



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

HACIA UNA VACUNA CONTRA SARS-CoV-2

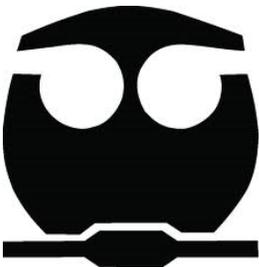
**TRABAJO MONOGRÁFICO DE
ACTUALIZACIÓN**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA

PRESENTA:

JOCELYN RAMÍREZ LÓPEZ



CIUDAD DE MÉXICO. 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Benjamín Ruíz Loyola

VOCAL: José Manuel Méndez Stivalet

SECRETARIO: José Landeros Valdepeña

1er. SUPLENTE: María Kenia Zamora Rosete

2do SUPLENTE: Fernando Santiago Gómez Martínez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
Ciudad Universitaria, CDMX.**

ASESOR DEL TEMA: M en C. Benjamín Ruíz Loyola

SUSTENTANTE: Jocelyn Ramírez López

DEDICATORIA

Para Ma. Josefina, mi madre quien siempre ha sido mi apoyo y motivación en todos los ámbitos de mi vida, sin ella no hubiese sido posible la culminación de este último trabajo de grado, su cariño es sin duda el principal motor de mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en particular a la Facultad de Química por posibilitar todas las herramientas para mi educación y desarrollo humano. Un agradecimiento especial a mi asesor Benjamín Ruiz Loyola, por su tiempo, esfuerzo, interés, dedicación y haberme recibido como su aprendiz durante este proceso.

Índice

	Página
Introducción.....	6
Objetivo.....	7
1. Información general de las vacunas.....	9
1.1 Sistemas de elaboración de las vacunas víricas.....	10
1.2 Clasificación de las vacunas víricas según la tecnología que usan.....	15
1.3 Uso de adyuvantes como determinantes en la eficacia de las vacunas.....	25
1.4 Formas de administración de las vacunas.....	26
2. Pasos del desarrollo de una vacuna.....	28
2.1 Proceso de aprobación para las vacunas.....	32
3. Características del SARS-CoV-2 y otros coronavirus.....	33
3.1 Manifestaciones clínicas de la enfermedad COVID-19.....	36
3.2 Origen del SARS-CoV-2.....	38
4. Aspectos inmunológicos del SARS-CoV-2.....	39
4.1 Funcionamiento del sistema inmune.....	39
4.2 Correlato de protección del SARS-CoV-2.....	44
5. Seguridad de la vacuna contra el SARS-CoV-2, Aspectos a considerar.....	48
6. Lecciones aprendidas de otros coronavirus.....	50
7. Proyectos de vacunas para el SARS-CoV-2.....	56
7.1 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan virus inactivados.....	61
7.1.1 Vacuna candidata de Sinovac Biotech Ltd.....	62
7.1.2 Vacuna candidata de Wuhan Institute of Biological Products y Sinopharm.....	68
7.1.3 Vacuna candidata de Beijing Institute	

of Biological Products y Sinopharm.....	71
7.2 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan vectores virales.....	75
7.2.1 Vacuna candidata de University of Oxford y AstraZeneca.....	76
7.2.2 Vacuna candidata de CanSino Biological Inc. y Beijing Institute of Biotechnology.....	85
7.2.3 Vacuna candidata de Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology.....	91
7.3 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan ARNm o ADN.....	95
7.3.1 Vacuna candidata de Moderna y National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID).....	95
7.3.2 Vacuna candidata de BioNTech, Fosun Pharmaceutical y Pfizer.....	101
8. Estrategias para acelerar los procesos de desarrollo de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 más prometedoras.....	107
9. Proyectos de vacunas candidatas en México contra el SARS-CoV-2.....	111
10. Consideraciones finales cuando las vacunas contra el SARS-CoV-2 sean aprobadas por los organismos reguladores.....	114
10.1 Posibles mutaciones del SARS-CoV-2 hacia un estado patogénico diferente.....	115
10.2 La vacuna se administrará de forma escalonada y hay grupos prioritarios.....	116
10.3 Preocupación por el creciente movimiento antivacunas.....	117
11. Nuevas propuestas para enfrentar amenazas infecciosas globales, consideraciones que deja el COVID-19.....	122
Conclusiones.....	125
Bibliografía.....	127

Lista de Figuras	Página
Figura 1. Pasos generales para la aprobación de vacunas.	9
Figura 2. Clasificación de las vacunas víricas más importantes según su siglo y la tecnología que usan.	23
Figura 3. Proceso de desarrollo de una vacuna para probar su eficacia y seguridad.	32
Figura 4. Estructura de la inmunoglobulina IgG.	41
Figura 5. Representación del sistema inmune adquirido.	43
Figura 6. Respuesta del sistema inmune adaptativo cuando SARS-CoV-2 entra al organismo.	45
Figura 7. Diagrama de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 según la plataforma que usan.	57
Figura 8. Diagrama de la etapa en desarrollo en la que se encuentran las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2.	57
Figura 9. Diagrama de las fases en etapa clínica de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2.	58
Figura 10. Modo de administración de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 que están etapa clínica.	59
Figura 11. Diagrama del número de dosis estimadas para la aplicación de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 en etapa clínica.	59
Figura 12. Vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 que se encuentran en Fase III.	61

Lista de Tablas

Página

Tabla 1. Características del proceso de fabricación de las vacunas según su plataforma tecnológica.	22
Tabla 2. Principales vías para la administración de vacunas.	26
Tabla 3. Plataformas de vacunación para SARS-CoV y MERS-CoV.	52
Tabla 4. Observaciones de las vacunas contra SARS-CoV y MERS-CoV en cuanto a inmunidad y seguridad.	54

Lista de abreviaturas

IL	Interleucina
L	Litros
μg o mcg	Microgramos
Mg	Miligramos
mL	Mililitros
Pv	Partículas virales
R_0	Número reproductivo básico
SU	Unidades normalizadas
U	Unidades
UE	Unidades Elisa

Introducción

En diciembre del 2019 se identificó en Wuhan, China un nuevo coronavirus llamado SARS-CoV-2, el cual ocasiona una enfermedad respiratoria (Coronavirus Disease-2019 o COVID-19) que afecta principalmente al sistema respiratorio ocasionando tos, fiebre e incluso dificultad para respirar como síntomas principales, la transmisión ocurre de persona a persona a través de gotas de saliva, aerosoles, contacto directo y mediante una ruta fecal-oral, SARS-CoV-2 tiene un período de incubación medio de 5.2 días y un número reproductivo de la infección (R_0) igual a 2 ó 3 personas (es decir, un individuo puede generar en promedio de 2 a 3 contagios más); la carga viral puede encontrarse hasta por 12 días después del inicio de los síntomas, por lo que los pacientes deben permanecer aislados por un mínimo de 15 días. La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró esta enfermedad como una pandemia el 11 de marzo de 2020 y hasta el 10 de Agosto del 2020 ha causado la infección en más de 19.7 millones de personas en todo el mundo (en donde el 20% de los casos llegan a ser graves), con una tasa de mortalidad de 3.4% en 220 países y territorios, sin embargo se sabe que los números de casos registrados subestiman el número real de infecciones debido a casos leves, asintomáticos y la incapacidad de evaluar a toda la población, adicionalmente se sabe que la tasa de letalidad está relacionada con factores como la edad avanzada, el sexo masculino y la presencia de comorbilidades (como hipertensión, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares o enfermedades cerebrovasculares).

El SARS-CoV-2 debe su nombre a su estrecha relación genética (82%) con el coronavirus SARS-CoV identificado en el 2003 y causante de una epidemia del síndrome respiratorio agudo severo, SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario, no segmentado, de sentido positivo y pertenece al género *Betacoronavirus* (el cual infecta exclusivamente a mamíferos), este nuevo coronavirus se originó en murciélagos resultado de recombinaciones entre diversos coronavirus pero se amplificó en un huésped intermedio llamado pangolín, debido a su origen animal se le conoce como un virus zoonótico. El tamaño del genoma del SARS-CoV-2 es de aproximadamente 29,9 kb que codifica 27 proteínas (15 proteínas no estructurales, 8 accesorias y 4 estructurales), sus 4 proteínas estructurales son: glucoproteína espiga (S), proteína de envoltura (E), proteína de membrana (M) y nucleoproteína (N), de éstas la proteína S juega un papel importante en la patogénesis del SARS-CoV-2, ya que gracias a su dominio de unión (RBD) se une a los receptores ACE2 (enzima convertidora de angiotensina humana 2) de la superficie de células presentes en vías respiratorias y algunos órganos humanos como los pulmones (Ahmed *et al.*, 2020; Amanat *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020a; Madjid *et al.*, 2020; Organización Mundial de la Salud, 2020b; Wu *et al.*, 2020).

Actualmente aún no existen tratamientos o vacunas eficaces para tratar o prevenir COVID-19, por lo que se precisa el desarrollo de éstos a la brevedad y para que la pandemia pueda llegar a su fin debe existir una inmunidad de rebaño, es decir al menos un 60 ó 70% de la población mundial debe generar inmunidad ante SARS-CoV-2, dicha inmunidad puede ocurrir ante el despliegue generalizado de repetidas olas pandémicas que infecten a casi toda la población o con la vacunación masiva, sin embargo la obtención de una vacuna segura y eficaz no es un proceso sencillo y su obtención en poco más de un año no tendrá precedentes; uno de los primeros pasos para la formulación de vacunas contra SARS-CoV-2 fue la identificación de un antígeno (es decir, la sustancia capaz de inducir la formación de anticuerpos y por ende una respuesta inmunitaria), en este caso se ha reconocido a la proteína S como el mejor antígeno para elaborar una vacuna capaz de generar la respuesta inmune deseada (Ahmed *et al*, 2020; Graham, 2020).

Este Trabajo Monográfico de Actualización abarca todos los avances sobre seguridad e inmunogenicidad de las vacunas candidatas más avanzadas, seleccionadas por encontrarse en ensayos clínicos de Fase III hasta el 28 de Agosto de 2020, hasta esta fecha existían 175 candidatos de vacunas contra el SARS-CoV-2 de las cuales 8 se encontraban en dicho nivel de avance:

1. *CoronaVac* por Sinovac Biotech Ltd.
2. *CNBG Wuhan* por Wuhan Institute of Biological Products y Sinopharm
3. *BBIBP-CorV* de Beijing Institute of Biological Products y Sinopharm.
4. *ChAdOx1-nCov19* de University of Oxford y AstraZeneca.
5. *Ad5-nCov* de CanSino Biological Inc. y Beijing Institute of Biotechnology.
6. *Gam-COVID-Vac* de Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
7. *ARNm-1273* de Moderna y National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID).
8. *BNT162* de BioNTech, Fosun Pharmaceutical y Pfizer.

