

<https://orcid.org/0000-0001-9268-139X>
<https://orcid.org/0000-0002-3403-3121>
<https://orcid.org/0000-0003-1042-5988>

CONSIDERACIONES EN LAS VACUNAS COMESTIBLES PARA HUMANOS A BASE DE PLANTAS

CONSIDERATIONS IN PLANT-BASED EDIBLE VACCINES FOR HUMANS

Alan R. Blázquez-Zapata
Natasha Huicochea-Martínez
Luis M. Reyes-Cortés

Licenciatura en Biotecnología
Facultad de Ciencias Biológicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

201934277@viep.com.mx natasha.huicocheamartinez@viep.com.mx luism.
reyescortes@viep.com.mx

Abstract

Vaccines stimulate the immune system to provide protection to the individual against further infections. The lack of immunization in developing countries is undoubtedly the most serious consequence of the difficulty in accessing traditional vaccination systems. In the last decade, plants have proven to be versatile production systems for a variety of antibodies because they can serve as biofactories to produce vaccine antigens. Its industrial-level design is an easy-to-administer strategy, free from the use of syringes since they are edible, much lower cost because purification costs come out of the equation, and highly controlled conditions are not required for storage, nor should they be applied antiseptic protocols as in the case of injections. Although plant-based edible vaccines have benefits, they also represent challenges to overcome, food allergies should be considered, among which is the pollen-food syndrome (PAS).

Keywords: edible vaccines; human oral immunization; plant-based vaccines.

Resumen

Las vacunas estimulan al sistema inmunitario para brindar protección al individuo contra infecciones posteriores. La falta de inmunización en los países en vías de desarrollo es sin duda la consecuencia más grave de la dificultad para acceder a los sistemas tradicionales de vacunación. En la última década las plantas han demostrado ser sistemas versátiles de producción para variedad de anticuerpos debido a que pueden servir como biofábricas para producir antígenos vacunales. Su diseño a nivel industrial es una estrategia de fácil administración y libre del uso de jeringas ya que son comestibles, de mucho menor costo porque salen de la ecuación los costos de purificación, además, no se requieren condiciones muy controladas para su almacenamiento ni se deben aplicar protocolos de antisepsia como en el caso de las inyecciones. Aunque las vacunas comestibles a base de plantas presentan beneficios, también representan retos a batir, donde se deben considerar a las alergias alimentarias, entre las que se encuentra el síndrome polen-alimento (SPA).

Palabras clave: Vacunas comestibles; inmunización oral humana; vacunas a base de plantas.

Introducción

La inmunización es un proceso mediante el cual un individuo se hace inmune o resistente a una enfermedad infecciosa, en términos generales corresponde a la administración de una vacuna ya sea inyectable, oral o por vía mucosa. Las vacunas estimulan al sistema inmunitario para brindar protección al individuo contra infecciones posteriores. No solo previene enfermedades, sino que también afecciones relacionadas, como ciertas discapacidades e incluso defunciones a causa de enfermedades contra las que ya existe una vacuna.

Factores que influyen en la decisión de vacunar

De acuerdo con los usos y costumbres de cada región, la población tiene determinada aceptación para cualquier tipo de vacunación, siendo de especial importancia la información pública disponible, como, por ejemplo, los medios masivos clásicos y las nuevas tecnologías que están directamente relacionadas con las campañas de divulgación que realiza cada país para su población, estas deberán hacer especial hincapié en la velocidad con la que se distribuye la información y que el mensaje sea claro para que un ciudadano sin mayor acercamiento al conocimiento científico pueda entenderlo.

La evidencia científica sugiere que los siguientes determinantes pueden influir en la toma de la decisión de vacunar: actitud, identidad, normas sociales (percepciones sobre lo que la sociedad y nuestro entorno espera que hagamos) y descriptivas (percepciones sobre lo que hacen mayoritariamente los demás), costumbres y barreras para el acceso a la vacunación (la necesidad de dedicar recursos, tiempo o esfuerzo por parte de la persona, o la existencia de barreras administrativas, como los horarios de funcionamiento del vacunatorio). (OPS, 2021). Ver Figura 1.



