



# **"Vacuna contra la gripe pandémica A/H1N1/2009: propuestas para mejorar su eficacia"**

**Ciclo De Metodología Científica II 2020**

**FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**GRUPO 52**

**Autores**

Br. Katherine Gomez<sup>1</sup>

Br. Patricia Lecha<sup>2</sup>

Br. Pamela Lombardo<sup>3</sup>

Br. Pablo Martínez<sup>4</sup>

Br. Micaela Palavecino<sup>5</sup>

**Orientador**

Prof. Adj. Dr. Fernando Silvera<sup>6</sup>

---

<sup>1-5</sup> Bachiller estudiante de Facultad de Medicina de la Universidad de la República (UdelaR)

<sup>6</sup> Profesor Adjunto del Departamento de Biotecnología – Instituto de Higiene

## Índice de contenidos

Resumen:.....	3
Introducción.....	5
Objetivos.....	6
Metodología:.....	7
Pandemias.....	7
Virus de Influenza A H1N1 pandémico.....	7
Manifestaciones clínicas.....	8
Vacunas.....	8
Vacuna universal contra la influenza .....	11
Mecanismo de infección y respuesta del sistema inmune.....	13
Adyuvantes.....	16
Sales de aluminio .....	16
Saponinas y complejos inmunoestimulantes tipos ISCOMs o ISCOMATRIX™ .....	18
AS01.....	20
Emulsiones de agua en aceite.....	21
MF59®.....	21
AS03.....	22
PANDEMIA POR SARS-COV-2 Y EL VIRUS INFLUENZA H1N1 .....	23
Situación de pandemia por SARS-CoV-2: disminución de la circulación del virus Influenza H1N1 en la comunidad .....	23
Discusión.....	25
Conclusión.....	25
Agradecimientos.....	26
Referencias:.....	26

**Resumen:**

Según la Organización Mundial de la Salud cada año ocurren 3 a 5 millones de casos de infecciones graves de gripe y 250.000 a 500.000 muertes a nivel mundial. En Uruguay, la mayoría de las hospitalizaciones se presentan en niños menores de 5 años, mientras que la mayor tasa de mortalidad se observa en mayores de 65 años.

El virus H1N1 es un virus Influenza A y ha sido el responsable de la gripe pandémica ocurrida en 2009. En la actualidad, el mismo circula en la población y es uno de los causantes de la gripe estacional.

Las vacunas son la estrategia costo-beneficio más efectiva para combatir las enfermedades infecciosas. En particular, las vacunas estacionales de la gripe deben ser reformuladas anualmente debido a la gran variabilidad genética que poseen los virus de influenza. A su vez, esta variabilidad dificulta el desarrollo de una vacuna universal para prevenir esta enfermedad. Por otro lado, las vacunas actuales tienen una cobertura subóptima y esto es evidenciado por la morbimortalidad que generan en poblaciones vulnerables (niños, adultos mayores de 65 años, embarazadas e inmunodeprimidos). Sin embargo, existen propuestas para aumentar su eficacia, en donde diferentes formulaciones vacunales son estudiadas con la finalidad de aumentar la inmunogenicidad de las mismas, por ejemplo, a través de la incorporación de adyuvantes.

En esta revisión discutiremos acerca de la eficacia de las vacunas adyuvadas en relación con la vacuna comercial trivalente (no adyuvada) que se administra en nuestro país, así como también a nivel global. Además, analizaremos la información disponible en la base de datos públicos del Ministerio de Salud Pública de Uruguay sobre las infecciones respiratorias agudas graves con muestra positiva para H1N1 en 2018-2019 en comparación al año en curso, en el contexto de la pandemia por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2.

**Palabras clave:** Adyuvantes, vacuna, respuesta inmune, influenza A H1N1.

**Abstract:**

According to the World Health Organization, each year there are 3 to 5 million cases of serious influenza infections and 250,000 to 500,000 deaths worldwide. In Uruguay, the majority of hospitalizations occur in children under 5 years of age, while the highest mortality rate is observed in those over 65 years of age.

The H1N1 virus is an Influenza A virus and has been responsible for the pandemic flu that occurred in 2009. Currently, it circulates in the population and is one of the causes of seasonal flu.

Vaccines are the most effective cost-benefit strategy to combat infectious diseases. In particular, seasonal flu vaccines must be reformulated annually due to the great genetic variability of influenza viruses. In turn, this variability makes it difficult to develop a universal vaccine to prevent this disease. On the other hand, current vaccines have a suboptimal coverage and this is evidenced by the morbidity and mortality they generate in vulnerable populations (children, adults over 65 years of age, pregnant women and the immunosuppressed). However, there are proposals to increase their efficacy, where different vaccine formulations are studied in order to increase their immunogenicity, for example, through the incorporation of adjuvants.

In this review, we will discuss the efficacy of adjuvanted vaccines in relation to the commercial trivalent (non-adjuvanted) vaccine that is administered in our country, as well as globally. In addition, we will analyze the information available in the public database of the Ministry of Public Health of Uruguay on severe acute respiratory infections with a positive sample for H1N1 in 2018-2019 compared to the current year, in the context of the pandemic by the new coronavirus SARS-CoV-2.

**Key words:** Adjuvants, vaccine, immune response, influenza A H1N1.

## Introducción

Las infecciones respiratorias constituyen a nivel mundial un gran problema de salud pública, siendo el principal motivo de consulta durante los meses de invierno en los distintos niveles de atención, desembocando en una elevada morbimortalidad de la población. En Uruguay, se registraron entre el 2018 y 2019 un promedio anual de 1292 casos de hospitalizaciones por insuficiencia respiratoria aguda grave (IRAG)<sup>2</sup>, mientras que para el año en curso estos valores descendieron un 32,6% (421 casos) (tabla 1).

Específicamente, dentro de las infecciones respiratorias, la gripe representa un gran desafío para la salud pública global. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año ocurren de 3 a 5 millones de casos nuevos de infecciones graves de gripe y entre 250.000 a 500.000 muertes a nivel mundial (<https://www.who.int/csr/disease/swineflu/updates/es/>).

En nuestro país, los casos de gripe muestran una curva en ascenso durante los meses mayo-junio. Según datos públicos del Ministerio de Salud Pública (MSP) (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>), en el periodo 2018-2019 las hospitalizaciones ascendieron a 35 y 30 respectivamente, mientras que los ingresos en cuidados intensivos alcanzaron el número de 15 y 11 respectivamente. Es de destacar que para el año 2020 y hasta la fecha que se registraron estos datos las hospitalizaciones y los ingresos en cuidados intensivos representan solo 1 caso. Finalmente, los fallecimientos a causa de esta infección para el periodo 2018-2019 ascendieron a 4, mientras que en el año en curso no se reportaron defunciones por H1N1 hasta el final de la revisión (tabla 2).

La gripe es una enfermedad respiratoria aguda causada por el virus Influenza, con elevada tasa de contagios, pudiendo ser potencialmente grave en ciertos grupos de riesgo como lo son niños menores de 5 años y adultos mayores de 65 años; así como también embarazadas y todas aquellas personas que presentan enfermedades crónicas y/o afecciones de su sistema inmunológico.

Los virus Influenza forman parte de la familia Orthomyxoviridae que se encuentra integrada por tres especies A, B y C. Los virus Influenza A producen infecciones en humanos y en animales, mientras que Influenza B y C causan únicamente enfermedades en humanos<sup>1</sup>. En particular, estos virus ARN presentan espículas glicoproteicas en su superficie denominadas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), importantes en el proceso de infección de las células humanas. La porción más externa de la proteína hemaglutinina es altamente inmunogénica (por lo que es utilizada como antígeno vacunal) y vulnerable a los cambios estructurales a nivel de

---

<sup>2</sup> IRAG: Definida como el conjunto de signos y síntomas incluyendo fiebre de inicio brusco (>38°C), tos o expectoración, dificultad para respirar y que por su gravedad requieren hospitalización.

aminoácidos. Las mutaciones aleatorias que se presentan en esta región altamente plástica de hemaglutinina no afectan la función de la misma, pero pueden interferir en el reconocimiento de anticuerpos.

Por otro lado, la deriva antigénica que es la acumulación de estos cambios relativamente menores a lo largo del tiempo, da como resultado variantes del virus Influenza que ya no son neutralizadas de manera efectiva por los anticuerpos producidos en respuesta a una infección previa. Es esta plasticidad antigénica lo que ha impedido, hasta la actualidad, el desarrollo de una vacuna universal y efectiva contra la gripe por el virus Influenza. Este es el fundamento por el que ocurren epidemias anuales con posibilidad, incluso, de ocasionar pandemias<sup>2</sup>.