Los resultados de ensayos clínicos se actualizaron hasta el hasta el 27 de Septiembre de 2020, mientras que los comunicados emitidos por las empresas creadoras se actualizaron hasta el 9 de noviembre de 2020.

Objetivo

Objetivo general

Realizar una revisión monográfica acerca de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 más avanzadas con la finalidad de para poder entender el panorama de salud

con respecto a estas vacunas que se encontrarán disponibles para el público general en los próximos meses.

Objetivos particulares

- Detallar los aspectos generales de la fabricación, producción y administración de las diferentes tecnologías de vacunas virales.
- Describir las características clínicas y estructurales más importantes de SARS-CoV-2, al igual que de otros coronavirus altamente relacionados.
- Sentar las bases para reconocer los aspectos inmunológicos más importantes al evaluar vacunas candidatas que se encuentran en ensayos clínicos.
- Recopilar resultados de ensayos clínicos que evalúen la seguridad e inmunogenicidad de las 8 vacunas más avanzadas contra el SARS-CoV-2, poniendo énfasis en sus ventajas o complicaciones.
- Establecer un panorama general después de que algunas vacunas contra SARS-CoV-2 sean aprobadas para ser distribuidas a la población mundial.

1. Información general de las vacunas

Sin duda las vacunas han sido uno de los desarrollos científicos y tecnológicos más impresionantes de toda la historia, gracias a éstas la longevidad y salud humana no tienen precedentes; la Organización Mundial de la Salud define como vacuna cualquier sustancia que haya sido elaborada para generar inmunidad contra alguna enfermedad y lo logre mediante la producción de anticuerpos, a pesar de ello los conocimientos sobre inmunización que se tienen hoy en día no fueron los mismos desde el inicio de la producción de vacunas, ya que éstas tienen una historia que se remonta siglos atrás debido a que la humanidad siempre ha tenido interés por la atenuación de infecciones virulentas, ejemplo de ello son los procedimientos parecidos a la variolación (es decir, la inoculación de la viruela) en donde usaban pequeñas y diluidas cantidades de veneno para obtener inmunidad a los efectos tóxicos de una enfermedad; pero no fue hasta finales del siglo XIX que se podían desarrollar vacunas en los laboratorios, posteriormente los conocimientos adquiridos en la biología molecular e inmunología de los siglos XX y XXI fueron determinantes para el desarrollo de vacunas por medio de métodos que nunca se habían imaginado (Plotkin, 2014; Organización Mundial de la Salud, 2020a).

En la actualidad las vacunas son los productos de salud más rigurosamente diseñados y monitoreados; existen pasos generales para llevar a cabo el proceso regulatorio para su aprobación y vigilancia posterior (Esquema 1).

Figura 1. Pasos generales para la aprobación de vacunas.



Figura 1. Elaborada a partir de la información obtenida en “Vaccine Manufacturing”

En la preparación de materiales preclínicos se fabrican todos los materiales de la vacuna y se eligen los modelos animales adecuados en los que se puedan llevar a cabo las pruebas toxicológicas, la presentación de solicitud de una nueva vacuna en investigación debe presentarse ante el organismo competente gubernamental encargado de regular y autorizar todos los productos médicos (Food and Drug

Administration -FDA- para EE.UU. y European Medicines Agency -EMA- para la Unión Europea), cabe mencionar que el organismo competente para regular y autorizar vacunas y medicamentos en un país será el que al final evalúe y decida si dicha vacuna podrá salir al mercado.

Las pruebas de seguridad y efectividad se llevan a cabo mediante estudios clínicos con 3 fases, que al ser concluidas de manera satisfactoria podrán ser evaluadas junto con todos los datos de fabricación de la vacuna para su revisión final; de obtener la aprobación, se realizará la licencia para que la vacuna pueda salir a la venta y es que el organismo competente para regular y autorizar una vacuna está presente desde que se realiza la solicitud de una nueva vacuna en experimentación hasta la evaluación final y la obtención de resultados, si dicho organismo considera relevante solicitar pruebas adicionales a las pruebas de seguridad y eficacia puede hacerlo en pro de la obtención de una vacuna segura y eficaz (Gómez *et al*, 2018).

1.1 Sistemas de elaboración de las vacunas víricas

Uno de los primeros pasos para la elaboración de una vacuna es la producción de un antígeno, el cual es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos por lo que tiene la capacidad de generar respuesta inmune, la generación del antígeno dependerá de la manipulación del mismo patógeno del cual se requiera la inmunización y esta manipulación requiere que el patógeno pueda multiplicarse en un sustrato para obtener la suficiente cantidad de éste como sea posible. Las primeras vacunas en la historia de la humanidad se produjeron *in vivo*, por ejemplo para obtener el antígeno necesario para formular las vacunas contra la viruela o la rabia era común infectar terneros con viruela o conejos con el virus de la rabia, después de que los animales enfermaban se hacían procesos de purificación (normalmente de su sangre) para obtener el antígeno deseado; con el tiempo este sistema *in vivo* donde el sustrato para hacer crecer al patógeno eran los animales se reemplazó por el uso de experimentos *in vitro*, donde el sustrato eran líneas celulares animales en 2D y con el transcurso del tiempo estas líneas celulares fueron reemplazadas por cultivos celulares en 3D apoyándose de microportadores (los cuales son pequeñas esferas diseñadas para soportar el cultivo de un gran número de células permitiendo realizar cultivos más profundos con altos volúmenes de fabricación y eficiencia), los cultivos celulares en 3D en comparación con los cultivos 2D tienen la ventaja de reproducir de una manera más similar (en anatomía, fisiología y comportamiento celular) a sus organismos de origen; adicionalmente existe otro método para la elaboración de vacunas que no requiere de un sustrato en el cual replicar al virus y son las vacunas recombinantes, en esta tecnología se produce una parte del virus patógeno lo suficientemente característica o distintiva

(como una proteína) que sea capaz de generar inmunidad, la cual se transfiere a un vector de expresión para que la proteína de interés pueda producirse sin la necesidad del uso del patógeno (Calvo, 2013; Gómez *et al.*, 2018).

Hoy en día los sistemas de elaboración de vacunas víricas se clasifican según la metodología de la cual se obtiene el antígeno necesario y se ejemplifican con más detalle a continuación:

- **Embriones de pollo:** Pese a que en la actualidad no suelen usarse animales para la replicación de un virus en la formulación de vacunas, el uso de embriones de pollo sigue vigente y está fuertemente arraigado para la producción de vacunas víricas, sin embargo no todos los virus pueden incubarse en embriones de pollo. Las vacunas contra el virus de la influenza son el mejor ejemplo para describir el uso embriones de pollo para su elaboración, ya que desde hace 70 años estas vacunas se han realizado a partir de preparaciones del virus de la influenza en embriones de 11 días, que pese a la existencia de otras tecnologías, este método sigue siendo el más aceptado y extendido para la elaboración de esta vacuna. El procedimiento inicia inyectando el virus monovalente de la influenza (es decir, con un solo serotipo del virus) en los huevos fertilizados y se dejan incubar varios días con temperatura y humedad relativa controlada para permitir la replicación del virus, posteriormente se purifica el antígeno de interés por medio de centrifugación a alta velocidad usando un gradiente de sacarosa o mediante cromatografía, el proceso de inactivación del virus (usualmente con formaldehído) puede llevarse a cabo antes o después de la purificación inicial, no sin antes verificar su infectividad, especificidad y esterilidad, cabe mencionar que el antígeno más usado para la producción de estas vacunas es una subunidad proteica (Gómez *et al.*, 2018; Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

Este método de producción pese a ser el más usado, requiere grandes cantidades de huevos, por lo general es más tardado en comparación con otros métodos y se considera poco adecuado para generar una producción continua eficiente y escalable (lo cual reduce su potencialidad en el control de pandemias), por ello en los últimos años se ha buscado reemplazar el uso de embriones de pollo por un método en donde el virus de la influenza sea incubado en células de mamíferos o usando tecnología recombinante, tal es el afán por el cambio de método para la producción de estas vacunas que hace aproximadamente un año en septiembre del 2019 Donald Trump, el presidente de EE.UU. (uno de los países con mayor capacidad de producción de vacunas para la influenza) firmó una orden ejecutiva para reducir la dependencia de su país a esta tecnología basada en el huevo, promoviendo

otras plataformas de fabricación consideradas más rápidas y escalables (Gómez *et al.*, 2018; The White House, 2019).

- **Líneas celulares continuas:** Para replicar cualquier virus en líneas celulares de manera reproducible, se requiere de un "banco de células maestro" el cual será el material celular principal durante todo el procedimiento y del cual se prepararán las células de trabajo que son utilizadas como cultivo, el material vírico también proviene de un "banco de semillas virales"; tanto el banco de células maestro como el banco de semillas virales son muy importantes, ya que la vacuna resultante dependerá de manera directa de los materiales de partida y cualquier cambio en éstos puede afectar la formulación final de la vacuna. Por otro lado las líneas celulares de mamíferos son el sustrato más usado para propagar el virus (incluidas las células Vero, MRC-5 ó PER.C6), sin embargo algunas vacunas también usan líneas celulares de insectos, un ejemplo de la producción de vacunas usando cultivos celulares es la producción de la vacuna contra la poliomielitis en donde principalmente se usan células Vero, aunque se ha encontrado que los cultivos celulares de PER.C6 son más eficientes y pueden tener una productividad 30 veces mayor para esta vacuna, además de una purificación del antígeno de solo tres pasos de cromatografía.

Es interesante señalar que el principal desafío en la producción de la vacuna contra la poliomielitis son las pautas internacionales que se le designan, porque la Organización Mundial de la Salud sugiere que la fabricación de esta vacuna debe limitarse a las áreas geográficas con alta cobertura de vacunación y con baja probabilidad de transmisión, el miedo por posibles accidentes con la manipulación de poliovirus es alto, ya que la poliomielitis es altamente contagiosa y produce alteraciones cerebrales y musculares que pueden desencadenar en parálisis; pese a esto los principales países productores de esta vacuna son China y la India, los cuales no cumplen con las recomendaciones de la OMS.

