos años (31).

Euvichol / Euvichol-Plus

Vacuna bivalente (O1 y O139) fabricada por fermentación e inactivada con formalina o calor basada en la misma formulación de Shanchol, demostró ser bien tolerada e inmunogénica. En esquema de dos dosis, indujo respuestas vibriocidas a un nivel comparable al Shanchol. Modificada al eliminar el conservante timerosal y empaquetarlo en tubos de plástico se vuelve más eficiente para almacenar, transportar y administrar; ya modificado fue posteriormente etiquetado como Euvichol-Plus® y cumple con las normas de la OMS (11, 35).

La vacuna oral, viva atenuada Peru-15 (CholeraGarde) se deriva de la cepa O1 El Tor Inaba con una serie de deleciones de genes. Con una sola dosis resultó ser bien tolerada e inmunogénica en Bangladesh, y mostró eficacia de más del 90% en un estudio en adultos sanos de América del Norte. Perú-15 necesita ser estudiado en el contexto de la epidemia de cólera (11).

En febrero de 2020 fue aprobada por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA/ por sus siglas en inglés) de los EE. UU., la vacuna reformulada CVD 103-HgR (VAX-CHORA/ suspendida en 2004), suspensión oral, para la inmunización contra *V. E cholerae* serogrupo O1. Aprobada en personas de 2 a 64 años de edad (11, 31, 34).

SALMONELLA TYPHI

De la familia Enterobacteriaceae, son bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, que se mueven en su mayoría

mediante flagelos peritricos (antígeno H). Taxonómicamente, *S. Typhi* se conoce como Salmonella entérica, subespecie entérica, serotipo *Typhi*. Además del antígeno H, dos antígenos de superficie polisacáridos permiten una mejor caracterización de *S. entérica*, a saber, el antígeno somático O y el antígeno capsular Vi (virulencia). Este último se asocia a resistencia a la lisis bacteriana mediada por el sistema complemento y a resistencia a la activación del sistema complemento por vía alterna. Una vez ingerida, *S. Typhi* alcanza el sistema reticuloendotelial y se multiplica intracelularmente dentro de los macrófagos. Tras la incubación de 5-12 días, aparece fatiga, cefalea, dolor abdominal, fiebre, estreñimiento o diarrea. La forma grave conlleva disfunción cerebral, delirios y choque, y ocasionalmente perforación intestinal y hemorragias (36,37). El haber padecido fiebre tifoidea confiere inmunidad para toda la vida, siendo la reinfección rara (36).

Vacunas

Actualmente existen dos vacunas antitifoídicas con seguridad y eficacia demostradas, a saber, la vacuna de polisacárido Vi parenteral y la vacuna viva Ty21a oral. Sustituyen a la antigua, y relativamente reactogénica, vacuna de células enteras inactivadas por calor-fenol o por acetona (36).

Vacuna Ti21a / Vivotif®: Oral

De administración oral, compuesta por bacilos *S. Typhi* vivos atenuados de la cepa Ty2 en los que se han introducido mutaciones químicas en varios genes, especialmente en los responsables de la producción de Vi. La vacuna Ty21a se guarda a 2-8°C; conserva su potencia durante 14 días a 25°C. La vacuna liofilizada se presenta en dos formas: cápsulas de cubierta entérica y en suspensión líquida. Las cápsulas suelen utilizarse en los viajeros, y la suspensión líquida en programas de salud pública para niños a partir de 6 años y adolescentes. En la inmunización primaria se administra 1 cápsula en días alternos, hasta completar 4 dosis, y terminar esquema mínimo una semana antes de la exposición; en caso de continuar la exposición, se recomienda la serie primaria completa cada 5 años (31,36).