Figura 1. Estadísticas preocupantes hasta 2020, informe (OPS, 2021).

Biotecnología Vegetal

Comprender el término biotecnología vegetal es de importancia vital para el propósito de este artículo, en términos generales refiere al uso de técnicas de cultivo de tejidos y de ingeniería genética como principales herramientas para así producir plantas modificadas que expresen características deseables nuevas o mejoradas.

Por ejemplo, de un solo cultivo se pueden aprovechar las cualidades para obtener alimentos sostenibles y nutrición saludable o incluso mejorada, además de poder actuar en pro del medio ambiente. Encontrar plantas o desarrollar técnicas adecuadas suele ser un desafío muy complejo. Sin embargo, tiene muchas más aplicaciones de las mencionadas, por ejemplo, este artículo se enfoca en las vacunas comestibles.

Definición y breve historia de las vacunas comestibles

Las plantas comestibles pueden servir como biofábricas para producir antígenos vacunales. (Saba et al., 2020). Se trata de vacunas contenidas en frutas u hortalizas, y que, al ingerir dichos alimentos nos brindan protección contra determinados agentes infecciosos. No siempre estuvieron ahí, funcionan de la siguiente manera; se transfiere un gen a la planta de interés, dicho gen proviene del agente infeccioso contra el que se desea inmunizar, con el propósito de que sea la planta quien se encargue de expresar el antígeno en las hojas,

frutos, raíces o semillas. Este nuevo compuesto denominado antígeno, entra en contacto con la mucosa del tracto digestivo, generando una respuesta inmune protectora.

Es necesario ampliar la definición de vacuna comestible, ya que esta terminología se extiende a otros alimentos como algunos productos lácteos que pudieran contener bacterias lácticas modificadas para expresar antígenos específicos.

Ventajas frente a las vacunas inyectables

Antes de comparar a las vacunas comestibles con las aplicadas por vía parental se deben conocer las propiedades de una vacuna ideal, las cuales se buscan en cualquier método de inmunización (Santosh Kumar & Kiran, 2019):

- No deben ser tóxicas
- Las personas sanas deberían experimentar efectos secundarios muy leves
- Los pacientes inmunocomprometidos no deben arriesgarse
- Necesitan estimular la inmunidad celular y humoral de larga duración
- Técnica de vacunación simple
- Relativamente barata
- Amigable con el ambiente
- Efectiva y asequible

La falta de inmunización en los países en vías de desarrollo es sin duda la consecuencia más grave de la dificultad para acceder a los sistemas tradicionales de vacunación (Cebadera Miranda et al., 2020). Se calcula que el 20% de la población infantil carece del esquema de vacunación básico, especialmente en zonas remotas, provocando la muerte de aproximadamente 2 millones de personas anualmente (Khalid et al., 2022). La OMS tiene como uno de sus objetivos primordiales encontrar la manera de producir vacunas de bajo costo, con el fin de que sean accesibles a la población, para ello es importante que su almacenamiento y distribución se pueda llevar a cabo sin necesidad de refrigeración. Existe suficiente literatura de respaldo para corroborar que las vacunas comestibles son agentes prometedores en el esfuerzo por reducir la incidencia de enfermedades como la hepatitis y la diarrea. Sobre todo, en países en vías de desarrollo, ya que la salud pública suele ser un factor crítico en común para dichos países.

En el aspecto clínico se debe considerar que la ruta de administración convencional es la vía parental (inyección), por lo cual se requiere personal capacitado. Aunado a lo anterior, dichas vacunas presentan una baja respuesta de la mucosa porque solo promueven respuesta inmune humoral, pero la actividad efectora de las células T y la inmunidad de la mucosa son críticos en la prevención de infecciones. También se debe considerar el posible desarrollo de efectos secundarios como inflamación local en el sitio de inoculación, fiebre y/o raramente, hipersensibilidad (Khalid et al., 2022). Otro aspecto relevante es la relativa facilidad de elaboración de las vacunas comestibles porque no necesitan purificarse, esterilizarse, empacarse o distribuirse con elementos muy específicos, lo cual reduce los costos de producción. Aparte, no se requieren condiciones muy controladas para su almacenamiento ni se deben aplicar protocolos de antisepsia como en el caso de las inyecciones, entre los cuales destaca la desinfección con alcohol (Shah et al., 2022).

