

La gripe: 76 años de vacuna antigripal... ¡y de la hemaglutinina!

The flu: 76 years of influenza vaccine... And the haemagglutinin.

José Antonio Navarro Alonso(1)

(1) Dirección General de Salud Pública y Adicciones Consejería de Salud. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Correspondencia: janavarroalonso@gmail.com

Recibido: 21/02/2020 Revisado: 12/03/2020 Aceptado: 13/03/2020 Publicado: 20/03/2020

Resumen

Se revisa someramente la historia de los virus gripales y los pasos dados desde que se utilizó masivamente la primera vacuna de virus completos, hasta la descripción de las distintas vías de vehicular o de administrar la hemaglutinina de las que disponemos en la actualidad, en aras de mejorar la respuesta inmune y por tanto la protección clínica de toda la población.

Se exponen brevemente los requisitos que debería cumplir una futura vacuna "universal" para que pudiera ser usada con carácter sistemático y los distintos proyectos en marcha.

Palabras clave

Gripe, vacuna, actualidad, futuro.

Abstract

Short review of the history of influenza viruses and main milestones towards currently vaccines: from whole virus vaccines to new ways to administer haemagglutinin as high-dose, recombinant, adjuvanted, cell culture and tetravalent vaccines in order to improve the immune response and hence to increase the protection of the most vulnerable people. In addition, different approaches to a "universal" vaccine are addressed.

Keywords

Influenza, vaccines, universal, approaches.

Introducción

Aunque la descripción de cuadros clínicos compatibles con la gripe se remonta a muchos años atrás, no fue hasta mediados del pasado siglo cuando se aisló e identificó el virus causal. Hasta entonces se creía que el patógeno responsable era la bacteria *Haemophilus influenzae*^{(1),(2)}. Durante la pandemia gripal de 1918 ya comenzó a ponerse en duda la etiología bacteriana, pero fue en 1933 cuando los científicos ingleses Smith, Andrewes y Laidlaw aislaron, tras la propagación en hurones de secre-

ciones nasales de pacientes infectados, el virus gripal A (de la familia de los *Orthomyxoviridae*). Un año más tarde se aisló en Puerto Rico la cepa PR8 (llamada H0) caracterizada por un altísimo potencial replicativo en huevo, y que continúa siendo la base o cepa donante de muchas de las actuales vacunas⁽³⁾.

En los siguientes cinco años se produjeron importantes avances en el conocimiento del virus gripal que tendrían

Cómo citar este artículo: Navarro Alonso JA. La gripe: 76 años de vacuna antigripal... ¡y de la hemaglutinina!. REMASP. 2020; 3(11):1-8. <https://doi.org/10.36300/remasp.2019.056>



repercusión en la producción de vacunas: la inactivación con formalina, la purificación mediante centrifugación y el descubrimiento de que el virus crecía con facilidad en huevos fertilizados de gallina⁽²⁾.

Un hito importante fue el aislamiento en 1940 de un virus gripal antigénicamente distinto del PR8, y que se denominó virus gripal B.

El pasado

Curiosamente, la primera vacuna antigripal ensayada en humanos fue una vacuna atenuada (agente infeccioso completo con capacidad de replicación, pero con menor virulencia que el virus salvaje) obtenida en 1936 por el científico ruso Smorodintseff tras treinta pasos del virus en huevo para conseguir su atenuación⁽¹⁾. En 1942 se ensayó en voluntarios de los Estados Unidos una vacuna inactivada bivalente con dos tipos de gripe, A/PR8 y B/Lee, comprobándose una buena respuesta sérica de anticuerpos frente a ambas cepas, y en la temporada 1943/44 se vacunaron más de 6000 voluntarios alcanzándose una efectividad de la vacuna del 69%. No fue hasta 1944 cuando Francis y Salk también en los Estados Unidos desarrollaron la primera vacuna antigripal inactivada para uso a gran escala, que contenía dos virus, H1 y B, purificados e inactivados con formalina. Debido al alto número de casos y de muertes por gripe en las tropas norteamericanas durante la Primera Guerra Mundial, fueron las desplegadas en Europa con motivo de la Segunda las primeras en ser objeto de una campaña masiva de vacunación. En 1945 se autorizó el uso de la vacuna bivalente en civiles de los Estados Unidos⁽⁴⁾ y en 1947, con motivo de constatar en esa temporada una efectividad de la vacuna inferior a la esperada, se descubrió por vez primera la capacidad de mutación de los virus gripales al aislarse un virus tipo A con una composición de las glucoproteínas de superficie distinta (*drift*), pero idénticas proteínas internas, que se denominó H1 y más adelante H1N1⁽⁵⁾. A partir de entonces las diferentes cepas del virus de la gripe tipo A se dividen en subtipos según las dos glucoproteínas de la superficie del virus, la hemaglutinina y la neuraminidasa. Esta nomenclatura fue adoptada por la O.M.S. en febrero de 1980⁽⁶⁾.