- **Tecnología recombinante:** Desde inicios del siglo XXI ya se tenía el conocimiento de que el suero inactivado por calor de una persona enferma de hepatitis B contenía el antígeno de la superficie del virus (HBsAg) necesario para generar inmunidad, a partir de ese momento el reto para generar la vacuna de la hepatitis B consistía en obtener HBsAg en altas cantidades; esto orilló a la comunidad científica a encontrar el gen que codifica para HBsAg y colocarlo en un vector de expresión (el cual fue *Saccharomyces cerevisiae*), la manipulación genética resultó un éxito ya que el antígeno superficial del virus es el mismo obtenido por tecnología

recombinante que con el suero de los pacientes crónicos portadores de hepatitis B.

Las células recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* que expresan HBsAg se cultivan en fermentadores de tanque agitado y utilizan como medio de fermentación una mezcla de extracto de levadura, peptona de soja, dextrosa, aminoácidos y sales minerales, posterior a la fermentación se lleva a cabo la lisis de las células que componen el medio de fermentación y se lleva a cabo la separación por cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) y cromatografía por exclusión de tamaño (SEC), el antígeno se ensambla a partículas de lipoproteínas y está lista para su envasado. El antígeno resultante tiene alta pureza, por lo que la formulación final de la vacuna puede contener no más del 1% de ADN de levadura; sin embargo existen otras versiones para la producción de la vacuna donde se utilizan otros métodos de separación diferentes y el porcentaje de ADN de levadura puede variar de un 1 a 5% según el método usado. Usualmente esta vacuna contra la hepatitis B suele tener 0.5 mg de sulfato de hidroxifosfato de aluminio amorfo para mejorar su efectividad.

Es interesante mencionar que así como en el desarrollo de las vacunas víricas siempre se han buscado más y mejores sustratos para la propagación de virus, las vacunas microbianas se han producido por excelencia en biorreactores de hasta de 5 000 L.

El primer paso para la producción de cualquier vacuna vírica es obtener la cepa patógena de interés, los fabricantes de vacunas buscan lugares de prestigio y reconocimiento oficial para la obtención de dicha cepa, en EE. UU. las cepas de virus se obtienen en Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) o en Centers for Disease Control and Prevention (CDC), mientras que en la Unión Europea son proporcionadas por National Institute for Biological Standards and Control y en el Hemisferio Sur por Therapeutic Goods Administration of Australia.

Una vez que se logra replicar el patógeno de interés el paso posterior consiste en separar y purificar el antígeno del sustrato, la metodología de separación dependerá de la complejidad del antígeno deseado y el medio en el que se produjo, en el mejor de los casos se llevarán a cabo solo un par de pasos de purificación como en el ejemplo de la vacuna de la poliomelitis, mientras que en los casos más complejos deberán realizarse muchas operaciones unitarias de cromatografía en columna o ultrafiltración. El siguiente paso consiste en implementar herramientas de caracterización para confirmar que realmente la vacuna tiene la formulación deseada, suele hacerse una prueba de caracterización por cada lote de vacunas fabricado y la técnica específica dependerá del tipo de vacuna, este tema se abordará con mayor detalle en el siguiente capítulo, pero por ahora es importante

saber que la caracterización debe registrar atributos críticos de las vacunas como la masa molar, tamaño molecular, título viral (o cantidad de virus), contenido de ácido nucleico, estabilidad térmica y agregación coloidal (Gómez *et al.*, 2018; Wyatt Technology, 2020).

Después del paso de purificación se obtendrá la formulación de la vacuna, la cual es la mezcla uniforme de todos sus componentes en un recipiente individual (el cual es debidamente sellado), es común que después del envasado se inspeccionen todos los contenedores con equipos automatizados que detectarán defectos físicos o cosméticos y si la formulación de la vacuna requiere un proceso de conservación se realiza una liofilización (un proceso de deshidratación, primero sometiéndola a congelación y luego eliminando el hielo). Toda la operación descrita anteriormente se lleva en entornos altamente controlados, estériles y con monitoreo constante de la limpieza, seguridad, potencia, pureza, esterilidad, además los operarios usan ropa de protección para evitar contaminaciones y llevan a cabo sus actividades de manera controlada; en ese sentido los controles de calidad son fundamentales ya que pueden afectar la eficacia de la vacuna debido a que éstas son sustancias sensibles que tienen condiciones de preparación y almacenamiento específicas. La sensibilidad de las vacunas hace que frecuentemente los fabricantes formulen una vacuna con potencia por encima de la dosis efectiva, a esto se le llama “sobreformulación” e impacta negativamente en el rendimiento y costo de producción, por lo que también se considera el uso de estabilizadores o como se mencionó anteriormente procesos de conservación como la liofilización. Todas las especificaciones de almacenamiento, vida útil y condiciones de distribución para las vacunas deben estar descritas en la licencia de la vacuna, por lo general la vida útil de una vacuna llega a ser de 3 años en las condiciones idóneas y son los fabricantes los encargados de proporcionar recipientes de aislamiento térmico que permiten conservar la vacuna hasta por 3 días mientras se realiza la distribución.

La producción de vacunas a gran escala ha hecho que las instalaciones donde se realiza esta labor sean cada vez más costosas, en las últimas décadas los sistemas para automatizar, limpiar, esterilizar, validar y separar se han vuelto más sofisticados, esto ha traído consigo que las vacunas sean productos casi exclusivamente realizados en países desarrollados; es tal el interés por reducir los costes de producción en el proceso de elaboración de vacunas que se ha empezado a implementar el uso de equipos desechables de un solo uso (normalmente hechos de polímeros) para eliminar costos de esterilización y limpieza general, buscando no solo reducir los costos, si no el uso de instalaciones más pequeñas. Para dimensionar el impacto económico y a manera de ejemplo, en la vacuna contra la poliomelitis se ha observado que la reducción de costos puede ser hasta de un 40%; sin embargo los beneficios a largo plazo de este tipo de implementaciones están por verse, ya que el uso de equipos de vidrio y acero tienen sus propias ventajas

(son inertes, no aportan impurezas a la formulación final y no generan residuos), pero por ahora existen inversionistas que están dispuestos a apostarle a estas plataformas de fabricación de un solo uso que requieren un capital bajo, listo para usarse y que permite escalar el proceso fácilmente.

Sin duda los métodos para la producción de vacunas avanzan a un ritmo dinámico, las compañías fabricantes se enfrentan a una alta cantidad de retos para los cuales van ofreciendo diversas soluciones como el trabajo en conjunto de varias empresas que puedan aportar una solución específica, ya que muchas formulaciones requieren de la conectividad de varias compañías designadas a aportar un elemento específico, la finalidad de las diversas estrategias empleadas es generar cadenas de suministro robustas que puedan aportar productos vacunales de calidad (Gómez *et al*, 2018).

1.2 Clasificación de las vacunas víricas según la tecnología que usan.

A continuación se mencionan los tipos de vacunas antivíricas que existen en la actualidad, así como sus características principales, ejemplos, ventajas, desventajas y algunos antecedentes históricos para las plataformas que han sido usadas desde hace siglos atrás. Cabe mencionar que algunas de las tecnologías usadas para la producción de vacunas víricas son las mismas que se usan para vacunas contra bacterias y aunque esta clasificación está centrada en las plataformas víricas ocasionalmente se harán referencias de vacunas antibacterianas para entender cabalmente el bagaje histórico de las tecnologías de vacunación.

Vacunas hechas con virus completos

Este tipo de vacunas se clasifica en dos, las vacunas que usan virus atenuados y las que las que usan virus inactivados, ambas se explican a continuación.

Vacunas de virus atenuados.

Este tipo de vacunas se realizan con virus infecciosos reales que han sido atenuados previamente, por lo que son menos infecciosos y generan inmunidad al virus normal. La idea central de las vacunas con virus atenuados es que existe un proceso natural de los virus por volverse menos infecciosos con el tiempo y a medida que coexisten con sus anfitriones; el objetivo es aprovechar este fenómeno natural acelerándolo en el laboratorio, existen varias formas de atenuar un virus,

una es pasando el virus muchas veces a través de células humanas hasta que éste pierda gradualmente su capacidad de infección (Lowe, 2020a).

El concepto de atenuación de virus como se conoce actualmente tardó siglos en desarrollarse y entenderse, algunos hechos científicos que marcaron las pautas tecnológicas para las vacunas elaboradas de esta forma son los siguientes:

- En el siglo XVIII Edward Jenner usó el virus que producía la viruela animal para inocular a individuos y de esta manera prevenirles de la viruela humana, la idea central de esto era que el virus animal actuaba de una forma atenuada en las personas, de tal manera que enfermaban de viruela animal pero al curarse tenían inmunidad a la viruela humana y animal.
- Fue hasta después que Pasteur sofisticó más esta idea en su trabajo con varios patógenos como las bacterias que causan diarrea en los pollos, el antrax en ovejas y el virus de la rabia, en donde exponía dichos patógenos al calor u oxígeno con tal de hacerlos menos letales.
- Posteriormente Calmette y Guérin pasaron 230 veces la bacteria de la tuberculosis bovina en medios artificiales para obtener una cepa atenuada y posteriormente ser usada para proteger a las personas contra la tuberculosis humana. Ya en el siglo XX Sellards y Laigret fueron los primeros en atenuar el virus de la fiebre amarilla usando ratones y embriones de pollo.
- En 1940 desde el campo de la virología se entendió que la atenuación podría llevarse a cabo si pasaban el patógeno de interés a través de células, entonces por primera vez se cultivaron células que fueron usadas como medio en el que los virus podían llevar su cabo su replicación, durante este periodo realizaron este procedimiento para la poliomielitis, sarampión y otras enfermedades infecciosas; fue en este punto en donde se entendió cabalmente la idea de cómo los virus pierden su capacidad infecciosa con el paso del tiempo y al estar presentes en un medio celular (en el que pierden o modifican genes que les confieren su capacidad de replicación).

Así fue como con el correr de la experimentación científica se fueron precisando detalles sobre esta técnica para la elaboración de las vacunas, por ejemplo, actualmente se sabe que temperaturas ligeramente por debajo de 37 °C también actúan como factor atenuante, otra herramienta para la atenuación consiste en poner en cocultivo dos virus en un sustrato celular para una futura selección de virus que contengan segmento de ARN de ambos virus, la intención es obtener un virus

menos infeccioso comparado con el original (a este procedimiento se le conoce como reordenamiento), esta técnica ha permitido la obtención de vacunas contra rotavirus (Plotkin, 2014).

