

Vacunas SARS CoV-2, estudios en fase III

SARS CoV-2 Vaccine studies currently in phase III

Carolina Ibáñez Guelfenbein^{1,2}, Juan Pablo Torres Torretti^{1,2} y María Elena Santolaya de Pablo^{1,2}

¹Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

²Unidad de Infectología, Hospital Luis Calvo Mackenna.

No hubo fuentes de financiamiento que declarar.

Los autores declaran trabajar para el proyecto de la vacuna de la Universidad de Oxford, patrocinado por AstraZeneca.

Recibido: 27 de noviembre de 2020 / Aceptado: 4 de enero de 2021

Resumen

La enfermedad por coronavirus 2019, causada por el virus SARS-CoV2, fue declarada pandemia en marzo de 2020 por la OMS. La proteína S, de la superficie viral ha sido identificada como antígeno óptimo para el desarrollo de vacunas. En pandemia, el proceso tradicional de desarrollo de vacunas ha debido acelerarse para avanzar en una respuesta adecuada al problema, acortando los tiempos. La seguridad, inmunogenicidad, protección frente a la infección, fenómeno de “aumento dependiente de anticuerpos”, duración de la protección se estudian en paralelo, a diferencia de la manera tradicional en que se llevaba a cabo en etapas sucesivas. Actualmente en Fase III hay 4 tipos vacunas: inactivadas; en base a proteínas purificadas o recombinantes, en base a ácidos nucleicos ADN/ARN y en base a vectores virales. El objetivo de esta revisión es conocer los estudios que preceden a las vacunas que actualmente están en estudios de Fase III y describir las características principales de estos estudios. Actualmente el mundo se encuentra en una situación inédita en el último siglo. Dentro las opciones para enfrentar este hecho, una vacuna o idealmente varias, seguras, eficaces e inmunogénicas, parecen ser una de las mejores alternativas para retomar en un plazo razonable la normalidad perdida.

Palabras clave: COVID-19; fase III; vacunas.

Abstract

The coronavirus disease 2019, caused by the SARS-CoV2 virus, was declared a pandemic in March 2020 by the WHO. Protein S from the viral surface has been identified as the optimal antigen for vaccine development. In a pandemic, the traditional vaccine development process has had to be accelerated to advance in an adequate response to the problem, shortening the times. Safety, immunogenicity, protection against infection, antibody dependent enhancement phenomena and duration of protection are studied in parallel, unlike the traditional way in which it was carried out in successive stages. Currently in Phase III there are 4 types of vaccines: inactivated; based on purified or recombinant proteins, based on DNA / RNA nucleic acids and based on viral vectors. The objective of this review is to understand the studies that precede the vaccines that are currently in Phase III studies and to describe the main characteristics of these studies. Currently the world is in a situation unprecedented in the last century. Among the options to face this fact, one vaccine or, ideally, several, safe, effective and immunogenic, seem to be one of the best alternatives to regain lost normality within a reasonable time.

Keywords: COVID-19; phase III; vaccines.

Introducción

La enfermedad por coronavirus 2019, denominada COVID-19 y causada por el virus SARS-CoV-2, fue declarada pandemia en marzo de 2020 por la OMS manteniendo hasta la fecha a gran parte de la población mundial bajo recomendadas medidas de distanciamiento social y/o confinamiento. Diversos países que

ya presentaron un primer contacto significativo con el virus, están actualmente experimentando segundas olas o un nuevo aumento en el número de casos, sin que hayan logrado una disminución total o significativa desde el comienzo local de la pandemia¹. De acuerdo con la información publicada por *Johns Hopkins University Center for Systems Science and Engineering*, al momento de escribir esta revisión, hay más de 33,1 millones de casos confirmados en el mundo y más de

Correspondencia a:

carolinaibanezg@u.uchile.cl

jptorres@uchile.cl

msantola@med.uchile.cl

un millón de muertes². La pandemia ha producido efectos de gran impacto en diferentes ámbitos: sobrecarga y/o saturación de los sistemas de salud, personal de salud agobiado física y emocionalmente, además de presentar una mayor incidencia de infección, deterioro de la economía mundial, sistemas de educación con grados diversos de cierre y apertura, enfrentando desafíos nunca antes vistos, inequidad en la oportuna asistencia sanitaria y social de la población y ausencia de tratamiento específico y efectivo contra la infección, por lo que el desarrollo de al menos una vacuna segura, inmunogénica y eficaz contra SARS-CoV es urgente y necesario³.

Desde marzo de 2020 se han comenzado a comunicar numerosos esfuerzos a nivel mundial para desarrollar una vacuna contra esta enfermedad⁴.

Base inmunológica

Antigenicidad y respuesta inmune

La proteína S (*spike*), de la superficie viral ha sido identificada como un antígeno óptimo para el desarrollo de vacunas⁵, basado en estudios previos con SARS-CoV y MERS-CoV. En SARS-CoV y SARS-CoV-2, la proteína S se une a un receptor del epitelio pulmonar: la enzima convertidora de angiotensina (ECA-2), por lo que los anticuerpos contra la proteína S podrían neutralizar al virus y, consecuentemente, la entrada viral a la célula, actuando como anticuerpos neutralizantes (AcN). En los estudios en animales, de vacunas contra SARS-CoV se demostró que la vacunación generaba mayor sobrevida, menores cargas virales en muestras respiratorias y menor morbilidad al compararlos con los no vacunados. Sin embargo, en una pequeña proporción se producía el fenómeno de “aumento dependiente de anticuerpos” (en inglés: *antibody dependent enhancement-ADE*)⁶; esto es, una entrada viral facilitada por anticuerpos no neutralizantes.

Duración y títulos de anticuerpos

En la experiencia con SARS-CoV en China 2002-2003, se demostró que, si bien todos los pacientes desarrollaron respuesta humoral, los títulos de IgG, disminuían, en promedio a los 2 años post infección, con títulos significativamente menores al tercer año⁷. Otro estudio, también en China en el mismo periodo de tiempo, en el Hospital de las Fuerzas Armadas Policiales de Beijing, demostró que el *peak* de títulos de anticuerpos IgG y AcN se producía al cuarto mes post infección. Luego comenzaba un descenso progresivo de IgG, mientras que los títulos de AcN se mantenían detectables por más tiempo y comenzaban a bajar al mes 16° de seguimiento⁸. Un estudio en Corea, en el año 2015, evidenció que en la mayoría los pacientes con síndrome respiratorio por coronavirus de Medio Oriente (sigla en inglés MERS) y grave evolución clínica,

generaban altos títulos de anticuerpos contra MERS-CoV; sin embargo, esto no ocurría con los casos leves, a pesar de cursar con neumonía. Además, al año de seguimiento, los títulos disminuían y se constató que la duración de la detección de ARN viral en la saliva presentaba una relación inversa con los títulos de anticuerpos en sangre⁹.

En términos generales, sobre la respuesta del hospedero frente a la infección natural, hay poca evidencia; no obstante, se ha reportado que existen diferencias en las respuestas inmunes de aquellos sujetos que presentan una infección asintomática, leve, moderada o grave. Las manifestaciones más graves de la enfermedad tienen relación con respuestas inflamatorias más acentuadas o desreguladas. Por otra parte, la respuesta a vacunas contra SARS-CoV-2 cuenta con menos evidencia aún. Se reconoce sí, que en la respuesta inmune contra SARS-CoV-2 participan, tanto la inmunidad innata como la humoral y la inmunidad celular.