Esta situación recurrió en 1958 con la aparición de un nuevo subtipo de virus gripal, que desplazó al H1N1 en circulación hasta ese momento y que tenía dos antígenos de superficie muy distintos de los previos (*shift*). Se denominó A(H2N2), generó una nueva pandemia y fue el responsable de que a partir de esa temporada las vacunas bivalentes incluyeran las cepas H2N2 y B. El nuevo virus circuló durante diez años hasta la aparición de otra nueva cepa de virus (*shift*), A(H3N2), que desplazó al A(H2N2) causando otra pandemia gripal. En 1978 reapareció la cepa A(H1N1), un nuevo subtipo análogo al que desapareció en 1958, y a diferencia de lo ocurrido en las anteriores pandemias no desplazó al A(H2N2) por lo que a partir de esa temporada las vacunas pasaron a ser trivalentes: A(H1N1), A(H3N2) y B.

Los virus de la gripe B no se dividen en subtipos sino en linajes. El linaje dominante hasta 1987 fue el B/Victoria hasta que apareció en los años noventa el B/Yamagata, alterando o co-circulando desde 2002 y hasta nuestros días.

El presente

Al contrario de las vacunas actualmente en uso, las primeras incluían el virus gripal entero (*whole-virus*) que se había inactivado con formalina. La tolerancia era aceptable en adultos, pero no tanto en niños y jóvenes. Ello dio pie a que en 1968 aparecieran vacunas inactivadas que contenían viriones fragmentados obtenidos mediante el uso de éter y Tween 80 (*split*) que disolvían la capa lipídica de la cubierta del virus. Estas vacunas reducían considerablemente las reacciones adversas sin merma, en general, de la inmunogenicidad. Sin embargo, y excepto en aquellos que ya habían estado expuestos al mismo subtipo vírico (*primed*)⁽²⁾, se les tenía que administrar dos dosis de vacuna para conseguir una respuesta inmune aceptable⁽⁷⁾. Estas vacunas se utilizaron profusamente a propósito de la pandemia de 1976/77 hasta que se puso en marcha la tecnología de la “reagrupación génica” de las cepas gripales que producían una buena respuesta, especialmente en niños, y permitían un crecimiento más rápido en huevos fertilizados. Esta técnica, actualmente mayoritaria en la producción de vacunas antigripales estacionales, se basa en la coinfección de huevos de gallina o de células de mamíferos con dos cepas víricas: la

“donante” (*donor*) de seis segmentos génicos de ARN, generalmente PR8, de alta replicación, y la cepa salvaje portadora de la hemaglutinina y neuraminidasa que se prevé va a circular en la temporada próxima. De ese modo se consigue una cepa con las propiedades antigénicas del virus salvaje (glucoproteínas de superficie) y las propiedades replicativas de las cepas adaptadas (proteínas internas). Tras la inactivación del virus y la extracción-purificación de la hemaglutinina, se obtiene una vacuna de subunidades que contiene básicamente esa glucoproteína de superficie purificada. Respecto a la concentración de neuraminidasa incluida en la vacuna es muy variable y de difícil cuantificación^{(8),(9)}.

