

Gloria Paulina Monterrubio-López^{1a}, Karen Delgadillo-Gutiérrez^{1b}

Resumen

Las nuevas tecnologías en vacunología son capaces de lograr un desarrollo rápido, así como una producción a gran escala de vacunas seguras y eficaces. La vacunología reversa es una metodología *in silico* que estudia diferentes características de los agentes infecciosos, con el objetivo de identificar antígenos que sean buenos candidatos vacunales, sin la necesidad del cultivo tradicional. Esta estrategia se basa en el uso de herramientas bioinformáticas, por lo que es una metodología sencilla, segura, económica y que reduce de forma significativa el tiempo de diseño de una vacuna, en comparación con la vacunología tradicional. En los últimos años, la rápida diseminación de infecciones por patógenos emergentes ha requerido del desarrollo oportuno de nuevas vacunas. Las estrategias bioinformáticas aúna-das a los más recientes diseños de vacunas de nueva generación permiten la selección de candidatos vacunales en corto tiempo, lo cual es muy importante en el desarrollo de nuevas vacunas contra patógenos con potencial pandémico.

Abstract

New technologies in vaccinology are capable of achieving fast development, as well as large-scale production of effective and safe vaccines. Reverse vaccinology is an *in silico* methodology, which studies different characteristics of infectious agents, in order to identify antigens that are good vaccine candidates, without the need of traditional culture. This strategy is based on bioinformatics tools, that in a simple, safety and inexpensive way, reduces time and effort significantly in the new vaccine design, against traditional vaccinology. In recent years, the rapid spread of infections by emerging pathogens requires prompt development of new vaccines. Bioinformatic strategies joined with the latest next-generation vaccines allow the selection of vaccine candidates in a short time, which is relevant in the development of new vaccines against pathogens with pandemic potential.

¹Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Campus Casco de Santo Tomás, Departamento de Microbiología, Laboratorio de Producción y Control de Biológicos «Dr. Mario González Pacheco». Ciudad de México, México

ORCID: [0000-0002-2651-3977^a](https://orcid.org/0000-0002-2651-3977), [0000-0002-5353-8192^b](https://orcid.org/0000-0002-5353-8192)

Palabras clave	Keywords
Microbiología	Microbiology
Biología Computacional	Computational Biology
Vacunología	Vaccinology
Vacunas	Vaccines
Pandemias	Pandemics