Polisacárido Vi / Typhim Vi®: IM

Compuesta por el antígeno polisacárido capsular Vi purificado de la cepa Ty2 de *S. Typhi*. Se administra por vía subcutánea o intramuscular. Puede coadministrarse con otras vacunas para viajeros internacionales (fiebre amarilla y la hepatitis A) y con vacunas de programas de inmunización rutinaria. Es segura para las personas infectadas por el VIH, pero la inducción de anticuerpos protectores está directamente relacionada con los niveles de linfocitos T CD4+. Se recomienda almacenar de 2 a 8°C aunque es estable durante 6 meses a 37°C y durante 2 años a 22°C. No provoca respuesta inmunitaria suficiente en menores de dos años. Para la inmunización primaria se administra 0,5 ml intramuscular en región antero lateral del muslo o región deltoidea, 2 semanas antes del momento de exposición y para la inmunización secundaria, en caso de continuar la exposición, 0,5 ml intramuscular cada 2 años. El inicio de la inmunidad es: con la vacunación oral 1

semana después de completar la serie y con la vacunación intramuscular 2 semanas después de la dosis recomendada (36,37).

La vacuna oral contra la fiebre tifoidea de Salmonella Typhi Ty21a provoca una respuesta inmune cruzada significativa contra *S. Paratyphi* A y B, gracias al antígeno O-12 compartido entre las cepas (37). Para las salmonelas no tíficas (NTS) no hay vacunas disponibles. Varios candidatos a vacuna contra *S. Typhimurium* y *Enteritidis* están en desarrollo, pero solo se ha completado una vacuna NTS, una WT05 viva atenuada, para un estudio de fase 1 (11, 38).

SHIGELLA

El género *Shigella* son bacterias gramnegativo con cuatro especies, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii* y *S. dysenteriae*, y más de 50 serotipos diferenciados por la especificidad del antígeno O del lipopolisacárido (LPS). A las especies *Shigella spp.*, *S. flexneri* y *S. sonnei* y los serotipos *S. sonnei*, *S. flexneri* 2a, 3a y 6 se atribuyen el 90% de los casos de shigelosis (11, 34). Las *Shigella* invaden las células epiteliales del intestino delgado terminal, recto y del colon a través de los fagocitos que induce a respuesta proinflamatoria y captación del patógeno mediante macropinocitosis. Después de la fagocitosis, las bacterias pueden escapar del macrófago desencadenando la apoptosis pues se multiplican dentro de las células del huésped una vez allí en el citoplasma, por un mecanismo que implica la formación de colas de actina, realiza un remodelado del citoesqueleto de actina de la célula huésped y formar grandes protuberancias de membrana (34), causan inflamación e inducen la muerte celular, se diseminan a las células epiteliales adyacentes y destruyen el tejido de la mucosa del recto y del colon (11), la propagación de una célula a otra dentro del tejido intestinal se acompaña de la emisión de heces mucopurulentas y sanguinolentas (34) dando como resultado la enfermedad shigelosis o síndrome urémico hemolítico (SUH) con atribución de Shiga toxina (*S. dysenteriae* tipo 1). El contacto de persona a persona e incluso el contacto de moscas pueden ser rutas importantes de transmisión (11, 31,34).

Los factores de virulencia identificados incluyen antígenos plasmídicos de invasión esencial del sistema de secreción de tipo III (T3SS) (Ipa A, B, C, D), proteínas de propagación intracelular (Ics), LPS y toxina Shiga. Las proteínas Ipa matan a los macrófagos y median la adherencia e invasión bacteriana a las células epiteliales del colon y el recto, y las proteínas Ics (IcsA también llamadas VirG, IcsB) ayudan a las bacterias *Shigella* a propagarse a las células adyacentes. A *Shigella* El LPS se atribuye el daño tisular del colon y recto; y a las respuestas inflamatorias, mientras que la toxina Shiga inactiva la síntesis de proteínas en las células eucariotas. La clínica incluye fiebre, dolor de cabeza, vómitos, deshidratación y diarrea acuosa, o sanguinolenta y cargada de moco, calambres abdominales severos, disentería potencialmente mortal, SUH y muerte (11, 39, 40).

No existe vacuna autorizada para *Shigella*. Una vacuna se afianza sobre la base de que los anticuerpos séricos contra los lipopolisacáridos (LPS) y se correlacionan con la protección. Desafortunadamente, los antígenos de LPS O son específicos de serotipo. La heterogeneidad y los serotipos constituyen el principal desafío en el desarrollo de vacunas. La vacuna *Shigella* actual se basa en antígeno LPS O (11,40).