Actualmente sigue siendo la hemaglutinina el eje sobre el que pivotan las distintas vacunas disponibles en nuestro arsenal preventivo. A esta hemaglutinina unas veces se le añaden potenciadores de la respuesta inmune, en otras se vehiculiza en cepas atenuadas o se obtiene por técnicas recombinantes, y en otras o bien se aumenta su carga antigénica o bien se administra por vías alternativas a la intramuscular.

A continuación, se repasan someramente las características de las vacunas actualmente disponibles en España y las que se comercializarán en el corto plazo.

Vacunas “adyuvadas”.

Se sustentan en la adición de un potenciador de la respuesta inmune (adyuvante) lo que las hace, al menos teóricamente, de utilidad en personas mayores inmunosenescentes. El adyuvante es una suspensión de aceite en agua con escualeno, MF59, que incluye, además, polisorbato 80, trioleato sorbitan, citrato trisódico y ácido cítrico. Los resultados tras su uso a gran escala en mayores de 65 años y los metaanálisis apuntan a una buena efectividad en evitar hospitalizaciones por gripe causada por los subtipos H1N1 y H3N2^{(10),(11)}.

Vacunas intradérmicas.

Generan una potente respuesta inmune con una menor cantidad de hemaglutinina (nueve microgramos para los menores de sesenta años y quince para los de más edad) aprovechando la alta concentración de células

presentadoras de antígeno y de células de Langerhans presentes en la dermis, lo que facilita su captación por los ganglios linfáticos regionales y por ende la diferenciación de las células B y T⁽¹²⁾. Al margen de la comodidad de su administración, los metaanálisis sobre la efectividad de la vacuna sugieren una eficacia no inferior al comparar con las vacunas convencionales de 15 microgramos de hemaglutinina⁽¹²⁾.

Vacunas atenuadas intranasales.

Las primeras aproximaciones para el uso de esta vacuna a gran escala tuvieron lugar en la Unión Soviética en 1961. Utilizaba una cepa donante A/Leningrado/47 sensible al calor con replicación limitada a 38°C y adaptada al frío con replicación eficiente a 25°C que se reagrupaba en huevo con la cepa salvaje para generar un virus con seis genes de la cepa atenuada y la hemaglutinina y la neuraminidasa de la salvaje (6:2). Una estrategia similar en los Estados Unidos culminó en 2003 con la comercialización y uso en personas de 5 a 49 años. La vacuna atenuada utilizaba como donante la cepa A/Ann Arbor/6/60/H2N24. Los excelentes resultados iniciales se vieron empañados a partir de la temporada 2010/11 en la que se observó un riesgo de padecer gripe por el subtipo A/H1N1pdm09 muy superior respecto a los vacunados con la inactivada⁽¹³⁾. Este fenómeno, no se observó, paradójicamente, en Reino Unido y Finlandia que también utilizaban la vacuna atenuada. Tras barajar varias hipótesis acerca de los motivos⁽¹⁴⁾, se concluyó que la causante de la baja efectividad era la escasa replicación en el tracto respiratorio superior de las cepas H1N1 California y Bolivia utilizadas en la elaboración de la vacuna. Una vez sustituidas por la cepa Eslovenia mejoró la inmunogenicidad y la replicación vírica⁽¹⁵⁾. Entretanto, los resultados de efectividad en la temporada 2018/19 comunicados en Inglaterra siguen siendo bastante buenos⁽¹⁶⁾.

Vacunas recombinantes.

En esta tecnología se clona el gen que codifica la hemaglutinina de la cepa que se prevé circulará en la próxima temporada y se inserta en un baculovirus (*Autographa californica*) que a su vez infecta a células de insecto (*Spodoptera frugiperda*). Estas sintetizan sus

propias proteínas y la hemaglutinina. Una vez finalizado el proceso la vacuna contiene exclusivamente esa proteína en concentraciones de 45 microgramos. La *Food and Drug Administration* (FDA) la aprobó en enero de 2013 con una indicación actual de uso a partir de los 18 años y se encuentra en fase de evaluación por la *European Medicines Agency* (EMA). No incluye trazas de huevo y está exenta de formaldehído, antibióticos, látex y timerosal. En estudios comparativos con las vacunas inactivadas convencionales, la probabilidad de padecer una enfermedad tipo gripal (*influenza like-illness*) fue un 30% inferior en los de 50 o más años que recibieron la vacuna recombinante⁽¹⁷⁾.