Fecha de recibido: 11/02/2021

Fecha de aceptado: 06/04/2021



Comunicación con:
Karen Delgadillo Gutiérrez



Teléfono:
55 5729 6000,
extensión 62384



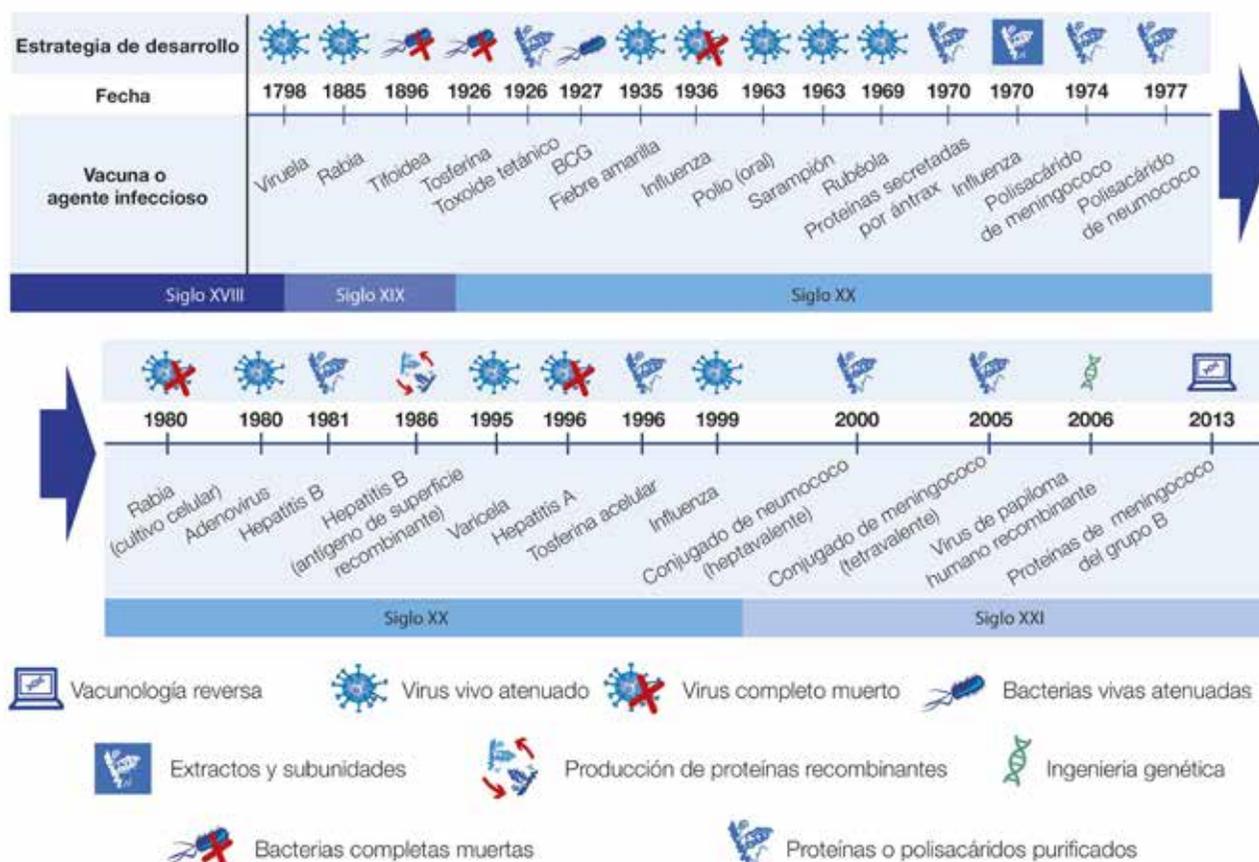
Correo electrónico:
kdelgadillo@ipn.mx

Introducción

Las pandemias son la propagación mundial de una enfermedad que causa un número excesivo de morbilidad y mortalidad, provocando enormes trastornos económicos y sociales.¹ En los últimos años, la rápida diseminación de enfermedades como el SARS, los virus de Ébola y Zika han resaltado la importancia de una buena preparación a nivel mundial para enfrentar el surgimiento de nuevos patógenos que afectan al ser humano, lo que requiere el desarrollo y la distribución integral de vacunas contra microorganismos con potencial pandémico.² La vacunación es la medida más eficaz en salud pública en la prevención y el control de enfermedades infecciosas.³ Su desarrollo ha cambiado de forma radical desde sus inicios hasta nuestros días. Las raíces de la vacunación se encuentran en la variolización, una práctica con una larga historia en muchas culturas de todo el mundo. Los primeros registros formales sobre la

aplicación de sustancias que estimulan el sistema inmune fueron realizados por el médico inglés Edward Jenner en 1796, quien realizó su primera vacunación experimental en James Phipps, un niño sano de ocho años, para probar su observación de que la exposición a la viruela de la vaca, una enfermedad que produce úlceras en las ubres de estas, lo protegería de un ataque posterior de viruela; los trabajos de experimentación de Jenner para el desarrollo de la vacuna antivariólica le tomaron más de 20 años.⁴ En 1884 Louis Pasteur generó su primera vacuna viral atenuada contra el virus de la rabia, que fue administrada por primera vez en un humano, un niño de nueve años, Joseph Meister.⁵ A partir de entonces, los avances en microbiología permitieron el desarrollo de vacunas contra otras enfermedades infecciosas, lo cual fue acortando cada vez más el tiempo requerido para su desarrollo, cuestión que permitió que se perfeccionaran las técnicas de vacunación y se refinaran los componentes de las vacunas (figura 1).^{3,6,7}

Figura 1 Historia del desarrollo de las vacunas humanas



Cronología de las vacunas humanas y las tecnologías que han permitido su desarrollo. La investigación sobre vacunas se puede clasificar en dos estrategias: las vacunas tradicionales que consisten en aislar, inactivar, atenuar a los microorganismos o algunos de sus componentes que causan la enfermedad (virus vivo atenuado, bacterias vivas atenuadas, virus completo muerto, bacterias completas muertas, proteínas o polisacáridos purificados, extractos y subunidades); la siguiente estrategia consiste en vacunas basadas en tecnologías como ingeniería genética y herramientas bioinformáticas (ingeniería genética, producción de proteínas recombinantes, vacunología reversa).

Vacunas tradicionales

El primer siglo de desarrollo de vacunas se basó en el uso del patógeno causante de la enfermedad en forma inactivada o atenuada, lo cual induce inmunidad protectora.⁷ La administración de estas vacunas en la población logró la reducción de diversas enfermedades infecciosas, como el sarampión, la poliomielitis, las paperas, la rubeola, la difteria, el tétanos, la tosferina y la erradicación de la viruela.⁸ El desarrollo de las vacunas tradicionales requiere méto-

dos de cultivo para la propagación de los microorganismos, por lo que su producción puede verse obstaculizada por factores como el cultivo difícil o imposible en condiciones *in vitro*, el requisito de un alto nivel de bioseguridad y laboratorios especializados. No siempre estos métodos son adecuados o incluso factibles ante agentes infecciosos emergentes.² Actualmente, se han empleado nuevos enfoques, independientes del cultivo tradicional, en los que se utilizan estrategias basadas en el uso de DNA o RNA (cuadro I). En los últimos años, han surgido nuevas

Cuadro I Nuevas estrategias para el desarrollo de vacunas humanas

Vacuna o agente infeccioso	Estrategia	Año/etapa de desarrollo	Referencia
Hepatitis B	Producción de proteínas recombinantes, antígeno de superficie del virus de hepatitis B (HBsAg) producido en <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1984 Aprobada	9
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Microarreglos combinados con perfiles de transcripción que permiten la identificación de dianas moleculares	2001 En exploración	10
Virus del dengue (ChimeriVax™-DEN2)	Virus atenuado recombinante que porta genes de un agente relacionado. Se reemplazaron los genes que codifican para las proteínas de premembrana (prM) y envoltura (E) del virus de fiebre amarilla (YF 17D) con genes correspondientes del virus de dengue (DEN2)	2006 Fase I	11
Virus del papiloma humano (Cervarix, Gardasil)	Partículas semejantes al virus (<i>virus like particles</i>) ensambladas con la proteína (L1) de la cápsula del virus del papiloma humano (HPV)	2007 Aprobada	12
Virus de inmunodeficiencia humana (AVX101)	Replicón de alfavirus, vectores de RNA en el que las proteínas estructurales del alfavirus se han reemplazado con el HIV-1 subtipo C <i>gag</i>	2012 Fase I	13
<i>Neisseria meningitidis</i> type B (Bexsero®)	Vacunología reversa. Análisis de las secuencias del genoma mediante el uso de herramientas de bioinformática que permiten identificar los antígenos más probables a ser candidatos vacunales. La vacuna incluye tres antígenos: la proteína NadA, la proteína de unión al factor H y el antígeno de unión a la heparina	2013 Aprobada	14
Virus de inmunodeficiencia humana (RV144)	Primosensibilización-refuerzo (<i>prime-boost</i>) usando DNA o vectores virales. Consiste en la estimulación inicial del sistema inmune con una primera vacuna de DNA para después dirigir y expandir esa respuesta con una segunda vacuna de distinta formulación (antígeno compuesto con un virus recombinante), pero frente al mismo patógeno	2019 Fases I, II, III	15
SARS-CoV-2 (BNT162b2)	Vacuna de mRNA. RNA modificado con nucleósidos que codifica para la proteína (S) completa del SARS-CoV-2 formulado con nanopartículas de lípidos	2020 Aprobada por emergencia sanitaria	16
SARS-CoV-2 (Gam-COVID-Vac)	Vectores virales. Vacuna basada en la combinación de vectores recombinantes de adenovirus: rAd tipo 26 (rAd26) y rAd tipo 5 (rAd5) que portan el gen de la proteína (S) del SARS-CoV-2	2021 Aprobada por emergencia sanitaria	17