Mecanismo de acción

El principal objetivo de las vacunas orales es estimular tanto la inmunidad sistémica como la de las mucosas. Junto a las citocinas, quimiocinas y la inmunoglobulina A secretora o IgA secretora (isoforma de la IgA presente en secreciones de la mucosa, se descubrió en la saliva), se desarrolla un efecto sinérgico con las células natural killer (NK), células linfoides innatas (ILCs), células T invariantes asociadas a mucosas (MAIT) y células ν TA. Aparte, participan moléculas antimicrobianas como defensinas, lisozima, moco y surfactante. En los mamíferos los tejidos linfoides secundarios organizados se encuentran tanto en el sistema respiratorio superior (tejido linfóide nasofaríngeo) como en el tracto gastrointestinal (tejido linfóide intestinal), donde se facilita la absorción del antígeno, procesamiento y presentación para empezar con la respuesta inmune específica (Kiyono et al., 2021).

Cuando las vacunas comestibles se someten a la masticación empieza la degradación de las paredes de las células vegetales, la cual alcanza su máximo apogeo en el intestino. Así, tanto las enzimas digestivas del hospedero como las producidas por las bacterias de la microbiota actúan sobre el agente inmunizante. La principal fuente de células plasmáticas productoras

de IgA son las placas de Peyer, compuestas de folículos con 30-40 nódulos linfoides hallados en la superficie externa del intestino. Cuando el vegetal que constituye a la vacuna comestible colapsa cerca de estos folículos, el antígeno penetra el epitelio intestinal y se acumula en la estructura linfoide organizada. Luego las células M, que son enterocitos especializados en la captación de antígenos luminales, se unen a la molécula “extraña” y la presentan a los macrófagos y células B, las cuales activan a las células T para dar lugar a la respuesta inmune (Santosh Kumar & Kiran, 2019). Ver Figura 2.

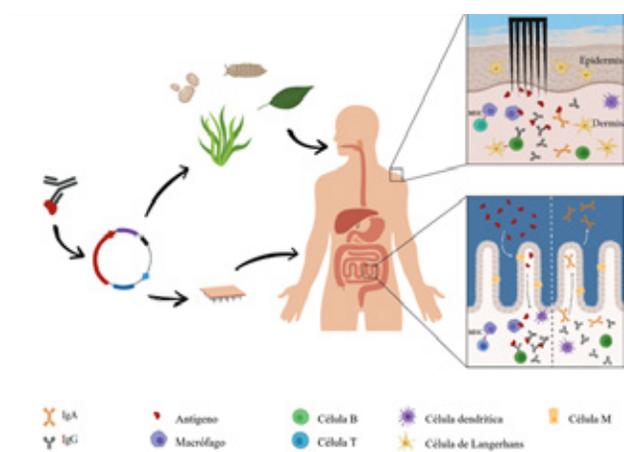


Figura 2. Identificación del gen de interés, clonación en el organismo elegido y mecanismo de acción. La mayor actividad de las vacunas comestibles se presenta en el intestino delgado, mientras que las formulaciones intradermales interactúan con las células dendríticas y las células de Langerhans; éstas tienen el papel de presentar antígenos a las células B y T (Criscuolo et al., 2019).

Transformación vegetal

El primer paso en la generación de plantas recombinantes consiste en el aislamiento y purificación del gen que codifica al péptido antigénico, el cual será modificado para la transformación vegetal por medio del sistema *Agrobacterium*, a través de biolística o con electroporación. El callo de la planta recién transformada crecerá y se diferenciará in vitro. La presencia y expresión del gen introducido serán comprobadas y cuantificadas con el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) y Western Blot (Aryamvally et al., 2017). Ver Figura 3.