Vacunas

Se investigan varios candidatos a vacunas entre ellos de células enteras vivas atenuadas de nueva generación (34) o muertas, candidatos a glucoconjugado o bioconjugado, así como candidatos a vacunas de subunidades. Varios se encuentran en la etapa preclínica, algunos han pasado a estudios de fase I, II o incluso de fase III (11, 34,40).

WRSS (WRSS1, WRSs2, WRSs3)

WRSS1, es una cepa de *S. sonnei* viva atenuada (Mosley) con una parte del gen virG eliminada. WRSS1 protege contra el desafío homólogo (en el modelo de queratoconjuntivitis de cobaya). WRSS1 fue bien tolerado e inmunogénico en adultos y niños en Bangladesh. Desafortunadamente, WRSS1 en el régimen de una dosis única no mostró una eficacia evidente contra el desafío homólogo en un entorno endémico (11). Posteriormente, se desarrollaron WRSs2 y WRSs3, eliminando enterotoxinas (ShET1 y ShET2) o reduciendo aún más la endotoxicidad de LPS de WRSs1. Los preparados WRSs2 y WRSs3 indujeron respuestas inmunes en primates no humanos y adultos sanos. La eficacia de WRSs2 o WRSs3 contra el desafío homólogo (o heterólogo) está en estudio (11,40).

CVD 1208S

Vacuna derivada de la reconstrucción de CVD 1208, un mutante vivo atenuado de *S. flexneri* 2a con eliminación del locus *guaBA* que regula la síntesis de inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa (codificada por *guaB*) y guanósina 5'-monofosfato sintetasa (codificada por *guaA*), enterotoxina conjunto de genes (ShET1) y gen plásmido invasivo *sen* (ShET2), en medio libre de animales. CVD 1208 y 1208S fueron bien tolerados en adultos sanos e indujeron respuestas robustas de células secretoras de anticuerpos (ASC) anti-LPS IgA e IgG, IgG sérica moderada o IgA fecal, pero respuestas de IgA sérica leves. (11)

Otros candidatos a vacuna viva atenuada contra *Shigella* incluyen la vacuna contra la fiebre tifoidea Ty21a que expresa los antígenos O de *Shigella* LPS (también adhesina ETEC y antígenos toxoides) y ShigETEC. (41). ShigETEC aplica una cepa modificada no invasiva de *Shigella* cepa Vadizen (Istrati-32) para expresar la fusión toxoide ETEC antígeno LTB-STA N12 S (11).

SsWC, S.

Vacuna de células enteras de *S. sonnei* inactivadas con formalina, demostró ser inmunogénica y protectora contra la queratoconjuntivitis en cobayas cuando se expuso a *S. sonnei*, es poco probable que proporcione protección cruzada contra otras *Shigella spp* o serotipos diferentes (11). Los investigadores agregaron a SsWC dos serotipos más de *Shigella* inac-

tivados con formalina, *S. flexneri* 2a y 3a, para producir una candidato a vacuna trivalente de células enteras contra *Shigella*. Este producto trivalente indujo respuestas de anticuerpos anti-Ipa (B, C, D) y anti-LPS específicas de serotipo (42).

Hay otros dos productos de células enteras inactivadas en investigación. El mutante Δ *wzy* de *Shigella flexneri* 2a inactivado, que tenía el gen de polisacárido polimerasa del antígeno O y el candidato *Shigella* multiserotipo muerta por calor (HKMS), que combinó seis serotipos de *Shigella* (*S. dysenteriae* tipo 1, *S. flexneri* 2a, 3a, 6, *S. sonnei*, *S. boydii*) (11,34).

Entre otros avances se intenta obtener vacunas de subunidades basadas en polisacáridos específico de *Shigella* LPS O (antígeno O) conjugado química o biológicamente a una proteína transportadora; vacunas conjugadas parenterales ya sea por conjugación química. *S. sonnei* -rEPA, LPS O-antígeno específico de *S. sonnei* con la exoproteína A recombinante de *Pseudomonas aeruginosa* (rEPA (11, 34) o bioconjugación de proteínas ligadas de *E. coli* para conjugar in vivo antígenos O de *Shigella* LPS a una proteína transportadora (34).