tecnologías como la vacunología reversa y estructural; estas estrategias permiten una presentación antígeno/ anticuerpo más simple y dan lugar a la focalización de una respuesta inmune cada vez más específica, con lo que eliminan estructuras no esenciales. Estas nuevas tecnologías son herramientas valiosas que se están aplicando actualmente en vacunología para abordar las necesidades médicas en salud pública.⁸

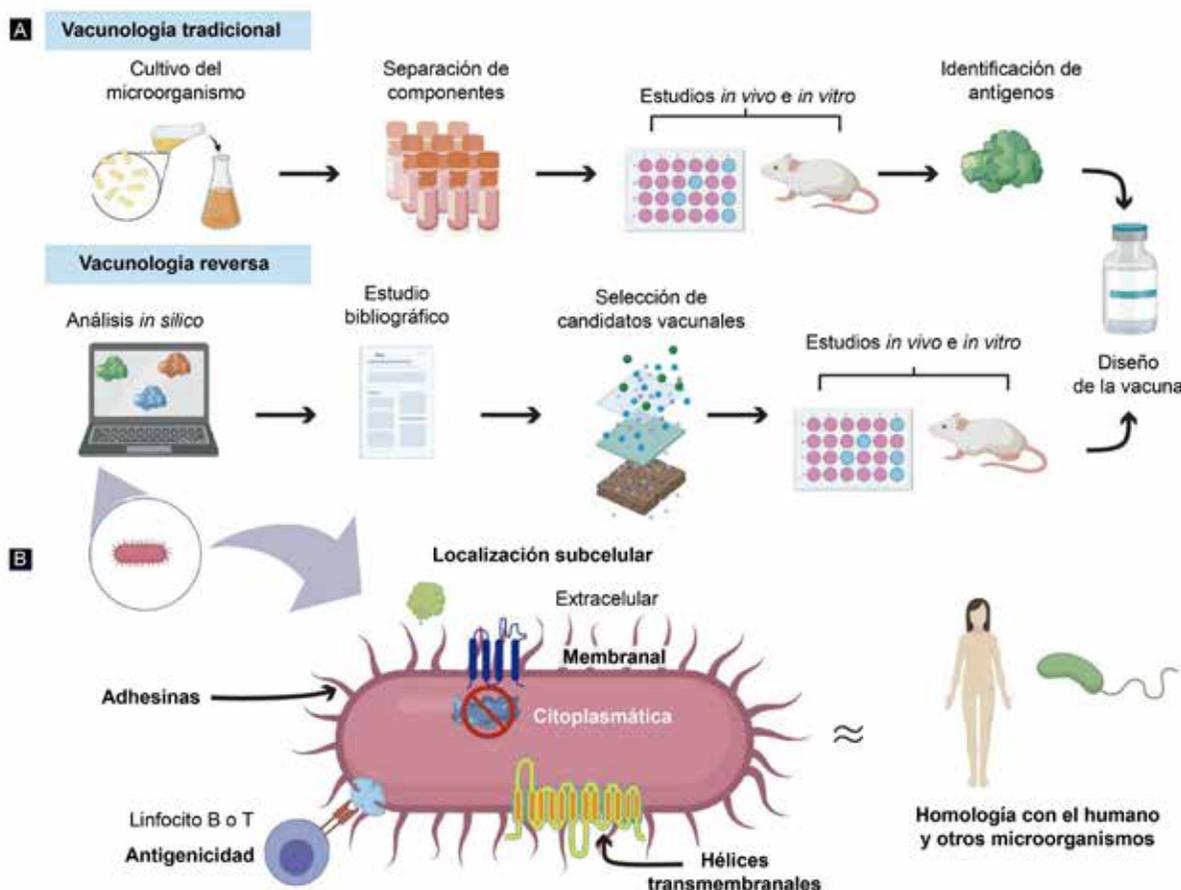
Vacunología reversa

La *vacunología reversa* es una metodología que utiliza diferentes herramientas bioinformáticas para identificar estructuras en una célula que puedan funcionar como potenciales candidatos vacunales¹⁸ y se ha utilizado con el objetivo de reducir el tiempo en el diseño y desarrollo de

nuevas vacunas.¹⁹ Esta estrategia se ha descrito ampliamente en el desarrollo de vacunas contra virus y bacterias,²⁰ pero también puede aplicarse en el estudio de enfermedades crónicas. La vacunología reversa sigue un procedimiento inverso a la vacunología tradicional, el cual comienza con la identificación *in silico* de los antígenos para posteriormente evaluarlos en modelos *in vitro* e *in vivo*.²¹ A partir de la secuencia completa del genoma del agente que se va a estudiar, las herramientas bioinformáticas predicen las proteínas que lo componen y evalúan las siguientes características, que en conjunto permiten la selección de un buen candidato vacunal (figura 2):