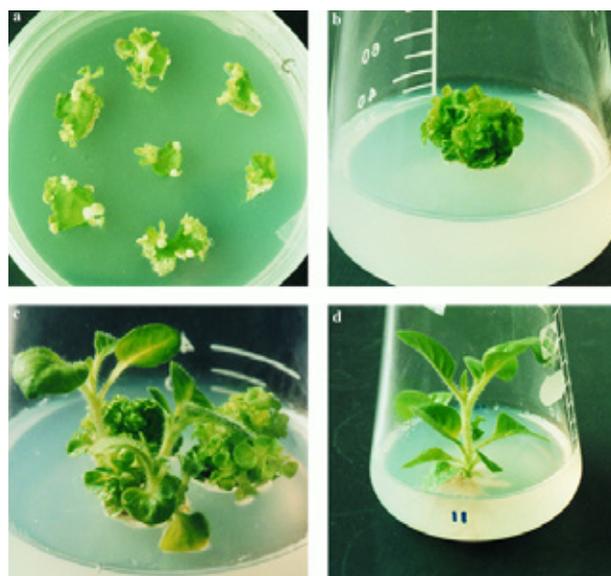


Figura 3. Diferenciación de las células del callo en una plántula completa (Ebinuma et al., 1997).

Las plantas candidatas para la producción de vacunas deben cumplir con las siguientes requisitos: deben permanecer en buen estado durante largos periodos de almacenamiento, su desarrollo debe ser rápido (descartar a los productos de árboles) y la cantidad de información y recursos disponibles para su transformación debe ser suficiente para facilitarla (Gunasekaran & Gothandam, 2020). Cabe destacar que si el vegetal se consume estrictamente cocinado se debe evaluar que la cocción no destruye de forma importante al antígeno (Aryamvally et al., 2017).

Pasos en el desarrollo de vacunas

Como cualquier otro fármaco, las vacunas comestibles pasan por diversas pruebas antes de administrarse rutinariamente a los pacientes. La evaluación se divide en estas etapas (Ogbadoyi & Umar, 2022):

1. Fase exploratoria: se identifican posibles antígenos para desarrollar una vacuna candidata.
2. Desarrollo preclínico: se realizan experimentos en células, tejidos “artificiales” y animales para determinar la dosis efectiva, ruta de administración, eficacia, perfil de seguridad e inmunogenicidad. Aparte, se inicia la producción a pequeña escala.
3. Desarrollo clínico: se realizan pruebas clínicas divididas en 3 etapas; en las fases II y III se lleva a cabo la optimización y validación de la producción a gran escala.

4. Aprobación: después de haber superado la fase III de las pruebas clínicas la vacuna su seguridad y efectividad se aprueba por una entidad gubernamental competente, teniendo en cuenta que los beneficios necesitan superar a los riesgos.

5. Farmacovigilancia: cuando la vacuna se empieza a aplicar masivamente la empresa fabricante del fármaco monitorea la seguridad y efectividad para los pacientes. Aparte, la autoridad competente vigila todo el proceso de producción.

Diseño industrial

En la última década las plantas han demostrado ser sistemas versátiles de producción para variedad de anticuerpos; IgG e IgA, IgG / IgA quiméricos y otros (ver Tabla 1). Las plantas tienen una gran aptitud como fuente de anticuerpos monoclonales para ser usados en terapia humana y animal como protección contra enfermedades, siendo una de sus principales ventajas los costes de producción y/o expresión.

Tabla 1. Anticuerpos provenientes de plantas para uso terapéutico y de diagnóstico. Modificación del texto original (Gómez, 2002).

