

# Uso de la inmunoinformática en el diseño de vacunas basadas en epítomos

José de Jesús Lira Ricárdez<sup>1</sup>, Lucía Ortega Cabello<sup>1</sup>,  
Yolanda Margarita Sánchez Castilleja<sup>2</sup>, Jorge Joel Reyes Méndez<sup>3</sup>

**Resumen.** Los epítomos, subunidades de un antígeno, son cruciales en la respuesta inmunitaria adaptativa. Interactúan con los receptores de los linfocitos T colaboradores (Th), citotóxicos (Tc) y B, desencadenando la producción de citocinas y anticuerpos. Para asegurar una respuesta eficaz, ya sea postinfecciosa o postvacunal, los epítomos deben cumplir ciertas propiedades como antigenicidad, inmunogenicidad, alergenicidad y otras características fisicoquímicas. Actualmente, el desarrollo de vacunas más eficaces se apoya en herramientas inmunoinformáticas que permiten la predicción de epítomos con las propiedades deseadas. Con el fin de presentar a los profesionales de la salud humana y animal las herramientas inmunoinformáticas para la creación de vacunas basadas en epítomos, esta revisión explora su aplicación en el diseño de vacunas contra enfermedades en ambos ámbitos. La información se obtuvo mediante una búsqueda booleana en Google Académico, Scopus, Scirus y la biblioteca digital de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (BidiUAM).

**Palabras clave:** Vacunas, Epítomos, Inmunoinformática, MHC, Linfocitos.

<sup>1</sup> Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México. Correo electrónico: jlira@correo.xoc.uam.mx

<sup>2</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México.

<sup>3</sup> Departamento de Atención a la Salud. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Ciudad de México.

**Abstract.** *Epitopes, subunits of an antigen, are crucial in the adaptive immune response. They interact with receptors on B, helper T (hT), and cytotoxic T (cT) lymphocytes, triggering the production of cytokines and antibodies. To ensure an effective response, whether post-infectious or post-vaccination, epitopes must meet specific criteria of antigenicity, immunogenicity, allergenicity, and other physicochemical characteristics. Currently, the development of more effective vaccines relies on immunoinformatics tools that allow the prediction of epitopes with the desired properties. This review aims to introduce human and animal health professionals to immunoinformatics tools used in the creation of epitope-based vaccines. It explores their application in designing vaccines for both human and animal diseases. The data was compiled through a comprehensive boolean search of Google Scholar, Scopus, Scirus, and the Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco's digital library (BidiUAM).*

**Keywords:** *Vaccines, Epitopes, Immunoinformatics, MHC, Lymphocytes.*

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de vacunas es fundamental para la prevención y control de enfermedades infecciosas, protegiendo la salud pública tanto en humanos como en animales. Ejemplos notables incluyen las vacunas contra la influenza o gripe aviar (H5N1), parvovirus (parvovirus), así como las producidas contra brucelosis (*Brucella* spp) y leptospirosis (*Leptospira* spp) en animales; en humanos se dispone, entre otras, de vacunas contra la viruela (*variola*), difteria (*Corynebacterium diphtheriae*), tétanos (*Clostridium tetani*), poliomielitis (poliovirus) y, más recientemente, COVID-19 (SARS-CoV-2). Desde la variolización del siglo XVIII hasta el desarrollo de metodologías clásicas —como la inactivación fisicoquímica del patógeno o la purificación de antígenos—, el proceso de creación de vacunas ha evolucionado significativamente. Aunque tradicionalmente estos métodos podían tardar hasta 15 años (Brisse *et al.*, 2020), han generado un amplio catálogo de vacunas bacterianas y virales que han contribuido a la prevención, control y erradicación de enfermedades (Mascola & Fauci, 2019).

Sin embargo, la aparición de nuevas enfermedades infecciosas, la reemergencia de patógenos conocidos, la resistencia a antibióticos, la ineficacia de algunas vacunas existentes y el incremento de la población humana que facilita la propagación de enfermedades (Oli *et al.*, 2020), han impulsado a los investigadores a buscar estrategias innovadoras. La integración de la tecnología del ADN recombinante, la proteómica y, crucialmente, las herramientas bioinformáticas han revolucionado la investigación, selección y evaluación de posibles epítomos para el desarrollo de vacunas.

Este avance representa un reto significativo para la investigación clínica y la industria farmacéutica, con el objetivo de prevenir futuras epidemias y pandemias de manera efectiva y segura, minimizando las reacciones adversas.

El presente trabajo abordará brevemente el desarrollo y funcionamiento de las vacunas, para luego profundizar en casos específicos de diseño de vacunas basadas en la selección de epítopos y las perspectivas futuras que ofrecen las diversas herramientas de la bioinformática en este campo.

## Generalidades de las vacunas

De acuerdo a la OMS, las vacunas se forman a partir de agentes infecciosos, sus fracciones o toxinas, mismas que, administradas en un individuo, estimulan al sistema inmune celular y humoral, generando memoria inmunológica capaz de reconocer de manera más rápida y eficaz al agente causal en subsecuentes “encuentros” (World Health Organization, 2021). Dicho estímulo, está en dependencia de ciertas propiedades biológicas y características fisicoquímicas que se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Propiedades biológicas y características fisicoquímicas que deben cumplir las vacunas

Propiedades biológicas	Características fisicoquímicas
Antigenicidad. Es la capacidad de una vacuna para inducir una respuesta inmune, generando anticuerpos y células de memoria.	Peso molecular. Indica el tamaño de la molécula, es decir, es la suma de los pesos atómicos de todos los aminoácidos que conforman una proteína. Es expresado en kilodaltons.
Afinidad. Indica la fortaleza con la que los anticuerpos se unen a los antígenos de la vacuna.	Punto isoelectrico. Es el pH donde la molécula de la vacuna tiene carga neta cero, influyendo tanto en su solubilidad como en su formulación y estabilidad.
Alergenicidad y toxicidad. Reflejan el riesgo de reacciones alérgicas o efectos secundarios graves, respectivamente (Sharma <i>et al.</i> , 2021; Ryan <i>et al.</i> , 2024).	Estabilidad. Se refiere a la capacidad de la vacuna de mantener sus propiedades originales a lo largo del tiempo, bajo ciertas condiciones de almacenamiento y administración (Anupamjeet <i>et al.</i> , 2024; Nahian <i>et al.</i> , 2025).

## Seguridad y beneficios de las vacunas

Las vacunas, aunque esenciales para la salud pública, pueden provocar reacciones adversas leves como inflamación, dolor o enrojecimiento en el sitio de inyección, febrícula, dolor de cabeza y muscular.

Estas manifestaciones suelen resolverse espontáneamente en unas 48 horas, sin dejar secuelas. En raras ocasiones, pueden presentarse reacciones de hipersensibilidad inmediata (tipo I) o alergias, comúnmente asociadas a componentes de la vacuna, como los adyuvantes. Estos últimos se incorporan para potenciar la respuesta inmune (celular y/o humoral) a largo plazo, permitiendo el uso de una menor cantidad de antígeno por dosis. Sin embargo, adyuvantes como el hidróxido de aluminio y el fosfato de aluminio han sido vinculados a casos de anafilaxia (una reacción alérgica aguda y sistémica) (Mitkus *et al.*, 2011; Perea-Valle *et al.*, 2022).

Otras reacciones adversas, aunque muy fortuitas, incluyen: abscesos en el sitio de inyección, hipersensibilidad tipo II, convulsiones, parálisis facial y el Síndrome de Guillain-Barré (SGB) (WHO, 2013). El SGB es una afección aguda del sistema nervioso periférico que se ha reportado en algunos pacientes vacunados contra COVID-19 (Arce *et al.*, 2021; Waheed *et al.*, 2021). No obstante, una revisión sistemática reciente de Abuawwad *et al.* (2024), que abarcó 103 estudios y 175 casos, no identificó factores predisponentes y sugiere que la asociación entre la vacuna contra COVID-19 y el SGB podría ser una confusión.

Es indudable que los beneficios de la vacunación superan ampliamente los eventos adversos descritos. Las vacunas brindan una protección individual y colectiva vital, previniendo enfermedades graves y contribuyendo al control o erradicación de otras, tanto en la salud humana como animal.

## Las vacunas y el sistema inmune

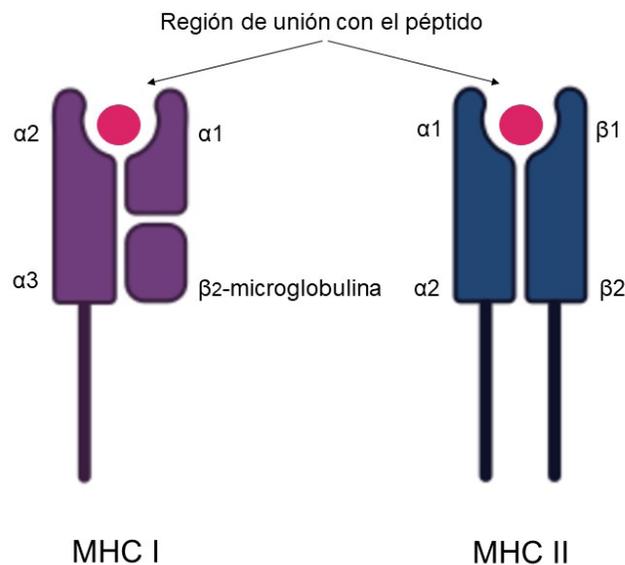
Para que una vacuna sea efectiva, es imprescindible que el sistema inmune reconozca componentes específicos del antígeno, conocidos como epítomos. Estos epítomos establecen uniones clave con las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), cuya denominación varía según la especie (por ejemplo, HLA en humanos, DLA en caninos, SLA en cerdos y BoLA en bovinos).