Consideraciones sobre la seguridad de vacunas contra SARS-CoV-2

Vigilar su seguridad es fundamental, ya que la mayoría de las personas afectadas por SARS-CoV-2 presentan infecciones leves o asintomáticas. En ellos, los beneficios de la vacuna deben superar los bajos riesgos que tienen de enfermedad grave, de acuerdo con su estado de salud basal. Por otra parte, permanece latente el antes mencionado riesgo de ADE, fenómeno observado en la infección por virus dengue y no descartado en esta nueva entidad, aun cuando la evidencia disponible hasta el momento pareciera apuntar a que esto no ocurriría ante la vacunación contra SARS-CoV-2¹⁰.

Desarrollo de vacunas en pandemia

El desarrollo tradicional de una vacuna toma aproximadamente 10 a 15 años hasta ser licenciadas para el uso en humanos. La experiencia adquirida en 2009 con la pandemia de influenza A H1N1 y Ébola en África 2013-2016, ha dejado en evidencia que se requiere una capacidad de reacción, fabricación mayor a nivel mundial, además de financiamiento, que permitan la investigación y el desarrollo de vacunas, no necesariamente rentables, o bien, que se mantengan disponibles para posibles futuras amenazas, aun cuando, la contingencia haya sido controlada. En otras palabras, preparación a largo plazo.

En pandemia, el proceso tradicional de desarrollo ha debido acelerarse para avanzar en una respuesta adecuada a la emergencia, acortando estos tiempos a 6 a 12 meses. Los aspectos de seguridad, inmunogenicidad, protección frente a la infección, ADE y duración de la protección se estudian en paralelo, a diferencia de la manera tradicional en que se llevaban a cabo en etapas sucesivas. Una pla-

taforma ideal en pandemia debería durar 16 meses aproximadamente entre la secuenciación viral, demostración de respuesta inmune protectora, evaluación de seguridad y el inicio de una eventual fabricación a gran escala¹¹.

Actualmente hay cuatro tipos de vacunas en fase III de desarrollo^{12,13}:

- Vacunas inactivadas.
- Vacunas en base a proteínas purificadas o recombinantes.
- Vacunas en base a ácidos nucleicos ADN/ARN.
- Vacunas en base a vectores virales.

Vacunas inactivadas

Son vacunas en base a SARS-CoV-2 con inactivación química, con el objetivo de producir un virus no infectante, con o sin adyuvante. En términos tecnológicos, son las usadas en procesos más tradicionales, por lo que el *know how* es conocido y la infraestructura para manufacturarlas está disponible. Presentan al hospedero múltiples antígenos y, en consecuencia, pueden inducir respuestas más amplias ya que, a diferencia de otras candidatas, la respuesta inmune se dirige a más de un epítipo. Tanto el Centro para Control y Prevención de Enfermedades de China (CDC-China), como el Instituto de Wuhan de Virología y el Instituto de Beijing de Productos Biológicos, así como los laboratorios Sinopharm y Sinovac de China, comenzaron a desarrollar vacunas inactivadas a comienzos de 2020.

Etapas preclínicas de vacunas inactivadas

Vacuna candidata del Laboratorio Sinovac

Se elaboró en base a cepas aisladas de lavado broncoalveolar de 11 pacientes hospitalizados, cinco procedentes de China, tres de Italia, una de Suiza, una de Reino Unido y una de España. Estas 11 muestras tenían cepas de virus SARS-CoV-2 ampliamente distribuidos en el árbol filogenético, con secuencias representativas de las cepas circulantes. Tomaron la cepa CN2 para purificar e inactivar y producir PiCo-Vacc, demostrando la cercanía filogenética entre las otras 10 cepas; CN1, CN3 a 5, OS1 - OS6, CN1 y OS1 y 2019-nCoV-BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019 y EPI_ISL_412973.

Se realizó purificación, cultivo y multiplicación en células Vero e inactivación con β -propiolactona y se utilizó aluminio como adyuvante. Posteriormente, se purificó con filtración profunda y cromatografía, confirmando por microscopía electrónica la estabilidad morfológica de las cepas, y por secuenciación y análisis molecular su estabilidad genética¹⁴.

Los ensayos en modelos murinos, de vacunas inactivadas contra SARS CoV2, en líneas de ratones BALB/c

y ratas Wistar con dosis diferentes de PiCoVacc y adyuvante en el grupo control (n = 10), demostraron que la vacunación con PiCoVacc genera una respuesta humoral específica, de tipo IgG, frente a las 10 cepas representativas de SARS-CoV2, que se aislaron inicialmente desde muestras clínicas. Se midieron anticuerpos específicos para proteína S, RBD (en inglés *Receptor Binding Domain*) y N, entre las semanas 1 y 6 desde la inmunización inicial, por técnica de ELISA. Las IgG frente a proteína S y RBD se desarrollaron rápido y presentaron su *peak* en la semana 6. RBD es el inmunógeno “dominante”, con buena correlación al comparar con plasma de pacientes recuperados de la infección por SARS-CoV-2. La presencia y función de AcN se midió por ensayo de micro neutralización (MC), en los mismos roedores. Tres semanas post vacunación fueron mejores: a mayor dosis y a mayor tiempo transcurrido. Luego, este mismo grupo probó en primates no humanos (*Macaca mulatta*) 3 dosis IM de 3 o 6 μ g (dosis media y alta) de PiCo-Vacc en un esquema de 0, 7, y 14 días, observándose resultados similares a los obtenidos en ratones. Finalmente fueron sometidos al desafío (“*viral challenge*”) con inoculación intra-traqueal de SARS CoV-2, y de acuerdo con lo esperado, los que recibieron placebo desarrollaron neumonía y presentaron excreción viral excesiva, medida por ARN genómico en la faringe y el pulmón, al compararlos con los vacunados, que presentaron síntomas leves. No hubo evidencia de ADE¹⁴.

Ensayos clínicos en humanos

CoronaVac (NCT04352608)

Estudio de fase IIA randomizado, controlado con placebo, doble ciego, fase I y II, para evaluar la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna de SARS-CoV-2 inactivada, en adultos sanos entre 18 y 59 años. Lugar del ensayo: el Condado Juining, provincia de Jiangsu, China. Comenzó el enrolamiento el 16 de abril de 2020. Un total de 600 adultos sanos entre 18 y 59 años se asignaron en forma aleatoria para recibir dos inyecciones IM de la vacuna en estudio en dosis de 3 μ g/0,5 mL, 6 μ g/0,5 mL o placebo, en dos esquemas: de 0 y 14 o 0 y 28 días.

Seguridad: Para la evaluación de seguridad se recolectaron los eventos adversos después de cada vacunación, solicitados los siete primeros días post inyección, y no solicitados, los 28 días posteriores a la vacunación. Se obtuvieron muestras de sangre para realizar estudio de anticuerpos. CoronaVac fue bien tolerada y sin alertas de seguridad.