Se investigan oligosacáridos sintéticos bien definidos como sustitutos del antígeno O de *Shigella* y la vacuna (Invaplex) de subunidad de proteínas; se basa principalmente en antígenos de plásmido de invasión (proteínas Ipa) o un complejo de invasinas compuesto por proteínas Ipa y LPS (11, 40).

ESCHERICHIA COLI ENTEROTOXIGÉNICA

E. Coli enterotoxigénica (ECET) bacteria Gram negativo, se transmite de persona a persona al comer o beber alimentos o agua contaminados. Causa diarrea acuosa, con dolor abdominal y vómitos. Las vacunas están siendo consideradas como una forma de prevención contra ECET (31). Las más de 25 adhesinas bacterianas (fimbriales y no fimbriales) y las enterotoxinas son los dos tipos de factores de virulencia clave asociados con la infección por ETEC (11). Las adhesinas sirven para unirse a diferentes receptores del huésped y las dos enterotoxinas muy distintivas (LT y STa), que sirven a la bacteria para interrumpir la homeostasis en las células epiteliales del intestino delgado del huésped y causar diarrea acuosa (11). Se descubrió que la LT es muy similar fisiológica, estructural y antigénicamente a la toxina del cólera y que tiene un modo de acción similar (31,43).

No hay vacunas autorizadas para ETEC. La heterogeneidad inmunológica, la no identificación de antígenos adecuados para atacar enterotoxinas, especialmente la toxina STa y la falta de modelos animales adecuados dificultan obtener alguna vacuna (11,43).

Vacunas

rCTB-CF y ETVAX

Obtenida de un derivado de cóctel de células enteras muertas; inicialmente constaba de tres cepas ETEC que expresan cuatro adhesinas (CFA / I, CS1, CS2, CS3) y una adición de la subunidad B recombinante de la toxina del cólera

(rCTB), posteriormente se modificó a la rCTB-CF para transportar cinco cepas muertas que expresan seis adhesinas (CFA / I, CS1-CS5) (más proteína rCT B recombinante). La subunidad B de la toxina del cólera (CT B) fue el inmunógeno en la vacuna contra el cólera Dukoral que indujo una inmunidad protectora cruzada contra ETEC productora de LT, gracias a la homología entre la subunidad de LT B (LT B) y CT B (85% de homología de aminoácidos) (11). rCTB-CF administrada por vía oral indujo respuestas de anticuerpos específicos de antígeno en adultos sanos y niños mayores de 2 años.

ETVAX se desarrolló para reemplazar a rCTB-CF. Consta de cuatro cepas de *E. coli* recombinantes inactivadas que hiperexpresan adhesinas CFA / I, CS3, CS5 y CS6 y combinados con un toxoide similar al toxoide lábil al calor LCTBA (una molécula híbrida de la subunidad B de la toxina del cólera [CTB] y la subunidad B de la toxina lábil al calor [LTB]) (11,44), demostró ser segura e inmunogénica en adultos. No induce inmunidad protectora contra la toxina STa clave, que desempeña un papel más importante en la diarrea infantil (44).

Están en estudio una vacuna viva atenuada de tres cepas vivas (11), así como vacunas de la subunidad ETEC como es el candidato proteína CfaE, proteína que se utilizó para el desarrollo de una vacuna de adhesina de punta contra ETEC. Es poco probable que la vacuna de adhesina de punta de CfaE proteja contra cepas de ETEC que expresan adhesinas inmunológicamente diferentes (11). El candidato MecVax; vacuna multivalente cuando se administró por vía parenteral indujo anticuerpos que neutralizaron la enterotoxigenicidad de STa y LT e inhibieron la adherencia de las siete adhesinas (CFA / I, CS1-CS6). MecVax se evaluará en futuros estudios de eficacia (11,44).

CONCLUSIONES

Las enfermedades diarreicas agudas serán siempre problema de salud pública de manera relevante en los países en desarrollo y en las clases sociales menos favorecidas. Las vacunas para patógenos entéricos autorizadas existentes defienden contra patógenos que tienen un solo serotipo predominantes tal cual los causantes de fiebre tifoidea o cólera o solo unos pocos tipos antigénicos relevantes de rotavirus. El mayor desafío en el desarrollo actual de la vacuna es quizás la heterogeneidad entre genotipos o serotipos de patógenos virales y bacterianos. Será bueno enfocar las investigaciones a obtener vacunas que confieran inmunidad contra muchos serotipos de un mismo patógeno tal cual serían las candidatas a vacunas contra la infección por Norovirus, *Shigella spp*, *Salmonellas* y *Escherichia coli* enterotoxigénica. Este es el panorama que se avizora en el presente y futuro temprano.