**Tabla 1.** Casos de IRAG\* reportado por el MSP de Uruguay para los años 2018-2020. (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>)

<b>Año 2018</b>	<b>Año 2019</b>	<b>Año 2020</b>
1330	1255	421

Los casos de IRAG hacen referencia a todo paciente que presente inicio brusco de fiebre (>38°C) + tos o expectoración + dificultad para respirar y que es hospitalizado por esta causa.

Insuficiencia respiratoria aguda grave\*

**Tabla 2.** Morbimortalidad por el virus H1N1 pandémico reportado por el MSP de Uruguay para los años 2018-2020 (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>).

	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>
<b>Hospitalizaciones</b>	35	30	1
<b>UCI*</b>	15	11	1
<b>Muertes</b>	0	4	0

HOSPITALIZACIONES hace referencia al número de pacientes ingresados por IRAG al hospital.

UCI hace referencia al número de pacientes ingresados por IRAG a la unidad de cuidados intensivos.

MUERTES hace referencia al número de pacientes hospitalizados con IRAG que fallecieron en el período seleccionado.

Unidad de cuidados intensivos\*

## Objetivos

1. Discutir la eficacia de la Vacuna Trivalente Inactivada contra Influenza no adyuvada en comparación con las vacunas adyuvadas.

2. Analizar información sobre la incidencia de infecciones respiratorias agudas en Uruguay presente en la base de datos del Ministerio de Salud Pública en el período 2018/2019 en comparación con las del año 2020 en contexto de la pandemia por Covid-19.

### **Metodología:**

Se procedió a la lectura de artículos científicos a través de los sitios de búsqueda bibliográfica recomendados tales como PubMed, Google Académico, Mendeley y Timbó.

A su vez, se analizaron los datos de Insuficiencia Respiratoria Aguda Grave (IRAG), disponibles en el sitio web de la División de Epidemiología de Infecciones Hospitalarias del MSP (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu?>), estableciéndose como período de análisis desde el 1° de enero hasta el 30 de septiembre de los años 2018, 2019 y 2020. Este margen temporal común a los tres años, se seleccionó de forma tal que los resultados obtenidos durante el procesamiento de los datos sean objetivos.

### **Pandemias**

Históricamente, los virus Influenza han generado pandemias, por ejemplo, las producidas por el virus Influenza H1N1 en 1918, seguida por la pandemia del virus H2N2 en 1957. Luego, la causada por el virus H3N2 en 1968. La última pandemia atribuida a esta familia fue la ocasionada por el virus A H1N1 en 2009 por lo que tienen gran relevancia a nivel de la salud pública.

El origen de estas pandemias es explicado por la presencia de glicoproteínas de superficie HA y NA en estos virus, para las cuales el sistema inmune humano es relativamente ingenuo. Luego de algunos años, los virus generadores de pandemias continúan circulando y son causantes de epidemias debido a que luego de la primera infección se genera una inmunidad poblacional significativa con respuestas de anticuerpos contra HA y NA<sup>3</sup>.

### **Virus de Influenza A H1N1 pandémico**

La pandemia del año 2009 a causa del virus Influenza A H1N1, afectó fundamentalmente a niños (60%), adultos jóvenes y a personas con patologías cardiorrespiratorias. Se estima que 200 millones de personas contrajeron el virus. Según datos obtenidos de diferentes países, la media de edad de infectados se encontraba entre los 12 y 17 años. Esta distribución de datos sugiere que poblaciones de mayor edad con respecto a este rango etario desarrollaron cierta inmunidad contra el virus debido a contactos previos con el mismo. La hipótesis se basa en

estudios que muestran que el 33% de las personas mayores de 60 años tienen reacciones cruzadas de anticuerpos contra H1N1, observadas en un test de inhibición de la hemaglutinina y un test de neutralización<sup>4</sup>.

### **Manifestaciones clínicas**

El virus A H1N1 genera una infección respiratoria alta, por lo general leve y autolimitada que se presenta con hipertermia, astenia, adinamia, mialgias, tos, rinorrea, conjuntivitis, cefaleas, odinofagia, malestar general y menos frecuentemente pueden aparecer vómitos y diarrea. No obstante, la presentación clínica es variable, observándose desde casos asintomáticos a otros con gran severidad en los que se presenta neumonía, distrés respiratorio, daño en múltiples órganos, culminando, muchas veces, en la muerte de los pacientes.

Se ha evidenciado que la mayoría de los pacientes que fallecen a causa de la infección por el virus A H1N1 presentan comorbilidades asociadas<sup>4</sup>.

En este sentido, con el objetivo de disminuir la alta morbimortalidad, la estrategia más costo-efectiva para prevenir la enfermedad en la actualidad, es la inmunización a la población por medio de las vacunas.

### **Vacunas**

La palabra vacuna proviene de “vacca”, término designado para hacer referencia a la linfa de la viruela bovina, utilizada en la inmunización de la viruela humana. En cuanto al origen de las vacunas, el científico Edward Jenner en 1798 inyectó el virus de la viruela bovina en humanos y observó que menor número de personas desarrollaron formas menos graves de la enfermedad cuando eran desafiados con la viruela humana. Posteriormente en 1881, Pasteur elaboró una vacuna contra la enfermedad del carbunco obteniendo resultados similares. Durante el siglo XIX no se elaboraron más vacunas. Sin embargo, se comenzaron a desarrollar técnicas para la inactivación de microorganismos<sup>5</sup>.

Debemos tener en cuenta las consideraciones de la OMS sobre la vacunación a gran escala. Las vacunas deben ser inocuas, producir un efecto significativo contra la enfermedad objetivo y ser eficaces en la población diana. Deben poder adaptarse a los calendarios y plazos de los programas de vacunación sin generar interacciones adversas inmunitarias con otras vacunas que se administran en paralelo([https://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1\\_safety\\_vaccines\\_20090805/es/](https://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_safety_vaccines_20090805/es/)).

A modo de referencia describimos las diferentes fases del desarrollo que deben cumplir las vacunas para su licenciamiento (extraído

de, <https://www.historyofvaccines.org/es/contenido/articulos/desarrollo-pruebas-y-reglamentos-para-las-vacunas>).

**Fase preclínica:** los resultados experimentales en torno a la tolerancia y eficacia en modelos animales sustentan la investigación consecuente en humanos, testeando así la seguridad y capacidad de desencadenar respuestas inmunológicas.

**Fase I:** se investiga la nueva vacuna en etapa experimental en una muestra pequeña y representativa de la población en general (aproximadamente 100 personas), evaluándose efectos biológicos desencadenantes, seguridad e inmunogenicidad. Se incluye en esta etapa el estudio de vías de administración y dosis.

**Fase II:** se testea la vacuna en un sector más amplio de la población. El número de sujetos asciende a 200 – 500, haciendo hincapié en la seguridad y se evalúan los ensayos que determinan la eficacia de la vacuna. Las metas son estudiar la vacuna en referencia a capacidad inmunógena, dosis, vía de administración y seguridad.

**Fase III:** el objetivo es continuar profundizando en la seguridad, así como también en la eficacia de la prevención de enfermedades, involucrando una mayor cantidad de voluntarios. La cifra asciende a cientos de miles de participantes en uno o más países. Las pruebas en esta fase son aleatorias (elección al azar de los sujetos de investigación) y doble ciego (herramienta que previene sesgos por parte del observador y del sujeto, ocultando información del tratamiento instaurado). La finalidad de las mismas es permitir la comparación entre las vacunas experimentales y el placebo (solución salina, vacuna contra otra enfermedad o incluso alguna otra sustancia). Constituye el paso previo a la aprobación de la vacuna.

**Fase IV:** comienza una vez que la vacuna es aprobada y corresponde a la vigilancia epidemiológica para continuar evaluando su seguridad y efectos adversos. La importancia de esta etapa radica en que después de que se otorga la autorización oficial, se examina minuciosamente por los Centros para el Control de Enfermedades (CDC) y la Food and Drug Administration (FDA) a lo largo del tiempo, es decir continuamente se está actualizando la base de datos.