Aplicación y especificidad	Promotor	Secuencias señales	Nombre o tipo anticuerpo	Planta	Referencias
Caries dental; antígeno I o II de <i>S. mutans</i>	CaMV 35S	Maurino IgG péptido señales	Guy's 13 IgA secretora	Nicotiana Tabacum	(Ma et al., 1995)
Diagnóstico; IgG anti-humano	CaMV 35S	Péptido señal	CS-1 IgG murino	Alfalfa	(Vaquero et al., 1999)
Tratamiento para cáncer; antígeno carcinoembrionario	Ubiquitina de Maíz	Péptido señal	ScFvT84.66	Trigo	(Khoudi et al., 1999)
Cáncer de colon; antígeno de superficie	Promotor subgenómico U5 de la proteína de la cápside del TMV	Péptido señal murino de IgG KDEL	CO17-1A IgG	Nicotiana benthamiana	(Drossard et al., 2000)
Herpes; simplex virus 2	CaMV 35S de estirpe de tabaco	Péptido señal IgG	Anti-HSV-2	Soya	(Zedlin et al., 1998)

Su diseño a nivel industrial es una estrategia de fácil administración, libre del uso de jeringas ya que son comestibles, de mucho menor costo porque salen de la ecuación los costos de purificación, por otra parte, no es necesario personal capacitado para su aplicación, se proponen campañas de divulgación y concienciación. Una reducción extra de costos y facilidad de transporte se encuentra en su refrigeración, que no es necesaria la cadena de frío, para mantener la vacuna a 4°C para evitar que se inactive y cuyo costo llega a representar hasta el 90-95% del costo total de una vacuna, al ser parte de la planta, solo es necesario darle los cuidados a la misma.

Políticas de salud pública

Parámetros generales para seguir en el desarrollo, producción y distribución:

Los gobiernos deben garantizar la calidad y seguridad de las vacunas, así como el uso eficaz y seguro de ellas.

°Promover su uso basado en evidencia (campañas de divulgación).

Es necesario implementar sistemas de gestión de calidad que vayan acorde con los lineamientos internacionales.

°Se implementan bases de datos para el control de calidad, que se encuentran asociadas a los centros de farmacovigilancia.

°En caso de tener algún efecto secundario reportado y/o consideraciones específicas para varios tipos de población.

°Distribución y transporte de acuerdo con las normas de cada país.

Para el caso de la inmunización oral, no se requieren lineamientos específicos para operar la cadena de frío.

Comisión de control analítico y ampliación de cobertura

Se trata de un organismo encargado de realizar pruebas analíticas de identidad, potencia, titulación, contenido de antígeno inmunizante, cuenta viable, estabilidad (degradación acelerada), esterilidad, pirógenos y endotoxinas bacterianas, conservadores, residuos de agentes inactivantes, agentes adyuvantes, aspecto, pH, hermeticidad, proteínas, volumen y humedad para las vacunas (COFEPRIS et al., 2017).

Consideraciones de las vacunas orales contra la poliomielitis

La diarrea por rotavirus y la poliomielitis son enfermedades que son prevenibles por vacunación, consideradas de alta prioridad de salud pública; sin embargo, la vacuna oral contra el rotavirus tiene una eficacia del 58 % para prevenir la diarrea grave por rotavirus en niños nicaragüenses y del 46 % en niños de Bangladesh, en comparación con una eficacia mayor

al 98 % en Finlandia. Se observa una tendencia similar en la vacuna oral contra la poliomielitis (OPV), donde más del 95 % de los niños con poliomielitis paralítica debido a la infección por polio virus de tipo salvaje en la India informó haber recibido más de las tres dosis estándar de OPV, y el 77 % más de siete dosis (Kirkpatrick et al., 2015).

Los países antes mencionados tienen dos problemas principales, a saber, baja eficacia de OPV y baja cobertura; la importancia comparativa de los dos varía en cada localidad. Para mejorar la eficacia de la vacuna (VE), se administran varias dosis repetidas de OPV, trivalente y/o monovalente; la mejora de la VE es proporcional al número de dosis de OPV, que a su vez es función de la edad. El número de dosis y la VE mejoran a medida que aumenta la edad. La distribución de la vacuna contra el rotavirus fue administrada en dos dosis, a las 10 y 17 semanas de edad a la mitad de la población del estudio, según las asignaciones de aleatorización. La vacuna contra el rotavirus no se incluyó en el Programa ampliado de inmunización (EPI) nacional de Bangladesh durante la realización del ensayo (John, 2009).