- Localización subcelular: programas bioinformáticos como pSORT predicen la localización de una proteína en la célula, a partir de la composición de aminoácidos o de la presencia de *motifs*.²² Esto permite la selección de

Figura 2 Características de la vacunología reversa



A: en comparación con la vacunología tradicional, la vacunología reversa inicia con la identificación de los antígenos del microorganismo para posteriormente obtenerlos y evaluarlos en el laboratorio. B: el análisis *in silico* consiste en estudiar las características del proteoma del microorganismo para seleccionar los mejores candidatos vacunales: localización subcelular, probabilidad de ser adhesinas, homología con el humano y otros microorganismos, número de hélices transmembranales y valores de antigenicidad al presentar epítopos que sean reconocidos por células B o T

aquellas proteínas que estén más expuestas al medio y a las células del sistema inmunológico del huésped, lo que quiere decir que las proteínas citoplasmáticas no serían de gran interés, a diferencia de las proteínas de membrana o extracelulares. Sin embargo, en los últimos años se han identificado proteínas citoplásmicas que pueden aparecer en la superficie bacteriana y han sido buenos candidatos vacunales, a las cuales se les ha identificado como *moonlighting proteins*, por lo que el escrutinio debe ser muy cuidadoso.²³

- Adhesinas: la primera etapa de contacto entre la célula del huésped y el patógeno muchas veces es a través de adhesinas, por lo que son blancos importantes en el desarrollo de vacunas, que, por medio de patrones de aminoácidos, algunos programas como SPAAN pueden identificar.²⁴
- Homología con el humano: un requisito primordial de las vacunas es la inocuidad, por lo que es importante identificar si alguno de los candidatos vacunales tiene similitud con las proteínas del huésped, con el fin de evitar posibles reacciones autoinmunes. Este tipo de estudios se logran con herramientas como BLAST del NCBI, que hacen una comparación o alineamiento de secuencias para determinar la similitud de las proteínas en estudio con las humanas o con cualquier otro organismo para el cual se esté diseñando el biológico.²⁵
- Hélices transmembranales: las proteínas que se encuentran en la membrana de la célula se anclan a ella mediante estructuras llamadas hélices transmembranales. Se debe procurar que los candidatos seleccionados no presenten un alto número de estos, debido a que las vacunas de nueva generación emplean vectores de expresión que son distintos de los del microorganismo original y la estructura de la membrana puede variar de forma considerable, lo que puede ocasionar cambios en la conformación tridimensional de la proteína que expresen epítomos distintos de los deseados. El programa HMMTOP es la plataforma con mejores resultados para

la predicción de la topología de las proteínas transmembranales, pues se basa en la máxima divergencia de la composición de los aminoácidos.²⁶

- Antigenicidad: una de las características más importantes es evaluar si las proteínas en estudio presentan en su secuencia epítomos que sean reconocidos por células B y T. Hay una gran variedad de programas que permiten la búsqueda de estos a partir del análisis de secuencias de reconocimiento por MHC I y II, y a su vez buscan tanto epítomos secuenciales como conformacionales para células B.²⁷
- Similitud con otras proteínas: comparar las secuencias en estudio con proteínas presentes en otros microorganismos permite identificar su probable función, ya que muchas de ellas están identificadas como proteínas hipotéticas;²⁸ a su vez, permite generar vacunas con protección cruzada, lo cual sería una ventaja adicional.

En los últimos años se han diseñado programas bioinformáticos que conjuntan todos los estudios que se mencionan anteriormente y otros adicionales con el objetivo de facilitar la búsqueda de candidatos vacunales (cuadro II). El primero en desarrollarse fue NERVE (por sus siglas en inglés *New Enhanced Reverse Vaccinology Environment*)²⁸ y a partir de entonces surgieron otros programas. Algunos deben descargarse y ejecutarse en equipos de cómputo, como el caso del mismo NERVE, además de VacSol,²⁹ ReVac³⁰ y Vacceed;³¹ mientras que otros programas como Vaxign³² y VaxiJen³³ se trabajan en línea. Cada uno de ellos funciona con un algoritmo diferente, aunque las bases son las mismas, pero presentan diferentes valores de sensibilidad y especificidad.³⁴ La principal ventaja que presentan es que permiten hacer un análisis completo de un microorganismo con un solo programa y mientras más actuales sean, analizan más variables de las proteínas.

Después del análisis bioinformático, se debe realizar una revisión bibliográfica detallada de cada uno de los candidatos vacunales, con el fin de obtener más información

Cuadro II Herramientas bioinformáticas para la selección de candidatos vacunales por vacunología reversa

Programa	Modalidad	Liga	Referencia
NERVE	Para descarga	http://www.bio.unipd.it/molbinfo	28
VacSol	Para descarga	https://sourceforge.net/projects/vacsol/	29
ReVac	Para descarga	https://github.com/admelloGithub/ReVac-package	30
Vaxign	En línea	http://www.violinet.org/vaxign/	32
VaxiJen v2.0	En línea	http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html	33
Vaxign-ML	En línea	http://www.violinet.org/vaxign/vaxign-ml/index.php	35
PanRV	Para descarga	https://sourceforge.net/projects/panrv2/	36

de cada molécula que permita asegurar su antigenicidad, seguridad e inocuidad, ya que una molécula relacionada con virulencia pudiera ser altamente antigénica, pero riesgosa de emplear, lo cual causaría daños en el paciente. Además, se puede obtener información sobre la expresión de las proteínas durante la infección del microorganismo, lo que haría sumamente valioso al candidato vacunal.³⁷