Inmunogenicidad: El ensayo mostró buena inmunidad con las dosis bajas de 3 μ L generando una seroconversión de 92% con el esquema de 0 y 14 días y 97,4% en el

esquema de 0 y 28 días. Se tomaron muestras los días 0, 28 y 42 para el esquema de 0 y 14 días ($n = 297$), y días 0 y 56 para el esquema 0 y 28 días ($n = 294$). Para el estudio de anticuerpos anti RBD por ELISA, se consideró positiva una dilución mayor a 1:160. La medición de AcN se realizó con un ensayo de efecto citopatogénico modificado*. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos esquemas y los sujetos más jóvenes tendieron a tener títulos más altos de AcN¹⁵.

Dado los resultados comparables de este ensayo de fase II, con ambas dosis (3 μ L y 6 μ L) y con ambos esquemas, 0-14 y 0-28 días, se decidió en el ensayo de fase III utilizar la dosis de 3 μ L y el esquema 0-14 días ya que este permitiría generar una respuesta más rápida.

Actualmente se desarrollan tres ensayos simultáneos: (NCT04582344) en Turquía, iniciado el 14 de septiembre, donde se pretende enrolar 13.000 participantes, (NCT04456595) PROFISCOV, Brasil, iniciado el 13 de julio con 13.060 participantes, y (669/UN6.KEP/EC/2020) en Indonesia, iniciado el 10 de agosto con 1.620 participantes. Todos los estudios se realizan con dos dosis IM en esquema de 0 y 14 días.

En Chile, la vacuna CoronaVac03CL comenzará sus pruebas de fase III, con el objetivo de enrolar 3.000 participantes sobre 18 años. Es un estudio clínico multicéntrico que se realiza en asociación con diversos centros hospitalarios y clínicos en la Región Metropolitana y Región de Valparaíso, patrocinado por la Pontificia Universidad Católica de Chile¹⁶.

Sinopharm y Wuhan Institute of Biological Products Co Ltd and Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention (CDC chino) (ChiCTR2000031809)

Publican su experiencia de fases I y II, de un estudio doble ciego, randomizado, controlado¹⁷. Este estudio se llevó a cabo entre el 12 de abril y 12 de mayo 2020 e incluyó 481 voluntarios sanos, 96 en la fase I y 224 en la fase II. La cepa vaccinal WIV01 de National Genomic Data Center of the Chinese Academy of Science, accession No. SAMC133237, y GenBank accession No. MN996528 del Jinyintan Hospital, Wuhan fue cultivada en línea de células Vero, inactivada con β -propiolactona (1:4.000 vol/vol) entre 2 y 8°C por 48 h. Se llevó a cabo aclarado, ultrafiltrado y una segunda inactivación. Luego, adsorbida en 0,5 mg aluminio, para distribuirse en jeringas pre selladas con 0,5 ml de solución salina estéril, sin preservantes. El esquema de vacunación utilizado fue 0 - 14 o 0 - 21 días usando la dosis media de 5 μ g, con una relación de 3:1 entre vacuna y placebo.

*Un título mayor a 1:8 indicaba positividad y la seroconversión como de < 1:8 a seropositivo o un incremento de 4 veces los valores basales si era positivo al inicio.

Seguridad: Los resultados de seguridad y registro de eventos adversos mostraron, en general, reacciones leves transitorias y auto-limitadas, que no requirieron tratamiento; no hubo mayor diferencia entre el esquema de inyecciones de la fase I con el esquema la fase II. El registro diario de reacciones adversas locales (dolor enrojecimiento, edema) y sistémicas (fiebre, cefalea, fatiga), se realizó por 7 días post inyección. Los síntomas no solicitados se siguieron por 28 días con posterioridad a cada vacunación.

Inmunogenicidad: La seroconversión se mostró en 100% de los participantes, así como en los que recibieron inyecciones en el día 0 y 21 en la fase II. Mientras que esto fue en 85,7% en los que recibieron esquema 0-14 en la fase II. No hubo seroconversión en el grupo que recibió solamente el adyuvante. La mayoría de los participantes generaron anticuerpos después de la segunda inyección¹⁷.

Los estudios de fase III se programaron para comenzar: en Marruecos (Rabat y Casablanca) el 2 de septiembre, con un enrolamiento estimado de 600 sujetos (1:1), en Emiratos Árabes Unidos, Abu Dhabi, comenzando el 17 de julio, con 1.500 sujetos (2:1) y en Argentina el 16 de septiembre, con 3.000 sujetos. En todos los voluntarios se aplicarán dos dosis IM separadas por 21 días.

Vacunas en base a proteínas purificadas

Novavax, compañía con asiento en Estados Unidos de América (E.U.A.) y Suecia

Ha elaborado vacunas en base a proteínas purificadas o recombinantes (EU2020-004123-16 NCT04583995) rSARS-CoV-2 o NVX-CoV2373, en asociación a un adyuvante para estimular la respuesta inmune. Son vacunas de nanopartículas, desarrolladas por ingeniería genética, con un trómero de proteínas S completas, asociadas a una matriz M1 como adyuvante. Esta molécula se desarrolló utilizando la secuencia de la proteína S de SARS-CoV-2, asociado a tecnología de recombinación de nanopartículas para generar un antígeno más potente; además, con la matriz M[®], como adyuvante, que es propia de este laboratorio.

La molécula se desarrolla en un baculovirus del insecto denominado “cogollero del maíz” (*Spodoptera frugiperda*) (Sf9), en el que se sintetiza la proteína completa incluyendo, el segmento transmembrana, y la matriz M (adyuvante) es purificada del árbol quillay (*Quillaja saponaria Molina*) (saponina de su corteza). La nanopartícula PS80 con su conformación “nativa” de trómeros se dispensa en un vial pre llenado y se mantiene entre 2 y 8 °C.

En los estudios preclínicos en primates no humanos (*Macaca fascicularis*) se realizó vacunación en días 0

y 21, con 5 o 25 μg NVX-CoV2327 asociado a 50 μg Matrix-M1 (Novavax AB, Uppsala, Sweden), más un desafío al día 37, tomando muestras de suero en los días 0, 21 (antes de la segunda dosis) y en el día 33. Demostraron producción de AcN (hARA2) en títulos mayores que en plasma de pacientes recuperados de infección por SARS-CoV-2, bloqueo de receptor ARA2 y cargas virales en muestras de vía aérea alta y baja, significativamente menores que el placebo. Tras el desafío viral, los animales fueron sacrificados en el día 42, con signos de infección en los que recibieron placebo, con inflamación moderada a intensa en comparación con escasa inflamación en los animales vacunados¹⁸.

El estudio de fases I y II publicado el 2 de septiembre, es un ensayo controlado versus placebo, ciego al investigador. Comenzó oficialmente el 26 de mayo de 2020. La fase I, desarrollada en Australia en dos sitios (uno en Herston, Queensland, y otro en Melbourne, Victoria), incluyó a 131 adultos de 18 a 59 años; 83 sujetos fueron aleatorizados a vacuna con adyuvante, 25 a vacuna sin adyuvante y 23 a placebo. Los resultados preliminares, entregados en agosto de 2020, muestran que fue bien tolerado, con una respuesta de anticuerpos robusta y numéricamente superior al suero de convalecientes¹⁹.

