

---

---

# Vacunología inversa: Abriendo paso al futuro para el desarrollo de nuevas vacunas

Walter Alfredo Goycochea Valdivia

MSc. Vaccinology and Pharmaceutical Clinical Development. FEA Pediatría. Instituto Hispalense de Pediatría, Sevilla. Servicio de Infectología, Reumatología e Inmunología Pediátrica de Sevilla-Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

---

## Introducción

Después del uso de agua potable, la prevención de enfermedades mediante la inmunización activa con vacunas es la medida más coste-efectiva en salud pública. El desarrollo de vacunas se ha visto influenciado a través de los años por grandes avances tecnológicos y científicos que han permitido superar los retos que planteaban el diseño de estas intervenciones para los distintos microorganismos [1]. Sin embargo, sobre finales del siglo XX, los mismos paradigmas planteados en los inicios de la vacunología y que persistían hasta entonces, parecían haber alcanzado sus límites posibles precisándose un nuevo cambio en nuestra manera de diseñar y desarrollar vacunas [2].

La *Vacunología inversa* (del inglés: “*Reverse vaccinology*”) fue el término propuesto por el Dr. Rino Rappuoli sobre el año 2000, para describir un nuevo concepto en el desarrollo de vacunas [2]. Implica el descubrimiento de potenciales antígenos vacunales mediante el uso de la genómica y bioinformática para recabar información empleando una menor cantidad de tiempo y con mayor probabilidad de éxito que con los métodos convencionales (postulación experimental de potenciales antígenos) [1–4]. Su instauración ha posibilitado y ha abierto el camino para el desarrollo de vacunas contra patógenos otrora imposibles, siendo uno de los catalíticos más importantes para el inicio de una nueva era en la vacunología en el siglo XXI [5].

## Vacunología convencional: La exitosa historia de la vacunación y los límites alcanzados

Para entender la vacunología inversa, es necesario tener noción sobre lo que se consideraba hasta su introducción como vacunología convencional. La historia de la vacunación es más antigua de lo que se

data habitualmente. Los primeros registros son experiencias del mundo antiguo, donde mediante la observación se evidenciaba que la exposición a ciertos agentes nocivos podría conferir protección contra los mismos [6]. Este principio se llevó a la práctica mediante la inoculación de la viruela mediante la técnica conocida como la *variolización* que se introdujo desde Asia a Europa sobre principios del siglo XVIII. La inoculación directa del patógeno suponía una situación de riesgo sustancial, dado que el individuo variolado podía enfermar gravemente de viruela [6].

Edward Jenner en 1796 propone un cambio radical [6]. Basado en la mera observación de que los infectados por la viruela bovina no padecían la viruela humana durante los brotes, inicia la inoculación del virus vacuno en seres humanos, obteniendo la ansiada protección contra la viruela sin pasar por la enfermedad [6]. Pese al éxito de esta intervención, considerada como la primera vacuna, los principios clásicos de la vacunología no aparecieron hasta aproximadamente inicios del 1800 cuando se descubre que las enfermedades son causadas por los agentes microbianos patógenos. Fue Louis Pasteur quien define estos principios, postulando qué para desarrollar cualquier vacuna, bastaría con “*aislar*” el microorganismo causal, “*inactivarlo/atenuarlo*” mediante algún medio físico o químico y luego “*inyectarlo/inocularlo*” en el individuo que se desea proteger [2,7].

Este principio de “*aislar, inactivar/atenuar e inyectar/inocular*”, es el que se ha seguido para el desarrollo de casi todas las vacunas que conocemos en la actualidad [2,7]. Durante los años, ligeras modificaciones se han aplicado al mismo, como por ejemplo el hecho de que no necesitamos inocular/inyectar todo el patógeno, sino que una parte de este, preferentemente relacionada con la transmisibilidad o viru-

lencia, sería suficientemente inmunogénica y protectora [7]. Estas vacunas de subunidades mantenían la efectividad de la intervención, mejorando su seguridad (una parte del patógeno no tiene posibilidad de replicar la enfermedad). Identificar que partes del patógeno serían potenciales buenos antígenos suponía un ejercicio complejo y laborioso, precisando del estudio experimental para inferir los probables mecanismos patogénicos de la enfermedad [2]. Aun así, los candidatos propuestos no siempre eran exitosos, perdiéndose tiempo y recursos en el desarrollo de vacunas inefectivas [2,7].