Existen otras estrategias que parten de las bases de la vacunología reversa para hacer un estudio más completo, como el *Pangenom-Reverse Vaccinology*, estudio que permite el análisis de varios genomas al mismo tiempo con el fin de identificar genes que se compartan entre especies de microorganismos, lo que facilita el diseño de una vacuna con mayor espectro de protección.¹⁹ La vacunología estructural es otra metodología, la cual se basa en comparar los distintos epítomos identificados en el mismo antígeno pero de diferentes cepas, de tal forma que estos se combinan en una sola estructura que genera protección contra todas las

variantes, todo basado en la estructura tridimensional de la proteína.³⁸ De manera adicional, en el diseño de una vacuna es esencial identificar el tipo de respuesta inmunológica que se ha relacionado con protección para la enfermedad en estudio, que puede ser de tipo humoral o celular, lo que en conjunto con la búsqueda de epítomos es llamado inmunoinformática. Para determinar la dirección de este proceso, existen programas como C-IMMSIM y MiStImm, los cuales predicen el tipo de respuesta que un antígeno pudiera generar, por medio de la simulación de la administración de este a un organismo.³⁹

La secuenciación de los genomas y la aplicación de las herramientas bioinformáticas cambió la perspectiva de la vacunología tradicional y ha permitido el desarrollo de nuevos productos biológicos. La bioinformática actualmente es un pilar que aporta soluciones innovadoras para el diseño de vacunas difíciles o incluso imposibles de desarrollar mediante métodos convencionales (cuadro III).

Cuadro III Vacunas diseñadas con herramientas bioinformáticas

Vacuna	Tipo de vacuna	Microorganismo	Estrategia	Etapas de desarrollo	Referencia
4CMenB	Proteínas recombinantes	<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo B	Vacunología reversa	Aprobada	40
Mosquirix	VLPs	<i>Plasmodium falciparum</i>	Inmunoinformática	Aprobada	41
ISA101	Péptidos	Virus del papiloma humano	Inmunoinformática	Clínica II	42
IC41	Péptidos	Virus de la hepatitis C	Inmunoinformática	Clínica II	43
MEP	Péptidos	Virus de la inmunodeficiencia humana	Inmunoinformática	Clínica I	44
ACAM-FLU-A	VLPs	Virus de la influenza	Inmunoinformática	Clínica I	45
Sin nombre	Proteína recombinante	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vacunología estructural	Preclínica	46
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Vacunología reversa	Preclínica	47
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Escherichia coli</i>	Vacunología reversa	Preclínica	48
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Vacunología reversa	Preclínica	49
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Bacillus anthracis</i>	Vacunología reversa	Preclínica	50
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Genómica-proteómica	Preclínica	51
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Vacunología reversa	Preclínica	52
rLemA	DNA	Leptospira	Vacunología reversa	Preclínica	53
Sin nombre	Proteína recombinante	<i>Staphylococcus aureus</i>	Vacunología reversa	Preclínica	54
Sin nombre	Péptidos	Virus de la viruela	Inmunoinformática	Preclínica	55
Sin nombre	Proteínas recombinantes	<i>Francisella tularensis</i>	Inmunoinformática	Preclínica	56
Sin nombre	Nanoglicoconjugado	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Vacunología reversa	Preclínica	57

Discusión

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud pública a nivel mundial, por lo que se necesita del desarrollo de nuevas vacunas o mejoradas contra patógenos importantes, incluidos HIV, malaria, tuberculosis, influenza, dengue y SARS-CoV. Además, algunas de las vacunas actuales generan protección a corto plazo o bajos niveles de protección.⁸

La vacunología reversa en contraste con la vacunología tradicional ofrece varias ventajas, como el estudio de agentes patógenos de lento o difícil crecimiento, e incluso de los no cultivables, ya que la fase de identificación de antígenos para la selección de vacunas candidatas se realiza *in silico* y no requiere del cultivo de los microorganismos;⁵⁸ se pueden diseñar vacunas en laboratorios con un nivel de bioseguridad menor que el requerido para el patógeno, porque los candidatos vacunales pueden obtenerse de forma sintética o recombinante en vectores de menor riesgo; la etapa de exploración es considerablemente menor, puesto que las estructuras protectoras se identifican en periodos cortos de tiempo y pueden ser estudiadas directamente en modelos animales;⁵⁹ todo lo anterior reduce la inversión científica y económica en el desarrollo de nuevas vacunas. Sin embargo, también tiene algunas desventajas, ya que únicamente se pueden estudiar proteínas y lipoproteínas, por lo que se dejan fuera otras biomoléculas que pudieran ser buenos antígenos vacunales y los resultados que se obtienen son probabilísticos, por lo que deben confirmarse posteriormente en la etapa preclínica, aunque esto también debe realizarse con las vacunas tradicionales.