En particular y teniendo en cuenta el impacto a nivel de la salud pública y la necesidad de desarrollar estrategias costo-beneficio efectivas para combatir la gripe, se han desarrollado vacunas contra esta infección. Las vacunas que actualmente se aplican para prevenir la influenza van dirigidas a la generación de anticuerpos contra la hemaglutinina del virus. Actualmente existen dos tipos de vacunas, las que utilizan virus inactivados y las que son formuladas con virus atenuados. Las vacunas de virus inactivados normalmente contienen tres

tipos de hemaglutinina, una cepa viral de influenza A de subtipo H1, una cepa de influenza A del subtipo H3 y una de influenza tipo B<sup>6</sup>. A su vez, la mayoría de las vacunas inactivadas consisten en virus fragmentados o antígenos de influenza a subunidades (proteínas virales de hemaglutinina y neuraminidasa, purificadas de manera parcial luego de la inactivación química o de la fragmentación con detergentes). Pueden ser tanto trivalentes como cuadrivalentes. En la mayoría de los países se utilizan las de virus fragmentados o a subunidad dado que las vacunas formuladas con virus vivos son altamente reactogénicas. Sin embargo, la elaboración de éstas, ya sea ante la aparición de un virus emergente o como parte de la formulación anual, tarda de 3 a 6 meses<sup>7,8</sup>.

Para la formulación de estas vacunas, existe una concentración mínima de HA que debe estar presente en la preparación vacunal, sin embargo, la cantidad y calidad de la neuraminidasa varía según el fabricante. Por otro lado, en las vacunas a subunidades, los antígenos HA y la NA se purifican más que en las anteriores, separando otros componentes del virus, por lo tanto, son más definidas y más costosas<sup>7</sup>.

La vacuna que se utiliza actualmente en nuestro país es la que recomienda la OMS, la Vacuna Trivalente Inactivada (VIT) no adyuvada. Ésta se administra por vía intramuscular en el deltoides en niños mayores de un año o en la cara anterolateral del muslo en niños de 6 a 12 meses de vida, siendo necesario administrar hasta los 36 meses de vida la mitad de la dosis utilizada para adultos. Sin embargo, la misma no debe ser administrada a niños menores de 6 meses. El problema de la VIT radica en que posee una alta eficacia en niños mayores de 6 años pero tiene una protección deficiente en menores de 2 años<sup>2</sup>.

Con respecto a las vacunas atenuadas a virus vivos, en el año 2003, se aprobó en EEUU una vacuna (AstraZeneca) que se administra por vía intranasal (actualmente no disponible en Uruguay), que contiene cepas de virus de Influenza atenuadas, adaptadas al frío. Esta propiedad es la que le permite tanto al virus de influenza como a otros virus respiratorios, replicarse a las temperaturas más bajas de las vías respiratorias superiores. Sin embargo, no son capaces de infectar el tracto respiratorio bajo debido a su incapacidad de replicarse por la temperatura corporal más alta de ese sector<sup>2</sup>.

Entre las ventajas que los virus atenuados presentan, está la capacidad de inducir una respuesta inmune a nivel sistémico y de mucosas. Sin embargo, en los estudios en los que se ha comparado la efectividad de ambos tipos de vacunas mencionadas anteriormente, no se han encontrado diferencias significativas. La tendencia en vacunación contra influenza consiste en intentar sustituir las vacunas que son desarrolladas en huevos embrionados de pollo por vacunas obtenidas a partir de cultivos celulares, dentro de las que pueden obtenerse virus atenuados,

inactivados y partículas de proteínas virales como las VLPs. Éstas últimas si bien no son virus en sí mismos, presentan igualmente la capacidad de inducir una respuesta inmune y conferir protección<sup>9,10</sup>([http://revistadivulgatio.web.unq.edu.ar/wpcontent/uploads/sites/65/2016/11/D5\\_R\\_EV1\\_deganzo\\_2018.pdf](http://revistadivulgatio.web.unq.edu.ar/wpcontent/uploads/sites/65/2016/11/D5_R_EV1_deganzo_2018.pdf)).

En comparación con las vacunas tradicionales (inactivadas o atenuadas) contra el virus de Influenza, las nuevas generaciones de vacunas emplean avances tecnológicos destinados a inducir una amplia protección cruzada y una mayor inmunogenicidad. Estos avances incluyen el diseño racional de antígenos, plataformas de administración más eficientes, tecnología de liberación controlada del antígeno y estrategias de adyuvantes integradas<sup>9,10</sup>.

### **Vacuna universal contra la influenza**

Existen diversos antígenos que se encuentran conservados, los cuales poseen un alto potencial para formular con ellos vacunas universales contra el virus influenza. Para el desarrollo de las vacunas universales estarían implicados diseños de antígenos de epítomos proteicos; por lo general, estos “target” están menos expuestos al sistema inmunológico del huésped y, por lo tanto, soportan menos cambios antigénicos derivados de la respuesta inmunitaria. Dichos antígenos son débilmente inmunogénicos, pero se espera que provoquen respuestas inmunitarias con una reactividad más amplia si el sistema inmunitario del huésped los presenta y detecta de forma adecuada. Actualmente, los epítomos conservados que residen en la proteína de la matriz de la influenza 2 (M2) y la región del tallo de HA son de gran interés para el diseño mejorado de nuevos antígenos vacunales. Además, los mismos epítomos se pueden presentar en una variedad de plataformas que incluyen proteínas solubles con adyuvantes, subunidades o epítomos de dominio fusionados a una proteína transportadora, partículas similares a virus (VLP) y nanopartículas<sup>11</sup>.

En los virus de la influenza A humana, M2e se conserva completamente en sus 9 aminoácidos N-terminales y es una proteína integrada en la envoltura del virus influenza, se expresa en la membrana de las células infectadas por este virus y se incorpora parcialmente en los viriones nacientes<sup>12</sup>. Debido a su alta conservación entre los virus de influenza A, M2e se ha considerado un objetivo prometedor para inducir protección cruzada contra diferentes virus de influenza. Sin embargo, las respuestas inmunitarias específicas de M2e provocadas por las vacunas estacionales o la infección viral son bajas debido a su baja inmunogenicidad como resultado de su densidad de epítomos relativamente baja (1 a 3 copias por virus) y su tamaño más pequeño en comparación con los otros dos antígenos de superficie HA y NA, que puede proteger a M2e del sistema inmunológico del huésped<sup>13</sup>.

La HA es el principal antígeno de Influenza que induce respuestas de anticuerpos neutralizantes durante la vacunación y la infección viral. Los anticuerpos neutralizantes actúan principalmente contra el dominio del sector distal de la HA, que está sujeto a frecuentes cambios antigénicos y, por lo tanto, es muy variable entre los diferentes subtipos. En comparación, la secuencia del dominio del tallo proximal a la membrana está altamente conservada entre los virus que pertenecen al mismo grupo filogénico, presentando así un objetivo prometedor para el diseño de vacuna universal. Ha surgido evidencia sustancial para apoyar la idea de que una vacuna basada en el tallo es capaz de provocar respuestas inmunes con una eficacia amplia en cuanto a protección cruzada. Una perspectiva diferente podría ser tener en cuenta algunos factores fundamentales para desarrollar una vacuna universal que aproveche el poder de las células T. Las estrategias de vacunas actuales implican el uso de proteínas de superficie para el desarrollo de las mismas, inhibiendo la infección viral en el huésped pero sin producir epítomos de células T conservados. Por el contrario, las proteínas internas se conservan más eficazmente entre diferentes cepas de vacuna antigripal inactivada (IAV) y sus subtipos, lo que es de gran interés en la protección cruzada. Los datos existentes de estudios en humanos informan de la eficacia limitada tanto de IAV como de la vacuna antigripal viva atenuada (LAIV), que debe tenerse en cuenta a la hora de desarrollar una vacuna inductora de células T. Esta vacuna tendría el potencial de producir una respuesta de células T memoria, capaz de reconocer una variedad de virus Influenza diferente e incluso no relacionados, al dirigirse a secuencias de péptidos lineales conservadas en diferentes cepas y subtipos de virus Influenza. Un detalle crucial es la evaluación de la memoria de las células T que es específica para influenza en humanos es más exigente en comparación con los enfoques serológicos utilizados para evaluar las respuestas de anticuerpos, como los ensayos de la inhibición de la hemaglutinación (HAI)<sup>13</sup>.

En definitiva, el desarrollo de la vacuna universal contra la influenza atrae una atención considerable debido a su gran importancia y potencial para la salud pública. La urgente necesidad de una preparación completa contra la influenza estacional y pandémica requiere no solo un diseño delicado de antígenos y un sistema de administración de vacunas eficiente, sino también un conocimiento profundo de los mecanismos involucrados en la inmunidad provocada. El emocionante progreso discutido anteriormente es muy prometedor para un espectro completo de protección universal a través de esta nueva generación de vacunas. Por otro lado, existe gran potencial para la formulación de vacuna universal en cuanto al enfoque de las células T. Sin embargo, las principales limitaciones serían la vida corta de las células T residentes, el escape viral y las funciones de los alelos HLA en la cobertura de la población. No obstante, el potencial para el reconocimiento de las células T contra los virus Influenza es inmenso<sup>11,13</sup>.