Un candidato vacunal descubierto mediante este sistema fue la cápsula polisacárida de algunas bacterias. Sin embargo, pese a ser un componente con participación demostrada en la virulencia y transmisibilidad de los patógenos, presentaba una efectividad errática en los lactantes y una corta duración de la protección [8]. Uno de los últimos avances del siglo XX apareció para resolver este problema. Conjugando la cápsula polisacárida con una proteína, se obtenía una respuesta inmune a la vacuna superior, de larga duración y con la capacidad de memoria inmunológica. Este proceso llamado "glicoconjugación", aplica conceptos inmunológicos para el desarrollo de vacunas, postulando que el uso de proteínas induciría lo que se conoce como una respuesta inmune T-dependiente, la cual es clave para obtener la inmunogenicidad y memoria inmunológica deseada [8].

Aunque este último avance abrió paso al desarrollo y la mejora de vacunas contra varios patógenos, por ejemplo, el neumococo y el meningococo; aún quedaban otros para los cuales no se podía producir vacunas exitosas. El principio "*aislar, inactivar/atenuar e inyectar/inocular*", había llegado a sus límites permitidos, aún con la ayuda de tecnologías como la glicoconjugación o el desarrollo de adyuvantes [2]. Para afrontar nuevos retos, un cambio de paradigma era necesario.

### Vacunología inversa: Descubriendo nuevos antígenos para viejos patógenos

El advenimiento de la genómica ha permitido la secuenciación del ADN, sien-

do capaces de conocer las proteínas que pueden expresarse por cada secuencia específica de material genético [2,9,10]. Su primera aplicación en la vacunología fue mediante el uso de técnicas recombinantes para la expresión y purificación de proteínas que serían incluidas en vacunas de subunidades [2,7].

Una nueva aplicación de la genómica en la vacunología llegaría con el desarrollo de técnicas de secuenciación masiva que permitían secuenciar el ADN a mayor velocidad y con un menor coste [2,9,10]. El primer genoma completamente secuenciado de un microorganismo (*Haemophilus influenzae*) fue publicado en el año 1995, momento clave del cual deriva la idea de la vacunología inversa [11]. Si somos capaces de secuenciar el genoma completo de un patógeno, somos capaces de conocer todas las proteínas que puede expresar, es decir, tendremos acceso a su completo repertorio antigénico [2].

Este concepto fue utilizado para descubrir nuevos antígenos que pudieran ser potenciales candidatos vacunales para un patógeno en el cual no se habían obtenido mediante los medios convencionales. Se habían desarrollado vacunas glico-conjugadas para todos los serogrupos relevantes de *Neisseria meningitidis*, excepto para el serogrupo B [2,12]. La cápsula polisacárida de la bacteria de este serogrupo presentaba una similitud estructural con los ácidos polisacáricos presentes en glicoproteínas humanas [2,12]. Desarrollar una vacuna conteniendo estos antígenos conllevaba la posibilidad de obtener una pobre inmunogenicidad o incluso riesgos de seguridad con posible desarrollo de autoinmunidad [2,12].

Con el objetivo de dar respuesta a este problema, se formula la estrategia de la vacunología inversa [2,12]. Primero se secuencian el genoma completo del patógeno, en este caso el meningococo del serogrupo B. Luego, basados en la idea de que la mayor parte de antígenos vacunales potenciales suelen ser proteínas de superficie en las bacterias, mediante técnicas bioinformáticas se identifican de la secuencia genómica aquellas proteínas que tendrán estas características (análisis "*in silico*"). Posteriormente, se expresan estas proteínas utilizando la maquinaria de otras

bacterias, como *Escherichia Coli*. Una vez expresadas las proteínas, se realizan pruebas en modelos animales para identificar aquellas que tengan la capacidad de inducir anticuerpos con actividad bactericida, para luego seleccionar aquellas que sean los mejores candidatos e incluirlos en una vacuna [2,12].