Las herramientas bioinformáticas han permitido el desarrollo de nuevos productos biológicos, como la vacuna contra *Neisseria meningitidis*,⁶⁰ la primera vacuna diseñada por vacunología reversa en un periodo muy corto si se lo compara con el invertido en los primeros años de la historia de la vacunología. Además, se han obtenido importantes avances en el desarrollo de nuevas vacunas con buenos niveles de protección, no solo contra una cepa del patógeno en estudio sino contra diferentes variantes (cuadro III). Recientemente, las vacunas contra SARS-CoV-2 han sido desarrolladas en un tiempo extraordinario, debido a las investigaciones que ya se tenían de la proteína S (*spike*), desde su identificación, clonación y expresión mediante herramientas de biología molecular y bioinformáticas. Esto permitió obtener en

tiempo récord, diferentes propuestas de vacunas para su evaluación en las fases preclínicas y clínicas e incluso la manufactura y aprobación por emergencia sanitaria.^{61,62}

Una vez identificados los candidatos vacunales, se deben considerar las múltiples posibilidades en el diseño de una vacuna, incluidas recombinantes, subunitarias, de DNA o RNA, VLPs o vacunas conjugadas, y se deben analizar sus ventajas y desventajas.⁶³ Esta primera etapa de desarrollo es indispensable para obtener un biológico eficaz y seguro, ya que la detección de los mejores antígenos protectores incrementa la probabilidad de éxito en las siguientes fases de investigación.

La vacunología reversa es una herramienta valiosa que, combinada con la vacunología estructural y la biología sintética, más el creciente conocimiento en inmunología humana, brindan poderosas estrategias para el diseño de vacunas de nueva generación. Además, se espera que las nuevas tecnologías amplíen el uso de las vacunas y puedan prevenir enfermedades infecciosas por patógenos emergentes o reemergentes, e incluso prevenir o tratar enfermedades metabólicas, neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer.

Conclusiones

Las recientes pandemias de influenza, Ébola, Zika y COVID-19 han aumentado la conciencia ante la amenaza global a la salud pública por patógenos emergentes y reemergentes, lo cual destaca la importancia de la aplicación de tecnologías como la vacunología reversa en el diseño y el desarrollo oportuno de nuevas vacunas contra patógenos con potencial pandémico.

La vacunología reversa por medio de herramientas bioinformáticas permite estudiar agentes infecciosos en un tiempo corto y en un ambiente seguro. A pesar de que sus resultados deben ser comprobados en el laboratorio, las ventajas que presenta son cruciales en la prevención y el control de enfermedades infecciosas.

.....
Declaración de conflicto de interés: las autoras han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

1. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. What is a pandemic? *J Infect Dis.* 2009;200(7):101821. doi: 10.1086/644537
2. Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New vaccine technologies to combat outbreak situations. *Front Immunol.* 2018;9:1-24. doi: 10.3389/fimmu.2018.01963
3. Canouï E, Launay O. History and principles of vaccination. *Rev Mal Respir.* 2019;36(1):7481. doi: 10.1016/j.rmr.2018.02.015
4. Rusnock AA. Historical context and the roots of Jenner's