REFERENCIAS

1. Snyder JD, Merson MH. The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data.

1. Bull World Health Organ [Internet] 1982 [consultado 2021 enero 23]; 60(4): 605-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6982783/> kmm
2. Organización Panamericana de la Salud. Rotavirus. OPS [internet] [consultado 2020 diciembre 30]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/rotavirus>
3. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by Rotavirus disease in children. CDC [Internet] 2003; [consultado 2021 enero 23]; 9 (5). Disponible en: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/9/5/02-0562_article
4. Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, Woods PA, Bresee JS, Glass RI et al. Surveillance of Rotavirus Strains in the United States: Identification of Unusual Strains. J Clin Microbiol [Internet] 2000 [consultado 2021 enero 23]; 38(7): 2784-2787. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC87033/>
5. Salinas B, González G, González R, Escalona M, Materán M, Schael IP. Epidemiologic and clinical characteristics of rotavirus disease during five years of surveillance in Venezuela. Pediatr Infec Dis J [Internet] 2004 [Consultado 2021 enero 24]; 23 (1): s161-s167. Disponible en: https://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2004/10001/Epidemiologic_and_Clinical_Characteristics_of.4.aspx
6. Parashar UD, Bresee JS, Gentsch R, Glass RI. Rotavirus. Emerg Infec Dis [Internet] 1998 Oct-Dic [consultado 2021 enero 24]; 4(4): 561-570. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640254/>
7. Dennehy PH. Rotavirus Vaccines: an Overview. Clinical Microbiology Reviews [internet] 2008 Enero [Consultado 2020 diciembre 31]; 21 (1): p: 198-208. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/21/1/198.full?view=long&pmid=18202442>
8. EcuRed contributor. Rotavirus. [Internet] 2018 diciembre 7 [consultado 2020 diciembre 31]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Rotavirus>
9. Amin Blanco N, Fernández Castillo S. Vacunas contra rotavirus: estado actual y tendencias futuras. Vaccimonitor [Internet]. 2016 Dic [consultado 2021 Ene 06]; 25(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025028X2016000300005&lng=es.
10. Greenberg HB, Estes MK. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. Gastroenterology [Internet] 2009 Mayo [consultado 2021 enero 24]; 136 (6): 1939-1951. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3690811/>
11. Hyesuk S, Qiande D, Weiping Z. Vaccines against gastroenteritis, current progress and challenges. Gut Microbes [Internet] 2020 Jun [consultado 2021 enero 23]; 11(6):p 1486-1517. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2020.1770666>
12. Flores J, Perez-Schael I, Blanco M, Rojas AM, Alfonso E, Crespo I et al. Reactogenicity and Immunogenicity of a High-Titer Rhesus Rotavirus-Based Quadrivalent Rotavirus Vaccine. J Clin Microbiology [Internet] Sept. 1993 [Consultado 2021 enero 24]; 31(9): 2439-2445, Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/51bf/3eb46168bc9c8c6a344f8e4f792ff07b5bb6.pdf>
13. Campins MM, Moraga-Llop F. Vacunas antirrotavirus. Un largo y difícil camino. Gastroenterol Hepatol. [internet] 2011 [consultado 2021 enero 24]; 34(10): 6694-700. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Documents/rotavirus%20basura%20S0210570511003396.pdf>
14. Manual de Vacunas de la Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. 2da ed. Libro electrónico. Editorial Panamericana Disponible en: <http://www.medicapanamericana.com/>