Vacunas de alta carga antigénica (*high-dose*).

Con el objetivo de aumentar la respuesta inmune la FDA aprobó en 2009 una vacuna que cuadruplicaba la cantidad de hemaglutinina respecto de las vacunas convencionales para alcanzar una concentración de 60 microgramos por cepa. Los datos disponibles en los mayores de 65 años reflejan una mayor efectividad para la gripe confirmada por el laboratorio⁽¹⁸⁾ y para los ingresos hospitalarios⁽¹⁹⁾ respecto de las vacunas convencionales. Estos hallazgos también se observaron en los de más de 85 años⁽²⁰⁾. A cambio de la mayor efectividad, también aumentan los efectos adversos locales y la febrícula. Esta vacuna también se encuentra en fase de evaluación por la EMA.

Vacunas tetravalentes.

Debido a la co-circulación habitual en la misma temporada de los dos "linajes" de virus B, Victoria y Yamagata, a la imposibilidad de predecir cuál de ellos será el dominante en una temporada dada⁽²¹⁾, y a las controversias en relación a la existencia de protección cruzada, han aparecido recientemente nuevas vacunas que incluyen a ambos tipos de virus A y B. Un punto destacable es que de promedio y a escala mundial los virus B suponen alrededor de un 23% de los aislamientos en una temporada dada⁽²²⁾. El punto clave es, tal como se ha expuesto con anterioridad, si desde la perspectiva de salud pública y teniendo en cuenta el incremento de su coste económico, estaría plenamente justificado el paso de una vacuna trivalente a una tetravalente⁽²³⁾. Los datos recien-

tes apuntan a una homología aminoácida entre ambos linajes superior al 90%⁽²⁴⁾, lo que puede justificar la efectividad cruzada encontrada en algunas temporadas en varios países, incluido el nuestro⁽²⁵⁾, aunque de menor magnitud que cuando hay una concordancia de linajes entre el vacunal y el salvaje circulante. Por el contrario, se han publicado resultados que no muestran con claridad esa protección⁽²⁶⁾. Los motivos que podrían explicar la protección cruzada serían la presencia de neuraminidasa en la vacuna o la vacunación/padecimiento previo por virus tipo B⁽²³⁾.

Vacunas de cultivo celular.

El sustrato en el que se producen las vacunas comentadas hasta ahora es el huevo fertilizado de gallina. Como ventajas del proceso destacan: a) la existencia de infraestructuras suficientes como para producir del orden de 1.500 millones de dosis anuales, y b) su bajo precio. Entre los inconvenientes destacan: a) disponibilidad de cantidades importantes de huevo, b) capacidad del virus para replicarse en huevo, c) la probabilidad de que la adaptación pueda conllevar mutaciones del virus, d) inclusión de contaminantes procedentes del fluido alantoico, y e) presencia de trazas de huevo y antibióticos. Con el objetivo de obviar alguno de estos inconvenientes aparecieron en 2007 las vacunas antigripales en las que la replicación del virus se llevaba a cabo en células de mamífero del tipo Vero (*Green African Monkey*) o MDCKC (*Madin-Darby Canine Kidney Cell*). Las ventajas de este sistema son: a) disponibilidad y flexibilidad, b) ausencia de contaminantes, c) menos tiempo para disponer de la vacuna, d) no pérdida de epítopes, e) buen crecimiento del virus H3N2 con menores derivas antigénicas, y f) ausencia de antibióticos. A pesar de las indudables ventajas, esta tecnología adolece hoy en día de la necesaria infraestructura para su uso a gran escala. Adicionalmente, aumenta considerablemente el precio respecto a las vacunas producidas en huevo. Para la temporada gripal del hemisferio norte 2020/2011, la Organización Mundial de la Salud, por vez primera, ha mostrado por una parte sus preferencias por la vacuna producida en cultivo celular y por la otra recomienda cepas vacunales distintas según que el sustrato de producción sea huevo o células⁽²⁷⁾.