Así pues, se parte de la totalidad de proteínas posibles tras la secuenciación completa, a tener aproximadamente 600 candidatos posibles tras el análisis *in silico*, a 350 candidatos que pueden expresarse, a 28 proteínas con actividad bactericida, de las cuales se seleccionaron tres [2,12]. La vacunología inversa había conseguido en un periodo de meses, lo que no se había podido encontrar con décadas de investigación y estudio. Los tres antígenos identificados (*Factor H binding protein*, *Neisserial adhesin A* y *Neisseria heparin-binding antigen*) se unieron a la vesícula de membrana externa de *Neisseria meningitidis* con su proteína PorA, conformando la vacuna de 4 componentes para el meningococo del grupo B (4CMenB) [12]. Esta vacuna fue aprobada en Europa en el 2013 y ha mostrado ser segura, inmunogénica y con recientes datos de efectividad tras su introducción en el calendario de inmunización sistemático del Reino Unido en el 2015 [12].

La vacunología inversa ha supuesto una revolución en el desarrollo de vacunas. La posibilidad de tener el repertorio antigénico de los microorganismos supone una gran ventaja que ha abierto la investigación de potenciales candidatos para otros patógenos, entre ellos: *Streptococcus agalactie*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile* y *Chlamydia trachomatis* [1–4].

### Mejoras en el diseño original

La vacunología inversa tiene ciertas limitaciones [1]. Primero, sólo permite identificar antígenos proteicos. En segundo lugar, la factibilidad de la secuenciación se ve influenciada por la complejidad del genoma. El genoma de una bacteria o un virus son accesibles, mientras que para organismos más complejos como hongos y parásitos supone un reto adicional. Por último, el gran problema al que se enfren-

ta la vacunología inversa es la variabilidad, tanto la que ocurre intra-especies, como la que se puede producir producto de mutaciones y cambios en el tiempo [1].

En su uso para el desarrollo de 4CMenB, se aplicó este enfoque para un único serogrupo de un microorganismo. A pesar de seleccionar las proteínas más conservadas en las distintas cepas, se encontró una variabilidad importante en sus distintas estructuras y expresión. Pese a ello, la estrategia de incluir 4 componentes en lugar de uno sólo aseguraba que se mantuviera una cobertura estimada de entre el 65%-95% de las cepas circulantes en distintas localizaciones geográficas [12]. El planteamiento de futuras vacunas para otros patógenos tendría que lidiar con este problema a mayor escala al pretender cubrir varios serogrupos y serotipos para las diferentes especies [1,3].

Para darle solución a este problema se ha intentado dar un enfoque diferente al original utilizando las mismas herramientas. La *Pangenómica*, estrategia utilizada para el desarrollo de una futura vacuna para *Streptococcus agalactie*, consiste en utilizar la vacunología inversa para secuenciar no un genoma, sino todos los genomas de cada una de las cepas que circulan y producen enfermedad con mayor frecuencia; construyendo un genoma conjunto ("*pangenoma*") [1–4]. Es decir, tendremos el repertorio antigénico completo de todas las cepas epidemiológicamente relevantes y podremos desarrollar una vacuna con antígenos preservados pese a la variabilidad intra-especies. Otras variantes son la *Genómica Comparativa*, que permite identificar similitudes y diferencias entre los genomas de diferentes microorganismos para poder entender los procesos evolutivos que influyen en estos genomas y tratar de predecir que antígenos podrían mantenerse invariables en el tiempo [1–4]. Este enfoque ha sido utilizado para intentar desarrollar vacunas universales para *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* [2]. Por último, la *Vacunología inversa subtractiva*, en la cual, mediante análisis comparativos de los genomas, se pueden abstraer aquellos genes que codifiquen para proteínas de especies no patógenas, identificando aquellos que sólo estarán en especies patógenas [1–4]. Este enfoque está siendo

utilizado para identificar potenciales candidatos vacunales de especies patógenas de *Escherichia Coli*, sin el riesgo de afectar a cepas que sean habituales comensales [2].