- eBooks.aspx
15. WHO. Information sheet observed rate of vaccine reactions rotavirus vaccine. [internet] Jun 2018 [consultado 2021 enero 30]. Disponible en: https://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/Rotavirus_vaccine_rates_information_sheet_0618.pdf
 16. Petri WA, Mille M, Binder M, Myron L, Dillingham R, Guerrant RL. Infecciones entéricas, diarrea y su impacto en la función y el desarrollo. *J Clin Invest.* [Internet] 2008 Abr [consultado 2021 enero 24]; 118(4): 1277-1290. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2276781/>
 17. Lopman BA, Steele D, Kirkwood CD, Parashar UD. The Vast and Varied Global Burden of Norovirus: Prospects for Prevention and Control. *PLOS medicine.* [Internet] 2016 Abril 16 [consultado 2021 enero 24]; 13(4):1001999 Disponible en: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1001999>
 18. Stupka JA, Degiuseppe JJ. Características de los norovirus humanos. Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), Laboratorio de Gastroenteritis Virales. Depto. Virus. INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbran". [Internet] 2019 septiembre [consultado 2021 enero 15]. Disponible en: https://www.aam.org.ar/src/img_up/19092019.0.pdf
 19. Wis.com. Norovirus. Morfología. [Internet]. [Consultado el 15 de enero 2021] Disponible en: <https://valeriagalvan.wixsite.com/norovirus/blank-tglk6>
 20. Ribes Fernández JM, Buesa Gómez J. Infecciones por norovirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* [Internet] 2010 [consultado 2021 enero 15]; 28(Supl 1):51-55. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/viromicromol/ccs-2008-virologia.pdf>
 21. Munalula Munjita S. Current Status of Norovirus Infections in Children in Sub-Saharan Africa. *J Tropical Medicine* [Internet] 2015 Nov 16 [consultado 2021 enero 23]; 2015: 1-7. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jtm/2015/309648/>
 22. Machado Fumian T, da Silva Ribeiro J, Gagliardi Leite JP, Pereira Miagostovich M. Norovirus Recombinant Strains Isolated from Gastroenteritis Outbreaks in Southern Brazil, 2004–2011. *PLOS ONE* [Internet] 2016 Abril 16 [consultado 2021 enero 25]. 11(4):e0145391. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0145391>
 23. ICH GCP. Registro de Ensayos Clínicos de EE.UU. Seguridad e inmunogenicidad de la vacuna de partículas similares a virus bivalentes de norovirus GI.1 / GII.4 en una población de edad avanzada. [Internet] [Consultado 2021 enero 25]. Disponible en: <https://ichgcp.net/es/clinical-trials-registry/NCT02661490>
 24. Tamminen K, Huhti L, Koho L, Lappalainen S, Hytönen V, Blazevic V. A comparison of immunogenicity of norovirus GII-4 virus-like particles and P-particles. *Immunology* [Internet] 2012 Enero [consultado 2021 enero 25]; 135(1): 89-99. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3246655/>
 25. Artículo de periódico digital. Robert Carlson, TAK-214 Norovirus. Vaccine Precision Vaccinations. 2019 Dic. Disponible en: <https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/tak-214-norovirus-vaccine>
 26. TAKEDA. Long-Term Immunogenicity of the Norovirus GI.1/GII.4 Bivalent Virus-like Particle (VLP) Vaccine (NoV Vaccine) in Adults. *Clinical Trials.gov* [internet] 2017 [consultado 2021 enero 15] Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03039790?term=Takeda%2C+Vaccine&draw=2>
 27. TAKEDA. *ClinicalTrials.gov*. Safety and Immunogenicity of Norovirus GI.1/GII.4 Bivalent Virus-Like Particle (VLP) Vaccine in Children *Clinical Trials.gov* [internet] 2017 [consultado 2021 enero 15] Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02153112>
 28. TAKEDA. Norovirus Bivalent-Vaccine Efficacy Study. *Clinical Trials.gov* [internet] 2017 [consultado 2021 enero 15] Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01609257?term=takeda&cond=Norovirus+Infections&draw=1&rank=1>
 29. China aprueba ensayos clínicos de primera vacuna tetravalente contra norovirus. *XINHUAN ESPAÑOL.* 2019 Jun 04 [Consultado 2021 enero 16] Disponible en: http://spanish.xinhuanet.com/2019-06/04/c_138116505.htm