Seguridad: No presentaron eventos adversos severos (EAS), con baja reactividad local, auto limitada. Sólo un participante presentó fiebre y no hubo retraso de dosis por eventos adversos.

Inmunogenicidad: Los sujetos no tenían anticuerpos detectables antes de la inmunización, con respuestas de IgG anti-S (*spike*) (días de medición 0,7,21, 28 y 35) y ensayos de AcN (micro-neutralización) en los días 0, 21 y 35, con buena correlación entre IgG y AcN, mayores que la media geométrica del plasma de pacientes recuperados de COVID-19. Ambas dosis adyuvantadas generaron respuestas similares. En el grupo vacunado con adyuvante se vio una respuesta inmune más potente, predominantemente Th1, medida por tinción intracelular de citoquinas (IFN- γ , IL-2, y FNT- α); a su vez, las respuestas Th2, medidas por citoquinas (IL-5 e IL-13) fueron mínimas¹⁹.

El estudio de fase III comenzó el 23 de septiembre, en el Reino Unido, con dos dosis IM, separadas por 21 días y con un enrolamiento estimado de 9.000 sujetos.

Vacunas en base a ácidos nucleicos ARNm

Esta es una tecnología cuya prueba de concepto tiene más de 20 años; sin embargo, aún no hay una vacuna aprobada y en uso con esta plataforma de desarrollo. En esta vacuna se transporta el ARNm de la proteína S, hacia el interior de las células de hospedero, en forma similar a lo que ocurre en una infección viral, donde se transcribe y traduce utilizando la maquinaria celular humana,

para finalmente producir, en este caso, la proteína S de SARS-CoV-2 que, luego de salir de la célula, estimula la respuesta inmune. De este tipo de vacuna existen tipos no replicantes y auto-amplificadas. La segunda, se diferencia por tener adicionado un segmento de ARN que induce la replicación y, por lo tanto, se podría utilizar una dosis menor al inicio, produciendo una respuesta inmune similar. Ambas expresan una proteína S e inducen una respuesta inmune adecuada²⁰.

Actualmente hay dos laboratorios probando vacunas en esta plataforma:

Moderna (NCT04470427) con NIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases) de E.U.A.

Utiliza una molécula de ARNm optimizado de proteína S estabilizado, (SARS-CoV-2 S-2P). El ARNm es purificado y encapsulado en nano partículas lipídicas (LNPs), a través de un proceso de nano precipitación en gota de etanol. En los estudios pre-clínicos en macacos rhesus se vacunaron el día cero y luego el día 29 con dosis de 10 ó 100 μg ARNm-1273 en 1 ml de tampón fosfato salino (PBS) o sólo con PBS (placebo). Se desafiaron en la semana 8, con 7×10^5 unidades formadoras de placa (ufp) SARS-CoV-2 (cepa USA- WA1/2020) 3 ml intra-traqueal y 1 ml intra-nasal (0,5ml por narina), con la posterior cuantificación de ARN por lavado bronco-alveolar, histopatología, medición de anticuerpos (anti-S y N9), medición de neutralización y tinción de citoquinas intracelulares. Se demostró que la vacunación induce una respuesta humoral (medida por IgG) mayor que el plasma de convalecientes, primordialmente con respuesta inmune celular de tipo Th1 y prácticamente indetectable Th2, así como baja o indetectable replicación viral en lavado bronco-alveolar al segundo día post desafío en los animales vacunados, en los que tampoco se detectó genoma viral en la nariz o el pulmón, ni antígenos en el pulmón, ni evidencia de inflamación²¹.

Ensayos en humanos. Fase I de escalamiento de dosificación, abierto-no ciego, en 45 adultos sanos, de 18 a 55 años, que recibieron dos dosis de vacunas separadas por 28 días. Quince participantes en cada grupo recibieron 25 μg , 100 μg o 250 μg de ARNm-1273.

Inmunogenicidad: Los títulos de anticuerpos, después de la primera dosis, medidos por ELISA anti-S-2P por media geométrica del título (MGT), fueron de 40.227 en el grupo 25 μg , 109.209 en los que recibieron 100 μg y 213.526 en el grupo de 250 μg . Después de la segunda dosis, los títulos medios en el día 57 fueron 299.751, 782.719, y 1.192.154, respectivamente. Luego de la segunda dosis, la actividad neutralizante del suero se detectó por dos métodos en todos los participantes evaluados, con valores similares a los de la mitad superior de la distribución del suero de convalecientes.

Seguridad: Los eventos adversos solicitados, que ocurrieron en más de la mitad de los participantes, incluyeron: fatiga, calosfríos, cefalea, mialgia y dolor en el sitio de inyección. Los eventos adversos sistémicos fueron más comunes después de la segunda dosis de vacunación; en 21,4% de los participantes del grupo de 250 µg se reportaron 4 eventos adversos severos relacionados con el producto de investigación, 2 sistémicos y 2 neurológicos (un síncope y otro sujeto reportó sensación de “mareos”). La frecuencia de linfocitos T CD4+ produciendo citoquinas características de una respuesta Th1 se vio, tanto en los vacunados con 25 µg como 100 µg, observándose además prácticamente ausencia de citoquinas representativas de una respuesta Th2²².

En un estudio de extensión del anterior, se incorporó a 40 sujetos de 56 a 70 años o ≥ 71 años, para recibir dos dosis separadas por 28 días, de 25 µg o 100 µg. Los eventos adversos relacionados con la vacuna fueron principalmente leves a moderados. La dosis de 100 µg indujo una respuesta humoral y de AcN mayor que la dosis de 25 µg. Después de la segunda dosis, la actividad neutralizante en suero se detectó en todos los participantes por múltiples métodos, encontrándose por sobre la mediana de los controles de suero de pacientes convalecientes y demostrando, además, una respuesta predominantemente Th1 por estudio de citoquinas. Lo anterior apoya el uso de 100 µg en los estudios de fase III²³ que comenzaron el 27 de julio de este año, en los que se administran dos dosis IM separadas por 29 días, esperando enrolar 30.000 sujetos²⁴.

Resultados preliminares de fase III (seguridad y eficacia) del candidato mRNA-1273 de Moderna, con 30.000 participantes en Estados Unidos, registraron 95 casos de COVID-19, de los cuales 90 ocurrieron en el grupo placebo y 5 en el grupo de sujetos vacunados²⁵.

BioNTech-Pfizer de Alemania y E.U.A.

También ha desarrollado vacunas tipo ARN de nucleósidos modificados, formulada en base a nanopartículas lipídicas: la BNT162b1, que codifica para un RBD trimérico de SARS-CoV-2 y la segunda: BNT162b2 que codifica para una proteína S completa, con su dominio transmembrana estabilizada.

Comenzó su ensayo fase I el 4 de mayo, terminando el 22 de junio (en Alemania y E.U.A.). Enrolaron 332 adultos sanos de 18 a 55 años y de 65 a 85 para recibir vacuna o placebo. Se aleatorizaron 195 participantes en 13 grupos de 15 sujetos cada uno, 12 recibieron vacuna y 3 placebo; dos vacunas (BNT162b1 y BNT162b2), en dos grupos etarios (18-55 y 65 a 85), en tres dosificaciones diferentes cada una, 10 µg, 20 µg, 30 µg, y un grupo de placebo. Todos los participantes recibieron dos inyecciones de 0,5 ml IM, separadas por 21 días. Un grupo de 18

a 55 años fue asignado a recibir dos dosis de 100 µg de BNT162b1 o placebo.