Además de los métodos basados en genómica y proteómica, el desarrollo de otras tecnologías complementará en un futuro a la vacunología inversa. Por ejemplo, la *Vacunología estructural*, que consiste en el uso de cristalografía y bioinformática para modelar tridimensionalmente proteínas al máximo detalle, pudiendo identificar las regiones que serán más inmunógenas [13]. Se puede aplicar esta estrategia a las distintas variantes de las proteínas ya identificadas por vacunología inversa, siendo posible sintetizar una proteína quimérica conteniendo las regiones más inmunógenas de cada variante [13]. La *Vacunología de sistemas* es otra tecnología futura, con la capacidad de descifrar los genes y vías del sistema inmunológico que se activarán tras la inmunización, pudiendo identificar señales que se correlacionen con la ansiada protección [14]. Se puede utilizar a los antígenos encontrados por vacunología inversa, para poder seleccionar aquellos que tendrán mayor probabilidad de éxito [14].

### Comentarios finales y perspectivas futuras

Son tiempos emocionantes en el campo de la vacunología. El cambio de paradigma propuesto con la vacunología inversa, nos ha llevado a entrar en una era de verdadero desarrollo racional de vacunas, que nos da esperanza de encontrar potenciales candidatos para patógenos que hasta hace unos años se consideraban imposibles. Más aún, el advenimiento de estas tecnologías nos ofrecerá también la posibilidad de mejorar muchas de las vacunas que utilizamos actualmente, así como descubrir y comprender mecanismos del patógeno el hospedero y sus interacciones que se han mantenido elusivos.

Dependerá del uso adecuado de estas tecnologías futuras y del encomiable deseo de superación de la comunidad científica, construir sobre los éxitos obtenidos y aprender de las dificultades encontradas para poder prevenir más enfermedades mediante la vacunación. El futuro de la va-

vacunación nos espera con optimismo.

### Bibliografía

1. Donati C, Rappuoli R. Reverse vaccinology in the 21st century: Improvements over the original design. *Ann N Y Acad Sci* 2013; 1285:115–132.
2. Delany I, Rappuoli R, Seib KL. Vaccines, reverse vaccinology, and bacterial pathogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect Med* 2013; 3.
3. Rappuoli R, Bottomley MJ, D'Oro U, Finco O, De Gregorio E. Reverse vaccinology 2.0: Human immunology instructs vaccine antigen design. *J Exp Med* 2016; 213:469–481.
4. Seib KL, Zhao X, Rappuoli R, et al. Developing vaccines in the era of genomics: a decade of reverse vaccinology. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 Suppl 5:109–16.
5. Bagnoli F, Baudner B, Mishra RP, et al. Designing the next generation of vaccines for global public health. *Omics* 2011; 15:545–566.
6. Plotkin SA. Vaccines: past, present and future. *Nat Med* 2005; 11:S5–11.
7. Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: how the past led to the future. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9:889–93.
8. Pollard AJ, Perrett KP, Beverley PC. Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines. *Nat Rev Immunol* 2009; 9:213–20.
9. Prachi P, Donati C, Masciopinto F, Rappuoli R, Bagnoli F. Deep sequencing in pre- and clinical vaccine research. *Public Health Genomics* 2013; 16:62–68.
10. Fraser CM, Eisen JA, Salzberg SL. Microbial genome sequencing. *Nature* 2000; 406:799–803.
11. Fleischmann, R.D., Adams, M.D., White, O., Clayton, R.A., Kirkness, E.F., Kerlavage, A.R., Bult, C.J., Tomb, J.F., Dougherty, B.A., Merrick, J.M., Mckenney, K., Sutton, G., Fitzhugh, W., Fields, C. & Gocayne, J.D., Scott, J., Shirley, R., Liu, L.I., Glode JC. Whole genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* rd. *Science* (80-. ). 1995; 269:496–512.
12. Toneatto D, Pizza M, Masignani V, Rappuoli R. Emerging experience with meningococcal serogroup B protein vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2017; 16:433–451.
13. Dormitzer PR, Grandi G, Rappuoli R. Structural vaccinology starts to deliver. *Nat. Rev. Microbiol*. 2012; 10:807–813.
14. Li S, Nakaya HI, Kazmin DA, Oh JZ, Pulendran B. Systems biological approaches to measure and understand vaccine immunity in humans. *Semin. Immunol*. 2013; 25:209–218.