Las moléculas de MHC de clase I se encuentran en la superficie de la mayoría de las células nucleadas. Estructuralmente, se componen de dos cadenas polipeptídicas unidas no covalentemente: una cadena pesada  $\alpha$  y una  $\beta_2$ -microglobulina de menor peso molecular (Figura 1). La cadena  $\alpha$  presenta tres dominios extracelulares ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\alpha_3$ ). Los dominios  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  forman un surco donde se ancla covalentemente un epítomo de 8 a 11 aminoácidos. Los extremos de este epítomo se fijan a regiones conservadas del MHC mediante puentes de hidrógeno. La  $\beta_2$ -microglobulina, interactúa con el correceptor CD8 de los linfocitos T citotóxicos a través de enlaces no covalentes (Figura 2) (Abbas *et al.*, 2023; Tizard, 2024).

Por otro lado, las moléculas de MHC de clase II se expresan de forma constitutiva y principalmente en células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas, macrófagos y linfocitos B. Son heterodímeros formados por dos cadenas polipeptídicas asociadas no covalentemente, denominadas  $\alpha$  y  $\beta$  (Figura 1). Ambas cadenas poseen una región transmembrana y una cola intracitoplasmática.

Sus dominios extracelulares ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ) están interconectados por puentes disulfuro. Las regiones  $\alpha_1$  y  $\beta_1$  forman la hendidura de unión para epítopos de mayor longitud, de 9 a 25 aminoácidos. El asa  $\beta_2$  establece contacto con el correceptor CD4 de los linfocitos T colaboradores (Figura 3) (Sánchez-Trincado *et al.*, 2017; Racle *et al.*, 2023; Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2023).

**Figura 1.** Estructura del complejo mayor de histocompatibilidad clase I y clase II

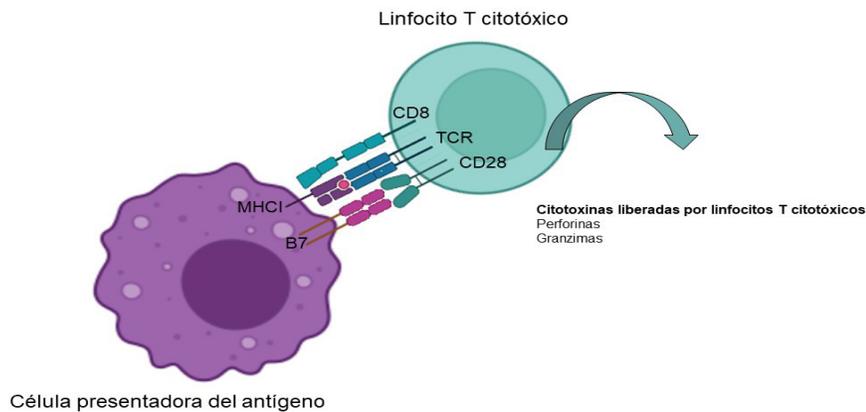


Cabe mencionar, que los epítopos deben ser lineales para presentar una mejor interacción con las hendiduras del MHC, para ser posteriormente presentados a los linfocitos T (Soria-Guerra *et al.*, 2015). En contraste, los epítopos para los linfocitos B pueden basarse en la estructura primaria de los antígenos (continuos, lineales) o su estructura secundaria tridimensional (discontinuos o conformacionales), para favorecer la inducción de la respuesta inmune humoral (Raoufi *et al.*, 2020).

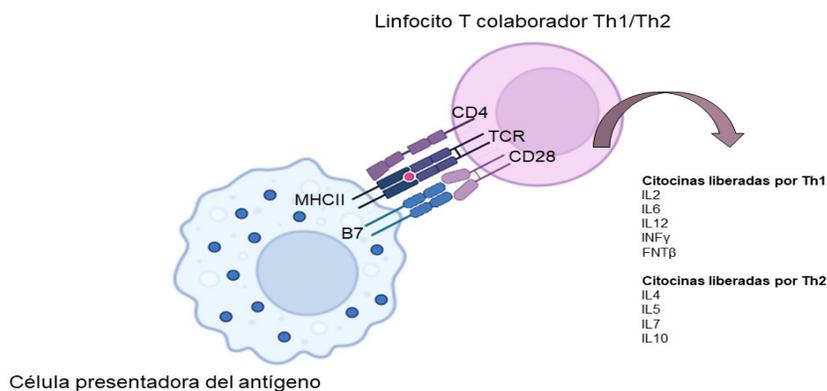
La interacción del epítipo-MHC I con linfocitos T citotóxicos (Tc) a través de sus receptores TCR, CD8 y CD28, estimulan la liberación de perforinas y granzimas. Las primeras, son capaces de provocar poros en la membrana de la célula diana (célula infectada o tumoral), a través de los cuales ingresan las granzimas que ocasionan muerte celular o apoptosis (Figura 2). La presentación del epítipo-MHC II a los linfocitos T colaboradores (Th), desencadena una serie de reacciones, que incluyen la liberación de interleucinas (IL), tales como IL2, IL4, IL5, IL6, IL7, IL10, IL12, interferón  $\gamma$  (INF $\gamma$ ) y factor de

necrosis de necrosis tumoral  $\beta$  (FNT $\beta$ ) (Figura 3) capaces de estimular otros tipos celulares, producción de anticuerpos y células de memoria, principal objetivo de cualquier vacuna (Abbas *et al.*, 2023; Tizard, 2024).

**Figura 2.** Interacción MHC I/epítipo con linfocito T citotóxico



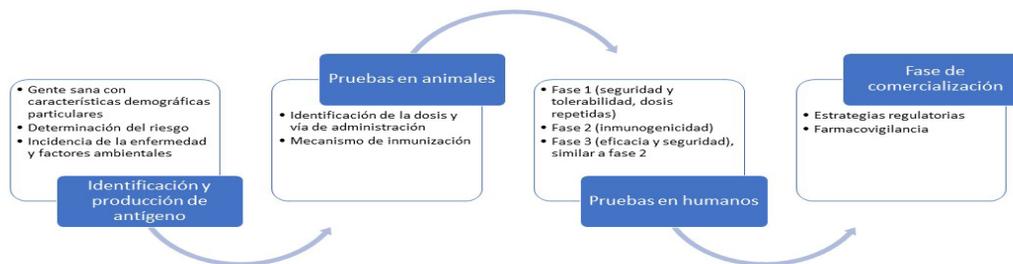
**Figura 3.** Interacción MHC I/epítipo con linfocito T colaborador



## Desarrollo de vacunas e inmunoinformática

El desarrollo tradicional de vacunas es un proceso prolongado, que puede tomar entre 10 y más de 20 años hasta su comercialización y distribución. Esto se debe a las diversas etapas involucradas, que abarcan desde la identificación y producción del antígeno hasta las extensas pruebas en humanos, culminando con la fase de comercialización y farmacovigilancia, un proceso similar al desarrollo de fármacos (Figura 4) (Han, 2015). En contraste, en el ámbito veterinario, este proceso suele ser más rápido. Un ejemplo notable es la vacuna equina contra el flavivirus causante de la fiebre del Nilo Occidental, que obtuvo su licencia del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en solo un año tras el descubrimiento de la enfermedad en agosto de 1999 (Roth, 2011).

**Figura 4.** Proceso de desarrollo de vacunas



La reciente pandemia de COVID-19 puso de manifiesto un cambio paradigmático en el desarrollo de vacunas para humanos. Contrario a la línea de tiempo tradicional de 10 a 20 años, las primeras vacunas contra SARS-CoV-2 fueron diseñadas y producidas en aproximadamente un año desde la declaración oficial de pandemia por la OMS en marzo de 2020. Esta notable aceleración fue posible gracias a la integración de estudios *in silico*, que combinan técnicas computacionales y estadísticas con grandes volúmenes de datos biológicos y médicos (Ekins *et al.*, 2007). Dentro de este marco, la inmunoinformática ha emergido como un campo crucial, dando origen a subdisciplinas como la inmunogenómica, la inmunoproteómica, la predicción de epítopos y la vacunación *in silico* (Tomar & De, 2014). Estas herramientas computacionales han transformado significativamente el proceso de diseño y desarrollo de vacunas, reduciendo drásticamente los tiempos de investigación y producción.

## Vacunología e inmunoinformática

La inmunoinformática surge como un puente crucial entre la inmunología experimental y los sistemas computacionales, facilitando la comprensión de las interacciones moleculares y la activación de la respuesta inmunológica (Bahrami *et al.*, 2019; Oli *et al.*, 2020). Esta disciplina permite la creación de algoritmos capaces de predecir la unión de epítomos específicos con los linfocitos T y B (Soria-Guerra *et al.*, 2015; Raoufi *et al.*, 2020; de Oliveira *et al.*, 2022; da Silva *et al.*, 2022). Para ello, se emplean diversos métodos estadísticos y matemáticos, incluyendo vectores de soporte, sistemas basados en fragmentos, estudios cuantitativos de relación estructura-actividad, redes neuronales y modelos ocultos de Markov a través de redes neuronales Bayesianas (Fleri *et al.*, 2017; Sunita *et al.*, 2019).

El proceso inmunoinformático para el desarrollo de vacunas comienza con la selección y discriminación de epítomos, considerando sus propiedades biológicas y características fisicoquímicas. Una metodología destacada en este campo es la vacunología reversa (RV por sus siglas en inglés). Esta técnica se basa en el análisis de la secuencia genómica de un microorganismo para identificar y predecir antígenos proteicos que son secretados (secretoma) o expresados en la superficie celular (surfoma), y evaluar su capacidad para inducir una respuesta inmune (Bruno *et al.*, 2015; Parvizpour *et al.*, 2020; Oli y Rowaiye, 2022). Complementada con tecnologías como la transcriptómica y proteómica, la RV ha demostrado ser una estrategia viable para el desarrollo de vacunas contra bacterias que no son susceptibles a los métodos clásicos de inactivación fisicoquímica, como es el caso de la vacuna antimeningocócica Bexsero® (Bidmos *et al.*, 2018).

Una evolución de esta metodología es la vacunología reversa 2.0, que va más allá de la mera identificación de antígenos. Utiliza el genoma microbiano para guiar la expresión, conservación y el diseño estructural de antígenos, optimizando su interacción con anticuerpos. Además, permite aislar y analizar anticuerpos, favoreciendo la expresión de porciones variables de sus cadenas ligeras y pesadas mediante recombinación y el uso de herramientas como Vaxign®, NERVE®, HensBC®, GLIMMER®, ORF-FINDER®, o GS-Finder®, seguidas de su identificación con ProDom®, Pfam®, o PROSITE® (Rappuoli *et al.*, 2016; Bidmos *et al.*, 2018; Sunita *et al.*, 2019; Nemati *et al.*, 2021).