Seguridad. El grupo de 18 a 55 años, que recibió BNT162b1 reportó principalmente reacciones locales dentro de los primeros siete días, que fueron más frecuentes después de la segunda inyección. En el grupo de participantes mayores, la frecuencia de reacciones locales fue similar a la del grupo de los jóvenes, presentaron 92% de reacciones reportadas como dolor local con la primera dosis y 75% después de la segunda dosis. Ningún paciente en todo el estudio presentó una reacción local grave. Con relación a eventos sistémicos, los participantes del grupo de 18 a 55 años que recibieron BNT162b1 presentaron fiebre leve a moderada con calosfríos. Un 75% de los participantes reportó temperaturas mayores a 38 °C o más altas después de la segunda dosis en el grupo de los participantes mayores de 65 años y los eventos sistémicos fueron más leves que en los participantes más jóvenes; sin embargo, algunos presentaron fatiga y cefalea. Un 33% reportó temperatura sobre 38°C o más después de la segunda dosis. Igual que con las reacciones locales, los eventos sistémicos fueron dosis dependiente y se presentaron más frecuentemente después de la segunda dosis. Los eventos sistémicos fueron menores en respuesta a BNT162b2 versus BNT162b1. No se presentó evento sistémico alguno, del tipo grave. En ambos grupos de edad y para ambos candidatos de vacuna, el uso de antipiréticos y medicamentos para el dolor aumentó a medida que se aumentaba la dosis y con el número dosis administradas; además, fue menor en los receptores de BNT162b2 comparado con BNT162b1.

Inmunogenicidad: La respuesta serológica generada por BNT162b1 y BNT162b2 fue similar. La síntesis de IgG y de AcN en respuesta a la vacunación con 10 µg a 30 µg de BNT162b1 o BNT162b2 fue aumentando con la segunda dosis, tanto en los adultos jóvenes como los adultos mayores, siendo los títulos de anticuerpos más bajos en los adultos mayores. Los títulos de AcN más altos fueron aquellos obtenidos en la muestra del día 28 y día 35, observándose una tendencia similar con las medias geométricas de las inmunoglobulinas en cantidades comparables y en forma dosis dependiente, los que, además, fueron iguales o mayores que la mediana geométrica encontrada en suero de convalecientes²⁶.

En abril de 2020 comenzó el estudio fase III, con BNT162b2 (proteína *spike* completa) esperando enrolar 43.998 sujetos, con un esquema de dos dosis IM, separadas por 21 días²⁷. Los resultados preliminares de este estudio mostraron una eficacia de 95% para prevenir COVID-19; 162 casos se registraron en el grupo placebo y 7 en el grupo de vacunados. Además, reportaron 10 casos de COVID-19 grave, 1 en el grupo vacunado y 10 en el de placebo^{28,29}.

Vacunas de vectores virales

En este tipo de vacuna se utiliza un adenovirus (Adv) genéticamente modificado, de manera que carece de los genes necesarios para replicarse. El uso de Adv como vector para vacunas se ha utilizado en diferentes estudios ya que el genoma de Adv ha sido secuenciado y resulta familiar su manipulación. Actualmente hay cuatro candidatos a vacuna que utilizan esta plataforma:

- La vacuna desarrollada en Oxford, Reino Unido, utiliza un Adv de chimpancé genéticamente modificado.
- Los laboratorios CanSino (China), Janssen (Bélgica) y Gamaleya (Rusia), utilizan vectores de Adv de procedencia humana: Ad5, Ad26 y rAd 26 + rAd5, respectivamente.

Los Adv tienen tropismo amplio por células de varios tipos. Al eliminar la región E1, se pierde su capacidad replicativa, por lo que no genera nuevos virus ni puede causar infección o enfermedad, lo que es relevante para la seguridad de estas vacunas. Por otra parte, en este caso se hace un constructo con la secuencia genética de la proteína S y se incorpora en el genoma del Adv. Luego, cuando el virus entra a las células, éstas expresan la proteína S de la misma forma que lo hacen las vacunas en base a ARNm; sin embargo, el contexto en que se presenta la proteína S fuera de la célula puede ser más inmunogénico³⁰. Por otra parte, dado que la vacuna candidata de Oxford es un Adv de chimpancé, podría ser menos probable que los humanos tengan inmunidad frente al vector utilizado, (en algunos lugares del mundo, la inmunidad anti-ADV patógeno para el ser humano puede llegar a ser hasta 9%). Por el contrario, en las vacunas desarrolladas por el Instituto de Biotecnología de Beijing, en conjunto con CanSino Biological Inc. y Janssen, se utilizan vectores Adv propios de patología en humanos; aunque poco prevalentes, encierran el consiguiente riesgo de encontrar una eventual inmunidad frente al vector en los sujetos vacunados.

ChAdOx del Instituto de Vacunas de Oxford, Reino Unido y AstraZeneca

Está hecha sobre una cepa Y25. Es inmunogénica en ratones y genera una respuesta inmune humoral y celular, mediada principalmente por linfocitos Th1, demostrado a través de los perfiles de citoquinas de las subclases de IgG. En estudios en primates no humanos, utilizando un esquema con una dosis única o una dosis más un refuerzo (*booster*), se desarrolló una respuesta inmune balanceada, tanto humoral como celular. En el lavado bronco-alveolar de animales vacunados, se observó una reducción significativa de la carga viral, además de no presentar neumonía cuando se realizó el desafío con SARS-CoV-2. No hubo disminución de la excreción viral (*shedding*) por vía

respiratoria y no se encontró evidencia de ADE (el antes mencionado aumento dependiente de anticuerpos)³¹.

En el estudio fases I y II, se enrolaron 1.086 voluntarios que se aleatorizaron 1:1, para recibir ChAdOx1 nCoV-19 (n: 543) o vacuna conjugada meningocócica (MenACYW) (n: 543).

Seguridad: Tanto las reacciones locales como sistémicas fueron más frecuentes en el grupo ChAdOx1; la mayoría disminuyó con el uso de paracetamol incluyendo dolor, sensación febril, calofríos, mialgias, cefalea y compromiso del estado general. No hubo eventos adversos serios.

Inmunogenicidad: Las respuestas específicas de linfocitos T anti *spike* fueron más intensas en el día 14. Por otra parte, las IgG anti *spike* se elevaron el día 28 y aumentaron con la segunda dosis. Los AcN se detectaron en 91% de los participantes al medirlo por MNA80 y en 100% por PRNT50. Después de la dosis de refuerzo todos los participantes tuvieron actividad neutralizante³².

Actualmente en desarrollo se encuentra la fase III de este candidato, ISRCTN89951424, con una dosis IM que comenzó el 31 de agosto, con 2.000 participantes enrolados, en Oxford, Reino Unido³³. NCT04516746, que comenzó a reclutar el 2 de agosto, con el objetivo de 30.000 participantes que se distribuirán a razón de 2:1, vacuna: placebo, quienes recibirán 2 dosis IM separadas por 29 días³⁴. Además, CTRI/2020/08/027170³⁵, con el mismo esquema, comenzó el 28 de agosto en 17 sitios en India, con el objetivo de evaluar en 1.600 sujetos. Y finalmente en Rusia, con la diferencia que será abierto, sin comparador, y el objetivo de enrolar 100 sujetos, aún sin comenzar (NCT04540393)³⁶.