Otras vacunas obtenidas con virus atenuados son la de la viruela, varicela y la de sarampión-papera-rubeola (MMR), las ventajas de este tipo de vacunas son que llegan ser muy efectivas, incluso se les llega a catalogar como las vacunas más efectivas del mercado (aunque es conveniente recordar que siempre hay excepciones, tal es el caso de la vacuna contra la poliomielitis en donde la vacuna de virus inactivados resulta más efectiva que la que usa virus atenuados), la protección empieza rápidamente y es muy completa (debido a que el sistema inmunitario actúa como si interactuara con el virus real pero sin llegar a manifestar enfermedad), además de tener efectos prolongados, por lo que es menos probable la necesidad del uso de vacunas de refuerzo; mientras que la principal desventaja de esta tecnología es encontrar ese punto en donde el virus es lo suficientemente eficaz para producir la inmunidad pero lo menos infeccioso posible, de tal manera que no llegue a causar daño (equilibrio entre patogenicidad-inmunogenicidad), cosa que no es posible para todos los virus, además esta plataforma tecnológica requiere grandes cantidades de virus para su realización lo cual puede llegar a ser poco práctico (Lowe, 2020a; Lowe, 2020b).

Vacunas de virus inactivados.

Este es el segundo tipo de vacunas que se hace con virus completos, esta plataforma tiene como objetivo principal alterar las proteínas de la superficie del virus lo suficiente como para desactivarlo y por ende, que pierda su capacidad de infección, pero sea capaz aún de provocar respuesta inmune en el organismo. Estos son algunos de los hechos históricos más importantes que dieron lugar al desarrollo de este tipo de vacuna:

- Los primeros registros se encuentran hacia final del siglo XIX en trabajos con bacterias (específicamente las que producen la fiebre tifoidea, la peste bubónica y el bacilo del cólera) donde se veía que podían perder patogenicidad si se les sometía cuidadosamente a tratamientos de calor o agentes químicos.
- En 1923, se descubrió con la toxina diftérica que no solo era posible desactivar la toxicidad de bacterias, sino que éstas podían generar anticuerpos neutralizantes, esto sorprendió a la comunidad científica quien empezó experimentar más con esta plataforma.

- Durante el siglo XX la inactivación también empezó a usarse con virus, de esta forma se desarrollaron la vacuna de la influenza, de la poliomelitis y hepatitis A en esa misma primera mitad del siglo XX.

La mayor dificultad en la elaboración de vacunas inactivadas es la misma que se plantea con las vacunas atenuadas, llegar a ese punto de equilibrio en donde el virus no sea patógeno pero realmente provoque respuesta inmune reproducible, la desventaja principal es que administrar una vacuna inactivada (que finalmente es una serie de proteínas desnaturalizadas) no será tan eficaz en comparación con las vacunas con virus debilitados, por lo que es más probable necesitar una inyección de refuerzo (Lowe, 2020a; Plotkin, 2014).

Vacunas basadas en proteínas

En este tipo de vacunas se usa una proteína en particular, un fragmento de proteína o subunidad proteica (es decir, una molécula de una proteína capaz de unirse con otras moléculas para formar complejos proteicos) que sea lo suficientemente distintiva del patógeno como para ser reconocida y sea capaz de provocar una respuesta inmune en el organismo (Lowe, 2020a).

Los hechos históricos que dieron paso al desarrollo de este tipo de vacunas son:

- En la década de 1960 el Ejército de EEUU se dedicó al desarrollo de una vacuna contra el ántrax para ser usada en biodefensa, esto pese a que ya existía una vacuna para el ántrax desarrollada por Pasteur que usaba bacterias completas; la idea era sofisticar la vacuna para esta enfermedad usando una proteína antígeno secretada por la bacteria.
- En la década de 1970 se realizaron otras vacunas mediante esta tecnología, como la de la rabia (originalmente desarrollada por Pasteur pero con virus completos), para su realización replicaron al virus en células humanas y otros dos animales para posteriormente inactivar el virus obtenido y purificar la glicoproteína antígeno deseada para generar inmunidad a la enfermedad.
- En 1980 este tipo de vacunas ya estaban siendo desarrolladas y aprobadas en Oriente, iniciando por Japón y extendiéndose rápidamente hacia países vecinos.

El impacto de las vacunas que usan proteínas ha sido significativo para algunas enfermedades, por ejemplo, la vacuna contra la tos ferina hecha con proteínas ha reemplazado la vacuna hecha con bacterias completas, debido a que la vacuna

realizada con proteínas tiene la misma eficacia sin los efectos adversos febriles de la otra plataforma (Plotkin, 2014).

La gran ventaja de esta tecnología es que al tener claro la proteína que funciona para generar inmunidad se puede producir de forma recombinante, en grandes cantidades sin necesitar al virus completo y la industria farmacéutica ya tiene experiencia en esto (pese a que cada proteína necesite requerimientos técnicos específicos), por lo que se puede realizar un escalamiento más rápidamente. La clara desventaja es el proceso de obtención de la proteína en sí, ya que no es sencillo encontrar una proteína lo suficientemente única para provocar una respuesta inmune robusta, normalmente al encontrar proteínas candidatas se observa que por sí solas no suelen generar una respuesta lo suficientemente robusta como para generar inmunidad a largo plazo (Lowe, 2020a; Lowe, 2020b).

Existe una plataforma vacunal intermedia entre las tecnologías de vacunas con subunidades proteicas y las que utilizan virus completos llamada partículas similares a virus (VLP), estas vacunas híbridas tienen características entre los dos tipos de tecnologías debido a que VLP es un conjunto de varias subunidades proteicas que forman un tamaño, forma y organización similar a un virus real pero sin la capacidad de ser tan infeccioso como éste, es decir, tienen muchas o la mayoría de las proteínas superficiales del virus real pero no poseen carga genética en su interior (por lo que no pueden replicarse), tienen la capacidad de hacer que el sistema inmunitario desarrolle los antígenos necesarios (es decir, las sustancias que generan la formación de anticuerpos y causan respuesta inmunitaria); también es interesante destacar que las VLP son hechas con proteínas del virus patógeno de interés o de una combinación de varios virus en donde se incluya al patógeno, debido a su naturaleza estas vacunas también usan tecnología recombinante. Un ejemplo de este tipo de vacunas es la de la marca Gardasil, la cual produjo una vacuna contra el cáncer cervical del VPH y otra para la hepatitis B (Lowe, 2020a, Lowe, 2020b).

Vacunas de ácidos nucleicos

Esta plataforma vacunal es una de las más recientes y se clasifica en dos categorías: las vacunas de ADN o ARNm, las cuales se explican a continuación.

Vacunas de ADN.

Este tipo de vacunas aprovecha toda la maquinaria celular porque utiliza un plásmido de ADN circular el cual codifica para alguna proteína antigénica, el objetivo

es que este ADN al ser incorporado a las células pueda dar las instrucciones para transcribirse a ARN y posteriormente poder traducirse a proteínas que desencadenen una respuesta inmune. La ventaja que tiene es que debido a que se usa toda la maquinaria celular no habría que preocuparse por el plegamiento adecuado de las proteínas o las modificaciones postraduccionales (las cuales son necesarias para que las proteínas puedan hacer sus funciones), sin embargo las desventajas incluyen la dificultad de lograr una respuesta inmune fuerte, lograr la estabilidad del plásmido de ADN desde su elaboración hasta el momento de la inyección, además de que aún no existe una vacuna humana que utilice este tipo de tecnología sin embargo sí existe para animales (como la vacuna contra el Zika hecha para caballos); sin duda en los próximos años presenciaremos la entrada de vacunas que usan esta tecnología en el mercado.

Vacunas de ARNm.

La vacuna de ARNm funciona de manera similar a la vacuna anterior, solo que esta vez se elimina el paso de transcripción (ADN → ARN), el objetivo entonces es que el sistema inmune adaptativo (el cual se encarga de la defensa ante patógenos nuevos) genere los anticuerpos deseados, sin embargo también puede suceder que el sistema inmune innato (el encargado de la defensa contra patógenos ya conocidos) reconozca secuencias de ácidos nucleicos extraños como un signo de infección y trabaje para eliminarlos, es decir, la respuesta innata podría eliminar los ácidos nucleicos si es realmente sólida por lo que la respuesta inmune sería breve, este inconveniente también puede suceder con las vacunas de ADN, por lo que uno de los grandes retos para estas plataformas es obtener más respuesta inmune adaptativa que respuesta innata y con esto lograr inmunidad a largo plazo.

Otro gran reto para que las vacunas de ADN y ARN puedan funcionar es que tienen que formularse de tal manera que éstas no sean destruidas al entrar en contacto con el torrente sanguíneo y antes de ser absorbidas por las membranas celulares, además de que (como se mencionó anteriormente) este tipo de vacunas nunca se ha usado para humanos, por lo que sin duda escalar esta nueva tecnología presentará dificultades que aún están por conocerse (Lowe, 2020a; Lowe 2020b).

Vectores virales como vacunas

Este tipo de vacuna consiste en usar un virus conocido para rediseñarlo (cambiando sus ácidos nucleicos ya sea ADN o ARN) con la finalidad de que entregue la información genética que se desee incorporar a la maquinaria celular, el virus

conocido que es usado como vector de la información genética puede no tener relación con el patógeno que se quiere combatir; por ejemplo en el caso de usar esta tecnología para el desarrollo de una vacuna contra un coronavirus, se buscaría diseñar un vector que consista en un virus infeccioso (cualquiera que sea distinto al coronavirus) pero llevando consigo el material genético adecuado para la producción de proteínas del coronavirus de interés, de esta manera las células serán infectadas con este virus vector sin que éste pueda realizar replicación (es decir, cada partícula viral que sea administrada en la vacuna tendrá la posibilidad de infectar solo una célula) por lo que se activará una respuesta inmune sin llegar a enfermar.