Sin embargo, la vacunología reversa presenta limitaciones en el desarrollo de vacunas virales, especialmente cuando los epítomos, aunque bien definidos en secuencia, exhiben variabilidad estructural o inestabilidad. Para abordar esto, se ha desarrollado la vacunología estructural (SV por sus siglas en inglés). Esta técnica integra la inmunología, biología molecular y bioinformática para la identificación y el desarrollo de antígenos. La SV permite la remodelación del antígeno o epítomo mediante técnicas de ingeniería reversa y la reformulación de la plataforma de la vacuna (vector de transporte o presentación), mejorando su seguridad y eficacia (Anasir & Poh, 2019).

La vacunología estructural ha sido de gran utilidad en el desarrollo de posibles vacunas contra antígenos bacterianos, como la lipoproteína transmembranal  $\beta$ b-OMP de *Leptospira interrogans* y

proteínas recombinantes de *Streptococcus pneumoniae* (Grassmann *et al.*, 2017; Mamede *et al.*, 2020). También ha demostrado su valor en antígenos virales, como las proteínas pre-F del virus sincitial bovino (RSV por sus siglas en inglés), la proteína L2 de la cápside del virus del papiloma humano tipo 16 (HPV16 por sus siglas en inglés), y en el desarrollo de anticuerpos monoclonales para la inmunización pasiva contra el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV por sus siglas en inglés) (Negahdaripour *et al.*, 2017; Charleston & Graham, 2018; Anasir & Poh, 2019).

### Selección de epítipo y estudios vacunológicos *in silico*

El diseño racional de una vacuna implica identificar epítopos capaces de estimular una respuesta inmune efectiva, mediada por linfocitos T y B. Para lograrlo, las bases de datos inmunoinformáticas son esenciales, ya que permiten predecir la estructura, especificidad, antigenicidad y alergenicidad de los epítopos, así como evaluar la interacción con adyuvantes (Bahrami *et al.*, 2019; Parvizpour *et al.*, 2020). Tras las fases de vacunología reversa y estructural, se genera un conjunto de posibles epítopos candidatos con potencial para interactuar con el MHC I y II de los linfocitos T, o con los receptores de los linfocitos B (Kardani *et al.*, 2020).

Los análisis computacionales permiten predecir la inducción de la respuesta inmune celular por linfocitos T, incluso cuando un antígeno presenta múltiples epítopos. Esto se logra mediante algoritmos que predicen la unión con las hendiduras del MHC I y MHC II. Existen dos enfoques principales para esta predicción:

- Métodos directos: Se centran en el diseño estructural del epítipo y/o su patrón de anfipaticidad o anfipaticidad, que le proporciona grupos hidrofílicos y lipofílicos a la molécula, permitiéndole interactuar con sustancias polares y apolares.
- Métodos indirectos: Analizan más allá de la simple unión epítipo-receptor, considerando patrones de diseño estructural, análisis de matrices cuantitativas (QM por sus siglas en inglés) y análisis tridimensional de relación estructura-función cuantitativa (3D-QSAR por sus siglas en inglés), entre otros (Kardani *et al.*, 2020).

Diversos programas se emplean para la predicción de epítopos estimuladores de linfocitos T, incluyendo PCPS®, Netchop 3.1®, TAPPred®, TAPhunter®, NetMHCcons 1.1®, NetMHC®, NetMHCpan®, PickPocket 1.1®, NetCTLpan 1.1®, nHLAPred®, EpiDOCK tool®, NetMHCpan 3.1®, PREDI-VAC®, BIMAS®, ProPred®, TEPITOPE®, CTLpred®, GLIPH® y PigMatrix® (Sunita *et al.*, 2019; Parvizpour *et al.*, 2020).

Para la predicción de epítomos específicos de MHC I, herramientas bioinformáticas como IEDB-AR® (base de datos de epítomos inmunes y recursos de análisis) son ampliamente utilizadas tanto para la predicción como para la verificación de la interacción epítomo-receptor. Otros sistemas populares incluyen NetCTL® (para epítomos virales), SVMHC® (para bacterianos) y SYFPEITHI® (para tumorales).

Por otra parte, la predicción de la interacción epítomo-MHC II es más compleja debido a la flexibilidad de unión en las hendiduras del MHC II. Para esta tarea, se utilizan herramientas como IEDB-AR® (para epítomos virales), Propred-II® (para bacterianos) y MHCpred® (para tumorales) (Kardani *et al.*, 2020; Raoufi *et al.*, 2020). Estos programas a menudo emplean dinámica molecular para el modelado de la interacción péptido-MHC, requiriendo resultados experimentales o secuencias de péptidos conocidas de bases de datos. Otras herramientas relevantes para la predicción de MHC II son EpiDOCK®, MotifScan®, RANKPEP®, MAPPP®, EPISOPT®, MHCpred®, Vaxign®, EpiTOP®, Propred®, BIMAS®, NetMHC® y WAPP® (Sánchez-Trincado *et al.*, 2017).

Los estudios inmunoinformáticos para epítomos de linfocitos B se centran en las características estructurales del antígeno. La predicción de epítomos lineales (continuos) es más común debido a su menor complejidad, basándose en propiedades de los aminoácidos como la carga eléctrica, la presencia de estructura secundaria, la hidrofiliidad y el área de exposición. Herramientas como BepiPred® son ampliamente utilizadas; este sistema no solo predice la interacción epítomo-receptor, sino que también considera las características fisicoquímicas del epítomo, empleando algoritmos basados en fundamentos como la predicción de antigenicidad de Kolaskar-Tongaonkar, la hidrofiliidad de Parker y las escalas de estructuras secundarias de Levitt (Kardani *et al.*, 2020; Raoufi *et al.*, 2020).

En contraste, la mayoría de los epítomos de linfocitos B son de tipo conformacional (discontinuos). Los estudios de predicción *in silico* para estos epítomos se basan principalmente en la secuencia de aminoácidos y la estructura tridimensional del antígeno. Discotope® destaca como uno de los sistemas bioinformáticos más empleados para esta tarea, dada su versatilidad para analizar antígenos de origen viral, bacteriano y tumoral (Kardani *et al.*, 2020; Parvizpour *et al.*, 2020). Otras herramientas útiles para el diseño de epítomos estimuladores de linfocitos B incluyen Vaxijen 2.0, Jenner Predict, VacSol, Vacceed, AntigenDB, PEPOP, SEPPA, Bpredictor, ABCPRED, BCPRED, SVMTriP, LBtope, CBtope, 3DEX, CEP, LASERGENE, MHCBN, LANL, SYFPEITHI e IEDB. El uso de estas herramientas ha permitido determinar que una longitud de 12 a 22 residuos de aminoácidos es ideal para una interacción óptima del epítomo con el linfocito B (Parvizpour *et al.*, 2020). Además de los epítomos, el modelado de anticuerpos es crucial para mejorar su afinidad. Programas como SCWRL, SCAP, PEARS, DRAGON, GADGET, RAMBLE y RAPPER se utilizan para el modelado de la estructura y conformación espacial de los anticuerpos (Sunita *et al.*, 2020).

## Optimización de la formulación y seguridad de vacunas

Los estudios inmunoinformáticos también facilitan el diseño de adyuvantes y enlazadores epítipo-adyuvante. Esto incluye mejorar la memoria inmunológica y diversificar el repertorio antigénico. Se prefieren adyuvantes con alta afinidad por receptores de la inmunidad innata (como oligonucleótidos, lipopéptidos o quimiocinas sintéticas), tales como sales de aluminio (hidróxido y fosfato de aluminio) o complejos moleculares como flagelina, lipopolisacáridos y receptores tipo Toll (TLR por sus siglas en inglés). Sistemas bioinformáticos específicos como Vaxjo® (para adyuvantes peptídicos), VaccineDA® (para oligodesoxinucleotídicos) e imRNA (para adyuvantes basados en ARN) agilizan este análisis. Los enlazadores entre antígeno y adyuvante son vitales para la estabilidad estructural y la correcta presentación de los epítopos a linfocitos B y T; sin embargo, interacciones anómalas entre dominios funcionales pueden generar estructuras secundarias y terciarias que reduzcan la actividad biológica de la vacuna (Kardani *et al.*, 2020; Parvizpour *et al.*, 2020).

Adicionalmente, la evaluación *in silico* de antigenicidad, alergenicidad y toxicidad es posible mediante sistemas bioinformáticos que simulan la capacidad de un antígeno o epítipo para estimular la producción de inmunoglobulinas E (IgE), lo que podría indicar una respuesta inmunológica exacerbada o anormal (Kardani *et al.*, 2020). La optimización de la respuesta inmune incluye la extensión de la memoria a largo plazo, la renovación de la respuesta en pacientes de edad avanzada mediante la estimulación de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, macrófagos y monocitos, el aumento del repertorio de anticuerpos y la posibilidad de reducir las dosificaciones de las vacunas (Sunita *et al.*, 2019; Parvizpour *et al.*, 2020).