## Mecanismo de infección y respuesta del sistema inmune

Los virus Influenza ingresan al organismo a través de las superficies mucosas del tracto respiratorio, donde se unen por medio de la hemaglutinina (HA) a residuos terminales de ácido siálico presentes en las mucinas. La neuraminidasa (NA) libera el virus atrapado separando los residuos terminales de ácido siálico<sup>3</sup>.

Asociado a este proceso de colonización se dispara la respuesta inmune contra la infección, causando inflamación, congestión y necrosis epitelial en las vías aéreas. Durante este proceso de colonización, los virus Influenza son visibles para el sistema inmune pudiendo inducir una respuesta de anticuerpos dirigida mayormente contra las proteínas de superficie HA y NA<sup>3</sup>. Además de la respuesta de anticuerpos producida por los linfocitos B, y la activación de los linfocitos T contribuyen a limitar la infección. Tanto linfocitos T citotóxicos específicos de la gripe como las células efectoras de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos que detectan la glicoproteína HA, son responsables de que los virus deban modificar sus antígenos de superficie a través de mutaciones puntuales para continuar infectando. Este proceso recibe el nombre de deriva antigénica<sup>1</sup> y es característico de estos virus, por lo que cada año emergen nuevas cepas que ocasionan epidemias estacionales y en ocasiones pandemias, constituyendo una amenaza constante a nivel de la salud pública que debe atenderse con premura. Por esta razón las vacunas contra Influenza deben ser reformuladas anualmente<sup>3</sup>.

La primoinfección deja una huella inmunológica, por lo que exposiciones posteriores a cepas antigénicamente diferentes aumentan las respuestas a estos epítomos compartidos, es por esto que la respuesta de recuerdo inmunológico depende del historial de exposición de la persona a las diferentes cepas virales<sup>14</sup>.

Los anticuerpos contra Influenza pueden persistir durante meses o años, aunque en ciertos grupos de alto riesgo (adultos mayores de 65 años) puede observarse una disminución de su concentración a los pocos meses de la infección o de la vacunación.—Esto se explica por el fenómeno de senescencia, motivo por el cual desafortunadamente, individuos de avanzada edad responden de forma insuficiente a la vacunación debido al deterioro de su sistema inmune<sup>14</sup>.

El mecanismo y el papel de la senescencia, generador de mayor susceptibilidad a infecciones virales, ha sido abordado en las últimas décadas como un problema relevante para los individuos de mayor edad. Muchos son los factores que afectan el deterioro a nivel inmunológico sin

**Tabla 3.** Casos confirmados según el rango etario con muestras del virus H1N1 pandémico reportado por el MSP de Uruguay para los años 2018-2020 (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>).

---

<b>Edad</b>	<b>Período 2018</b>	<b>Período 2019</b>	<b>Período 2020</b>
<b>Hasta 5m</b>	5	1	0
<b>6-11m</b>	2	3	0
<b>12-23m</b>	3	5	0
<b>2-4 a</b>	8	5	0
<b>5-9 a</b>	3	1	0
<b>10-14a</b>	1	0	0
<b>15-19a</b>	0	0	0
<b>20-24a</b>	0	0	0
<b>25-39</b>	1	0	0
<b>40-49</b>	1	2	0
<b>50-59</b>	3	5	0
<b>60-64</b>	0	1	0
<b>&gt;64</b>	8	7	1
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>30</b>	<b>1</b>

---

embargo aún no ha sido dilucidado, lo que implica la necesidad de continuar con estos estudios<sup>15</sup>.

Una de las estrategias clave para mejorar la inmunogenicidad de las vacunas y de alguna forma poder hacer frente a la inmunosenescencia es el uso de **adyuvantes**. Estas sustancias de origen diverso, han sido utilizadas en vacunas contra la gripe, por ejemplo emulsiones de agua en aceite MF59 y AS03 han sido licenciadas para vacunas contra la influenza estacional y pandémica, debido a que han demostrado aumentar su eficacia y la inmunogenicidad en los adultos mayores<sup>9,10</sup>. A su vez, AS01 (adyuvante basado en liposomas) fue recientemente aprobado para vacunas de proteínas recombinantes contra el virus del herpes zoster y ha demostrado alto rango de protección contra el mismo en la población en la que se realizó el ensayo<sup>16,17</sup>.

Comprender más profundamente los cambios inmunológicos básicos que ocurren a lo largo de la vida y el modo de acción de los adyuvantes es un requisito para desarrollar formulaciones vacunales óptimas y lograr así superar las limitaciones del sistema inmune asociadas al envejecimiento.

El virus de Influenza incide de forma importante en la morbimortalidad a nivel mundial resultando en un aumento de las hospitalizaciones y muertes en pacientes de edad avanzada. Se ha observado este incremento en pacientes mayores de 65 años en comparación con pacientes más jóvenes, correspondiendo el 90% de las muertes por esta causa al rango etario de mayor riesgo, por lo cual, la OMS recomienda la vacunación anual en la población mayor de 65 años

(World Health Organization, 2018). Este patrón está presente también en nuestro país, donde se observa que gran parte de los casos confirmados con muestra para este virus se encuentra dentro de este rango etario, conjuntamente con los menores de 5 años cuyo sistema inmune aún es inmaduro como ya fue mencionado anteriormente (Tabla 3 y gráfica 1).

**Gráfica 1-** N° de casos de IRAG\* por H1N1 en las poblaciones de riesgo reportado por el MSP de Uruguay para los años 2018-2020 (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>).

---

*Insuficiencia respiratoria aguda grave\**

La efectividad de la vacuna en los adultos mayores no es igual a la observada en poblaciones más jóvenes vacunadas con una formulación trivalente inactivada (VIT), no adyuvada contra Influenza. La eficacia y efectividad de las vacunas disminuye con la edad debido al impacto a nivel funcional que se genera en el sistema inmune<sup>18</sup>.

Recientemente, Henry et. al. evidenció la respuesta de las células B a la vacunación en adultos mayores contrastándola con la de personas jóvenes, observando que las células B de estos últimos mostraron una continua acumulación de mutaciones mientras que en las de los adultos mayores se observó un repertorio esencial y fijo de células B sin adaptaciones que permitieran la maduración de las células B para combatir nuevas cepas de Influenza. A su vez, en relación a las células T, las personas de edad avanzada que recibieron la vacuna contra Influenza han mostrado defectos que resultan en una respuesta inmune deficiente a las vacunas en la producción de granzima B e IFN- $\gamma$  a partir de células T CD8<sup>19</sup>.

Para aumentar la eficacia de las vacunas contra Influenza en la población anciana se manejan nuevos enfoques como: aumentar la concentración del antígeno en la formulación vacunal, administrarlas por vía mucosa o intradérmica y uso de adyuvantes, lo cual es avalado en las revisiones realizadas por Diaz Granados y Tsai<sup>20,21</sup>.

Para comprender completamente el papel subyacente del envejecimiento en relación a la susceptibilidad a la infección por Influenza y la disminución de la eficacia de la vacuna será necesario evaluar a futuro nuevas tecnologías para el desarrollo de vacunas óptimas para esta población.

Bajo esta misma línea los autores SambharayMcelhaney (2009) apoyan la evidencia de que la respuesta inmune disminuye con la edad debido a alteraciones en las funciones inmunes innatas y adaptativas provocando que la vacuna no brinde una protección adecuada en esta

población. Por lo tanto, son los adultos mayores, una población objetivo importante para la vacunación anual contra la Influenza. La eficacia de la vacuna para prevenir la infección es baja y el riesgo de complicaciones graves de estas infecciones se ve potenciado por el aumento de la edad (senescencia) y de las enfermedades concomitantes. Por lo tanto, los esfuerzos deben estar dirigidos a desarrollar vacunas con **adyuvantes** específicamente formulados para adultos mayores, logrando así una respuesta inmunológica óptima<sup>14</sup>.

### **Adyuvantes**

Los adyuvantes representan una estrategia adecuada para mejorar los resultados de una vacuna. La palabra adyuvante es un adjetivo proveniente del latín "adjuvare" que significa ayudar. La utilización de este término se debe a Ramón Gastón (veterinario), quien en 1925 observa que la respuesta inmunológica a las antitoxinas puede ser incrementada añadiendo sustancias como agar, lectinas, tapioca, entre otras. Estos compuestos inocuos de diferente estructura química, forman parte de la vacuna y modulan y/o aumentan la respuesta inmune específica contra patógenos, permitiendo que la misma sea más eficaz y prolongada.

Con la incorporación de un adyuvante en la vacuna se alcanza un mayor efecto con menores dosis de antígeno y menor número de inoculaciones. Esto permitiría la rápida elaboración de vacunas y su abastecimiento a nivel mundial en contexto de pandemias<sup>22</sup>.