---

---

# Exploración neurológica del recién nacido y lactante

Desirée González Barrios

Neurología Pediátrica. Servicio de Pediatría  
Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria,  
Santa Cruz de Tenerife

---

---

## Exploración neurológica del recién nacido

La exploración neurológica neonatal merece un capítulo a parte dentro de la exploración neurológica en la infancia, pues el recién nacido presenta unas características propias y específicas, que varían en función de la edad gestacional y del grado de maduración del SNC. Es fundamental dominar la semiología neurológica de esta etapa de la vida para poder diferenciar aspectos normales, propios de la edad gestacional, de aspectos patológicos.

Antes de proceder a la exploración, debemos realizar una anamnesis detallada haciendo especial hincapié a los antecedentes perinatales, edad gestacional, así como situación clínica actual del recién nacido. Es primordial tener en cuenta el momento en el que se realiza el examen, **dado que** la exploración puede variar según el estado en que se encuentre el recién nacido: estado de sueño o vigilia, tranquilo o llorando, antes o después de la toma, etc. En ocasiones es necesario hacer exploraciones seriadas para determinar si realmente existe alguna alteración.

Durante el taller enfocaremos de forma práctica la exploración neurológica del recién nacido. Un examen estructurado y sistemático, siguiendo siempre la misma secuencia de exploración, reduce la posibilidad de pasar por alto alteraciones significativas que impliquen patología neurológica. No obstante, la secuencia debe ser flexible y adaptarse al estado clínico del niño. Desde un punto de vista práctico, tras una observación cuidadosa, evaluaremos de forma sistemática los siguientes aspectos: la capacidad para despertar y la vigilia, el tono y la fuerza muscular, la cantidad y la calidad de los patrones motores espontáneos y ante estímulos, los reflejos primitivos y osteotendinosos, y aspectos de la neuroconducta. Cada uno de ellos es evaluado utilizando unos pocos ítems,

pero en ocasiones se necesita aumentar la profundidad del examen, y según la naturaleza del problema, puede ser necesario la exploración de otros dominios como la sensibilidad, la función troncoencefálica, función de esfínteres, etc.

Mediante la observación del recién nacido podemos obtener importante información sobre su estado neurológico. Prestaremos atención al nivel de alerta, a la postura preferente en reposo, al estado de conducta predominante (estado I: sueño profundo, II: sueño ligero, III: somnoliento, IV: alerta tranquila, V: alerta activa y VI: llanto) y a la actividad motora espontánea: movimientos generales, temblor, sobresaltos, etc. Además en esta etapa analizaremos otros aspectos generales que serán útiles en el enfoque diagnóstico como el color y estado nutricional, la frecuencia y regularidad de la respiración, forma y tamaño de la cabeza, estigmas cutáneos, rasgos dismórficos, etc.

En segundo lugar, valoraremos la reactividad y capacidad para despertar al estímulo, evaluando las características del llanto y los movimientos provocados. Continuaremos con el examen del tono muscular: pasivo (ángulos franceses: poplíteo, maniobra de la bufanda, dorsiflexión del pie, etc) y activo (suspensión ventral, tracción de miembros superiores) así como la fuerza (valorando los movimientos espontáneos o provocados: reflejo de Galant, reflejo de extensión cruzada y respuesta de retirada, etc). Valoraremos los reflejos arcaicos propios del recién nacido (reflejo de moro, de búsqueda, succión, prensión, marcha automática, etc). La exploración secuencial de estos reflejos nos permite a su vez valorar el desarrollo madurativo de forma evolutiva. Los reflejos osteotendinosos en la etapa neonatal tienen escaso valor de forma aislada, dependen de la experiencia del explorador y muestran una gran variabilidad en la intensidad de la respuesta incluso en el mismo paciente, por lo que su