Beijing Institute of Biotechnology (Beijing, China) y CanSino Biologics (Tianjin, China)

En marzo enrolaron 108 participantes a quienes distribuyeron en tres grupos de vacuna, dosis baja, media y alta (n: 36 en cada uno).

Seguridad: Las reacciones adversas en los 7 días posteriores a la vacunación fueron reportadas en 83% de los participantes del grupo de dosis baja, 83% con dosis media y 75% en los de dosis alta. La reacción más frecuente fue dolor en el sitio de inyección que se reportó en 54% de los receptores de vacunas. Los eventos adversos sistémicos más frecuentes fueron fiebre (46%), fatiga (44%), cefalea (39%) y mialgias (17%). La mayoría de los eventos adversos que se reportaron en todos los grupos, fueron leves a moderados en intensidad y no hubo eventos adversos serios dentro de los 28 días posteriores a la vacunación.

Inmunogenicidad: Los títulos de anticuerpos y los AcN aumentaron en forma significativa el día 14 y el *peak* máximo fue a los 28 días post vacunación. La respuesta específica de células T tuvo su *peak* a los 14 días post vacunación. Dado que el vector en este candidato es un

Adv5, frente al que potencialmente los humanos podrían tener anticuerpos, se estudió la seroconversión en los pacientes que tenían anticuerpos previos. Seroconvirtieron 5 de 20 (25%) del grupo de dosis baja, 7 de 19 (37%) dosis media y 10 de 16 (63%) de los que recibieron dosis alta de vacuna. La seroconversión fue menor en los sujetos mayores de 45 años. Hay un efecto *booster* en los anticuerpos anti Adv5. Los autores refieren que en este estudio fase I, sus limitaciones son un tamaño muestral pequeño, no tener grupo control, la infección previa frente a Adv5 que disminuye la inmunidad humoral y podría tener un efecto negativo en la inmunidad a largo plazo.

Recientemente se han publicado los resultados de los estudios de fase III en Reino Unido, comparando ChAdOx nCoV19 versus vacuna meningocócica conjugada, MenACYW. Con un total de 560 participantes, los eventos adversos locales más reportados fueron: dolor en el sitio de inyección; sensación febril; mialgias y cefalea. 88% en el grupo de 18 a 55 años, 73% en el grupo 56 a 69 años y 77% en los mayores de 70 años. Las reacciones sistémicas se presentaron en 86, 77 y 65%, respectivamente en los mismos grupos etarios. Hasta el 26 de octubre de 2020 habían reportado 13 eventos adversos serios, ninguno atribuible al producto de investigación ni a la vacuna utilizada como control. Tanto la respuesta de IgG anti-S como la de AcN fue similar en todos los grupos etarios; a los 14 días post refuerzo se observó aumento de la respuesta de AcN y un *peak* de respuesta de linfocitos T37. En cuanto a los datos de eficacia, los resultados del análisis interino publicado en diciembre de 2020, mostraron una eficacia de 70,4% con un 62,1% en el grupo que recibió dosis estándar versus 90% en el que recibió media dosis en la primera y dosis estándar en la segunda inoculación. Estos últimos resultan del análisis de la combinación de los sujetos enrolados en Reino Unido y Brasil, con un n de 11.636 enrolados³⁸.

Vacuna Janssen. Ad26COVS1 es otro candidato monovalente, con vector Ad26 patógeno humano, no replicante, que codifica para proteína S. En los ensayos pre-clínicos, en primates no humanos, se inmunizaron 52 macacos rhesus con vacuna y placebo y se sometieron a un desafío con SARS-CoV-2 intra nasal e intra traqueal. La respuesta de Ac y de AcN fue robusta, y se demostró protección frente a neumonía y disminución de la excreción viral³⁹. El estudio de fase III (NCT04505722) de Janssen comenzó a reclutar el 7 de septiembre, con un objetivo de 60.000 participantes con un esquema a utilizar de una dosis IM⁴⁰.

Vacuna Gamaleya (Rusia).

Gamaleya, Rusia, ha realizado dos estudios abiertos fase I/II en dos hospitales en Rusia en adultos sanos de 18 a 60 años. Administraron en el día 1 una dosis de rAd26-S o una dosis de rAd5-S, observando la seguridad de ambos

componentes durante 28 días. En la fase II que comenzó no antes de 5 días de la vacunación en fase I, se administró en forma IM un *booster* de rAd26-S en día 0 y rAd5-Sen el día 21. Entre el 18 de junio y el 3 de agosto del presente año, se enrolaron 76 participantes en ambos estudios, 38 para cada uno, donde 9 voluntarios recibieron rAd26-S y 9 recibieron rAd5-S en la fase I. Veinte voluntarios recibieron ambas en la fase II.

Seguridad: Las dos formulaciones fueron seguras y bien toleradas. Los eventos adversos más frecuentes fueron dolor en el sitio de inyección (58%), fiebre (50%), cefalea (42%), astenia (28%), mialgias y artralgias (24%). La mayoría fueron eventos adversos leves, no serios. Los voluntarios que recibieron ambas vacunas mostraron la mayor cantidad de eventos adversos con la segunda vacunación.

Inmunogenicidad: Todos los participantes produjeron anticuerpos anti RBD al día 42. Los AcN mostraron una seroconversión de 100%, tanto con la formulación liofilizada como con la congelada. La respuesta mediada por células se detectó en todos los participantes al día 28, con una mejor respuesta en la formulación congelada⁴¹.

Actualmente, están en desarrollo dos ensayos fase III, uno en Rusia y otro en Pakistán, que comenzaron el 11 y 15 de septiembre, respectivamente. El esquema es una dosis IM y se espera reclutar 500 participantes en Rusia y 40.000 en Pakistán. La aleatorización será 3:1 y 1:1, respectivamente (NCT04540419⁴² y NCT04526990⁴³).

Mensajes finales

Hoy en día, el mundo se encuentra en una situación inédita en el último siglo debido a la pandemia de SARS-CoV-2. Dentro las opciones para enfrentar este hecho, una vacuna o, idealmente varias vacunas seguras, eficaces e inmunogénicas, parece ser una de las mejores alternativas para retomar en un plazo razonable la normalidad perdida. La vacuna que logre licenciarse primero**, no será necesariamente la mejor. Ha de tenerse en cuenta que entre más alternativas aprobadas y en proceso de fabricación, más oportunidades tiene la población susceptible para acceder a una de ellas.

**Nota del Editor: Con posterioridad a la recepción de este manuscrito, agencias internacionales: FDA (*Food and Drug Administration*) en E.U.A., y en Gran Bretaña, la Agencia Reguladora de Productos Sanitarios y Médicos (MHRA, por sus siglas en inglés), han autorizado el uso, en condiciones de emergencia mundial, de las vacunas de Pfizer/BioNTech y Oxford/AstraZeneca, respectivamente. Además, la EMA (*European Medicine Agency*) ha autorizado el uso de la vacuna de Moderna. En Chile, el Instituto de Salud Pública (ISP) ha autorizado, a la fecha, el uso de la vacuna de Pfizer/BioNTech. Enero 2021 y de Sinovac, China. Febrero 2021.