Hasta el momento existen pocos adyuvantes aprobados por la FDA para su uso en vacunas humanas. Los adyuvantes más utilizados son: sales de aluminio, MF59<sup>®</sup>, AS03, AS01, AS04, y ODN CpG (oligodesoxinucleótidos de citosina fosfoguanosina, no metilados) que describiremos más adelante. Sin embargo, sus mecanismos de acción y las vías de señalización celular que activan aún no son del todo conocidos<sup>23</sup>.

En los últimos años, se han producido avances con respecto al desarrollo de nuevos adyuvantes, algunos con resultados prometedores, como en el caso de las saponinas y las formulaciones en base a estas como los ISCOMs o ISCOMATRIX<sup>15</sup>. Por ejemplo, AS01 (adyuvante basado en liposomas que combina QS21 y MPL) fue recientemente aprobado para vacunas de proteínas recombinantes contra el virus del herpes zoster y ha demostrado alto rango de protección contra el mismo en la población en la que se realizó el ensayo<sup>16,17</sup>.

A continuación, describiremos los adyuvantes utilizados en vacunas contra influenza tratando de analizar sus ventajas y desventajas sobre la respuesta inmunológica que estos promueven.

### **Sales de aluminio**

En el año 1926, el aluminio se convirtió en el primer adyuvante en ser comercializado, siendo utilizado para mejorar una vacuna antidiftérica<sup>16</sup>. Se conocía, de esta manera, la capacidad del mismo de potenciar el efecto de las vacunas, a la vez que daba inicio a una nueva era, caracterizada por la realización de múltiples estudios de diferentes adyuvantes<sup>23</sup>.

Los adyuvantes a base de sales de aluminio que han sido aprobados por la FDA actualmente incluyen: hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y aluminio amorfosulfato de hidroxifosfato. Además, TWINRIX® y PEDIARIX® contienen ambos; hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio<sup>23</sup>.

De las vacunas adyuvadas, las que contienen sales de aluminio como adyuvante son las más utilizadas en todo el mundo<sup>17</sup>. De hecho, existen en la actualidad 25 tipos diferentes de vacunas adyuvadas con sales de aluminio. Sin embargo, solo una vacuna contra el virus Influenza licenciada que utiliza sales de aluminio se encuentra disponible en Europa y en EEUU<sup>23</sup>.

El mecanismo de acción de la estimulación del sistema inmune por parte de las sales de aluminio no se conoce completamente. Sí parece haber evidencia científica suficiente de que dicho adyuvante induce una respuesta Th2 favorable y una escasa o nula respuesta Th1. La inducción de una respuesta Th2, se lograría a través de la estimulación y la diferenciación de las células T que son activadas efectivamente por una de sus tres señales moleculares producidas por células dendríticas maduras y el entorno de diferenciación local inducido por citoquinas proinflamatorias. Las dos primeras señales son proporcionadas por la presentación de antígeno y moléculas coestimuladoras. La tercera señal, el aluminio induciría una producción de IL-1b e IL-18 por células dendríticas. Estas células pueden promover la diferenciación a su vez, de células T CD4+ en Th2 efectoras. Para este adyuvante se han propuesto varios mecanismos que explicarían la actividad inmunoestimuladora de las sales de aluminio<sup>23</sup>.

Uno de ellos se basa en el *efecto de depósito* a corto plazo que consiste en la liberación continua y extendida en el tiempo del antígeno en el sitio de inyección. Sin embargo, algunos estudios que han utilizado toxoide tetánico como antígeno adsorbido por fosfato de aluminio en algunas vacunas, han determinado que el antígeno se elimina rápidamente al cabo de algunas horas. No obstante, no se ha evidenciado un aumento significativo en las respuestas de anticuerpos<sup>23,24</sup>.

Otros mecanismos propuestos plantean que el antígeno unido a las sales de aluminio en una fuerte interacción electrostática, mejoraría no solo la absorción del antígeno, sino también la presentación del mismo por parte de las células presentadoras de antígenos (APC del inglés, "antigen presenting cells") La adsorción o retención temporal del antígeno, permitiría mantener una alta concentración local del mismo, facilitando su internalización<sup>23</sup>.

Actualmente el mecanismo más aceptado es la activación del inflammasoma NLRP3 (del inglés, "NLR Family Pyrin Domain Containing 3") y la consecuente producción de citocinas pro inflamatorias tales como la IL1-β e IL-18. Esto explicaría su habilidad para generar una reacción inflamatoria local, reclutamiento de APC, maduración de células dendríticas, una mayor internalización de antígeno y estimulación y diferenciación de células T<sup>23,25</sup>.

Por último, otra teoría es la posible perturbación de la membrana plasmática de las células dendríticas por parte del aluminio. Si bien éste no ingresaría a dichas células, ofrecería antígeno

soluble a través del reordenamiento lipídico de la membrana celular. Esto conduciría a la captación de antígeno, a un aumento en la regulación de células T CD4+ sumado a la activación del sistema del complemento, logrando respuestas del sistema inmune más efectivas por parte de células B y células dendríticas. De todas formas, hacen falta más estudios que permitan confirmar estos mecanismos<sup>23</sup>.

Desde el conocimiento del aluminio como adyuvante, se han utilizado vacunas basadas en aluminio tanto con virus influenza estacional como pandémica aviar en todo el mundo. Sin embargo, los resultados obtenidos no han sido tan prometedores como se hubiera esperado.

La formulación del virus Influenza en fosfato de aluminio aumentó la inmunogenicidad de la vacuna en ratones pero no logró mejorar la respuesta de anticuerpos en comparación a una vacuna no adyuvada en individuos sanos<sup>26,27</sup>. A pesar de este fracaso, durante 1960 y 1970 muchas vacunas inactivadas contra Influenza (virión entero, fraccionado o a subunidad) que se encontraban comercialmente disponibles tanto en Europa como en Estados Unidos, seguían siendo preparadas con sales de aluminio. No fueron eliminadas hasta la década de 1980, impulsadas por la evidencia de que el adyuvante aumentaba la reactogenicidad de la vacuna en tanto no mejoraba su inmunogenicidad<sup>27</sup>.

En este sentido, el uso de sales de aluminio fue reconsiderado para el desarrollo de vacunas contra el virus de la gripe aviar A / H5N1. Se reportaron algunos resultados controvertidos. De hecho, si se observó alguna mejora, la misma fue inferior a la proporcionada por adyuvantes de aceite en agua, ahorrando dosis y aumentando la capacidad de respuesta a la vacuna en todas las edades (incluidas las personas de edad avanzada)<sup>27</sup>.

En la última década, se han realizado diversos estudios, obteniéndose diferentes resultados. Si bien se ha evidenciado el potencial de las sales de aluminio para reducir las cantidades de antígeno se han reportado efectos secundarios leves (20%) en vacunas a virus entero inactivado. A su vez, se constató mayor seroconversión en aplicación intramuscular en comparación a la administración subcutánea (65%), así como también luego de segunda dosis por vía intramuscular (75%)<sup>28</sup>.

Por todo lo anterior, las sales de aluminio no parecerían ser una buena opción como adyuvante para vacunas contra Influenza.

-

### **Saponinas y complejos inmunoestimulantes tipos ISCOMs o ISCOMATRIX™**

Las **saponinas** (del latín *sapo*, "jabón") son glucósidos de triterpenoides, esteroides o de alcaloides esteroideos que se encuentran ampliamente distribuidos en los vegetales y en algunos organismos marinos. Se llaman de esta manera debido a que presentan propiedades similares a las del jabón<sup>29,30</sup>.

En particular las saponinas del árbol de *Quillaja Saponaria*(QuilA<sup>®</sup> y QS-21) han sido exitosamente comercializadas para su uso como adyuvantes de vacunación<sup>31</sup>.

Por sí mismas las saponinas en solución interactúan con el colesterol presente en las membranas celulares, provocando la lisis de la célula. En cambio, cuando se combinan con esteroides forman complejos inmunoestimulantes tipo ISCOMs o ISCOMATRIX<sup>™</sup>, pierden sus propiedades citotóxicas como la actividad hemolítica pero mantienen su actividad inmunoestimulante<sup>30,32,33</sup>.

Los ISCOM, formulaciones con antígeno, fueron reportados por Morein y colaboradores en 1984. Se trata de un sistema adyuvante integrado, compuesto por saponinas de *Q. Saponaria* colesterol y fosfolípidos que, combinados entre sí, dan lugar a una estructura en forma de jaula de 40 nm de diámetro. Como sus componentes son sintéticos o extraídos de plantas, perfectamente puede mezclarse con diferentes tipos de antígenos para formular la vacuna de interés<sup>32,34</sup>.