Comparado con la tecnología que solo usa el ADN o ARN, esta técnica sí se ha visto materializada en vacunas hechas para humanos (tal como la vacuna contra el ébola, SIDA, influenza, tuberculosis o malaria), una gran desventaja es que si el virus que se escoge como vector ya ha tenido contacto con la población a la que se le administre la vacuna, es probable que los individuos ya posean anticuerpos específicos para dicho virus vector, por lo que su sistema inmune puede destruir el vector viral antes de que éste pueda hacer su trabajo y eso se dificulta más si la vacuna necesita otras dosis de refuerzo; por su parte, la ventaja que presenta es que el sistema inmunológico reconoce este ataque viral como uno bastante realista, por lo que el organismo genera una gama de respuestas bastante parecida a si el ataque hubiese sido de un virus normal (Lowe, 2020a; Lowe 2020b; (Zhang *et al*, 2016).

Pese a la variedad de tecnologías que se abordaron en este capítulo existen aún grandes retos a resolver en el proceso de elaboración de una vacuna, como la robustez de las respuestas inmunes en la niñez (donde el sistema inmune no está lo suficientemente maduro) o la vejez, la prolongación de la respuesta inmune, soluciones de seguridad y eficacia que aborden la variabilidad genética humana, entre otras. En ese sentido es importante recordar que el éxito de las vacunas actuales no debe estar mediado por lo difícil de su tecnología o formulación, el éxito de las vacunas debe estar siempre definido por la protección de enfermedades de manera eficaz, sin reacciones adversas importantes y con cobertura a todos los grupos de edad y estratos poblacionales (Plotkin, 2014).

Después de haber identificado las diferentes plataformas de vacunación y métodos de elaboración, se presenta un resumen de estos aspectos en la Tabla 1, donde se detalla el proceso típico de elaboración, las técnicas de caracterización normalmente empleadas para validación y el antígeno según el tipo de vacuna (Pall Corporation, 2020; Wyatt Technology, 2020).

Tabla 1. Características del proceso de fabricación de las vacunas según su plataforma tecnológica.

Tipo de vacuna	Antígeno	Proceso de elaboración típico	Técnica de caracterización empleadas para validación
Virus completo	Virus atenuado	Línea celular de mamíferos	FFF-MALS Fraccionamiento de flujo de campo con detector de difracción de luz con múltiples ángulos. (Tamaño y concentración del virus)
	Virus inactivado	Embriones de pollo Línea celular de mamíferos	
Basadas en proteínas	Proteína recombinante	Línea celular de mamíferos o insectos	FFF-MALS Fraccionamiento de flujo de campo con detector de difracción de luz con múltiples ángulos. (Distribución de masa y tamaño molar)
	Polisacáridos o péptidos	Fermentación de bacterias o levaduras	
Ácidos nucleicos	Plásmido de ADN	Fermentación	SEC-MALS-DLS La cromatografía de exclusión por tamaño con dispersión de luz estática de múltiples ángulos y con dispersión dinámica de luz. (peso molecular y tamaño para el ARNm)
	RNA mensajero	Síntesis química	

Tabla 1. Elaborada a partir de la información obtenida en "Vaccine Production" y "Solutions for vaccine characterization and development".

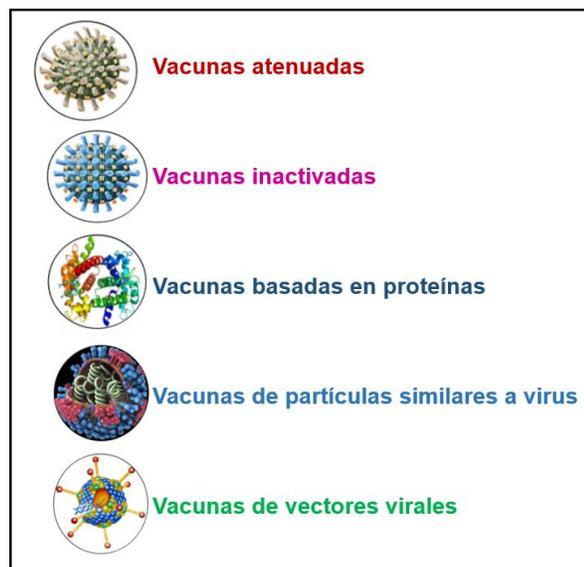
A diferencia de lo que muchas personas podrían pensar, el desarrollo de vacunas virales no ha ido sucediendo a paso constante ni mucho menos a ritmo exponencial, incluso hay un periodo al que se le denomina la "era dorada" para el descubrimiento de las vacunas virales (Figura 2) la cual va de 1955 a 1990, fue en este periodo de tiempo en el que vacunas contra el sarampión, poliomelitis, paperas, rubéola o hepatitis B fueron accesibles por primera vez en la historia de la humanidad; sin

embargo es una cuestión discutida el por qué el desarrollo de vacunas virales se ha visto tan estancado en los últimos 40 años, aún con la urgencia de prevenir infecciones virales importantes (virus de inmunodeficiencia humana, varicela-zóster, virus respiratorios o enfermedades emergentes como el zika).

Son puntuales las vacunas virales aprobadas en estos últimos años algunos ejemplos incluyen la vacuna del virus del papiloma humano o el ébola, este desarrollo tan lento sin duda contrasta con los avances científicos de inmunología, biología molecular, desarrollo genómico y demás áreas de las cuales se ha tenido un crecimiento sin precedentes. Las razones de la baja disponibilidad de nuevas vacunas virales son complejas, como las dificultades técnicas de cada virus o la falta de modelos animales importantes, pero sin duda algunas de las razones de gran peso también involucran aspectos regulatorios y económicos.

Claramente un modelo de desarrollo tecnológico en materia de vacunas que tiene como prioridad las ganancias económicas por sobre el eficaz desarrollo de las inmunizaciones, tendrá implicaciones directas en el desarrollo de vacunas para las poblaciones, así como también un modelo que se encuentra financiado casi exclusivamente por el sector privado y no por el público. Éstas son consideraciones importantes que deben ser tomadas en cuenta cuando se discute la aparición de nuevas enfermedades virales emergentes (como la gripe aviar, ébola, zika o COVID-19), sin duda la humanidad tiene un futuro lleno de retos en materia de salud humana (Tannock *et al.*, 2020).

Figura 2. Clasificación de las vacunas víricas más importantes según su siglo y la tecnología que usan.



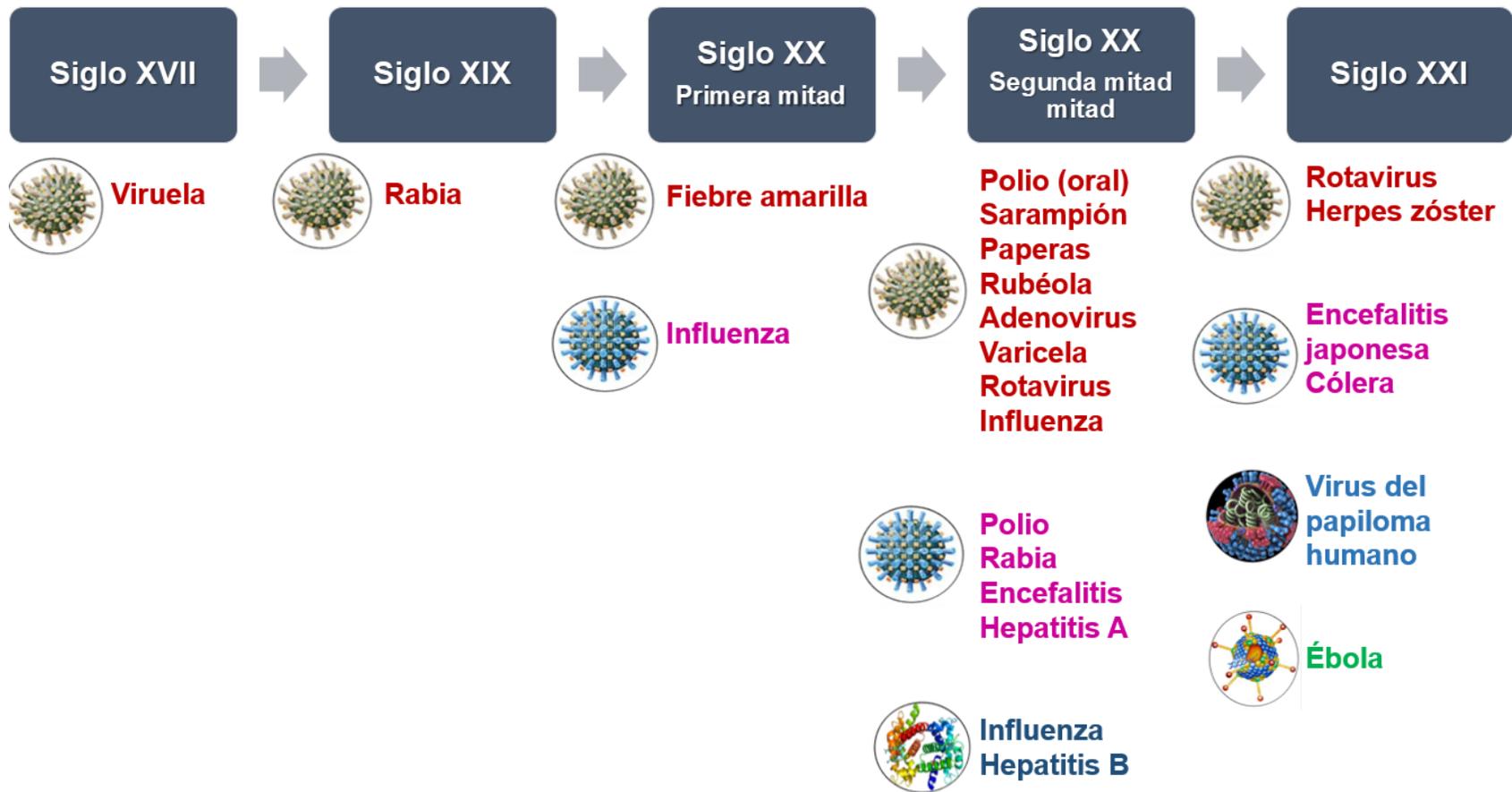


Figura 2. Elaborada a partir de la información obtenida en "History of vaccination".

1.3 Uso de adyuvantes como determinantes en la eficacia de las vacunas.

Una de las características más deseadas de una vacuna es una respuesta inmune robusta y duradera, para lograr esto se usan aditivos a las vacunas denominados “adyuvantes”, los cuales suelen ser sustancias con estructura química variada. Estas sustancias son capaces de incrementar la potencia, calidad y hasta la duración de la respuesta inmune, entre sus características más destacadas es que se usan para mejorar respuesta inmune a edades muy tempranas (donde el sistema inmune no ha alcanzado la madurez), edades avanzadas o en personas comprometidas inmunológicamente, también tienen la capacidad de reducir dosis de vacunas (lo que a su vez favorece la logística de vacunación, costos y aceptación de la población).