- discovery. *Hum Vaccines Immunother.* 2016;12(8):2025-8. doi: 10.1080/21645515.2016.1158369
5. Berche P. Louis Pasteur, from crystals of life to vaccination. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(5):16. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03945.x
 6. Plotkin S. History of vaccination. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(34):122837. doi: 10.1073/pnas.1400472111
 7. De Gregorio E, Rappuoli R. From empiricism to rational design: A personal perspective of the evolution of vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(7):50514. doi: 10.1038/nri3694
 8. Loomis RJ, Johnson PR. Emerging vaccine technologies. *Vaccines.* 2015;3(2):42947. doi: 10.3390/vaccines3020429
 9. McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ, Wampler DE, Miller WJ, Hilleman MR. Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature.* 1984;307:17880. doi: 10.1038/307178a0
 10. Dhiman N, Bonilla R, O'Kane JD, Poland GA. Gene expression microarrays: a 21st century tool for directed vaccine design. *Vaccine.* 2001;20(12):2230. doi: /10.1016/s0264-410x(01)00319-x
 11. Guirakhoo F, Kitckener S, Morrison D, Forrat R, McCarthy K, Nichols R, et al. Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVaxTM- DEN2) vaccine: Phase I clinical trial for safety and immunogenicity - Effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes. *Hum Vaccin.* 2006;2(2):607. doi: doi.org/10.4161/hv.2.2.2555
 12. Castellsagué X, Bosch FX. Avances en la prevención del cáncer de cuello de útero: Vacunas VPH. *Farm Hosp.* 2007;31(5):2613. doi: 10.1016/S1130-6343(07)75388-6
 13. Wecker M, Gilbert P, Russell N, Hural J, Allen M, Pensiero M, et al. Phase I safety and immunogenicity evaluations of an alphavirus replicon HIV-1 subtype C gag vaccine in healthy HIV-1-uninfected adults. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(10):165160. doi: 10.1128/CVI.00258-12
 14. Finco O, Rappuoli R. Designing vaccines for the twenty-first century society. *Front Immunol.* 2014;5(12):16. doi: 10.3389/fimmu.2014.00012
 15. Excler JL, Kim JH. Novel prime-boost vaccine strategies against HIV-1. *Expert Rev Vaccines.* 2019;18(8):76579. doi: 10.1080/14760584.2019.1640117
 16. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2603 15. doi: 10.1056/nejmoa2034577
 17. Jones I, Roy P. Sputnik V COVID 19 vaccine candidate appears safe and effective. *Lancet.* 2021;397(10275):642-643. doi: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00191-4
 18. Seib KL, Zhao X, Rappuoli R. Developing vaccines in the era of genomics: A decade of reverse vaccinology. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(5):10916. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03939.x
 19. Mora M, Telford JL. Genome-based approaches to vaccine development. *J Mol Med.* 2010;88(2):1437. doi: 10.1007/s00109-009-0574-9
 20. Michalik M, Djahanshiri B, Leo JC, DL Linke. *Vaccine Desing.* Thomas S, editor. Vol. 1. Philadelphia, PA, USA: Springer; 2016. pp. 87-106.
 21. Ferreira J, Porco A. Vacunas derivadas del análisis de los genomas: vacunología inversa. *Interciencia.* 2008;33 (5):3538. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33933506>
 22. Horton P, Park KJ, Obayashi T, Fujita N, Harada H, Adams-Collier CJ, et al. WoLF PSORT: Protein localization predictor. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(2):5857. doi: 10.1093/nar/gkm259
 23. De Alvarenga Mudadu M, Carvalho V, Leclercq SY. Nonclassically Secreted Proteins as Possible Antigens for Vaccine Development: A Reverse Vaccinology Approach. *Appl Biochem Biotechnol.* 2015;175(7):336070. doi: 10.1007/s12010-015-1507-4
 24. Sachdeva G, Kumar K, Jain P, Ramachandran S. SPAAN: A software program for prediction of adhesins and adhesin-like proteins using neural networks. *Bioinformatics.* 2005;21(4):48391. doi: 10.1093/bioinformatics/bti028
 25. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215(3):40310. doi: 10.1016/S00222836(05)80360-2
 26. Tusnády GE, Simon I. The HMMTOP transmembrane topology prediction server. *Bioinformatics.* 2001;17(9):84950. doi: 10.1093/bioinformatics/17.9.849
 27. Soria-Guerra RE, Nieto-Gomez R, Govea-Alonso DO, Rosales-Mendoza S. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: Implications on vaccine development. *J Biomed Inform.* 2015;53:40514. doi: 10.1016/j.jbi.2014.11.003
 28. Vivona S, Bernante F, Filippini F. NERVE: New Enhanced Reverse Vaccinology Environment. *BMC Biotechnol.* 2006; 6:18. doi: 10.1186/1472-6750-6-35
 29. Rizwan M, Naz A, Ahmad J, Naz K, Obaid A, Parveen T, et al. VacSol: A high throughput in silico pipeline to predict potential therapeutic targets in prokaryotic pathogens using subtractive reverse vaccinology. *BMC Bioinformatics.* 2017;18(1):17. doi: 10.1186/s12859-017-1540-0
 30. D'Mello A, Ahearn CP, Murphy TF, Tettelin H. ReVac: A reverse vaccinology computational pipeline for prioritization of prokaryotic protein vaccine candidates. *BMC Genomics.* 2019;20(1):1-21. doi: 10.1186/s12864-019-6195-y
 31. Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JT. Vacceed: A high-throughput in silico vaccine candidate discovery pipeline for eukaryotic pathogens based on reverse vaccinology. *Bioinformatics.* 2014;30(16):23813. doi: 10.1093/bioinformatics/btu300
 32. Xiang Z, He Y. Vaxign: a web-based vaccine target design program for reverse vaccinology. *Procedia Vaccinol.* 2009;1 (1):239. doi: 10.1016/j.provac.2009.07.005
 33. Doytchinova IA, Flower DR. VaxiJen: A server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines. *BMC Bioinformatics.* 2007;8(4):1-7. doi: 10.1186/1471-2105-8-4
 34. Dalsass M, Brozzi A, Medini D, Rappuoli R. Comparison of open-source reverse vaccinology programs for bacterial vaccine antigen discovery. *Front Immunol.* 2019;10(113):112. doi: 10.3389/fimmu.2019.00113
 35. Ong E, Wang H, Wong MU, Seetharaman M, Valdez N, He Y. Vaxign-ML: Supervised machine learning reverse vaccinology model for improved prediction of bacterial protective antigens. *Bioinformatics.* 2020;36(10):318591. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa119
 36. Naz K, Naz A, Ashraf ST, Rizwan M, Ahmad J, Baumbach J, et al. PanRV: Pangenome-reverse vaccinology approach for identifications of potential vaccine candidates in microbial pangenome. *BMC Bioinformatics.* 2019;20(1):110. doi: 10.1186/s12859-019-2713-9
 37. Donati C, Rappuoli R. Reverse vaccinology in the 21st century: Improvements over the original design. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1285(1):11532. doi: 10.1111/nyas.12046