El adyuvante ISCOMATRIX<sup>™</sup> ha sido evaluado como parte de vacunas terapéuticas contra el virus del Papiloma Humano (HPV), el virus de la hepatitis C (VHC), de una vacuna profiláctica trivalente contra Influenza estacional, de vacuna de la gripe pandémica H7N9 y de una vacuna profiláctica contra el dengue cuadrivalente<sup>33,35</sup>. Ésta formulación a diferencia del ISCOM, redonda en una preparación en donde el antígeno inicialmente no está presente sino que es añadido luego, en un paso posterior.

Es efectivo tanto en la administración de antígeno como en la estimulación inmunológica y presenta diferencias con respecto a otros sistemas adyuvantes. A diferencia de las sales de aluminio, promueven una respuesta mixta Th1/Th2 con la activación de células T CD8 citotóxicas.

Pese a que el mecanismo de acción de los ISCOMS e ISCOMATRIX es desconocido, la estimulación inmunológica se produce a través de la inducción de cascadas de citoquinas y quimioquinas que facilitan la activación de células dendríticas y de otros efectores inmunes innatos<sup>36</sup>.

Se ha demostrado en ensayos clínicos que ISCOMATRIX<sup>™</sup> es seguro y generalmente bien tolerado en todas las poblaciones estudiadas y en las distintas combinaciones antígeno-adyuvante, con respecto a su perfil de reatogenicidad local y sistémico<sup>33</sup>. Las reacciones locales que se presentaron fueron leves a moderadas y se resolvieron en cuatro días. El efecto adverso sistémico más común se trató de un síndrome similar a gripe y no se detectaron trastornos alérgicos o autoinmunes<sup>19</sup>. No obstante, en estudios donde fue comparado con placebo, presentó mayor reatogenicidad (tanto local como sistémica), en comparación con el primero. De todas formas la misma fue leve, autolimitada y de corta duración<sup>32</sup>.

La evidencia del adyuvante ISCOMATRIX™ en vacunas para adultos mayores de 65 años, ha demostrado que el mismo es capaz de superar la inmunosenescencia característica de esta etapa de la vida<sup>34</sup>.

Debido a la situación epidemiológica actual de pandemia por SARS COV-2, se están realizando múltiples esfuerzos en formular una vacuna eficaz contra este virus<sup>37</sup>. En este sentido, la vacuna NVX-CoV2373 (actualmente en fase 1 y 2 de desarrollo) (<https://www.precisionvaccinations.com/vaccines/nvx-cov2373-sars-cov-2-vaccine>), es una vacuna recombinante de nanopartículas de coronavirus 2 (rSARS-CoV-2), compuesta por la glucoproteína “Spike” y el adyuvante Matrix-M1 formulado en base a saponina de *Q. saponaria*.

Matrix-M1 resultó beneficioso en el incremento de la magnitud de los anticuerpos, en la respuesta de las células T, en la inducción de anticuerpos neutralizantes y en el ahorro de dosis de antígeno.

Novavax, Inc. ha demostrado un perfil de seguridad e inmunogenicidad aceptable del adyuvante en más de 4300 participantes expuestos al mismo, con edades comprendidas entre los 5 meses y los 85 años de edad<sup>37</sup>.

Además, la nanopartícula de hemaglutinina de Influenza estacional y Matrix-M1 han demostrado inmunidad funcional de inducción y respuestas de células T en adultos mayores, incluidos aquellos con ciertas comorbilidades, quienes constituyen la población de mayor riesgo para desarrollar enfermedad COVID-19 severa. Actualmente ya ha comenzado la fase 2 en base a los resultados de seguridad del análisis primario y la fase 3 se encuentra en etapas preparatorias<sup>37</sup>.

### **AS01**

El AS01 es una formulación liposomal compuesta por MPL y QS-21 que induce respuestas potentes tanto humorales como mediadas por células citotóxicas.

Como se dijo anteriormente, QS-21 es una saponina purificada extraída de la corteza de árbol de *Q. saponaria* considerada la molécula “gold” estándar debido a su potente capacidad inmunoestimulante. En el sistema adyuvante AS01 es el que más contribuye a la respuesta de anticuerpos, y al combinarse con MPL este efecto se potencia ya que esta molécula es un agonista de TLR4 (del inglés, Toll-like receptor 4).

Con respecto al mecanismo de acción hay evidencia que sugiere que el inflamasoma ASC-NLRP3 es responsable de la liberación de IL-1 $\beta$  / IL-18 inducida por QS-21.

Existen características específicas de la respuesta inmune innata desencadenada por AS01 que lo distinguen de otros sistemas adyuvantes. No se observa ningún efecto de depósito. Por otro lado, se constata un fuerte aumento de una amplia población de APC activadas.

A su vez, se evidencia una sinergia entre MPL y QS-21 que conduce a una mayor respuesta específica de antígeno. AS01 dirige la respuesta hacia una vía predominantemente impulsada por IFN- $\gamma$  que puede reforzar la respuesta inmune celular y promover el cambio de isotipo de anticuerpos.

Actualmente este sistema ha sido licenciado para ser utilizado en vacunas comerciales contra herpes zóster y malaria<sup>22,23,38</sup>. En un ensayo de eficacia de fase 3, demostró que la vacuna contra herpes zóster poseía una eficacia del 97,2% para prevenir esta enfermedad en adultos  $\geq 50$  años. La vacuna tenía un perfil de seguridad clínicamente aceptable. Las reacciones en el lugar de la inyección y la mialgia fueron los síntomas notificados con mayor frecuencia. Estos eventos fueron transitorios, con una duración media de 1 a 3 días<sup>17,38</sup>.

En el caso de la vacuna antipalúdica RTS, S/AS01 también evidenció un perfil de seguridad clínico aceptable. La primera vacuna contra la malaria contenía AS02 en lugar del adyuvante AS01. Sin embargo, posteriormente se reportó que la efectividad de la misma era mayor con la utilización de AS01 por lo que éste pasó a ser el componente definitivo de la vacuna<sup>38</sup>.

### **Emulsiones de agua en aceite**

#### **MF59®**

Los adyuvantes de aceite mineral desde la década de 1950 han demostrado su capacidad para ahorrar dosis significativas de antígeno, así como también para potenciar la respuesta de anticuerpos específicos y la persistencia de los mismos por al menos de 2 a 9 años. Sin embargo, en aquel entonces dichos aceites minerales no eran metabolizables ni excretables, generando eventos adversos graves. Esto impidió durante varios años el desarrollo de nuevos adyuvantes a base de aceite<sup>27</sup>.

Recién en el año 1997 surge el MF59® que se comenzó a utilizar en una vacuna contra influenza a subunidades en mayores de 65 años. Se demostró por primera vez en el año 2001, en un estudio realizado por Nicholson y col. que la incorporación del adyuvante MF59® a una vacuna inactivada contra Influenza A/H5N3, mejoraba significativamente las respuestas de anticuerpos en sujetos jóvenes sanos. Cinco años más tarde, Atmar y col. evidenciaron que las respuestas de anticuerpos séricos que se obtuvieron después de una sola dosis de vacuna adyuvada, fueron mayores que las observadas después de dos dosis de vacuna sin adyuvante<sup>39</sup>.

Se logró mejorar la formulación reemplazando estos aceites minerales no metabolizables por el escualeno, componente fisiológico del cuerpo humano, precursor del colesterol y de las hormonas esteroideas<sup>27</sup>.

Se demostró en pacientes ancianos y adultos con comorbilidades tales como enfermedades respiratorias y/o cardiovasculares graves, trastornos metabólicos, inmunodepresión, cáncer, etc., que las VIT adyuvadas con MF59® generaron una respuesta inmune mayor que aquellas no

adyuvadas, provocando mayor capacidad de seroconversión y seroprotección en los individuos. A su vez, en los grupos de pacientes mencionados anteriormente también se evidenció que la adición de MF59® aumentaba la capacidad de VIT, provocando inmunidad cruzada contra distintas cepas del virus no incluidas en ésta. Debido a la frecuencia con la que los virus Influenza desarrollan variaciones genéticas, ésta parece ser la ventaja inmunitaria más importante de MF59®<sup>40</sup>.

### **AS03**

En investigaciones realizadas décadas después, se logró desarrollar un adyuvante denominado AS03 compuesto por D $\alpha$ -tocoferol, escualeno y detergente no iónico polisorbato 80.

Debido a las similitudes con MF59®, se postula que AS03 tendría un mecanismo de acción similar al mismo<sup>28, 40</sup>.