Tabla 1. Comparación de vacunas para SARS CoV2 actualmente en estudios de fase III

| Plataforma | N° Registro (Clinical Trials) | Tipo de vacuna | N° dosis | Vía de administración | Esquema (días) | Forma de almacenamiento | Compañía farmacéutica | Fecha de inicio/Estado actual | Enrolamiento estimado de participantes (Fase III) |
|--|--|-----------------------|------------------|-----------------------|--|---|--|---|---|
| Subunidades de proteína | EU 2020-004123-16 | Subunidad de Proteína | 2 | IM | 0 y 21 | 2 a 8°C | Novavax | Sept 23, 2020 UK | 9000 |
| ARN | NCT04368728 Fase I 27 Fase II 40 | 3 LNP-ARNm | 2 | IM | 0 y 21 | -70°C | BioNTech Fosun Pharma Pfizer | Abril 29, 2020 Reclutando | 43998 |
| ARN-ARNm-1273 | NCT04470427 Fase I 23 24 | LNP-encapsulated mRNA | 2 | IM | 1 y 29 | - 20°C (es estable por 30 días entre 2 y 8 °C) | Moderna NIAID National Institute of Allergy and Infectious Diseases | Julio 27, 2020 Reclutando Fase 1: 105 Fase 2: 600 Fase 3: 30000 | 30000 |
| Inactivada | NCT04582344 NCT04456595 669/UN6.KEP/EC/2020 Fase III 14 41 | Inactivada | 2 | IM | 0 y 14 | 2 a 8 °C | Sinovac | Sept 14, 2020 July 21, 2020 Indonesia | 13000 13060 1620 |
| Inactivada | ChiCTR2000034780 ChiCTR2000039000 NCT04560881 | Inactivada | 2 | IM | 0 y 21 | 2 a 8 °C (por 5 días) | Wuhan Institute of Biological Products Co., LTD. Beijing Institute of Biological Products Sinopharm Laboratorio Elea Phoenix S.A. | Sept 2, 2020 Jul 17, 2020 Sept 16, 2020 | 600 1500 3000 |
| Vector viral no replicante chimpanze | ISRCTN89951424 NCT04516746 NCT04540393 (Rusia) CTR/2020/08/027170 (India) | Vector viral | 1 2 2 2 | IM | 0 (1 dosis) 0 y 29 0 y 29 | 2 a 8 °C | University of Oxford AstraZeneca | Aug 31, 2020 Aug 2, 2020 No reclutando aún | 30000 100 1600 |
| Vector viral no replicante Ad5-nCoV | NCT04540419 (Rusia) NCT04526990 (Pakistan) | Vector viral | 1 | IM | 0 (1 dosis) | 2 a 8 °C | CanSino Biologics Inc. NPO Petrovax CanSino Biologics Inc. Beijing Institute of Biotechnology | Sept 11, 2020 Sept 15, 2020 | 500 40000 |
| Vector viral no replicante combinado (Gam- COVID-Vac) rAd26-S - rAd5-S | NCT04564716 (Bielorrusia) NCT04530396 (Rusia) | Vector viral | 2 | IM | 0 y 21 (0 - rAd26-S 21 - rAd5-S) | 2 a 8 °C | Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Health Ministry of the Russian Federation | Sept 28, 2020 Sept 7, 2020 | 100 40000 |
| Vector viral no replicante combinado Ad26COVS1 | NCT04505722 | Vector viral | 1 | IM | 0 (1 dosis) | 2 a 8 °C | Janssen Pharmaceutical Companies | Sept 7, 2020 | 60000 |

Si bien es cierto que no se está comenzando el desarrollo de una vacuna para SARS-CoV-2 desde cero, ya que hay desarrollo de plataformas previas, es relevante meditar sobre las oportunidades de obtener vacunas para situaciones como las que estamos viviendo. Estar preparados tiene un costo, que hoy parece ser muy justificado respecto a los costos directos e indirectos producidos por la pandemia. Es un momento histórico para resaltar la importancia de la buena investigación y la ciencia, de manera que permita preparar estructuras de respuesta para futuras pandemias o futuros problemas que surjan en el planeta. En esta misma línea, es importante reflexionar sobre la equidad en el acceso a las futuras vacunas, ya que es esperable un desbalance en la disponibilidad de ellas entre países desarrollados y otros de un menor desarrollo económico. Ante la rápida propagación del coronavirus, prácticamente por todo el mundo, es indispensable generar y establecer una estrategia global de distribución y acceso a estas vacunas.

Aún quedan muchas interrogantes por responder y los desafíos a abordar con vacunas contra el COVID-19 son también múltiples; la o las vacunas que logren de-

mostrar protección, ¿lo harán previniendo la infección o atenuando la gravedad de la misma?, ¿cuánto durará la inmunidad generada por la vacuna y qué tipo de respuesta, humoral y/o celular se obtendrá luego de vacunar?, ¿cuáles serán los grupos a vacunar?, ¿cuándo dispondremos de información sobre la eficacia de una potencial vacuna en niños?, ¿cuál es la seguridad a largo plazo en las vacunas generadas con nuevas plataformas que nunca antes han sido utilizadas? Y ¿cómo será finalmente la distribución equitativa de estas vacunas, si es que logramos disponer de ellas?

Esta serie de preguntas, y posiblemente otras muchas más que pueden existir, deberán responderse de manera adecuada, con evidencia científica seria y bien generada que respalde las futuras acciones a seguir. Por ahora, en espera de las etapas que aún se deben cumplir para tener una vacuna contra COVID-19 disponible y aprobada con todo el rigor necesario, es indispensable y prioritario insistir en las medidas de auto-cuidado y apelar al enfrentamiento adecuado, por parte de las autoridades de cada país y de cada habitante, para que tengamos el mejor manejo posible de esta pandemia.