Como se ha expuesto, una de las ventajas teóricas de esta técnica residiría en evitar la aparición de mutaciones menores del virus H3N2 causadas por la propagación del virus vacunal en huevos fertilizados. Estas serían debidas a un *mismatch* en el lugar antigénico B de la hemaglutinina del virus H3N2 con pérdida de un lugar de glicosilación⁽²⁸⁾. No obstante, las vacunas de cultivo celular no han evitado por sí solas la baja efectividad observada en las últimas temporadas para el subtipo A/H3N2. Es por ello que se lanzan voces reclamando la inclusión de un segundo *clade* de ese subtipo en las futuras vacunas de manera que tuviera cinco componentes: un H1N1, dos H3N2 (3C.2a y 3C.3a), y dos B, Victoria y Yamagata.^{(29),(30)}

El futuro: la vacuna universal

En los últimos 76 años se han venido utilizando variadas vacunas antigripales sin modificaciones sustanciales en la tecnología, descansando todas ellas en una parte de la hemaglutinina como antígeno principal⁽³¹⁾.

Como ha quedado patente a lo largo del manuscrito, los inconvenientes de las vacunas actuales podrían verse obviados, al menos parcialmente, con una vacuna antigripal universal que indujera respuestas inmunes frente a epítopes proteicos conservados del virus que fueran protectores⁽¹⁰⁾. Sus características podrían ser las siguientes^{(32),(33)}: a) mejor efectividad (al menos un 75% frente a la gripe sintomática), b) mayor duración de la protección (al menos doce meses e idealmente de cinco a diez años), c) amplitud de respuesta inmune, d) no dependiente de huevo para su producción, e) generación de inmunidad esterilizante, f) válida para todas las edades, y g) facilidad de administración. Las áreas de investigación abiertas por el *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID) de los Estados Unidos comprenderían dos aspectos: a) ampliar conocimientos acerca de la transmisión, historia natural, estacionalidad y patogénesis, y b) desentrañar el mecanismo íntimo de la respuesta inmune postvacunal, y muy específicamente lo que subyace bajo el fenómeno del “pecado original antigénico”⁽³⁴⁾, y el conocer los subrogados séricos de protección clínica.

Se encuentran en marcha múltiples proyectos, aunque según los investigadores los proyectos que parecen más prometedores son aquellos que utilizan como antígeno el tallo de la hemaglutinina que, a diferencia de los que emplean la cabeza, está estructuralmente conservada y produce anticuerpos con inmunidad cruzada⁽³⁵⁾. Uno de los ensayos, en el que trabajan españoles de la *Icahn School of Medicine at Mount Sinai* de Nueva York, ya ha publicado resultados de fase I⁽³⁶⁾.

Otra vía de investigación es la que utilizaría la neuraminidasa como antígeno generador de una robusta respuesta inmune. Esta glucoproteína es inmunógena, desencadena anticuerpos específicos que contribuyen a la inmunidad^(37,38), y su capacidad de mutación es menor que la de la hemaglutinina⁽³⁹⁾.

Conclusiones

A pesar de las limitaciones referidas de las vacunas antigripales existentes conviene tener muy presente que a pesar de ello son el arma preventiva más efectiva de la que disponemos para evitar el padecimiento de la gripe, y más importante aún, las graves complicaciones que puede causar en la población más vulnerable.

Las propuestas realistas a día de hoy en cuanto al futuro de la prevención primaria de la gripe serían, recogiendo las palabras de la Oficina del director del NIAID, en el corto plazo, mejorar las actuales vacunas, pero en el largo plazo adquirir el compromiso entre todos los que pudieran estar implicados (industria, gobiernos, universidad...) de disponer de una vacuna universal que produzca protección duradera frente a múltiples virus estacionales y también frente a virus pandémicos⁽⁴⁰⁾. ■

Aclaración autoría: El Dr. José Antonio Navarro en la actualidad es experto de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios y de la European Medicines Agency.