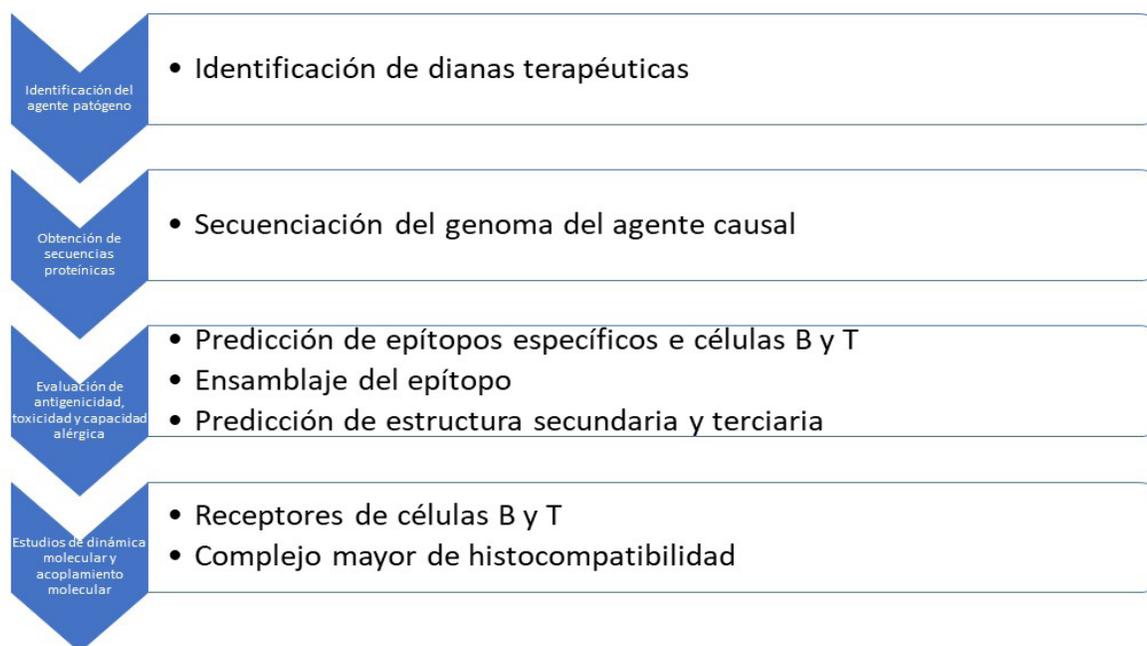
## Acoplamiento molecular y diseño de vacunas

Finalmente, los estudios de simulación de acoplamiento molecular (*molecular docking*) permiten elucidar los posibles sitios de interacción entre los epítopos y los sitios activos de los receptores específicos de los linfocitos T y B, basándose en las variaciones de la energía libre o energía de unión. Existen tres tipos principales de análisis de interacción:

- Acoplamiento local (*local docking*): Se restringe a la estructura de un sitio de unión específico entre epítipo y receptor.
- Acoplamiento global (*global docking*): Involucra la combinación de posibles estados activos e inactivos de los receptores, considerando sus conformaciones flexibles y rígidas junto con los epítopos.
- Acoplamiento basado en modelado (*template-based docking*): Utiliza complejos preexistentes o “plantillas” para predecir interacciones entre entidades.

Para estas funciones, se emplean sistemas bioinformáticos como AutoDock Vina®, Patchdock®, Molegro Virtual®, Cluspro 2.0® y Python Prescription® (Kardani *et al.*, 2020; Raoufi *et al.*, 2020). El proceso general del diseño de vacunas basado en epítomos se ilustra en la Figura 5.

**Figura 5.** Proceso general en el diseño de vacunas basado en epítomos



### Aplicación de las herramientas de predicción de epítomos para diferentes patologías

La inmunoinformática se ha establecido como una herramienta esencial para la predicción de epítomos en una amplia gama de enfermedades, incluyendo infecciones bacterianas, fúngicas y virales, así como en patologías no infecciosas como el cáncer (Raoufi *et al.*, 2020). A continuación, se presentan ejemplos ilustrativos de su aplicación en el diseño de vacunas en humanos y animales.

#### Vacuna multiepítomo contra salmonelosis

Un estudio de Zafar *et al.* (2022) abordó el diseño de una vacuna multiepítomo contra *Salmonella typhimurium*, una enterobacteria de incidencia global que puede causar meningitis y septicemia. Las vacunas pediátricas existentes han mostrado eficacia parcial y un riesgo de alergias, debido a su enfoque

en múltiples proteínas del patógeno. Para superar estas limitaciones, los autores se concentraron en la proteína To1A, conocida por estimular linfocitos T citotóxicos, colaboradores y células productoras de interferones.

El proceso comenzó con la evaluación de la antigenicidad de las proteínas de *S. typhimurium* utilizando Vaxijen 2.0® (con un umbral de 0.4), que permite superar las limitaciones del alineamiento de proteínas. Tras identificar la proteína To1A como la de mayor antigenicidad, se empleó NetCTL 2.0® para predecir epítomos estimuladores de linfocitos T citotóxicos y Vaxijen 2.0® para epítomos de linfocitos T colaboradores. Una vez seleccionados los epítomos, se predijo su estructura final con trRosetta®, complementado con análisis ProSA-web y gráficos de Ramachandran para evaluar la calidad del diseño vacunal. Para confirmar la seguridad, se utilizó AllerTOP® para descartar el potencial alergénico, seguido de un estudio de acoplamiento molecular con los receptores TLR2 y TLR4. Las simulaciones *in silico* confirmaron que la vacuna diseñada no induce alergias y exhibe un acoplamiento favorable con el receptor TLR4 (mediado por lisina 58) y el TLR2 (mediado por glutamina 198 y asparagina 199).

### Diseño de una vacuna multiepítomo contra COVID-19

Otro ejemplo relevante es el diseño de una vacuna multiepítomo contra COVID-19, realizado por Ahmad *et al.* (2020) en una etapa temprana de la pandemia, antes de la disponibilidad de vacunas comerciales. Los investigadores buscaron proteínas de coronavirus en bases de datos, seleccionando inicialmente proteínas de adhesión. Para la selección de epítomos con potencial de unirse al MHC de ambos tipos, se consultó la Immune Epitope Database con un umbral de 0.5. Posteriormente, se utilizó MHCpred 2.0 para predecir la afinidad con un criterio de selección de concentración inhibitoria (IC50) menor a 100 nM. La virulencia y antigenicidad de los epítomos seleccionados se valoraron con VirulentPred y Vaxijen 2.0, mientras que AllerTOP 2.0 se empleó para descartar epítomos alergénicos. Los epítomos seleccionados se ensamblaron utilizando la subunidad B de la toxina del cólera como adyuvante, y se realizó la caracterización fisicoquímica del péptido ensamblado, así como su acoplamiento con los receptores TLR3 y TLR4.

El estudio identificó siete proteínas antigénicas (nsp8, nsp9, nsp10, proteína similar a la proteinasa 3C, glicoproteína de la espícula, glicoproteína de superficie y la poliproteína ORF1ab), todas con funciones específicas en la patogenicidad de los coronavirus. De estas, nsp8, la proteína similar a la proteinasa 3C y la glicoproteína de la espícula fueron seleccionadas para ensamblar la vacuna multiepítomo. Se determinó que el péptido ensamblado interactúa con el TLR3 mediante interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno con residuos específicos (Histidina 156, 359, 410, 432; Ácido Aspártico 180, 229, 230, 257, 284, 285, 457; Lisina 201, 382; Ácido Glutámico 203, 301, 358, 434,

533; Serina 206, 254, 256, 282, 306; Fenilalanina 227, 304, 459; Tirosina 283, 302, 307, 383; Arginina 325; Isoleucina 411; Glicina 431; Prolina 408; y Glutamina 483). Para el receptor TLR4, se observaron interacciones con los residuos Prolina 23, 113; Ácido glutámico 24, 89; Serina 25, 184; Ácido Aspártico 44, 50, 51, 137, 160; Lisina 47, 86; Arginina 67, 87; Glutamina 115; Histidina 159 de la cadena C; Lisina 20; Fenilalanina 64; y Ácido aspártico 114.

Ahmad *et al.* (2020) realizaron un estudio pionero en el diseño de una vacuna multiepítopo contra COVID-19, en un momento crucial cuando aún no se disponía de vacunas comerciales. Los autores comenzaron su investigación buscando proteínas de coronavirus en bases de datos, con especial interés en proteínas de adhesión. Para la selección de epítomos con potencial de unirse a ambos tipos de MHC, se consultó la Immune Epitope Database, utilizando un umbral de 0.5. Posteriormente, se empleó MHCpred 2.0 para predecir la afinidad con un criterio de selección de concentración inhibitoria (IC50) menor a 100 nM. La virulencia y antigenicidad de los epítomos seleccionados fueron valoradas con VirulentPred y Vaxijen 2.0, respectivamente, mientras que AllerTOP 2.0 se utilizó para descartar aquellos epítomos que pudieran causar alergias. Una vez seleccionados, los epítomos se ensamblaron utilizando la subunidad B de la toxina del cólera como adyuvante. Finalmente, se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica del péptido ensamblado y se estudió su acoplamiento con los receptores TLR3 y TLR4.

El estudio identificó siete proteínas antigénicas clave: nsp8, nsp9, nsp10, proteína similar a la proteinasa 3C, glicoproteína de la espícula, glicoproteína de superficie y la poliproteína ORF1ab. Todas estas proteínas cumplen funciones específicas en la patogenicidad de los coronavirus. De estas, nsp8, la proteína similar a la proteinasa 3C y la glicoproteína de la espícula fueron las seleccionadas para ser ensambladas en la vacuna multiepítopo. Se determinó que el péptido resultante interactúa con el TLR3 mediante interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno con un amplio conjunto de residuos, incluyendo Histidina (156, 359, 410, 432), Ácido aspártico (180, 229, 230, 257, 284, 285, 457), Lisina (201, 382), Ácido glutámico (203, 301, 358, 434, 533), Serina (206, 254, 256, 282, 306), Fenilalanina (227, 304, 459), Tirosina (283, 302, 307, 383), Arginina (325), Isoleucina (411), Glicina (431), Prolina (408) y Glutamina (483). En el caso del receptor TLR4, se identificaron interacciones con los residuos Prolina (23, 113), Ácido Glutámico (24, 89), Serina (25, 184), Ácido aspártico (44, 50, 51, 137, 160), Lisina (47, 86), Arginina (67, 87), Glutamina (115), Histidina 159 de la cadena C, Lisina 20, Fenilalanina 64 y Ácido aspártico 114.