Eficacia y seguridad, equilibrio necesario

La eficacia de la vacuna se refiere a la capacidad de una vacuna para producir los efectos beneficiosos previstos en los individuos vacunados en una población definida en condiciones ideales de uso. Los posibles beneficios de una vacuna eficaz, para la promoción de la salud y el bienestar, y la protección contra la enfermedad y sus consecuencias físicas, psicológicas y socioeconómicas, deben sopesar frente al riesgo potencial de un evento adverso después de la inmunización (AEFI) con esa vacuna. El riesgo asociado a la vacuna es la probabilidad de que ocurra un resultado adverso o no deseado, y la gravedad del daño resultante para la salud de los individuos vacunados en una población definida, luego de la inmunización con una vacuna en condiciones ideales de uso (Mort et al., 2013).

Momento y espaciado de las vacunas

Son dos de las consideraciones más importantes para el uso adecuado de las vacunas. Las circunstancias específicas que se encuentran en la práctica de la inmunización son los intervalos entre las dosis de la misma vacuna, la

administración simultánea y no simultánea de diferentes vacunas, y los intervalos entre los hemoderivados que contienen anticuerpos y las vacunas vivas atenuadas. Los estudios han demostrado que seguir las edades e intervalos recomendados entre dosis del mismo antígeno proporciona una protección óptima. Como regla general, disminuir el intervalo entre dosis en una serie de vacunas de dosis múltiples puede interferir con la respuesta y protección de anticuerpos (Miller & Wodi, 2021).

Tenemos un caso similar expresado durante esta pandemia por SARS-CoV-2, que dio lugar a especulaciones por los distintos tiempos en que se aplican las vacunas para adultos y niños, incluso sobre el intervalo entre una dosis y otra. Sin embargo, todo lleva una planeación acorde a la población y los recursos que se tienen. Es cierto que depende de la buena o mala administración de los recursos del gobierno de cada país, haciendo hincapié en lo complicado de su transporte y mantenimiento en países en vías de desarrollo.

Para vacunas recién aprobadas, la atención a las nuevas recomendaciones, en combinación con la notificación de efectos adversos de las vacunas al SNS u otros sistemas de notificación designados, fomenta el uso óptimo de estos productos con capacidad potencial de salvar vidas (Iskander et al., 2008).

Desventajas de las vacunas provenientes de plantas recombinantes

Una de las limitaciones más importantes de las vacunas comestibles de origen vegetal consiste en la imposibilidad de incorporar agentes patógenos de alta virulencia. Además, existe la posibilidad de que las bacterias atenuadas recuperen su actividad original. Aparte, se puede desarrollar tolerancia inmune frente a las proteínas y péptidos contra los que se busca otra clase de respuesta, la dosis, integridad y estabilidad del antígeno varía entre cada fruto y planta, la elección de la especie vegetal es complicada, el paciente puede ser alérgico a la vacuna comestible, los niños menores a un año no pueden consumirlas y las características organolépticas como el sabor se convierten en otra variable a considerar (Shah et al., 2022).

Al profundizar en las posibles reacciones secundarias que puede producir el consumo de las vacunas comestibles se deben considerar las alergias alimentarias, entre las que se encuentra el síndrome polen-alimento (SPA). Consiste en una reacción alérgica provocada por el consumo de frutas frescas, vegetales y/o frutos secos, la cual se asocia a la sensibilización alérgica a aeroalérgenos como pólenes de árboles, malezas o pastos. Este problema es causado por hipersensibilidad de tipo I mediada por inmunoglobulina E (IgE), debido a la reactividad cruzada entre los alérgenos de pólenes y los presentes en alimentos de origen vegetal, ya que su estructura y propiedades químicas son muy parecidas (O’Farrill-Román et al., 2022). Por lo tanto, deberían hacerse análisis previos a la ingesta de vacunas comestibles para descartar la posibilidad de reacciones que pongan en peligro la vida del paciente.