Se tienen registros del uso de adyuvantes desde 1920, para ese año se estudiaban diferencias en la producción de anticuerpos en caballos cuando se les añadían aditivos a las vacunas (como almidón), al mismo tiempo inmunólogos como Alexander Glenny estaban formulando vacunas para la difteria y ya se reportaba que añadir sales de aluminio a las vacunas las hacía mucho más efectivas, estas sales de aluminio se volvieron de uso frecuente para este fin en el próximo siglo. Después de estos primeros trabajos en animales empezaron a formularse sustancias aditivas a las vacunas que redujeran la toxicidad, aumentaran la efectividad y potenciaran la capacidad inmunoestimulante pero pese a que esta práctica comenzó hace casi un siglo, actualmente no se cuentan con adyuvantes abundantes con licencia que operen en el mercado farmacéutico (Batista *et al.*, 2014; Lowe, 2020a).

Es relevante mencionar que un adyuvante no es un aditivo que se pueda incorporar a todas las vacunas, de hecho el adyuvante empleado debe considerar características específicas del antígeno, además que un adyuvante ideal debería cumplir con los siguientes requisitos: ser seguro (sin efectos adversos a mediano o largo plazo), biodegradable, químicamente estable por al menos 2 años, bien caracterizado, con un mecanismo de acción claro, barato, fácil de preparar y purificar, capaz de elevar los porcentajes de protección, reducir la cantidad de antígenos empleados así como las dosis de empleo y debe existir la posibilidad de poder ser administrado por varias vías incluyendo las mucosas. Es claro que el adyuvante ideal no existe y es probable que nunca se logre formular uno que cumpla cabalmente con todas esas características, pese a esto la característica más importante que siempre debería de cumplir es la manifestación de baja toxicidad en uso clínico, finalmente lo que se quiere es que el adyuvante mejore las cualidades de la vacuna, no que la vuelva más peligrosa. Lograr que un adyuvante logre los requisitos de seguridad es el paso más difícil y no debe ser tomado nunca a la ligera,

ya que éstos son capaces de liberar mediadores biológicos activos como las citocinas proinflamatorias que tienen la capacidad de ocasionar efectos locales y sistémicos que se escapan de las características de reacción deseadas, también son capaces de inducir o agravar enfermedades autoinmunes, de esto se tienen múltiples reportes en modelos animales, además de relaciones causales en personas (las cuales son complejas de estudiar debido a su multifactorialidad entre factores genéticos e inmunológicos). Los tres compuestos más usados como adyuvantes son sales minerales como el hidróxido de aluminio $Al(OH)_3$, el fosfato de aluminio $AlPO_4$ y el sulfato de aluminio $Al_2(SO_4)_3$, éstos pueden formularse junto con el antígeno o en un paso posterior (Batista *et al.*, 2014).

1.4 Formas de administración de las vacunas.

Una vacuna exitosa debe generar interacciones entre las células del sistema inmune al estar en contacto con ellas, por lo que resulta indispensable introducir los antígenos en el lugar anatómico adecuado que facilitará el contacto con las células inmunes, la forma de administración de la vacuna es crítica y dependerá también de las características y especificaciones de cada vacuna, de no seguir las indicaciones sobre la forma de administración de la vacuna pueden existir reducciones en la eficacia, así como el aumento de las reacciones locales adversas (François *et al.*, 2007; Centers for Disease Control and Prevention, 2019).

A continuación se muestra en la Tabla 2 las principales vías de administración de las vacunas.

Tabla 2. Principales vías para la administración de vacunas.

Vía	Características	Ejemplos
Oral	Administrada por vía oral	Vacunas contra rotavirus (RV1, RV5).
Subcutánea	Inyectada en el tejido graso conectivo, por debajo de la piel.	Vacuna inactivada contra el polio (IPV).
Intramuscular	Inyectada en el tejido muscular.	Vacuna contra la difteria, tétanos y tos ferina (DTaP).
Intradérmica	Inyectada entre las capas de la piel.	Vacuna contra el virus de la influenza (ID de Fluzone).
Intranasal	Administrada por la nariz	Influenza.

Tabla 2. Elaborada a partir de la información obtenida en "Administer the Vaccine(s)"

En la Tabla 2 se observan ejemplos de cada vía de vacunación, sin embargo para una misma vacuna no siempre existen vías de vacunación exclusivas y hay unas

mejores que otras, por ejemplo la vacuna de la influenza también puede ser administrada mediante inyecciones, sin embargo se ha observado que la administración vía intranasal se generan repuestas inmunes más rápidas, amplias y con mayor duración.

Es común que una persona necesite más de una vacuna en algún momento particular de su vida, para resolver este problema en el caso de las vacunas inyectables existen vacunas combinadas como la vacuna DTaP-IPV-HepB la cual protege contra la difteria, tétanos, tos ferina, poliomielitis y hepatitis B, las cuales se combinaron para disminuir el número de inyecciones, sin embargo de no poseer las vacunas combinadas lo que se suele hacer es colocar cada vacuna en distintos sitios del cuerpo (González *et al.*, 2015; Centers for Disease Control and Prevention, 2019).

Pese a la gran variedad de vías de administración de vacunas, se ha observado que el método más habitual para hacerlo sigue siendo la inyección, en especial las inyecciones intramusculares, debido a que pueden formar precipitados persistentes que al disolverse se reabsorben lentamente; además que inyectar antígenos se considera una forma rápida, sencilla y reproducible de vacunación, sin embargo para administrarla se requiere personal capacitado (François *et al.*, 2007; Organización Mundial de la Salud, 2020a).

Para resolver el inconveniente de necesitar personal capacitado para la inyección de vacunas, en los últimos años se han buscado métodos alternativos no invasivos de vacunación, esto surge con la necesidad de vacunar cada vez a más personas de una manera fácil, segura y cómoda, entre las comodidades deseadas se espera que se pueda eliminar la cadena en frío que ha sido indispensable para muchas vacunas (lo cual a su vez podría permitir que las vacunas lleguen a lugares de difícil acceso), que su elaboración sea sencilla y barata para que los países en vías de desarrollo puedan acceder a estos novedosos métodos de vacunación, los cuales también vienen acompañados con mayor aceptación por parte de las personas y favorecen mayores niveles de cobertura vacunal; algunos ejemplos de estas vacunas son los siguientes:

- **Vacunas comestibles:** Existe una manipulación transgénica para colocar ciertos genes en alimentos y que éstos puedan posteriormente expresar el antígeno deseado en el cuerpo humano para generar respuesta inmune, ya se han expresado los antígenos de varios patógenos (norovirus, virus de la hepatitis A, C y hasta bacterias como *E.coli*) en alimentos, evidentemente este tipo de vacunas tienen un sinnúmero de desafíos entre los que destaca la estabilidad vacunal. Una vacuna comestible contra el cólera ha llamado la

atención mundial, es a base de arroz (MucoRice) y es estable a temperatura ambiente durante un período prolongado.

- **Vacunas para las mucosas:** Se han hecho muchas observaciones en las cuales se ha apreciado que las mucosas (las cuales cubren tejidos nasales, orales, oculares, rectales y hasta vaginales) son lugares de actividad inmunitaria fuerte por ser la puerta de entrada a microorganismos y agentes externos, por lo que generar protección en las superficies de las mucosas y la defensa sistémica tienen un papel relevante en la respuesta inmunitaria, ya se han desarrollado varias vacunas de la mucosa como la que combate al polio, rotavirus, fiebre tifoidea, etc.
- **Vacunas transcutáneas:** Su administración es mediante la piel, se ha observado que ésta (especialmente su capa epidérmica) es un lugar inmunitario accesible y competente para la administración de vacunas, comúnmente se utilizan aparatos de apoyo que funcionan con inyectores (pese a que no siempre tienen agujas) para permeabilizar la vacuna, este tipo de aparatos funcionan con pulsos eléctricos, abrasión, hidratación o incluso también se utilizan parches transdérmicos o ungüentos; se ha observado que estas vacunas pueden dar respuestas locales muy intensas y se siguen experimentando con materiales nanométricos para ser usados como vectores de antígenos.

Se considera que las vacunas que tienen vías de administración alternativas desempeñarán en el futuro un papel importante en el manejo de las enfermedades emergentes y reemergentes (en especial las vacunas para las mucosas debido a su capacidad de producir inmunidad local y sistémica), sin embargo no ha sido sencillo la obtención de aprobaciones regulatorias para sacar este tipo de vacunas al mercado (Yoshikazu, 2009; González *et al.*, 2015; François *et al.*, 2007).

2. Pasos del desarrollo de una vacuna.

Antes de que una vacuna pueda salir al mercado para ser administrada y considerada segura para las personas, debe someterse a todo un proceso para verificar que es lo suficientemente segura y eficaz, por lo que las agencias reguladoras en todo el mundo exigen que este proceso se lleve a cabo en dos etapas: la preclínica (que consiste en pruebas *in vitro* e *in vivo* con animales) y la etapa clínica (en la cual se hacen pruebas con personas), para la etapa clínica, organismos con reconocimiento internacional como la Agencia Europea de

Medicamentos (EMA), Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (USFDA) han proporcionado las pautas para elaborar los ensayos clínicos en donde también se proveen estándares éticos y técnicos para garantizar la calidad y seguridad de las vacunas; sin embargo serán las autoridades correspondientes de cada país quienes dicten los marcos de regulación para productos de salud en sus países. Por otro lado la ruta de desarrollo clínico estará fuertemente influenciada por la tecnología que use la vacuna, epidemiología de la enfermedad, población objetivo y hasta la disponibilidad de alguna vacuna preexistente. Diseñar una vacuna no es una tarea sencilla, incluso puede llegar a ser más difícil si se le compara con el desarrollo de fármacos, la razón principal de esto es que las vacunas se administran a personas sanas por lo que el margen de seguridad debe ser muy alto y las exigencias de seguridad aumentan conforme la vacuna se vuelve más específica, por ejemplo si la vacuna lleva algún adyuvante que ayude a mejorar la respuesta inmune, el adyuvante también debe de cumplir los estándares de seguridad, compatibilidad, estabilidad, y calidad; otro ejemplo son las vacunas para bebés o niños (las cuales implican un riesgo mayor) por lo que la etapa clínica tiene que desarrollarse de tal manera que primero se vacune a adultos, luego a adolescentes, niños y finalmente bebés, de esta manera se busca prever complicaciones con antelación.