 30. Carlson R. Norovirus Oral Vaccine Candidate Launches Phase 1b Study. [internet] *Precision Vaccinations.com* [Internet] 2019 Marzo 19 [consultado 2021 enero 16] Disponible en: <https://www.precisionvaccinations.com/vaxart%E2%80%99s-oral-bivalent-tablet-norovirus-gii4-vaccine-candidate-progresses-clinical-studies>
 31. OMS. Vacunas contra el cólera: Documento de posición de la OMS. [Internet] [Consultado 2021 enero 27] Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/241543/WER8513_117-128_SPA.PDF?sequence=1
 32. Liang W, Wang S, Yu F, Zhang L, Qi G, Liu Y, Gao S, Kan B. Construction and Evaluation of a Safe, Live, Oral *Vibrio cholerae* Vaccine Candidate, IEM108. *Infect Immun.* [Internet] 2003 Oct. [consultado 2021 enero 23]; 71(10): 5498-5504. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201064/>
 33. Dukoral. Ficha técnica o resumen de las características del producto. [Internet] [Consultado 2021 enero 22]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/dukoral-epar-product-information_es.pdf
 34. Böhles N, Busch K, Hensel M. Vacunas contra patógenos diarreicos humanos: estado actual y perspectivas. *Hum Vaccin Immunother* [Internet] 2014 Jun [consultado 2021 enero 22]; 10(6): 1522-1535. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5396248/>
 35. WHO. Euvichol (Oral Cholera Vaccine). [consultado 2021 enero 22] Disponible en: https://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/pq_298_euvichol_1dose_eubiologics_PL.pdf?ua=1
 36. OMS. Vacunas antitifoídicas: documento de posición de la OMS. [Consultado 2021 enero 30]. Disponible en: https://www.who.int/immunization/typhoid_spanish.pdf
 37. Myron M, Levine RS. Vacunas Para Evitar la Fiebre Tifoidea. *Sabin Vaccine* [consultado 2021 enero 22] Disponible en: <https://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/levinetyphideaspa7.20.18.pdf>
 38. Pakkanen SH, Kantele JM, Kantele A. Cross-reactive immune response induced by the Vi capsular polysaccharide typhoid vaccine against *Salmonella Paratyphi* strains. *Human Immunology* [Internet] 2014 Enero [consultado 2021 enero 30]; 79(3): 22-9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/sji.12151>
 39. Liang W, Wang S, Yu Z, Zhang L, Qi G, Liu Y, Gao S, Kan B. Construction and Evaluation of a Safe, Live, Oral *Vibrio cholerae* Vaccine Candidate, IEM108. *Infect Immun.* [Internet] 2003 Oct. [consultado 2021 enero 23]; 71(10): 5498-5504. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201064/>
 40. Turbyfill R, Hartman AB, Oaks EV. Isolation and Characterization of a *Shigella flexneri* Invasin Complex Subunit Vaccine. *Infect Immun* [Internet] 2000 Dic [consultado 2021 enero 23]; 68(12): 6624-6632. Disponible en: <https://iaa.asm.org/content/68/12/6624>
 41. Dharmasena MN, Osorio M, Takeda K, Stibitz S, Kopecko DJ.

- Expresión cromosómica estable de los antígenos O de *Shigella flexneri* 2a y 3a en el vector de vacuna oral viva de *Salmonella* Ty21a. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2017 Dic 5 [consultado 2021 enero 28]; 24(12): e00181-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5717188/>
42. Kaminski R W , Wu M , TurbyfilK R I, Clarkson K , Tai B , Bourgeois A L et al. Development and preclinical evaluation of a trivalent, formalin-inactivated *Shigella* whole-cell vaccine. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2014 Mar [consultado 2021 abril 28]; 21 (3): 366-82. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24403527/>
43. Qadri F, Svennerholm AM ; Faruque ASG, Bradley SR, Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev.* [Internet] 2005 Jul [consultado 2021 enero 28]; 18(3): 465-87. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195967/>
44. Qadri F, Akhtar M, Bhuiyan TR, Chowdhury AI, Ahmed T, Rafique TA, et al . Safety and immunogenicity of the oral, inactivated, enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine ETVAX in Bangladeshi children and infants: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis.* [internet] 2020 Feb [consultado 2021 enero 29]; 20(2): 208-219. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6990395/>