## Vacunología reversa para COVID-19

Otro estudio significativo en el contexto de COVID-19 es la aplicación de la vacunología reversa, reportada por Nemati *et al.* (2021). En esta investigación, los autores diseñaron una vacuna multiepítopo mediante la búsqueda inicial de proteínas asociadas a COVID-19, junto con las estructuras tridimen-

sionales de los TLR3, TLR4, MHC I y MHC II. Las secuencias seleccionadas para su evaluación como potenciales epítomos de linfocitos B y T fueron la proteína de la envoltura, y las proteínas ORF7b, ORF8, ORF10 y nsp9. La predicción se realizó utilizando BepiPred 2.0 y la Immune Epitope Database. Estos epítomos fueron elegidos por su ausencia de toxicidad y alergenicidad, y por mostrar alta antigenicidad, evaluados con los programas ToxinPred, Vaxijen 2.0 y AllerTOP 2.0.

Posteriormente, se emplearon adyuvantes de naturaleza proteica para unir los epítomos. La caracterización fisicoquímica, estabilidad y elucidación estructural se llevaron a cabo utilizando programas como Protparam, Pepcalc, Lupred 2a, Prabi e I-TASSER. El acoplamiento molecular se realizó con Cluspro. Como resultado, obtuvieron una proteína hidrosoluble de 39.4 KDa de peso molecular, con un punto isoelectrico de 9.6 y una vida media de 30 horas en células de mamíferos, presentando mayor afinidad por el TLR3. Con base en estos hallazgos, los autores proponen el epítomo obtenido como un candidato prometedor para la vacunación contra COVID-19.

### **Diseño de vacunas inmunoinformáticas contra el cáncer**

En el ámbito de las enfermedades no infecciosas, Savsani *et al.* (2021) reportaron el diseño de una vacuna contra el carcinoma de células escamosas, focalizándose en el oncogén HRAS, responsable de expresar la proteína H-Ras, que está involucrada en transporte, apoptosis celular y vías de señalización de calcio. Los autores describen en detalle el mecanismo de acción de una vacuna intramuscular diseñada para inducir una fuerte afinidad por el antígeno de HLA. Este péptido, al entrar en la célula, se fragmentaría en el retículo endoplásmico, se uniría al HLA y se expresaría extracelularmente, buscando la interacción con los linfocitos T y la consecuente secreción de INF- $\gamma$ .

Para lograrlo, los autores buscaron la secuencia de la proteína HRAS nativa y sus mutaciones más comunes. Posteriormente, utilizaron la herramienta NetMHCpan EL 4.1 para predecir la afinidad de los epítomos, cotejando los resultados con la Immune Epitope Database. La antigenicidad, toxicidad y alergenicidad del epítomo se predijeron utilizando VaxiJen, ToxinPred y AllerTop, respectivamente. Para verificar la entrada a la célula y la secreción de INF- $\gamma$  como respuesta inmunitaria, se emplearon CellPPD e INFepitope. Finalmente, se realizaron pruebas preclínicas en modelos murinos. De los epítomos registrados, se seleccionaron 16 epítomos derivados de nueve mutaciones diferentes.

### **Vacuna multiepítomo contra el sarcoma de Kaposi asociado al HHV-8**

Chauhan *et al.* (2019) reportaron el diseño de una vacuna multiepítomo para combatir el sarcoma de Kaposi, una enfermedad que afecta principalmente a pacientes con el HIV. Dada la agresividad de los



tratamientos actuales (antivirales y antineoplásicos), se ha hecho imperativa la búsqueda de estrategias que estimulen el sistema inmune para prevenir infecciones virales y combatir neoplasias. Los autores buscaron una vacuna capaz de estimular linfocitos T y B, induciendo la producción de IFN- $\gamma$ .

En su estudio, obtuvieron secuencias de glicoproteínas del HHV-8 y las alinearon con Clustal W, verificando que no tuvieran similitudes con secuencias humanas. Se utilizó Vaxijen 2.0 para confirmar la antigenicidad, identificando cinco glicoproteínas como las más antigénicas. Posteriormente, se predijo y modeló la estructura de la proteína usando gráficos de Ramachandran. Para la búsqueda de epítomos específicos para linfocitos T citotóxicos, se empleó NetCTL 1.2 e IEDB, mientras que Net MHC II pan 3.2 se utilizó para predecir siete epítomos antigénicos para linfocitos T colaboradores. Para los epítomos de linfocitos B, se ocupó BCpred 2.0, detectando 18 epítomos. Finalmente, el programa IFN epitope se usó para predecir epítomos reactivos a IFN- $\gamma$ .

## Vacuna contra la nocardiosis

La nocardiosis, causada por *Nocardia asteroides*, es una infección que afecta a pacientes inmunocomprometidos (por HIV, neoplasias, diabetes o desórdenes genéticos). Patra *et al.* (2020) diseñaron una vacuna multiepítomo, focalizándose en los factores de virulencia de la bacteria, específicamente en la familia de proteínas Mce, conocidas por su papel en la virulencia y patogenicidad. Su objetivo fue inducir la proliferación de linfocitos B y T.

Para la predicción de epítomos de linfocitos B, se utilizó ABCpred. Los epítomos específicos para linfocitos T y MHC de ambos tipos fueron predichos con ProPred y ProPred-I, respectivamente. Una vez predichos, la antigenicidad de los epítomos se determinó con VaxiJen 2.0. Dado que el diseño resultó en un péptido de corta longitud, se utilizaron DISTILL 2.0 y PROCHECK para analizar la estereoquímica de la proteína. Los resultados mostraron 20 epítomos de 20 aminoácidos de longitud para linfocitos B; de estos, 13 también interactuaron con el MHC y los linfocitos T, aunque solo tres epítomos mostraron un potencial antigénico significativo.

## Diseño de vacunas veterinarias basadas en epítomos

### Vacuna contra *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis*

Rodríguez-Domínguez *et al.* (2023) llevaron a cabo un estudio para desarrollar una vacuna contra *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis*, una bacteria intracelular que causa linfadenitis caseosa en ovejas. Basándose en estudios previos (Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2022) donde identificaron la fosfolipasa

D 2J-L (PLD-2J-L) y la endoglicosidasa 2J-L (CP40-2J-L) como factores de virulencia con potencial vacunal, los investigadores emplearon la base de datos IEDB y el software BepiPred 2.0 para predecir epítomos lineales. Se buscaron secuencias con alta antigenicidad, afinidad por anticuerpos y buena exposición para linfocitos B, obteniendo 10 epítomos lineales de PLD-2J-L y 12 de CP40-2J-L.

Posteriormente, con BepiPred 2.0, la escala de accesibilidad superficial de Emini, la escala de antigenicidad de Kolaskar-Tongaonkar y ElliPro, se identificaron 50 epítomos conformacionales de PLD-2J-L y 47 de CP40-2J-L. Esto permitió establecer 11 regiones en PLD-2J-L y 12 en CP40-2J-L que cumplen con los criterios para estimular la inmunidad humoral (producción de anticuerpos IgG) y la inmunidad celular tipo Th1 (producción de citocinas). Finalmente, las predicciones de epítomos para linfocitos T (CD4+/CD8+) con NetMHCpan mostraron qué péptidos de PLD-2J-L y CP40-2J-L pueden interactuar con MHC I y MHC II. Estos resultados, en conjunto, respaldan la selección de regiones antigénicas para una vacuna eficaz contra *Corynebacterium pseudotuberculosis biovar ovis* capaz de inducir respuestas inmunes celular y humoral.

### ***Vacuna multiepítomo contra la histoplasmosis***

La histoplasmosis, causada por el hongo *Histoplasma capsulatum*, es una enfermedad con alta morbilidad y mortalidad para la cual no existe vacuna. Afecta a diversas especies animales (caninos, felinos, equinos) y humanos, manifestándose desde formas asintomáticas hasta crónicas diseminadas (Martínez-Cepeda y Revelo-Ruales, 2017; Mittal *et al.*, 2019). Con el objetivo de desarrollar una vacuna multiepítomo a partir de cinco proteínas antigénicas, Márquez *et al.* (2024) realizaron la predicción y análisis de epítomos para linfocitos B y los complejos MHC I y MHC II. Se utilizaron ABCpred y la base de datos IEDB, respectivamente.

Los resultados evidenciaron 23 epítomos para MHC I y linfocitos B, 11 para MHC II y B, y 4 vinculados a la subunidad B de la toxina del cólera (como adyuvante). Para predecir las características fisicoquímicas (antigenicidad, estabilidad, peso molecular y punto isoeléctrico), se utilizó VaxiJen, obteniéndose resultados favorables. Otras herramientas informáticas como HDOCK, PDBpisa, LigPlot2, HawkDock y simuladores *in silico* se emplearon para evaluar la afinidad con los receptores TLR4 y la estimulación de linfocitos B. Estos análisis demostraron un aumento en la producción de linfocitos B de memoria y linfocitos T colaboradores del tipo 1, productores de citocinas fundamentales para la eliminación de patógenos intracelulares, lo que hace de este diseño un candidato ideal para una vacuna contra *Histoplasma capsulatum*.

### ***Vacuna contra el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV)***

En un esfuerzo por desarrollar una vacuna eficaz contra el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV), dada su elevada tasa de mortalidad en lechones, Hou *et al.* (2023) diseñaron una vacuna multiepítipo basada en las proteínas S (espículas) de las cuatro variantes de PEDV G2 (G2a, G2b, G2c y G2d). La predicción de epítomos lineales y conformacionales para linfocitos B, así como para linfocitos T colaboradores y citotóxicos, se realizó con IEDB (método Bepipred), DiscoTope, NetMHCIIpan 4.0 e IEDB, respectivamente, obteniendo 4 epítomos lineales para linfocitos B, 6 epítomos conformacionales, 11 para Th y 9 para TC.

Adicionalmente, se evaluaron propiedades fisicoquímicas (ProtParam), antigenicidad (VaxiJen 2.0), inmunogenicidad (C-ImmSim), alergenicidad (AllerTOP 2.0), estabilidad (GROMACS) y afinidad (ClusPro), obteniendo resultados positivos. La calidad de las cuatro variedades proteicas se demostró mediante la elaboración de una estructura tridimensional con SWISS-MODEL. Los resultados sugirieron la posibilidad de estimulación de la inmunidad celular y humoral; sin embargo, los autores recomiendan la realización de estudios *in vitro* e *in vivo*.