Pocas vacunas candidatas llegan realmente a realizar la transición entre el laboratorio y la etapa clínica, ya que en el proceso de transición muchas vacunas candidatas son eliminadas por no cumplir los criterios de inmunogenicidad (es decir, la capacidad de producir una respuesta inmune suficiente o adecuada), toxicidad, rentabilidad económica, aceptación de la población, existencia de un equilibrio entre el riesgo y el beneficio obtenido.

En la Figura 3 se muestra el proceso de desarrollo de una vacuna candidata una vez que ya se ha obtenido la formulación de dicha vacuna, la etapa clínica sucede en tres fases que progresan de manera secuencial, el objetivo central de la Fase I es evaluar la seguridad, reactogenicidad (es decir, la capacidad que tiene la vacuna de generar efectos adversos), primeros datos de respuesta inmune y a veces como objetivos secundarios también se empiezan a coleccionar datos para evaluar la dosis, modo de administración (en caso de tener varias opciones) y se va pensando en el número de refuerzos que necesitará la vacuna. En esta fase los estudios se realizan con pocas personas totalmente sanas para minimizar la probabilidad de que éstas puedan contraer alguna infección o reacción adversa importante, cabe mencionar que pueden existir múltiples replicas en la Fase I, si ocurre el caso serán denominadas como Fase Ia en donde se realizan cambios en la dosis, edad de administración o vía de administración, la Fase Ib donde se administra la vacuna a personas de diferentes geografía o poblaciones; sin embargo si la formulación de la vacuna requiere ser cambiada, toda la Fase I tendrá que repetirse. Los ensayos de

la Fase I suelen ser abiertos y no aleatorios, aunque en algunas ocasiones se realizan ensayos controlados aleatorios (ECA) en los que se asignan grupos de manera aleatoria para la asignación de un tratamiento, en donde un grupo fungirá como control ya que se le administrará un placebo u otra vacuna diferente de la vacuna objetivo; este tipo de ensayos puede ser simple (en el que solo el sujeto desconoce el tratamiento al que pertenece) o doble ciego (en donde tanto el médico como el sujeto de estudio desconocen el tratamiento de pertenencia).

Es altamente recomendable que la Fase I se realice cerca de zonas de hospitales para que personal médico pueda asistir en caso de necesitar atención terciaria, después de administrar la vacuna de prueba se realizarán estudios y monitoreo constantes para medir la tolerabilidad y reactogenicidad, dichos estudios también se realizan antes de la inmunización y consisten en pruebas de hematología, bioquímica, análisis de orina, entre otros; el correcto monitoreo es fundamental, después de todo el resultado más importante de esta fase es la seguridad de la vacuna. En el caso de que la vacuna de prueba use la tecnología de vacunas atenuadas o inactivadas debe existir un mayor grado de seguridad y monitoreo, ya que este tipo de plataformas pueden generar un estado más virulento del patógeno administrado, por lo que además de las exhaustivas investigaciones de salud, se deben controlar los contactos que las personas puedan tener durante el estudio, ya que personas vulnerables pueden llegar a ser contagiadas por contacto con el sujeto de estudio.

Después de lograr resultados satisfactorios en la Fase I, se realiza la Fase II donde se usa un tamaño de muestra mayor que en la Fase I, normalmente varían entre los cientos a miles de personas, por lo que los costos económicos también son mayores, los objetivos principales de esta fase son identificar la dosis óptima de la vacuna, duración de inmunidad, evaluación del impacto de variables (como la edad, origen étnico, género) en la respuesta inmune y proporcionar estudios estadísticos significativos sobre seguridad, inmunogenicidad y eficacia. Las personas que participen en los ensayos de Fase II se ubicarán en lugares multicéntricos para permitir datos estadísticos con mayor intervalo de confianza, también pueden tener edades y características más diversas que las personas de la Fase I, aquí entrarían las mujeres embarazadas (en el caso de formar parte de la población objetivo). Los ensayos de la Fase II son controlados y aleatorios, también se usa un placebo y además se realizan en lugares en donde las personas realmente tienen contacto con el patógeno de la vacuna, es decir, donde hay una alta incidencia de la enfermedad, de esta manera es conveniente tener la mayor cantidad de información posible sobre el patógeno, como las cepas, gravedad de la enfermedad que ocasiona, cuadro clínico, estacionalidad y demás factores; pese a recabar toda esta información aún no se pueden dar resultados sólidos de la eficacia de la vacuna,

concluyendo la Fase II apenas podrían darse pocos resultados sobre la eficacia, por lo que se le considera una “eficacia parcial”.

Cuando se requiere proporcionar más información sobre la eficacia en los ensayos de fase II a veces se realizan los llamados “estudios de desafío en humanos” o también conocidos como Fase IIa, consisten en experimentos donde los participantes son infectados deliberadamente con el patógeno para corroborar de una manera más rápida si la vacuna funciona, sin embargo antes de poder realizar estos ensayos deben ser aprobados y para esto se requiere una justificación científica y ética, además que la enfermedad causada por dicho patógeno debe ser no letal y con disponibilidad de tratamiento efectivo; en el pasado ya se han autorizado estudios de Fase IIa en vacunas candidatas para la malaria, fiebre tifoidea y el cólera. Estos estudios de desafío en humanos también pueden ser combinados con los estudios de Fase I y en ese caso se denominarán Fase I / IIa, una característica importante de este tipo de estudios en los que infectan deliberadamente a los sujetos de prueba, es que solo podrán ser llevados a cabo con un grupo pequeño de personas (tal como en la Fase I). De esta manera se puede concluir que en la Fase I y II se mide la respuesta inmune y aspectos básicos de seguridad, al finalizar dichas fases deberán saberse muchas características sobre los anticuerpos producidos, como la cantidad, clase, subclase y función.

Una vez finalizada la Fase I y II se realiza la Fase III, la cual está diseñada para evaluar eficacia (la cual se define como reducción de la incidencia de la enfermedad entre los vacunados) y desde luego seguridad, es importante destacar que la seguridad es un paso a vigilar durante todo el proceso en el desarrollo de una vacuna. En la Fase III se realizan ensayos clínicos a gran escala con miles de personas, las condiciones en las que se encuentran estos sujetos de prueba deben ser lo más parecidas a las de la población objetivo; es común que para obtener la eficacia de una vacuna deban hacerse estudios parecidos a los de las fases anteriores en donde se utiliza un grupo placebo y otro grupo al que sí se le realiza la intervención vacunal, esta asignación de grupo suele hacerse al azar. Una vez realizada con éxito la Fase III, donde los resultados finales demuestran eficacia y seguridad pueden iniciarse los trámites para obtenerse las licencias necesarias para comercializar la vacuna, finalmente en la Fase IV se hacen los estudios de vigilancia poscomercialización (PMS) en donde se continúa supervisando cómo impacta a nivel de eficacia y seguridad la vacuna en la población (Singh *et al.*, 2016).

Figura 3. Proceso de desarrollo de una vacuna para probar su eficacia y seguridad.

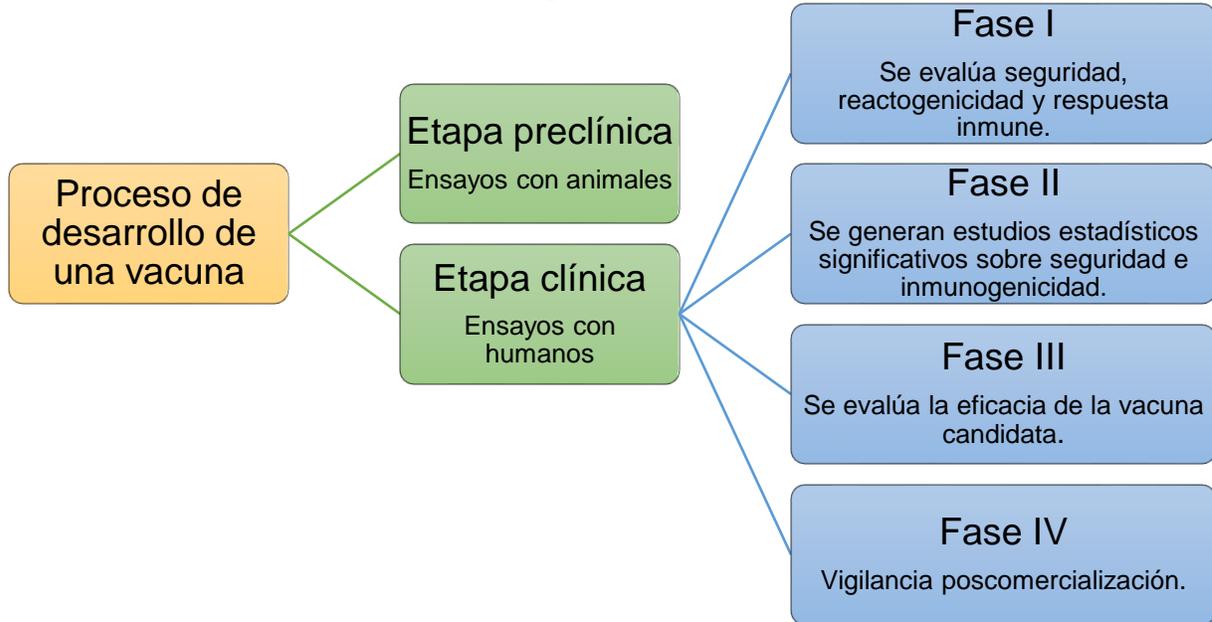


Figura 3. Elaborada a partir de la información obtenida en “The clinical development process for a novel preventive vaccine: An overview”

2.1 Proceso de aprobación para las vacunas

El proceso de desarrollo de vacunas está mediado todo el tiempo por procesos gubernamentales (incluso antes de la etapa clínica) y va aumentando el grado de regulación y supervisión conforme la vacuna va avanzando en su desarrollo, sin embargo, fue en el siglo XX cuando se empezaron a crear dichos procesos en los que el gobierno podía regular, aprobar y sancionar el desarrollo de cualquier vacuna o medicamento, esto sucedió primero en EE.UU. en donde en 1902 el Congreso aprobó una ley que regulaba la venta de virus, toxinas o cualquier producto biológico, surgió debido a casos de contaminación en las vacunas de la viruela y difteria; esta legislación creó el Hygienic Laboratory of the U.S. Public Health Service que en ese entonces ya se encargaba de emitir autorizaciones oficiales para el desarrollo de cualquier producto biológico y con el paso del tiempo se convirtió en el Center for Drug Evaluation and Research (CDER) el cual forma parte de una división de Food and Drug Administration (FDA). Europa posee sus propias instituciones gubernamentales para realizar la misma función en su territorio, como la European Medicines Agency (EMA) cuya función principal es la promoción de la salud humana y animal, dentro de la EMA existe el Committee for Medicinal Products for Human Use, que es el organismo particular encargado de supervisar

las vacunas humanas y cuando una vacuna logra obtener la licencia por medio de este organismo administrativo, podrá distribuir y comercializar su vacuna a todos los países que conforman la Unión Europea.