En algunos estudios realizados, se evidenció que AS03 generó títulos más altos de anticuerpos, pero también con mayor reactividad con respecto al MF59®, mientras que las vacunas con adyuvante MF59® indujeron una respuesta de anticuerpos más baja pero aceptable y exhibieron un perfil de seguridad significativamente mejor<sup>22</sup>. De todos modos, ambos evidenciaron un mayor potencial de estimulación del sistema inmune en comparación a las sales de aluminio en diferentes estudios<sup>28</sup>.

En la actualidad, AS03 ha sido aprobado para vacunas contra Influenza pandémica (A H1/N1), siendo considerado, en general, seguro y bien tolerado. Se ha observado además que logra mejorar tanto la potencia como la amplitud de las respuestas inmunes humorales<sup>7</sup>.

Sin embargo, existe escasa información disponible sobre las ventajas clínicas del uso del mismo, por lo que aún se desconoce si el aumento de la inmunogenicidad se acompaña siempre de una disminución real de la incidencia de la infección por virus Influenza<sup>28,40</sup>.

Es innegable que las vacunas inactivadas contra la gripe han contribuido durante las últimas décadas al reducir la mortalidad y morbilidad asociadas a las epidemias estacionales de gripe, principalmente en adultos mayores y a atenuar el impacto nocivo de las últimas pandemias. Sin embargo, su eficacia y efectividad lejos están de ser óptimas.

El uso de adyuvantes ha mejorado significativamente su eficacia en niños pequeños y en ancianos, permitiendo ahorrar dosis significativas, mejorar la inmunogenicidad y generar una memoria inmunológica duradera, constituyendo hasta el momento una de las estrategias más prometedoras. Sin embargo, varias áreas aún necesitan una mejora significativa en el campo de desarrollo de vacunas para lograr el objetivo final de una amplia cobertura y un impacto en la salud pública de todos los grupos etarios.

## **PANDEMIA POR SARS-COV-2 Y EL VIRUS INFLUENZA H1N1**

En el presente trabajo creemos conveniente y de utilidad realizar un estudio comparativo de los casos de Influenza reportados en los años 2018 y 2019 con respecto al año 2020, el cual transcurre en contexto de pandemia por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2, del *inglés*, severe acute respiratory syndrome coronavirus), agente causal de la enfermedad COVID-19.

Con este propósito, se realizó el análisis de los datos de Insuficiencia Respiratoria Aguda Grave (IRAG), disponibles en el sitio web de la División de Epidemiología de Infecciones Hospitalarias del MSP (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu?>). Para ello, se estableció como intervalo de análisis desde el 1° de enero hasta el 30 de septiembre de los años 2018, 2019 y 2020. Este periodo fue seleccionado debido a que la presente revisión bibliográfica fue hecha hasta el mes de noviembre del año 2020, por lo tanto, para que hubiera representatividad de los datos, se estableció un margen temporal similar para los tres años comprendidos.

Asimismo, dada la similitud que comparten estas patologías respiratorias, es que surge el interés de comparar la Influenza por H1N1 y el COVID 19, ambas con potencial pandémico.

En primer lugar, ambas son enfermedades infecciosas virales emergentes, por lo tanto, en su momento de aparición no se contaba con una vacuna contra las mismas, al inicio del brote. En segundo lugar, los agentes responsables de estas enfermedades pueden ser transmitidos por pacientes tanto sintomáticos como asintomáticos, lo que aumenta la dificultad diagnóstica de estos. En tercer lugar, estas dos patologías tienen una vía de transmisión y síntomas clínicos similares a los de la Influenza estacional, lo que dificulta su diferenciación. Existen múltiples factores que pueden contribuir con el manejo inicial del brote pandémico como ser la presencia de comorbilidades, inmunosupresión, embarazo, edad avanzada. A su vez, lo dicho previamente se ve directamente influenciado tanto por la velocidad de respuesta en los centros de atención como las medidas de prevención y control que se lleven a cabo<sup>41</sup>

### **Situación de pandemia por SARS-CoV-2: disminución de la circulación del virus Influenza H1N1 en la comunidad**

Para el 2020 los casos de Influenza H1N1 se redujeron en un 97% con respecto a los años 2018 y 2019, lo cual postulamos se debe a medidas adoptadas en el contexto de la pandemia por SARS-CoV-2. Dentro de estas medidas que se pueden abordar en dos niveles de organización, nivel social e individual. A nivel social estas medidas fueron: teletrabajo, suspensión de espectáculos públicos, suspensión presencial de actividades educativas (primaria, secundaria, universidad). Mientras que a nivel individual se impulsaron medidas como el distanciamiento físico (2 metros), uso de tapabocas, confinamiento en los hogares, lavado de manos recurrente, utilización de alcohol en gel y mayor frecuencia en el uso desinfectantes en el hogar, entre otras.

La sumatoria de estas acciones provocó un impacto positivo al mantener una baja tasa de contagios de COVID-19 (<https://www.gub.uy/sistema-nacional-emergencias/pagina-embedida/visualizador-casos-coronavirus-covid-19-uruguay>), disminuyendo, a su vez, la transmisión de otras infecciones respiratorias agudas (Gráfica 2), dentro de ellas la causada por el virus Influenza estacional H1N1. Se logró aislar este virus sólo en 1 paciente durante el período enero-setiembre del año 2020, en contraste con el total de 35 y de 30 casos aislados en 2018 y 2019 respectivamente (Tabla 4).

**Gráfica 2.** Porcentaje de los virus aislados en pacientes con IRAG reportados por el MSP de Uruguay para los años 2018-2020 (<http://colol.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>).

---

Tabla4. Virus aislados reportados por el MSP de Uruguay para el periodo 2018- 2020 (<http://colo1.msp.gub.uy/epidemiologia/servlet/iraggrafmenu>).

	<b>Año 2018</b>	<b>Año 2019</b>	<b>Año 2020</b>
Influenza A H1N1	35	30	1
Otros subtipos Influenza A	15	12	0
Influenza B	6	2	0
VRS*	122	70	0
Otros virus respiratorios	15	8	1
<b>TOTAL</b>	<b>193</b>	<b>122</b>	<b>2</b>

Tabla Que Corresponde Al N.º Muestras Analizadas Que Fueron Positivas Para Distintos Virus Respiratorios

*Virus Respiratorio Sincitial\**

## **Discusión**

Teniendo en cuenta que los virus que causan estas enfermedades tienden a circular mayoritariamente durante los meses de invierno, los resultados obtenidos en Uruguay hasta el 30 de septiembre del año 2020, en contexto de emergencia sanitaria, demostraron la efectividad de las medidas sugeridas por el Grupo Asesor Científico Honorario (GACH) en conjunto con el gobierno nacional de forma temprana y aceptadas en gran medida por la población.

Estos resultados coinciden con las proyecciones realizadas por los profesionales de la salud consultados en este trabajo. Tanto la Dra. Catalina Pérez (Prof. Clínica Pediátrica de la Facultad de Medicina-UdelaR y vicepresidenta de la Comisión Honoraria de la Lucha Antituberculosa) como la Dra. Mariana Baz (Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas de la Université Laval, de Québec, Canadá) durante las entrevistas realizadas en el contexto de este trabajo, nos anticiparon sobre la posible disminución en el número de hospitalizaciones por IRAG con respecto a años anteriores. Estos resultados claramente se atribuyen a las medidas adoptadas en el contexto de la presente pandemia que anteriormente detallamos (Tabla 3).

## **Conclusión**

En la actualidad no existe una intervención sanitaria preventiva más costo-efectiva que la inmunización a través de la vacunación, la cual evita millones de hospitalizaciones y muertes anuales, no solo por gripe sino por diversas enfermedades infecciosas. De esta manera, entendemos que es imprescindible la realización de nuevas investigaciones para continuar mejorando la eficacia de las vacunas en los grupos de riesgo. Las vacunas pueden y deben ser mejoradas especialmente en aquellos rangos etarios (ancianos) donde han sido poco efectivas.

Esta mejora, se puede lograr con la adición de adyuvantes, que además de aumentar la capacidad inmunogénica de los antígenos, promueven respuestas inmunes polarizadas hacia el fenotipo adecuado (humoral y/o celular) para combatir la infección de forma exitosa.

### **Agradecimientos**

Nuestro más sincero agradecimiento al Prof. Adj. del Depto. Desarrollo Biotecnológico Dr. Fernando Silvera que, gracias a su conocimiento y dedicación a la docencia, nos ha guiado en este proceso de aprendizaje.

Agradecemos a la Dra. Catalina Pirez (Prof. Clínica Pediátrica de la Facultad de Medicina-UdelaR y vicepresidenta de la Comisión Honoraria de la Lucha Antituberculosa) y la Dra. Mariana Baz Baz (Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas de la Université Laval, de Québec, Canadá) que con sus aportes, han ayudado a enriquecer nuestra revisión.