### ***Vacuna quimérica multiepítipo contra Leptospirosis***

Investigaciones previas (Dellagostin *et al.*, 2011; McBride *et al.*, 2005) han señalado desventajas en el uso de vacunas inactivadas contra *Leptospira spp.*, como la protección homóloga limitada y los efectos secundarios. Para superar estas limitaciones, Kumar *et al.* (2021) desarrollaron una vacuna quimérica multiepítipo contra la leptospirosis, una zoonosis causada por la bacteria Gram negativa *Leptospira spp.*, que incluye serogrupos como Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona y Pyrogenes (Orozco *et al.*, 2021; Pérez *et al.*, 2023).

Los investigadores predijeron epítomos para MHC I, MHC II, y epítomos conformacionales y lineales para linfocitos B, partiendo de las proteínas similares a inmunoglobulinas LigA y LigB, previamente identificadas (Lin y Chang, 2007). Para ello, utilizaron un conjunto de herramientas informáticas como I-TASSER, GalaxyRefine, Swiss-PdbViewer, DiscoTope2.0, ElliPro, BEPro, ABCpred, BCpred, BepiPred 2.0, IEDB, ProPred-1, NetMHC 4.0 y NetMHC-II 2.3. Para evaluar la antigenicidad, alergenicidad y los parámetros fisicoquímicos, recurrieron a los servidores VaxiJen 2.0, AllerTop 2.0 y ProtParam, respectivamente. Los resultados generales mostraron cinco epítomos prometedores, con un aumento en la población de linfocitos B, producción de inmunoglobulinas M (IgM) y niveles elevados de interferón  $\gamma$  INF- $\gamma$ . No obstante, se recomienda la realización de pruebas *in vitro* e *in vivo* antes de su producción a gran escala.

### *Vacuna contra la brucelosis*

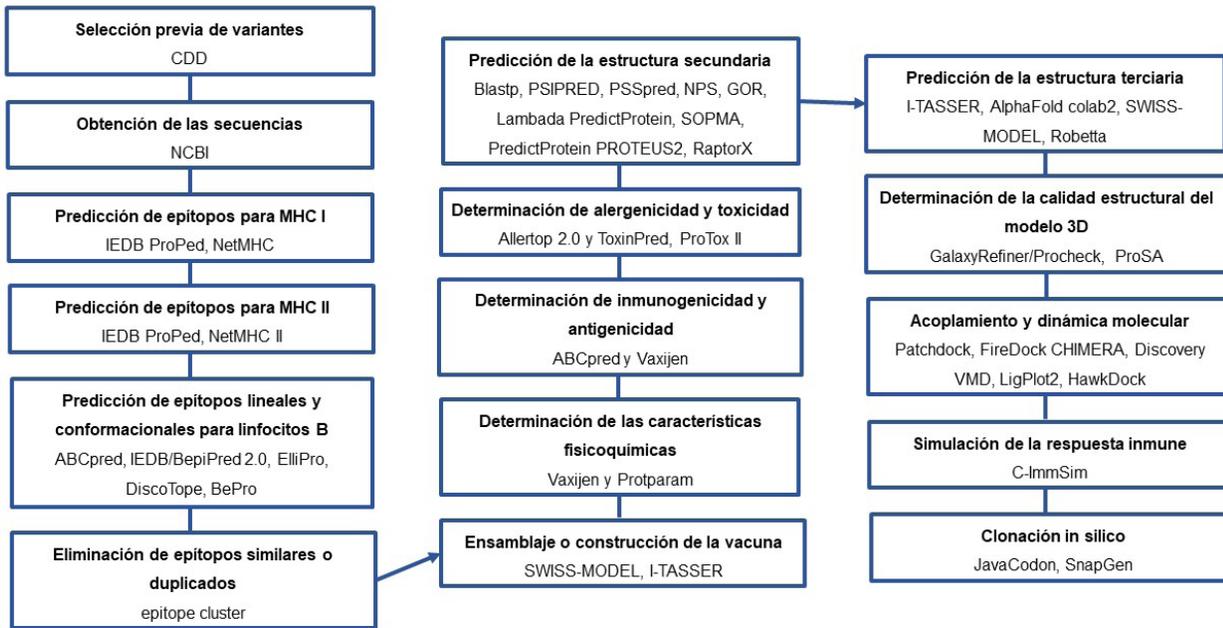
La brucelosis, una enfermedad bacteriana con alta morbilidad en animales no vacunados, representa un riesgo significativo para la salud pública y causa pérdidas económicas en la ganadería. Es causada por la bacteria intracelular Gram negativa *Brucella* (ej. *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*), que afecta a bovinos, ovinos y cerdos. Al ser una zoonosis, la infección puede transmitirse a humanos por ingesta de productos lácteos no pasteurizados o por contacto directo (Laverde *et al.*, 2021). En México, la Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales (NOM-041-ZOO-1995) establece acciones de prevención, incluida la vacunación (SENASICA, 2021).

Con el propósito de desarrollar una vacuna multiepítopo, Elrashedy *et al.* (2024) utilizaron las proteínas BvrR y las proteínas de membrana externa OMP25 y OMP31, identificadas como factores de virulencia por su participación en la evasión inmune y la supervivencia intracelular de la bacteria. Se emplearon los servidores VMTriP, Bepipred 2.0, RankPep, SYFPEITHI y MHCII-NP para la predicción de epítomos de linfocitos B, MHC I y MHC II. Los resultados mostraron 5 (BvrR), 6 (OMP25) y 5 (OMP31) epítomos para interacción con linfocitos B; 3 (BvrR), 4 (OMP25) y 4 (OMP31) para MHC I; y 4 (BvrR), 5 (OMP25) y 4 (OMP31) para MHC II. Características como la antigenicidad, toxicidad y alergenicidad se evaluaron con VaxiJen v2.0, AllergenFP y ToxinPred, respectivamente. Los resultados son prometedores para la manufactura de una vacuna contra brucelosis; sin embargo, los autores recomiendan la realización de pruebas *in vitro* e *in vivo* previo a su producción.

### **Consistencia metodológica en el diseño de vacunas**

Es evidente que, tanto en la investigación en medicina humana como en el campo de la medicina veterinaria y zootecnia (MVZ), los estudios para el diseño de vacunas basadas en epítomos emplean procedimientos y recursos computacionales similares. Un ejemplo destacado es el uso de la base de datos IEDB y sus diversas herramientas, que permiten la identificación de epítomos específicos de enfermedades infecciosas y no infecciosas, y que son reconocibles por linfocitos T citotóxicos (Tc), T colaboradores (Th) y linfocitos B. Según Hou *et al.* (2023), estos recursos incluso ofrecen la prometedora posibilidad de crear vacunas multiepítopo universales, aplicables en distintas especies animales, incluyendo humanos. El conjunto de procedimientos, programas y servidores utilizados en las investigaciones consultadas se resume, de manera general, en la Figura 6.

**Figura 6.** Procedimiento, programas y servidores utilizados por investigadores



Para asegurar una mayor fiabilidad en la selección de epítomos, los investigadores utilizan múltiples programas y servidores de manera conjunta (Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2023). Por ejemplo, Kumar *et al.* (2021) emplearon varios servidores para predecir epítomos conformacionales y lineales para linfocitos B, así como para MHC I y MHC II, obteniendo resultados favorables. Del mismo modo, Elrashedy *et al.* (2024) utilizaron hasta nueve servidores con el objetivo de aumentar la precisión en las predicciones de la estructura secundaria, lo que les permitió identificar el servidor más fiable (PredictProtein). También destacaron que los mejores modelos tridimensionales (3D) de las proteínas estructurales se obtuvieron con los servidores AlphaFold e I-TASSER. Otros ejemplos se pueden observar en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Programas y servidores utilizados simultáneamente por investigadores en salud pública y animal para la selección de epítopos

Vacuna contra	Programas y servidores utilizados	Determinación	Cita
COVID	SCRATCH protein predictor I-TASSER SWISS-MODEL Galaxyweb Design	Ensamblaje	Ahmad, S., Navid, A., Farid, R., Abbas, G., Ahmad, F., Zaman, N., Parvaiz, N., & Azam, S. S., 2020, "Design of a novel multi epitope-based vaccine for pandemic coronavirus disease (COVID-19) by vaccinomics and probable prevention strategy against avenging zoonotics", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 151, 105387.
	Patchdock FireDock Chimera Discovery VMD	Acoplamiento y dinámica molecular	
Sarcoma de Kaposi	NCBI Clustal-Omega MEGA	Selección de proteínas	Chauhan, V., Rungta, T., Goyal, K., & Singh, M. P., 2019, "Designing a multi-epitope based vaccine to combat Kaposi Sarcoma utilizing immunoinformatics approach", Scientific Reports, 9(1):1-15.
	Phyre 2 Raptor X I-TASSER RAMPAGE	Predicción de la estructura	
COVID	Virus pathogen resource database Protein Variability Muscle	Selección de proteínas	de Oliveira, C. D. M., da Silva, M. K., Barbosa, E. D., Leow, C. Y., Fulco, U.L., Oliveira, J. I.N., 2022, "Exploiting reverse vaccinology approach for the design of a multi-epitope subunit vaccine against the major SARS-CoV-2 variants", Comput Biol Chem, 101:107754

Leptospirosis	ABCPred BCPred BepiPred 2.0	Predicción de epítomos lineales para linfocitos B	Kumar, P., Lata, S., Shankar, U. N., Akif, M., 2021, "Immunoinformatics-based designing of a multi-epitope chimeric vaccine from multi-domain outer surface antigens of <i>Leptospira</i> ", <i>Front Immunol</i> , 12:735373. DOI: 10.3389/fimmu.2021.735373. PMID: 34917072; PMCID: PMC8670241.
	DiscoTope Ellipro BEpro	Predicción de epítomos conformacionales para linfocitos B	
	IEDB ProPed-I NetMHC	Predicción de epítomos para MHC I	
	IEDB ProPed NetMHC II	Predicción de epítomos para MHC II	
Brucelosis	PSIPRED PSSpred PredictProtein NPS GOR Lambada PredictProtein SOPMA PROTEUS2 RaptorX CFSSP	Predicción de la estructura secundaria	Elrashedy, A., Nayel, M., Salama, A. <i>et al.</i> , 2024, "Bioinformatics approach for structure modeling, vaccine design, and molecular docking of <i>Brucella</i> candidate proteins BvrR, OMP25, and OMP31", <i>Sci Rep</i> , 14:11951 DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-024-61991-7">https://doi.org/10.1038/s41598-024-61991-7</a>
	AlphaFold I-TASSER]	Modelos en 3D de las proteínas estructurales	

### CONCLUSIONES

La inmunoinformática y las herramientas computacionales han transformado radicalmente el diseño de vacunas, consolidándose como un pilar fundamental en la selección racional de epítopos. Este proceso, ahora asistido por algoritmos y bases de datos, permite un análisis detallado de datos biológicos para identificar epítopos con alta afinidad por linfocitos B, MHC I y MHC II. La precisión en la selección se basa en una evaluación rigurosa de criterios como el número de residuos de aminoácidos, la conformación del epítipo, su antigenicidad, inmunogenicidad, estabilidad, y la ausencia de toxicidad o alergenicidad.