Bibliografía

- Hannoun C. The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2013;12(9):1085-1094. <https://doi.org/10.1586/14760584.2013.824709>
- Barberis I, Myles P, Ault S et al. History and evolution of influenza control through vaccination: from the first monovalent vaccine to universal vaccines. *J Prev Med Hyg* 2016; 57(3): E115-E120.
- Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. Influenza historic timeline. [Consultado el 25 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/pandemic-timeline-1930-and-beyond.htm>
- Weir JP, Gruber MF. An overview of the regulation of influenza vaccines in the United States. *Influenza Other Respir Viruses*. 2016; 10(5):354-360. <https://doi.org/10.1111/irv.12383>
- Kilbourne E, Smith C, Brett I et al. The total influenza vaccine failure of 1947 revisited: major intrasubtypic antigenic change can explain failure of vaccine in a post-World War II epidemic. *PNAS*. 2002 ;99(16):10748-10752. <https://doi.org/10.1073/pnas.162366899>
- World Health Organization. A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. *Bull World Health Organ* 1980; 58(4):585-591.
- Hampson AW. Vaccines for pandemic influenza. The history of our current vaccines, their limitations and the requirement to deal with a pandemic threat. *Ann Acad Med Singapore*. 2008; 37(6):722-730.
- Eichelberger MC, Monto AS. Neuraminidase, the forgotten surface antigen, emerges as an influenza vaccine target for broadened protection. *J Infect Dis* 2019;219(S1): S75-80. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz017>
- Yamayoshi S, Kawaoka. Current and future influenza vaccines. *Nat Med*. 2019; 25:212-220. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0340-z>
- Pebody R, Whitaker H, Zhao H et al. Protection provided by influenza vaccine against influenza-related hospitalization in ≥65 year olds: early experience of introduction of a newly licensed adjuvanted vaccine in England in 2018/19. *Vaccine* 2020; 38(2):173-179. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.10.032>
- Domnich A, Arata L, Amicizia D, Puig-Barberá J, Gasparini R, Panatto D. Effectiveness of MF59-adjuvanted seasonal influenza vaccine in the elderly: a systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2017; 35(4):513-520. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.12.011>
- Hung I, Yuen K. Immunogenicity, safety and tolerability of intradermal influenza vaccines. *Hum Vacc Immunother*. 2018; 14(3):565-570. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1328332>
- Chung J, Flannery B, Thompson M et al. Seasonal effectiveness of live attenuated and inactivated influenza vaccine in infants and young children. *Pediatrics*. 2016;137(2): e20153279. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3279>
- Navarro Alonso JA. Efectividad de la vacuna antigripal atenuada en la infancia. En: Campins Martí M y Moraga Llop F, editores. *Vacunas 2017*. Madrid: Undergraf;2017.

15. American Academy of Pediatrics. Recommendations for prevention and control of influenza in children 2019-2020. *Pediatrics*. 2109;144(4): e20192478. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2478>
16. Pebody R, Zhao H, Whitaker H et al. Effectiveness of influenza vaccine in children in preventing influenza associated hospitalization, 2018/19, England. *Vaccine*. 2020; 38 (2):158-164. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.10.035>
17. Dunkle L, Izikson R, Patriarca P et al. Efficacy of recombinant influenza vaccine in adults 50 years of age or older. *N Eng J Med*. 2017; 376(25):2427-2436. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1608862>
18. Díaz Granados C, Dunning A, Kimmel M et al. Efficacy of high dose versus standard-dose influenza vaccine in older adults. *N Eng J Med*. 2014; 371(7):635-645. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1315727>
19. Izurieta HS, Thadani N, Shay DK, et al. Comparative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccines in US residents aged 65 years and older from 2012 to 2013 using Medicare data: a retrospective cohort analysis. *Lancet Infect Dis*. 2015; 15(3):293-300. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71087-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71087-4)
20. Lu Y, Chillarige Y, Izurieta H et al. Effect of age on relative effectiveness of high-dose versus standard-dose influenza vaccines among US medicare beneficiaries aged ≥65 years. *J Infect Dis*. 2019; 220(9):1511-1520. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz360>
21. García A, Arístegui J, Moreno D et al. Documento de reflexión sobre la vacunación antigripal trivalente. Madrid 2019. Disponible en: https://www.semg.es/images/2019/Documentos/doc_reflexion_vac_grip_trivalente_2019.pdf
22. Caini S, Kuszniierz G, Vera Garate V et al. The epidemiological signature of influenza B virus and its B/Victoria and B/Yamagata lineages in the 21st century. *PLoS ONE*. 2019;14(9): e0222381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222381>
23. Gaglani M, Vasudevan A, Raiyani Ch et al. Effectiveness of trivalent and quadrivalent inactivated vaccines against influenza B in the United States, 2011-12 to 2016-17. Epub ahead of print, 2020 Feb 1. *Clin Infect Dis*. 2020; ciaa102. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa102>
24. Skowronski DM, Chambers C, De Serres G et al. Vaccine effectiveness against lineage-matched and-mismatched influenza B viruses across 8 seasons in Canada, 2010-2011 to 2017-2018. *Clin Infect Dis* 2019; 68(10):1754-1757. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy876>
25. Rondy M, Kissling E, Dorthe-Emborg H et al. Interim 2017/18 influenza seasonal vaccine effectiveness: combined results from five european studies. *Euro Surveill*. 2018;23(9):pii=18-00086. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.9.18-00086>
26. Pebody R, Djennad A, Ellis J et al. End of season influenza vaccine effectiveness in adults and children in the United Kingdom in 2017/18. *Euro Surveill*. 2019;24(31):pii=1800488. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.31.1800488>
27. World Health Organization [Internet]. Recommended composition of influenza virus vaccine for use in the 2020-2021 northern hemisphere influenza season. [Consultado el 25 de febrero de 2020] Disponible en: https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/202002_recommendation.pdf?ua=1