38. Dormitzer PR, Grandi G, Rappuoli R. Structural vaccinology starts to deliver. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(12):80713. doi: 10.1038/nrmicro2893
 39. Rapin N, Lund O, Bernaschi M, Castiglione F. Computational immunology meets bioinformatics: The use of prediction tools for molecular binding in the simulation of the immune system. *PLoS One.* 2010;5(4):114. doi: 10.1371/journal.pone.0009862
 40. Abad R, Martínón-Torres F, Santolaya de Pablo M, Banzhoff A, González-Inchausti C, Graña M, et al. Del genoma de un patógeno a una vacuna efectiva: La vacuna de cuatro componentes frente a los meningococos del serogrupo B. *Rev Esp Quimioter.* 2019;32(3):20816.
 41. Laurens MB. RTS,S/AS01 vaccine (Mosquirix™): an overview. *Hum Vaccines Immunother.* 2019;16(3):4809. doi: 10.1080/21645515.2019.1669415
 42. Kaliyandurthi S, Selvaraj G, Junaid M, Khan A, Gu K, Wei D-Q. Cancer Immunoinformatics: A Promising Era in the Development of Peptide Vaccines for Human Papillomavirus-induced Cervical Cancer. *Curr Pharm Des.* 2019;24(32):3791817. doi: 10.2174/1381612824666181106094133
 43. Klade CS, Wedemeyer H, Berg T, Hinrichsen H, Cholewinska G, Zeuzem S, et al. Therapeutic Vaccination of Chronic Hepatitis C Nonresponder Patients With the Peptide Vaccine IC41. *Gastroenterology.* 2008;134(5):138595. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.058
 44. Bruno L, Cortese M, Rappuoli R, Merola M. Lessons from Reverse Vaccinology for viral vaccine design. *Curr Opin Virol.* 2015;11:8997. doi: 10.1016/j.coviro.2015.03.001
 45. Deng L, Cho KJ, Fiers W, Saelens X. M2e-based universal influenza A vaccines. *Vaccine.* 2015;3(1):10536. doi: 10.3390/vaccines3010105
 46. Nuccitelli A, Cozzi R, Gourlay LJ, Donnarumma D, Necchi F, Norais N, et al. Structure-based approach to rationally design a chimeric protein for an effective vaccine against Group B Streptococcus infections. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(25):1027883. doi: 10.1073/pnas.1106590108
 47. Mamede LD, de Paula KG, de Oliveira B, dos Santos JSC, Cunha LM, Junior MC, et al. Reverse and structural vaccinology approach to design a highly immunogenic multi-epitope subunit vaccine against Streptococcus pneumoniae infection. *Infect Genet Evol.* 2020;85:128. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104473
 48. Moriel DG, Bertoldi I, Spagnuolo A, Marchi S, Rosini R, Nesta B, et al. Identification of protective and broadly conserved vaccine antigens from the genome of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(20):90727. doi: 10.1073/pnas.0915077107
 49. Bianconi I, Alcalá-Franco B, Scarselli M, Dalsass M, Buccato S, Colaprico A, et al. Genome-based approach delivers vaccine candidates against Pseudomonas aeruginosa. *Front Immunol.* 2019;9(3021):19. doi: 10.3389/fimmu.2018.03021
 50. Gat O, Grosfeld H, Ariel N, Inbar I, Zaide G, Broder Y, et al. Search for Bacillus anthracis potential vaccine candidates by a functional genomic-serologic screen. *Infect Immun.* 2006;74(7):39874001. doi: 10.1128/IAI.00174-06
 51. Thorpe C, Edwards L, Snelgrove R, Finco O, Rae A, Grandi G, et al. Discovery of a vaccine antigen that protects mice from Chlamydia pneumoniae infection. *Vaccine.* 2007;25(12):225260. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.12.003
 52. Ross BC, Czajkowski L, Hocking D, Margetts M, Webb E, Rothel L, et al. Identification of vaccine candidate antigens from a genomic analysis of Porphyromonas gingivalis. *Vaccine.* 2001;19(30):413542. doi: 10.1016/S0264-410X(01)00173-6
 53. Oliveira TL, Bacelo KL, Forster KM, Ilha V, Rodrigues OE, Hartwig DD. DNA nanovaccines prepared using LemA antigen protect Golden Syrian hamsters against Leptospira lethal infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2020;115(2):16. doi: 10.1590/0074-02760190396
 54. Soltan MA, Magdy D, Solyman SM, Hanora A. Design of Staphylococcus aureus New Vaccine Candidates with B and T Cell Epitope Mapping, Reverse Vaccinology, and Immunoinformatics. *Omi A J Integr Biol.* 2020;24(4):195204. doi: 10.1089/omi.2019.0183
 55. Moise L, McMurry JA, Buus S, Frey S, Martin WD, De Groot AS. In Silico-Accelerated Identification of Conserved and Immunogenic Variola/Vaccinia T-Cell Epitopes Leonard. *Vaccine.* 2009;23(1):17. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.06.018
 56. McMurry JA, Gregory SH, Moise L, Rivera D, Buus S, De Groot AS. Diversity of Francisella tularensis Schu4 antigens recognized by T lymphocytes after natural infections in humans: Identification of candidate epitopes for inclusion in a rationally designed tularemia vaccine. *Vaccine.* 2007;25(16 SPEC. ISS.):317991. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.01.039
 57. Muruato LA, Tapia D, Hatcher CL, Kalita M, Brett PJ, Gregory AE, et al. Use of reverse vaccinology in the design and construction of nanoglycoconjugate vaccines against Burkholderia pseudomallei. *Clin Vaccine Immunol.* 2017;24(11):113. doi: 10.1128/CVI.00206-17
 58. Ranjbar MH, Ebrahimi MM, Shahsavandi MM, Farhadi S, Mirjalili T, Tebianian A, et al. Novel applications of immunobioinformatics in vaccine and bio-product developments at research institutes. *Arch Razi Inst.* 2019;74(3):21933. doi: 10.22092/ari.2018.122523.1224
 59. Heinson AI, Woelk CH, Newell ML. The promise of reverse vaccinology. *Int Health.* 2015;7(2):859. doi: 10.1093/inthealth/ihv002
 60. Massignani V, Pizza M, Moxon ER. The development of a vaccine against Meningococcus B using reverse vaccinology. *Front Immunol.* 2019;10:114. doi: 10.3389/fimmu.2019.00751
 61. Taylor DR. Obstacles and advances in SARS vaccine development. *Vaccine.* 2006;24(7):86371. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.08.102
 62. Ong E, Wong MU, Huffman A, He Y. COVID-19 Coronavirus Vaccine Design Using Reverse Vaccinology and Machine Learning. *Front Immunol.* 2020;11(1581):113. doi: 10.3389/fimmu.2020.01581
 63. Wallis J, Shenton DP, Carlisle RC. Novel approaches for the design, delivery and administration of vaccine technologies. *Clin Exp Immunol.* 2019;196(2):189204. doi: 10.1111/cei.13287
-
- Cómo citar este artículo:** Monterrubio-López GP, Delgadillo-Gutiérrez K. Vacunología reversa: estrategia contra patógenos emergentes. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2021;59(3):233-41.