La integración de estas herramientas computacionales ha demostrado ser crucial para acelerar el desarrollo de vacunas. Esto se evidencia en la capacidad de diseñar candidatos vacunales para enfermedades infecciosas y no infecciosas en un tiempo significativamente menor y con una inversión reducida. La aprobación de vacunas como la de COVID-19, con un diseño inicial basado en estas técnicas y complementado por estudios *in vitro* e *in vivo*, subraya el potencial y la eficacia de este enfoque.

Aunque los programas y servidores de inmunoinformática son poderosos simuladores que ofrecen resultados muy prometedores en la predicción de epítopos, sus propiedades biológicas y características fisicoquímicas, los investigadores coinciden en que las pruebas *in vitro* e *in vivo* son indispensables para validar estos hallazgos. Esto garantiza la seguridad y eficacia real de los candidatos vacunales. Para futuras investigaciones, sería valioso realizar pruebas comparativas exhaustivas entre los diversos recursos inmunoinformáticos a lo largo de todo el procedimiento de diseño, lo que podría optimizar aún más el proceso y consolidar la metodología.

### RECONOCIMIENTO

Figuras 1 a 3 creadas por María Fernanda Sánchez Castilleja utilizando la aplicación BioRender.com  
Figura 4 creada por José de Jesús Lira Ricárdez y Lucía Ortega Cabello con información tomada de Han (2015).

Figura 5 creada por José de Jesús Lira Ricárdez y Lucía Ortega Cabello.

Figura 6 creada por María Fernanda Sánchez Castilleja.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pillai, S., 2023. *Basic Immunology*. Ed. Elsevier. 7ª. edición.
- Abuawwad, M. T., Taha, M. J. J., Taha, A. J., Kozaa, Y. A., Falah, O., Abuawwad, I. T., Hammad, E. M., Mahmoud, A. A., Aladawi, M., Serhan, H. A., 2024. *Guillain-Barré syndrome after COVID-19 vaccination: A systematic review and analysis of case reports*. *Clin Neurol and Neurosurg*, 238:1359-1375.e13. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2024.108183>
- Ahmad, S., Navid, A., Farid, R., Abbas, G., Ahmad, F., Zaman, N., Parvaiz, N., & Azam, S. S., 2020. Design of a novel multi epitope-based vaccine for pandemic coronavirus disease (COVID-19) by vaccinomics and probable prevention strategy against avenging zoonotics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 151, 105387. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2020.105387>
- Anasir, M. I., & Poh, C. L., 2019. Structural vaccinology for viral vaccine design. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAR), 738. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.00738/BIBTEX>
- Anupamjeet Kaur, Amit Kumar, Geetika Kumari, Rasmiranjan Muduli, Mayami Das, Rakesh Kundu, Suprabhat Mukherjee, Tanmay Majumdar, 2024. Rational design and computational evaluation of a multi-epitope vaccine for monkeypox virus: Insights into binding stability and immunological memory. *Heliyon*, 10(16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36154>.
- Arce, G. L., Ramírez, A. L. A., De Los Reyes, G. C. A., Hernández, O. J. F., 2021. *Guillain-Barre syndrome after vaccination for Covid-19. The first report in Latin America*. *Neurol Perspect*, 1(4):236-238. DOI: 10.1016/j.neurop.2021.09.002. PMID: PMC8443312
- Bahrami, A. A., Payandeh, Z., Khalili, S., Zakeri, A., & Bandehpour, M., 2019. Immunoinformatics: In silico approaches and computational design of a multi-epitope, immunogenic protein. *International Reviews of Immunology*, 38(6):307–322. DOI: <https://doi.org/10.1080/08830185.2019.1657426>
- Bidmos, F. A., Siris, S., Gladstone, C. A., & Langford, P. R., 2018. Bacterial vaccine antigen discovery in the reverse vaccinology 2.0 Era: Progress and challenges. *Frontiers in Immunology*, 9(OCT), 2315. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02315/BIBTEX>
- Brisse, M., Vrba, S. M., Kirk, N., Liang, Y., & Ly, H., 2020. Emerging concepts and technologies in vaccine development. *Frontiers in Immunology*, 11, 2578. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.583077/BIBTEX>
- Bruno, L., Cortese, M., Rappuoli, R., & Merola, M., 2015. Lessons from reverse vaccinology for viral vaccine design. *Current Opinion in Virology*, 11:89–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2015.03.001>
- Charleston, B., Graham, S. P., 2018. Recent advances in veterinary applications of structural vaccinology. *Current Opinion in Virology*, 29:33-38, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.02.006>

- Chauhan, V., Rungta, T., Goyal, K., & Singh, M. P., 2019. Designing a multi-epitope based vaccine to combat Kaposi Sarcoma utilizing immunoinformatics approach. *Scientific Reports*, 9(1):1–15. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39299-8>
- Clem, A. S., 2011. Fundamental of vaccine immunology. *Journal of Global Infectious Diseases*. 3(1):73-78. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-777X.77299>
- de Oliveira, C. D. M., da Silva, M. K., Barbosa, E. D., Leow, C. Y., Fulco, U. L., Oliveira, J. I.N., 2022. Exploiting reverse vaccinology approach for the design of a multiepitope subunit vaccine against the major SARS-CoV-2 variants. *Comput Biol Chem*, 101:107754. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2022.107754>.
- da Silva, M. K., Fulco, U. L., da Silva, J. E. D., Oliveira, J. I. N., 2022. Moving targets: COVID-19 vaccine efficacy against Omicron subvariants. *Mol Ther*, 30(8):2644-5. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.27017>.
- Dellagostin, O. A., Grassmann, A. A., Hartwig, D. D., Félix, S. R., Da Silva, É. F., McBride, A. J. A., 2011. Recombinant vaccines against leptospirosis. *Hum Vaccin*, 7:1215–24. doi: 10.4161/hv.7.11.17944
- Ekins, S., Mestres, J., Testa, B., 2007. *In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. *British Journal of Pharmacology*, 152(1):9-20. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>
- Elrashedy, A., Nayel, M., Salama, A. *et al.*, 2024. Bioinformatics approach for structure modeling, vaccine design, and molecular docking of *Brucella* candidate proteins BvrR, OMP25, and OMP31. *Sci Rep*, 14:11951 DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61991-7>
- Fleri, W., Paul, S., Dhanda, S. K., Mahajan, S., Xu, X., Peters, B., & Sette, A., 2017. The immune epitope database and analysis resource in epitope discovery and synthetic vaccine design. *Frontiers in Immunology*, 8:278. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00278/BIBTEX>
- Grassmann, A. A., Kremer, F. S., Santos, J. C. dos, Souza, J. D., Pinto, L. da S., & McBride, A. J. A., 2017. Discovery of novel leptospirosis vaccine candidates using reverse and structural vaccinology. *Frontiers in Immunology*, 8(APR):463. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00463/BIBTEX>
- Han, S., 2015. Clinical vaccine development. *Clinical and experimental vaccine research*, 4(1):46-53. DOI: <https://doi.org/10.7774/cevr.2015.4.1.46>
- Hou, W., Wu, H., Wang, S., Wang, W., Wang, B., Wang, H., 2023. Designing a multi-epitope vaccine to control porcine epidemic diarrhea virus infection using immunoinformatics approaches. *Front Microbiol*, 14(14):1264612. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1264612.
- Kardani, K., Bolhassani, A., & Namvar, A., 2020. An overview of in silico vaccine design against different pathogens and cancer. *Expert Review of Vaccines*, 19(8):699–726. doi: <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1794832>