interpretación clínica debe ser considerada con cautela. Por último, analizaremos la neuroconducta del recién nacido: el nivel de alerta, la orientación auditiva al sonajero (desviación de la mirada y giro de la cabeza al estímulo), la orientación visual al estímulo (con una imagen de contraste blanco/negro o un objeto de color rojo), el pico de excitación (umbral del llanto y duración), la consolabilidad, el llanto y la variabilidad de los estados de conducta.

## Exploración neurológica del lactante

Una herramienta clave del examen neurológico en esta etapa de la vida es la exploración del desarrollo psicomotor. Entendemos por desarrollo psicomotor la progresiva adquisición de habilidades del niño, en las diferentes áreas (sociabilidad, lenguaje, manipulación, motora) durante los primeros 4 años de vida. Es imprescindible conocer el desarrollo normal del lactante y las variaciones de la normalidad, dado que en muchas ocasiones, la primera manifestación de enfermedad es un retraso o estancamiento en el desarrollo. Es interesante conocer además los principales signos de alarma que nos obliguen a descartar patología neurológica. Para la evaluación del desarrollo psicomotor es útil el uso sistemático de escalas o test, como la escala de Haizea-Llevant, que utilizaremos de forma práctica en el taller mediante casos clínicos. La valoración se basa fundamentalmente en la entrevista clínica y en la observación (estado de alerta, calidad de la interacción, actividad espontánea, juego, etc) dejando para último lugar la aproximación al niño y su manipulación.

Tras esta evaluación inicial del desarrollo pasaremos a completar la exploración física general (antropometría, perímetro y morfología craneal, auscultación cardiopulmonar y abdomen, evaluación de signos dismórficos, estigmas cutáneos, etc) y neurológica. Valoraremos los reflejos primarios en los primeros meses de vida, teniendo en cuenta la evolución cronológica de los mismos. La exploración de los pares craneales se basa principalmente en la observación (asimetría facial con el llanto, motilidad ocular, deglución, etc). En cuanto al tono muscular, evaluaremos el tono pasivo mediante la extensibilidad

de los ángulos, y el tono activo/postural durante la actividad; así como la palpación de la consistencia de las masas musculares. La fuerza la valoramos mediante la actividad espontánea y provocada, fijándonos en posibles asimetrías en el uso o postura corporal. Los reflejos osteotendinosos pueden estar exaltados sin que esto conlleve significado patológico, en cambio la ausencia generalizada de reflejos nos sugiere patología. El equilibrio y coordinación la evaluaremos mediante el juego: precisión al coger un objeto, llevarse el objeto a la boca, volteo, paso a sentado, gateo, etc. Los resultados deben compararse siempre con lo esperado para su edad. Destacaremos la importancia de la observación de movimientos anormales con o sin significado patológico como la distonía transitoria del lactante, variantes del gateo, estereotipias, etc.

De forma general, y para concluir, es preciso tener en cuenta que el examen neurológico tiene sentido como un todo y que la presencia de un signo aislado tiene poco valor, en sí mismo, para establecer un diagnóstico. Además, la interpretación de toda exploración debe realizarse, siempre, en conjunción con la historia clínica y antecedentes del paciente, pudiendo establecer así una sospecha diagnóstica y si es posible, predecir un pronóstico.

## Bibliografía

- Volpe JJ. Neurological examination: normal and abnormal features. En: Volpe JJ. Neurology of the newborn. 5ª edición. Elsevier. 2008
- García-Alix A, Quero J. Evaluación neurológica del recién nacido. Díaz de Santos. 2012.
- Fejerman N. El examen neurológico. En: Fejerman N, Fernández Álvarez E. Neurología pediátrica. Médica Panamericana. 2007.
- Amiel-Tison C, Gosselin J. Desarrollo neurológico de 0 a 6 años: etapas y evaluación. Narcea. 2006.