28. Zost SJ, Parkhouse K, Gumina ME et al. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strain. *PNAS*. 2017; 114(47):12578-12583. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712377114>
29. Skowronski D, Hottes T, De Serres G et al. Influenza B/Victoria antigen induces strong recall of B/Yamagata but lower B/Victoria response in children primed with two doses of B/Yamagata. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30(10): 833-889. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31822db4dc>
30. Monto A, Petrie J. Improving influenza vaccine effectiveness: ways to begin solving the problem. *Clin Infect Dis*, 2019 ;69(10):1824-1826. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz416>
31. Valkenburg S, Cowling B. Turning influenza vaccinology on its head to reveal the stalk. *Lancet Infect Dis* 2020; 20(1):5-7. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30556-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30556-0)
32. Erbeling E, Post D, Stemmy E et al. A universal influenza vaccine: the strategic plan for the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. *J Infect Dis*. 2018; 218 (3):347-354. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy103>
33. Plotting a route to a universal influenza vaccine. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18(5):475-476. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30235-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30235-4)
34. Henry C, Palm AE, Krammer F, Wilson PC et al. From original antigenic sin to the universal influenza virus vaccine. *Trends Immunol*. 2018; 39(1):70-79. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.08.003>
35. De Vries R, Nieuwkoop N, van der Klis F, Koopmans MPG, Krammer F, Rimmelzwaan GF. Primary human influenza B virus infection induces cross-lineage hemagglutinin stalk-specific antibodies mediating antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Infect Dis*. 2017; 217:3-11. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix546>
36. Bernstein D, Guptill J, Naficy A et al. Immunogenicity of chimeric haemagglutinin-based, universal influenza virus vaccine candidates: interim results of a randomised, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20(1) :80-91. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30393-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30393-7)
37. Eichelberger M, Morens D, Taubenberger J. Neuraminidase as an influenza vaccine antigen: a low hanging fruit, ready to picking to improve vaccine effectiveness. *Curr Op Immunol*. 2018; 53:38-44. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.03.025>
38. Chen Y, Wohbold T, Zheng N et al. Influenza infections in humans induce broadly cross-reactive and protective neuraminidase-reactive antibodies. *Cell*. 2018;173(2):417-429. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.030>
39. Estrada L, Schultz-Cherry S. Development of a universal influenza vaccine. *J Immunol*. 2019; 202 (2):392-398. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801054>
40. Paules C, Fauci A. Influenza vaccines: good, but we can do better. *J Infect Dis*. 2019;219 (S1): S1-S4. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy633>