Perspectivas

Aunque las vacunas comestibles a base de plantas presentan muchos beneficios, también representan bastantes retos. Uno de los más importantes es la percepción pública negativa respecto a los transgénicos, lo cual impacta al área legal de tal forma que no se hayan suficientes normas para este caso. Aunado a lo anterior, la contaminación cruzada entre plantas modificadas y silvestres mediante la polinización podría generar el desplazamiento de las especies nativas, empeorando aún más el desastre ecológico actual. Por lo tanto, se han propuesto vacunas comestibles provenientes de organismos como algas unicelulares, bacterias ácido-lácticas, células de insectos y levaduras, con los cuales se busca erradicar los problemas técnicos presentes con las vacunas basadas en plantas (Kurup & Thomas, 2020).

Conclusiones

Las vacunas orales pueden significar un primer paso para la sustitución de los métodos tradicionales de inmunización que son usados actualmente. Además de la facilidad de aplicación, estas ofrecen ventajas, tales como la facilidad de transporte dado que no requieren de una cadena de frío, facilitando su almacenamiento y distribución, las vacunas orales también son resistentes a los cambios de pH dentro y fuera del cuerpo humano, y, por lo tanto, no requieren una logística en particular que considere estos aspectos.

La incentivación de la aplicación y desarrollo de estas tecnologías es necesaria, gracias a los beneficios que generan las propiedades de las vacunas orales, estas se han destacado para ser candidatas prometedoras para ser el estándar de las técnicas de inmunización en el futuro, ya que reducen los recursos invertidos en logística y la generación de desechos plásticos contaminantes y biológicamente peligrosos, reduce costos de producción, distribución y almacenamiento en comparación con las vacunas tradicionales. Todavía falta un largo camino que recorrer, y se deben de estudiar a fondo todas sus características para diseñar planteamientos y estrategias en las que se explote todo su potencial y no resulten contraproducentes para la sociedad.

Declaración de privacidad

Los datos personales facilitados por los autores a RD-ICUAP se usarán exclusivamente para los fines declarados por la misma, no estando disponibles para ningún otro propósito ni proporcionados a terceros.

Declaración de no Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés alguno

Agradecimientos

Se expresa gratitud hacia la Dirección General de Bibliotecas BUAP por permitir el acceso al gran acervo de la Biblioteca Digital. Por otra parte, la asesoría prestada por el Dr. Enrique González Vergara fue de gran utilidad para la estructuración adecuada de este artículo.

Referencias bibliográficas

Aryamvally, A., Gunasekaran, V., Narenthiran, K. R., & Pasupathi, R. (2017). New Strategies Toward Edible Vaccines: An Overview. *Journal of Dietary Supplements*, 14(1), 101–116. <https://doi.org/10.3109/19390211.2016.1168904>

Cebadera Miranda, E., Castillo Ruiz-Cabello, M. V., & Cámara Hurtado, M. (2020). Food biopharmaceuticals as part of a sustainable bioeconomy: Edible vaccines case study. *New Biotechnology*, 59(June), 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.06.005>

COFEPRIS, CeNSIA, & DGE. (2017). Guía de calidad del sistema de vigilancia de vacunas. Secretaría de Salud, 0, 1–90. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/287239/Guia_de_Calidad_de_Sistema_de_Vigilancia_de_Vacunas.pdf

Criscuolo, E., Caputo, V., Diotti, R. A., Sautto, G. A., Kirchenbaum, G. A., & Clementi, N. (2019). Alternative Methods of Vaccine Delivery: An Overview of Edible and Intradermal Vaccines. *Journal of Immunology Research*, 2019, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2019/8303648>

Ebinuma, H., Sugita, K., Matsunaga, E., & Yamakado, M. (1997). Selection of marker-free transgenic plants using the isopentenyl transferase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(6), 2117–2121. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.6.2117>

Gómez, L. (2002). La producción de vacunas y otros compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas. *Revista de La Sociedad Química de México*, 46, 264–270. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v46n3/v46n3a16.pdf>

Gunasekaran, B., & Gothandam, K. M. (2020). A review on edible vaccines and their prospects. In *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (Vol. 53, Issue 2). Associação Brasileira de Divulgação Científica. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20198749>