### **Referencias:**

1. Departamento de Bacteriología y Virología. *Temas de Bacteriología y Virología Médica.*; 2008.
2. Ivan Roitt Peter Delves, Seamus Martin DB. *Inmunología: Fundamentos.* Ivan Roitt Peter Delves, Seamus Martin, Dennis Burton; 2015.
3. Krammer F. The human antibody response to influenza A virus infection and vaccination. *Nat Rev Immunol.* Published online 2019. doi:10.1038/s41577-019-0143-6
4. Girard MP, Tam JS, Assossou OM, Kieny MP. The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review. *Vaccine.* Published online 2010. doi:10.1016/j.vaccine.2010.05.031
5. Garrido Bañuelos G. *Virus Influenza: La Gripe A.*; 2010.
6. Romero Beltrán L, Ayora - Talavera G. Virus Influenza: Aplicación de nuevas estrategias para el desarrollo de una vacuna. *Rev Biomédica.* Published online 2014. doi:10.32776/revbiomed.v25i1.58
7. Wei CJ, Crank MC, Shiver J, Graham BS, Mascola JR, Nabel GJ. Next-generation influenza vaccines: opportunities and challenges. *Nat Rev Drug Discov.* Published online 2020. doi:10.1038/s41573-019-0056-x
8. Corder BN, Bullard BL, Poland GA, Weaver EA. A decade in review: A systematic review of universal influenza vaccines in clinical trials during the 2010 decade. *Viruses.* 2020;12(10). doi:10.3390/v12101186
9. O'Hagan DT, Ott GS, De Gregorio E, Seubert A. The mechanism of action of MF59 - An innately attractive adjuvant formulation. *Vaccine.* Published online 2012. doi:10.1016/j.vaccine.2011.09.061
10. Cohet C, van der Most R, Bauchau V, et al. Safety of AS03-adjuvanted influenza vaccines: A review of the evidence. *Vaccine.* Published online 2019.

- doi:10.1016/j.vaccine.2019.04.048
11. Zhang H, Wang L, Compans RW, Wang BZ. Universal influenza vaccines, a dream to be realized soon. *Viruses*. Published online 2014. doi:10.3390/v6051974
  12. Reina J. La vacuna universal frente al virus influenza A basada en la proteína de matriz M2. *Vacunas*. Published online 2006. doi:10.1016/S1576-9887(06)73183-1
  13. DePasse J V., Nowalk MP, Smith KJ, et al. Exploring the potential public health benefits of universal influenza vaccine. *Hum Vaccines Immunother*. Published online 2019. doi:10.1080/21645515.2019.1619406
  14. Sambhara S, McElhaney JE. Immunosenescence and Influenza Vaccine Efficacy. In: ; 2009. doi:10.1007/978-3-540-92165-3\_20
  15. Oh SJ, Lee JK, Shin OS. Aging and the immune system: The impact of immunosenescence on viral infection, immunity and vaccine immunogenicity. *Immune Netw*. Published online 2019. doi:10.4110/in.2019.19.e37
  16. Chlibek R, Bayas JM, Collins H, et al. Safety and immunogenicity of an ASO1 -adjuvanted varicella-zoster virus subunit candidate vaccine against herpes zoster in adults  $\geq 50$  years of age. *J Infect Dis*. Published online 2013. doi:10.1093/infdis/jit365
  17. Cunningham AL, Lal H, Kovac M, et al. Efficacy of the herpes zoster subunit vaccine in adults 70 years of age or older. *N Engl J Med*. Published online 2016. doi:10.1056/NEJMoa1603800
  18. Van Buynder PG, Konrad S, Van Buynder JL, et al. The comparative effectiveness of adjuvanted and unadjuvanted trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in the elderly. *Vaccine*. Published online 2013. doi:10.1016/j.vaccine.2013.07.059
  19. Henry C, Zheng NY, Huang M, et al. Influenza Virus Vaccination Elicits Poorly Adapted B Cell Responses in Elderly Individuals. *Cell Host Microbe*. Published online 2019. doi:10.1016/j.chom.2019.01.002
  20. DiazGranados CA, Dunning AJ, Kimmel M, et al. Efficacy of high-dose versus standard-dose influenza vaccine in older adults. *N Engl J Med*. Published online 2014. doi:10.1056/NEJMoa1315727
  21. Li KP, Chang PC, Cheng MC, et al. Sequence diversity and associated pathogenicity of the hemagglutinin cleavage site of H5N2avian influenza viruses isolated from chickens in Taiwan during 2013–2015. *J Vet Med Sci*. Published online 2017. doi:10.1292/jvms.16-0356
  22. Adyuvantes para vacunas: tipos, aplicaciones y modos de acción. *Rev Mex Ciencias Farm*. 2016;47(3):29-47.
  23. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: Understanding the structure and mechanism of adjuvanticity. *Vaccine*. Published online 2019. doi:10.1016/j.vaccine.2019.04.055

24. Aimanianda V, Haensler J, Lacroix-Desmazes S, Kaveri S V., Bayry J. Novel cellular and molecular mechanisms of induction of immune responses by aluminum adjuvants. *Trends Pharmacol Sci*. Published online 2009. doi:10.1016/j.tips.2009.03.005
25. Marty-Roix R, Vladimer GI, Pouliot K, et al. Identification of QS-21 as an inflammasome-activating molecular component of saponin adjuvants. *J Biol Chem*. Published online 2016. doi:10.1074/jbc.M115.683011
26. Davenport FM, Minuse E, Hennessy A V., Francis T. Interpretations of influenza antibody patterns of man. *Bull World Health Organ*. Published online 1969.
27. Giudice G Del, Rappuoli R. Inactivated and adjuvanted influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol*. Published online 2015. doi:10.1007/82\_2014\_406
28. Egli A, Santer DM, Barakat K, et al. Vaccine adjuvants - Understanding molecular mechanisms to improve vaccines. *Swiss Med Wkly*. Published online 2014. doi:10.4414/smw.2014.13940
29. K. Hostettmann AM. *Saponins*.; 1995.
30. Sparg SG, Light ME, Van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol*. Published online 2004. doi:10.1016/j.jep.2004.05.016
31. Magedans YVS, Yendo ACA, Costa F De, Gosmann G, Fett-Neto AG. Foamy matters: An update on Quillaja saponins and their use as immunoadjuvants. *Future Med Chem*. Published online 2019. doi:10.4155/fmc-2018-0438
32. McKenzie A, Watt M, Gittleson C. ISCOMATRIX™ vaccines: Safety in human clinical studies. *Hum Vaccin*. Published online 2010. doi:10.4161/hv.6.3.10754
33. Bigaeva E, van Doorn E, Liu H, Hak E. Meta-analysis on randomized controlled trials of vaccines with QS-21 or IScomatrix adjuvant: Safety and tolerability. *PLoS One*. Published online 2016. doi:10.1371/journal.pone.0154757
34. Morelli AB, Becher D, Koernig S, Silva A, Drane D, Maraskovsky E. ISCOMATRIX: A novel adjuvant for use in prophylactic and therapeutic vaccines against infectious diseases. *J Med Microbiol*. Published online 2012. doi:10.1099/jmm.0.040857-0
35. Maraskovsky E, Schnurr M, Wilson NS, Robson NC, Boyle J, Drane D. Development of prophylactic and therapeutic vaccines using the ISCOMATRIX adjuvant. *Immunol Cell Biol*. Published online 2009. doi:10.1038/icb.2009.21
36. Spreafico R, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. The controversial relationship between NLRP3, alum, danger signals and the next-generation adjuvants. *Eur J Immunol*. Published online 2010. doi:10.1002/eji.200940039
37. Keech C, Albert G, Cho I, et al. Phase 1–2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine. *N Engl J Med*. Published online 2020. doi:10.1056/nejmoa2026920
38. Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N.

- Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev Vaccines*. Published online 2017. doi:10.1080/14760584.2016.1213632
39. Atmar RL, Keitel WA. Adjuvants for Pandemic Influenza Vaccines. In: ; 2009. doi:10.1007/978-3-540-92165-3\_16
  40. Principi N, Esposito S. Adjuvanted influenza vaccines. *Hum Vaccines Immunother*. Published online 2012. doi:10.4161/hv.8.1.18011
  41. Wang Q, Zhang T, Zhu H, et al. Characteristics of and public health emergency responses to COVID-19 and H1N1 outbreaks: A case-comparison study. *Int J Environ Res Public Health*. Published online 2020. doi:10.3390/ijerph17124409