- Kumar, P., Lata, S., Shankar, U. N., Akif, M., 2021. Immunoinformatics-based designing of a multi-epitope chimeric vaccine from multi-domain outer surface antigens of *Leptospira*. *Front Immunol*, 12:735373. DOI: 10.3389/fimmu.2021.735373. PMID: 34917072; PMCID: PMC8670241.
- Laverde, A. J., Restrepo-Botero, D., Hernández-Pulido, D., Rodríguez-Bautista, J. L., Sandoval I. S., 2021. Seroprevalencia de *Brucella canis* en perros de un refugio para animales de compañía en Bogotá, Colombia. *Biomed*, 41(2):260-270. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.5409>
- Mamede, L. D., de Paula, K. G., de Oliveira, B., dos Santos, J. S. C., Cunha, L. M., Junior, M. C., Jung, L. R. C., Taranto, A. G., de Oliveira Lopes, D., & Leclercq, S. Y., 2020. Reverse and structural vaccinology approach to design a highly immunogenic multi-epitope subunit vaccine against *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infection, Genetics and Evolution*, 85:104473. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2020.104473>
- Marques, P. H., Tiwari, S., Felice, A. G., Jaiswal, A. K., Aburjaile, F. F., Azevedo, V., Silva-Vergara, M. L., Ferreira-Paim, K., Soares, S. d. C., & Fonseca, F. M., 2024. Design of a multi-epitope vaccine against *Histoplasma capsulatum* through immunoinformatics approaches. *Journal of Fungi*, 10(1):43. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof10010043>
- Martínez-Cepeda, G. E. y Revelo-Ruales, A. P., 2017. Histoplasmosis en caninos y felinos: signos clínicos, métodos de diagnóstico y tratamiento. *Analecta Vet.* 37(1):45-58. DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e007>
- Mascola, J. R., & Fauci, A. S., 2019. Novel vaccine technologies for the 21st century. *Nature Reviews Immunology*, 20(2):87–88. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0243-3>
- Mitkus, R. J., King, D. B., Hess, M. A., Forshee, R. A., & Walderhaug, M. O., 2011. Updated aluminum pharmacokinetics following infant exposures through diet and vaccination. *Vaccine*, 29(51):9538–9543. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.124>
- Mittal, J., Ponce, M. G., Gendlina, I., Nosanchuk, J.D., 2019. *Histoplasma capsulatum*: mechanisms for pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol*, 422:157-191. DOI: 10.1007/82\_2018\_114. PMID: 30043340; PMCID: PMC7212190.
- Nahian, M., Shahab, M., Khan, M. R., Akash, S., Banu, T. A., Sarkar, M. H., Goswami, B., Chowdhury, S. F., Islam, M. A., Abu Rus'd, A., Begum, S., Habib, A., Shaikh, A. A., Oliveira, J. I. N., Akter, S., 2025. Development of a broad-spectrum epitope-based vaccine against *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS One*, 16; 20(1):e0317216. DOI: 10.1371/journal.pone.0317216
- Negahdaripour, M., Eslami, M., Nezafat, N., Hajjighahramani, N., Ghoshoon, M. B., Shoolian, E., Dehshahri, A., Erfani, N., Morowvat, M. H., & Ghasemi, Y., 2017. A novel HPV prophylactic peptide vaccine, designed by immunoinformatics and structural vaccinology approaches. *Infection, Genetics and Evolution*, 54:402–416. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2017.08.002>

- Nemati, A. S., Tafrihi, M., Sheikhi, F., Tabari, A. R., & Haditabar, A., 2021. Designing a new multi epitope-based vaccine against COVID-19 disease: an immunoinformatic study based on reverse vaccinology approach. *Research Square*. DOI: <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-206270/V1>
- Oli, A. N., Obialor, W. O., Ifeanyichukwu, M. O., Odimegwu, D. C., Okoyeh, J. N., Emechebe, G. O., Adejumo, S. A., & Ibeanu, G. C., 2020. Immunoinformatics and vaccine development: An overview. *ImmunoTargets and Therapy*, 9:13–30. DOI: <https://doi.org/10.2147/ITT.S241064>
- Oli, A. N., Rowaiye, A. B., 2022, Chapter 2 – “Vaccine types and reverse vaccinology”, Editor(s): Ashfield, R., Oli, A. N., Esimone, Ch., Anagu, L. In *developments in immunology, vaccinology and methods in vaccine research*, Academic Press, 31-55, DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91146-7.00013-5>.
- Orozco, M. J. A., Ruíz, B. J. D., Agudelo, F. P. M., Pérez, G. J., 2021. *Factores de riesgo domiciliarios y seroprevalencia de leptospirosis canina en 39 municipios del departamento de Antioquia, Colombia 2018*. <http://hdl.handle.net/10946/5216>, consultado el 17/01/2025.
- Parvizpour, S., Pourseif, M. M., Razmara, J., Rafi, M. A., & Omid, Y., 2020. Epitope-based vaccine design: a comprehensive overview of bioinformatics approaches. *Drug Discovery Today*, 25(6):1034–1042. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2020.03.006>
- Patra, P., Mondal, N., Patra, B. C., & Bhattacharya, M., 2020. Epitope-based vaccine designing of *Nocardia asteroides* targeting the virulence factor mce-family protein by immunoinformatics approach. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(2):1165–1176. DOI: <https://doi.org/10.1007/S10989-019-09921-4/FIGURES/9>
- Perea-Valle, P., Delgado-Aguirre, C. J., Villafuerte-Domínguez, B. G., & Río-Navarro, B. E. Del, 2022. Anafilaxia causada por vacunas. *Revista alergia México*, 69(Supl.1):1-14. <https://doi.org/10.29262/ram.v69isupl1.989>
- Pérez, G. G. F., Pinta, D., Luna, J., Mizhquero, E., 2023. Frecuencia de leptospirosis en pacientes caninos atendidos en el hospital docente veterinario César Augusto Guerrero. *Ciencias Vet Agrop*, 13(1):31-37. DOI: <https://doi.org/10.54753/cedamaz.v13i1.1282>
- Racle, J., Guillaume, P., Schmidt, J., Michaux, J., Larabi, A., Lau, K., Perez, M. A., Croce, G., Genolet, R., Coukos, G., Zoete, V., Pojer, F., Bassani-Sternberg, M., Harari, A., Gfeller, D., 2023. Machine learning predictions of MHC-II specificities reveal alternative binding mode of class II epitopes. *Immunity*, 56(6):1359-1375. e13, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.03.009>
- Raoufi, E., Hemmati, M., Eftekhari, S., Khaksaran, K., Mahmodi, Z., Farajollahi, M. M., & Mohsenzadegan, M., 2020. Epitope prediction by novel immunoinformatics approach: A state-of-the-art review. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(2):1155–1163. DOI: <https://doi.org/10.1007/S10989-019-09918-Z/TABLES/3>

- Rappuoli, R., Bottomley, M. J., D'Oro, U., Finco, O., & de Gregorio, E., 2016. Reverse vaccinology 2.0: Human immunology instructs vaccine antigen design. *Journal of Experimental Medicine*, 213(4):469–481. DOI: <https://doi.org/10.1084/JEM.20151960>
- Rodríguez Domínguez, M., Montes de Oca Jiménez, R., Barbabosa-Pliego, A., Díaz-Aparicio, E., Varela Guerrero, J., & Tenorio Borroto, E., 2022. Isolation, cloning and phylogenetic analysis of PLD and CP40, virulence factors of a mexican isolate of *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3768>
- Rodríguez-Domínguez, M.C., Montes-de-Oca-Jiménez, R., Vázquez-Chagoyán, J. C., Rivadeneira-Barreiro, P. E., Zambrano-Rodríguez, P. C., Ruiz-Riva-Palacio, M. E., Gutiérrez-Castillo, A. D. C., de-Castro-Soares, S., Vieyra-Reyes, P., Arteaga-Troncoso, G., 2023. Bioinformatic approach of B and T cell epitopes of PLD and CP40 proteins of *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis* mexican isolate 2j-l towards a peptide-based vaccine. *Int J Mol Sci*, 25(1):270. DOI: 10.3390/ijms25010270. PMID: 38203441; PMCID: PMC10778833.
- Roth, J. A., 2011. Veterinary vaccines and their importance to animal health and public health. *Procedia in Vaccinology*, 5:127 – 136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.provac.2011.10.009>.
- Ryan, N., Pratiwi, S. E., Mardhia, M., Ysrafil, Y., Liana. D. F., Mahyarudin, M., 2024. Immunoinformatics approach for design novel multi-epitope prophylactic and therapeutic vaccine based on capsid proteins L1 and L2 and oncoproteins E6 and E7 of human papillomavirus 16 and human papillomavirus 18 against cervical cancer. *Osong Public Health Res Perspect*, 15(4):307-328. DOI: <https://doi.org/10.24171/j.phrp.2024.0013>.
- Sánchez-Trincado, J. L., Gómez-Perosanz, M., Reche, P. A., 2017. Fundamentals and methods for T- and B-cell epitope prediction. *Journal of Immunology Research*, DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2680160>
- Savsani, K., Jabbour, G., & Dakshanamurthy, S., 2021. A New epitope selection method: application to design a multi-valent epitope vaccine targeting HRAS oncogene in squamous cell carcinoma. *Vaccines*, 10(1):63. DOI: <https://doi.org/10.3390/VACCINES10010063>
- SENASICA, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2021. Brucelosis en animales. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-contrala-brucelosis>, consultado 2/2/2025.
- Sharma, R., Rajput, V. S., Jamal, S., Grover, A., Grover, S., 2021. An immunoinformatics approach to design a multi-epitope vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* exploiting secreted exosome proteins. *Scientific Reports*, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93266-w>
- Soria-Guerra, R. E., Nieto-Gomez, R., Govea-Alonso, D. O., Rosales-Mendoza, S., 2015. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: Implications on vaccine development. *Journal of Biomedical Informatics*, 53:405–414. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JBI.2014.11.003>

- Soria-Guerra, R. E., Nieto-Gómez, R., Govea-Alonso, D. O., Rosales-Mendoza, S., 2015. An overview of bioinformatics tools for epitope prediction: implications on vaccine development. *J Biomed Informat*, 53:405-14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2014.11.003>.
- Sunita, Sajid, A., Singh, Y., & Shukla, P., 2019. Computational tools for modern vaccine development. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 16(3):723–735. DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1670035>
- Tizard, I. R. 2024, *Veterinary Immunology*. 11<sup>a</sup> ed. Ed. Elsevier.
- Tomar, N., De, R.K., 2014. Immunoinformatics: A brief review. In: De, R., Tomar, N. (eds) *Immunoinformatics*. Methods in molecular biology, vol 1184. Humana Press, New York, NY. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1115-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1115-8_3)
- Waheed, S., Bayas, A., Hindi, F., Rizvi, Z., Espinosa, P. S., & Bayas, A. S., 2021. Neurological complications of COVID-19: Guillain-Barre syndrome following Pfizer COVID-19 vaccine. *Cureus*, 13(2): e13426. DOI: 10.7759/cureus.13426
- WHO, World Health Organization, 2021. Vaccines and immunization: What is vaccination?. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/vaccines-and-immunization-what-is-vaccination>, consultado 4/12/2023.
- WHO, World Health Organization, 2013. Vaccine safety basics: learning manual. <https://iris.who.int/handle/10665/340576>, consultado 17/06/2025.
- Zafar, S., Ajab, H., Mughal, Z. un nisa, Ahmed zai, J., Baig, S., Baig, A., Habib, Z., Jamil, F., Ibrahim, M., Kanwal, S., & Asif Rasheed, M., 2022. Prediction and evaluation of multi epitope based sub-unit vaccine against *Salmonella typhimurium*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2):1092–1099. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.09.061>