Iskander, J. K., Gidudu, J., Arboleda, N., & Huang, W.-T. (2008). Selección de los principales problemas de seguridad de las vacunas. *Annales Nestlé (Ed. Española)*, 66(2), 93–102. <https://doi.org/10.1159/000173258>

John, J. (2009). Role of injectable and oral polio vaccines in polio eradication. *Expert Review of Vaccines*, 8(1), 5–8. <https://doi.org/10.1586/14760584.8.1.5>

Khalid, F., Tahir, R., Ellahi, M., Amir, N., Rizvi, S. F. A., & Hasnain, A. (2022). Emerging trends of edible vaccine therapy for combating human diseases especially COVID-19: Pros, cons, and future challenges. *Phytotherapy Research*, 36(7), 2746–2766. <https://doi.org/10.1002/ptr.7475>

Kirkpatrick, B. D., Colgate, E. R., Mychaleckyj, J. C., Haque, R., Dickson, D. M., Carmolli, M. P., Nayak, U., Taniuchi, M., Naylor, C., Qadri, F., Ma, J. Z., Alam, M., Walsh, M. C., Diehl, S. A., & Petri, W. A. (2015). The “Performance of Rotavirus and Oral Polio Vaccines in Developing Countries” (PROVIDE) study: Description of methods of an interventional study designed to explore complex biologic problems. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(4), 744–751. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0518>

Kiyono, H., Yuki, Y., Nakahashi-Ouchida, R., & Fujihashi, K. (2021). Mucosal vaccines: wisdom from now and then. *International Immunology*, 33(12), 767–774. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxab056>

Kurup, V. M., & Thomas, J. (2020). Edible Vaccines: Promises and Challenges. *Molecular Biotechnology*, 62(2), 79–90. <https://doi.org/10.1007/s12033-019-00222-1>

Miller, E., & Wodi, A. P. (2021). General Best Practice Guidance for Immunization. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*, 9–28. www.cdc.gov/vaccines/recs/storage/toolkit/default.htm.

Mort, M., Baleta, A., Destefano, F., Nsubuga, J. G., Vellozzi, C., Mehta, U., Pless, R., Abdoellah, S. A., Yosephine, P., & Karolina, S. (2013). World Health Organization. Vaccine Safety Basics. World Health Organization. <http://vaccine-safety-training.org/overview-and-outcomes-1>

O’Farrill-Romanillos, P. M., Bermúdez-Márquez, J. E., Maldonado-Domínguez, E. D., López-Moreno, N. V., Reyes-Aguilar, J. J., Rivera-Alvarado, K. L., Ruiz-López, S. P., & Herrera-Sánchez, D. A. (2022). Síndrome polen-alimento. Revisión con un toque. In *Revista Alergia Mexico* (Vol. 69, pp. S38–S45). Nieto Editores. <https://doi.org/10.29262/ram.v69iSupl1.1018>

Ogbadoyi, E. O., & Umar, N. (2022). The challenges and opportunities for the development of COVID-19 therapeutics and preparing for the next pandemic. *Frontiers in Drug Discovery*, 2, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2022.925825>

OPS. (2021). Inmunización. OMS. <https://www.paho.org/es/temas/inmunizacion>
Saba, K., Sameeullah, M., Asghar, A., Gottschamel, J., Latif, S., Lössl, A. G., Mirza, B., Mirza, O., & Waheed, M. T. (2020). Expression of ESAT 6 antigen from Mycobacterium tuberculosis in broccoli: An edible plant. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 67(1), 148–157. <https://doi.org/10.1002/bab.1867>

Santosh Kumar, R., & Kiran, C. C. (2019). Vaccines: Trigger of Body’s First Line Defense. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(A), 811–814. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i4-A.3619>
Shah, V. V., Prajapati, R. A., Shah, S. P., Patel, S. R., & Patel, H. P. (2022). A Comprehensive Review on Edible Vaccine. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(2-S), 192–201. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i2-S.5293>