Referencias bibliográficas

- 1.- Grech V, Cuschieri S, Gauci C. COVID-19: The possible seasonal shape of things to come. *Early Hum Dev.* 2020; 1052262. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2020.105262.
- 2.- Mapping the coronavirus outbreak across the world. <https://www.bloomberg.com/graphics/2020-coronavirus-cases-world-map>. (Acceso 10.10.2020).
- 3.- Alwan NA, Burgess RA, Ashworth S, Beale R, Bhadelia N, Bogaert D, et al. Scientific consensus on the COVID-19 pandemic: we need to act now. *Lancet.* 2020; 396: e71-e72. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32153-X.
- 4.- Heaton PM. The Covid-19 vaccine-development multiverse. *N Engl J Med.* 2020; 383: 1986-8. doi: 10.1056/NEJMe2025111.
- 5.- Buchholz U J, Bukreyev A, Yang L y Lamirande E W, Murphy B R, Subbarao K et al. Contributions of the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus to protective immunity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 9804-9. doi: 10.1073/pnas.0403492101.
- 6.- Amanat F y Krammer F. SARS-CoV-2 Vaccines: status report. *Immunity.* 2020; 52: 583-9. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.007>.
- 7.- Wu L P, Wang N C, Chang Y H, Tian X Y, Na D Y, Zhang L Y, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 1562-64. doi: 10.3201/eid1310.070576.
- 8.- Liu W, Fontanet A, Zhang P H, Zhan L, Xin Z T, Baril L, et al. Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis.* 2006; 193: 792-5. Doi: 10.1086/500469.
- 9.- Choe P G, Perera R A P M, Park W B, Song K H, Bang J H, Kim E S, et al. MERS-CoV antibody responses 1 year after symptom onset, South Korea, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23: 1079-84. doi: 10.3201/eid2307.170310.
- 10.- Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller M S, Lichty B D y Xing Z. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 615–32. doi: 10.1038/s41577-020-00434-6.
- 11.- Lurie N, Saville M, Hatchett R y Halton J. Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed. *N Engl J Med.* 2020; 382: 1969-73. doi: 10.1056/NEJMp2005630
- 12.- Koirala A, Joo Y, Khatami A, Chiu C y Britton, P. Vaccines for COVID-19: The current state of play. *Paediatr Resp Rev* 2020; 35: 43-9. doi: 10.1016/j.prrv.2020.06.010.
- 13.- Callaway, E. The race for coronavirus vaccines. *Nature.* 2020; 580: 576 -7. <https://www.universityhealthsystem.com/~media/files/pdf/covid-19/race-for-coronavirus-vaccines.pdf?la=en>.
- 14.- Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science.* 2020; 369: 77-81. doi: 10.1126/science.abcl1932.
- 15.- Zhang I, Zeng G, Pan H, Li C, Kan B, Hu Y, et al. Immunogenicity and safety of a SARS-CoV-2 inactivated vaccine in healthy adults aged 18-59 years: report of the randomized, double-blind, and placebo-controlled phase 2 clinical trial. medRxiv 2020. doi: 10.1101/2020.07.31.20161216.
- 16.- CoronaVac03CL. <https://coronavacfase3.cl>. (Último acceso 22.11.2020).
- 17.- Xia S, Duan K, Zhang Y, Zhao D, Zhang H, Xie Z, et al. Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: interim analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA.* 2020; 324: 951-60. doi: 10.1001/jama.2020.15543.
- 18.- Guebre-Xabier M, Patel N, Tian JH, Zhou B, Maciejewski S, Lam K, et al. NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge. *Vaccine.* 2020; 38: 7892-6. doi:10.1016/j.vaccine.2020.10.064.
- 19.- Keech C, Albert G, Cho I, Robertson A, Reed P, Neal S, et al. Phase 1-2 trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine. *N Engl J Med.* 2020; 383: 2320-32. doi: 10.1056/NEJMoa2026920.
- 20.- Hassett K, Benenato K, Jacquinet E, Optimization of lipid nanoparticles for intramuscular administration of mRNA vaccines molecular therapy. *Nucleic Acids* 2019; 15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.01.013>.
- 21.- Corbett K S, Flynn B, Foulds K E, Francica J R, Boyoglu-Barnum S, Werner A P, et al. Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. *N Engl*

- J Med. 2020; 383: 1544-55. doi: 10.1056/NEJMoa2024671.
- 22.- Jackson L A, Anderson E J, Roupael N G, Roberts P C, Makhene M, Coler R N, et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2 - preliminary report. *N Engl J Med.* 2020; 383: 1920-31. doi: 10.1056/NEJMoa2022483.
 - 23.- Anderson E J, Roupael N G, Widge A T, Jackson L A, Roberts P C, Makhene M, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med.* 2020; 383: 2427-38 doi: 10.1056/NEJMoa2028436.
 - 24.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04470427?cond=NCT04470427&draw=2&rank=1>. (Acceso 31.12.2020).
 - 25.- Mahase E, Covid-19: Moderna vaccine is nearly 95% effective, trial involving high risk and elderly people shows. *Br Med J.* 2020; 371: m4471. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m4471>.
 - 26.- Walsh E E, Frenck R W Jr, Falsey A R, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. *N Engl J Med.* 2020; 383: 2439-50. doi: 10.1056/NEJMoa2027906.
 - 27.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04368728>. (Acceso 19.10.2020).
 - 28.- Polack F P, Thomas S J, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine [published online ahead of print, 2020 Dec 10]. *N Engl J Med.* 2020; NEJMoa2034577. doi:10.1056/NEJMoa2034577.
 - 29.- Mahase E. Covid-19: Vaccine candidate may be more than 90% effective, interim results indicate. *Br Med J* 2020; 371: m4347. doi:10.1136/bmj.m4347 pmid:33168562.
 - 30.- Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller M S, Lichty B D, Xing Z. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20: 615-32. doi: 10.1038/s41577-020-00434-6.
 - 31.- Van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Belij-Rammerstorfer S, Purushotham J N, Port J R, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature.* 2020; 586: 578-82. doi: 10.1038/s41586-020-2608-y.
 - 32.- Folegatti P M, Ewer K J, Aley P K, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet.* 2020; 396: 467-478. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31604-4.
 - 33.- ISRCTN registry. <http://www.isrctn.com/ISRCTN89951424>. (Acceso 19.10.2020).
 - 34.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04516746>. 19.10.2020.
 - 35.- Clinical Trials NIC, India. <http://ctri.nic.in/Clinicaltrials/showallp.php?mid1=46186&EncHid=&userName=covid-19%20vaccine>.
 - 36.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04540393?cond=NCT04540393&draw=2&rank=1> (Acceso 31.12.2020).
 - 37.- Ramasamy M N, Minassian A M, Ewer K J, Flaxman A L, Folegatti P M, Owens P R, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2021; 396 (10267): 1979-93.
 - 38.- Voysey M, Clemens S A C, Madhi S A, Weckx L Y, Folegatti P M, Aley P K, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK [published online ahead of print, 2020 Dec 8]. *Lancet* 2020; S0140-6736(20)32661-1. doi:10.1016/S0140-6736(20)32661-1.
 - 39.- Mercado N B, Zahn R, Wegmann F, Loos C, Chandrashekar A, Yu J, et al. Single-shot Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature.* 2020; 586: 583-8. doi: 10.1038/s41586-020-2607-z.
 - 40.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04505722> (Acceso 19.10.2020).
 - 41.- Logunov D Y, Dolzhikova I V, Zubkova O V, Tukhvatullin A, Shcheblyakov D, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet.* 2020; 396: 887-97. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31866-3.
 - 42.- Mulligan M J, Lyke K E, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature.* 2020; 586: 589-93. doi:10.1038/s41586-020-2639-4
 - 43.- Palacios R, Patiño E G, de Oliveira Pirelli R, Conde M, Batistta A, et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled phase III clinical trial to evaluate the efficacy and safety of treating healthcare professionals with the adsorbed COVID-19 (inactivated) vaccine manufactured by Sinovac - PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* 2020; 21: 853. doi:10.1186/s13063-020-04775-4.
 - 44.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04540419?cond=NCT04540419&draw=2&rank=1> 31.12.2020.
 - 45.- NIH U.S. National Library of Medicine, ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04526990?cond=NCT04526990&draw=2&rank=1> 31.12..2020.