Aunque cada país tiene sus propias instituciones para la promoción de la salud y regulación de productos biológicos (entre ellos las vacunas), la FDA y la EMA, constituyen los organismos con más reconocimiento a nivel internacional y en la actualidad se busca su armonización para poder realizar procedimientos de licencia y regulación que tengan validez en EE.UU. y la Unión Europea, las dificultades de la armonización son la falta de procedimientos reguladores estandarizados, la obtención de licencias válidas, las constantes inspecciones entre países y la coordinación entre las agencias reguladores mundiales, pese a esto el organismo FDA-EMA es una realidad que ayudará a la producción de vacunas seguras y efectivas de una manera más rápida. Mientras que ocurre la armonización FDA-EMA, en la actualidad un comité especializado de la Organización Mundial de la Salud se ha encargado de emitir lineamientos y recomendaciones para el desarrollo de productos biológicos (incluyendo las vacunas) que son usados y adoptados por muchos países (Gómez *et al.*, 2018; The College of Physicians of Philadelphia, 2018).

3. Características del SARS-CoV-2 y otros coronavirus.

A finales de diciembre del 2019 se notificó la existencia de una misteriosa neumonía de etiología desconocida (caracterizada por fiebre, tos seca, fátiga y ocasionales síntomas gastrointestinales) en un mercado húmedo mayorista de mariscos en Wuhan China, para posteriormente presentarse un gran brote en otras ciudades de China y el cual se expandió rápidamente a nivel mundial, convirtiéndose en una pandemia. El 11 de febrero del 2020 la OMS nombró oficialmente a esta enfermedad como Coronavirus Disease-2019 (COVID-19), hasta ahora se tienen registrados 19 718 030 casos confirmados de COVID-19 y 728 013 muertes (datos actualizados al 10 de Agosto del 2020) (Organización Mundial de la Salud, 2020b; Wu *et al.*, 2020).

El agente causal de esta neumonía fue identificado pronto como un betacoronavirus, del cual no se había tenido registro anteriormente pero con una secuencia genómica altamente relacionada con el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) identificado en el 2003, por lo que fue nombrado como SARS-CoV-2 aunque inicialmente era llamado 2019-nCoV, este nuevo coronavirus es un virus de ARN de sentido positivo monocatenario grande, que pertenece a la familia *Coronaviridae*, nombrado de esa manera debido a las glucoproteínas de la superficie del virus que tienen forma de corona observada bajo el microscopio

electrónico, subfamilia *Orthocoronavirinae* y al género *Betacoronavirus*, esta misma subfamilia posee los géneros *Alphacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*, sin embargo los alfacoronavirus y los betacoronavirus infectan exclusivamente a mamíferos, mientras que los gammacoronavirus y los deltacoronavirus suelen infectar aves y muy rara vez a algunos mamíferos.

El primer coronavirus humano se identificó a mediados de la década de 1960 en cultivos de órganos traqueales embrionarios humanos, actualmente se tiene el conocimiento de la existencia de 7 coronavirus que afectan a humanos de los cuales 2 alfacoronavirus (229E y NL63) y 2 betacoronavirus (OC43 y HKU1) son los causantes de resfriado común (llegando incluso a ser entre el 15 y 30% de estos resfriados), los cuales no presentan dificultades en adultos jóvenes pero con capacidad de conducir a hospitalización en pacientes de edad avanzada con enfermedad cardíaca o pulmonar subyacente, pese a esto el porcentaje de pacientes hospitalizados por estos coronavirus es muy pequeño; otros betacoronavirus se han mostrado más patógenos ya que han causado infecciones respiratorias letales en humanos, éstos son el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV), el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) y ahora el SARS-CoV-2. Este nuevo coronavirus identificado en el 2019 comparte una similitud genética con el SARS-CoV en un 82% y 50% con el MERS-CoV (Amanat *et al.*, 2020; Madjid *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020).

El SARS-CoV-2 se originó en murciélagos pero se amplificó en un huésped intermedio llamado pangolín, debido a su origen animal se le conoce como un virus zoonótico. La estructura de este nuevo coronavirus se compone de cuatro tipos de proteínas identificables en una persona infectada:

- Glucoproteína espiga (S)
- Proteína de envoltura (E)
- Proteína de membrana (M)
- Nucleoproteína (N)

La proteína espiga (también llamada proteína S), desempeña un papel fundamental a la invasión al huésped (gracias a su dominio de unión –RBD–) ya que tiene la capacidad de mediar la unión del virus a los receptores de la superficie celular. El receptor celular por el cual el SARS-CoV-2 puede ingresar al huésped mediante el tracto respiratorio o superficies mucosas es la enzima convertidora de angiotensina humana 2 (ACE2), la cual se expresa en las células epiteliales del sistema de vías respiratorias y algunos órganos humanos como los pulmones; este mismo receptor también es usado por SARS-CoV para el reconocimiento celular, sin embargo

estudios indican que la glucoproteína S se une al menos 10 veces más fuerte al receptor ACE2 en el SARS-CoV-2 que con SARS-CoV (Wu *et al.*, 2020; Wrapp *et al.*, 2020; Yong *et al.*, 2020).

Otra característica importante de la proteína espiga (S) densamente glucosilada es que corresponde a una proteína de fusión trimérica de clase I, la cual posee una conformación de prefusión metaestable que al unirse al receptor ACE2 sufre un reordenamiento estructural (el cual le permite fusionar la superficie del virus con la membrana de la célula huésped), en el momento en que ocurre esta unión el receptor ACE2 desestabiliza el trímero de prefusión, lo cual da lugar a un desprendimiento del subdominio S1 (en donde se encuentra contenido el dominio de unión RBD) y el subdominio S2 realiza una transición, generando una conformación de posfusión más estable, es decir el dominio de unión al receptor (RBD) de S1 logra unirse al receptor celular ACE2 cuando se llevan a cabo un cambio conformacional tipo bisagra, en donde la conformación de “abajo” corresponde a un estado donde la fusión entre el virus y el ACE2 es inaccesible y la conformación “arriba” cuando la fusión es favorecida (Wrapp *et al.*, 2020).

De esta manera los estudios de interacción de proteínas han permitido afirmar que la proteína S posee una conformación y energía libre de unión favorables para la unión con el receptor humano ACE2, adicionalmente estos estudios han observado las diferencias conformacionales entre la estructura del SARS-CoV-2 y SARS-CoV y se ha registrado que una de las grandes diferencias que tienen es la posición del dominio de unión al receptor (RBD) en sus conformaciones descendentes, la cual pudiese influir en que el SARS-CoV-2 fuese más contagioso. Sin duda la investigación de la estructura a nivel atómico de la superficie del pico trimérico del SARS-CoV-2 seguirá siendo importante para guiar el diseño y desarrollo de terapias antivirales y vacunas, además de evaluar las mutaciones de la superficie del virus que se irán produciendo a medida que éste sufra deriva genética; adicionalmente la proteína S es el objetivo principal para la neutralización mediada por anticuerpos. Áreas como la ingeniería de proteínas permitirán mejorar la antigenicidad o la expresión de proteínas con un impacto significativo en la infectividad del virus, patogenicidad, transmisibilidad, protección cruzada con otros coronavirus o inhibición de la fusión entre el virus y el receptor (Wrapp *et al.*, 2020; Yong *et al.*, 2020).

Un ejemplo de lo que se ha logrado con el estudio molecular e inmunológico del SARS-CoV-2 fueron las pruebas de detección del virus, las cuales pueden ser:

- **Pruebas moleculares:** como la prueba de amplificación de ácido nucleico (NAAT) o reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en

tiempo real (rRT-PCR); ambas pruebas se dirigen (como su nombre lo indican) a la identificación molecular del virus, incluyendo genes de ARN-polimerasa (RdRP) o las proteínas N, E o S.

- **Pruebas serológicas:** Dirigidas a los anticuerpos como inmunoglobulina M (IgM) y la inmunoglobulina G (IgG), presentes después de una infección viral (Yong *et al*, 2020).

3.1 Manifestaciones clínicas de la enfermedad COVID-19.

El COVID-19 es una enfermedad zoonótica con una tasa de mortalidad y una patología de baja a moderada, la mortalidad se estimada entre 2% a 5% y solo el 20% de los casos llegan a ser graves, la transmisión puede ocurrir de persona a persona a través de gotas de saliva, aerosoles, contacto directo y posiblemente también mediante una ruta fecal-oral ya que se ha detectado ARN de SARS-CoV-2 en materia fecal de pacientes infectados, el virus SARS-CoV-2 tiene un período de incubación medio de 5.2 días (aunque el periodo de incubación puede extenderse hasta 14 días) y el número reproductivo de la infección (R_0), es de 2 a 3 personas es decir, un individuo puede generar en promedio de 2 a 3 contagios más, (solo para propósitos de comparación el R_0 de la influenza estacional es en promedio de 1.3). Los síntomas generalmente comienzan con fiebre, tos seca y fatiga pero conforme ocurre la manifestación de la enfermedad pueden darse más síntomas al estar involucrados los siguientes sistemas:

- **Sistema respiratorio:** tos, falta de aliento, dolor de garganta, rinorrea (congestión nasal), hemoptisis (tos con sangre) y dolor en el pecho.
- **Sistema gastrointestinal:** diarrea, náuseas y vómitos.
- **Sistema musculoesquelético:** dolor muscular.
- **Sistema neurológico:** dolor de cabeza o confusión.

Pese a esto, la sintomatología más común es fiebre (83 a 98%), tos (76 a 82%) y falta de aliento (31 a 55%). Una vez identificados los síntomas de COVID-19, se ha observado que la carga viral puede encontrarse hasta por 12 días después del inicio de los síntomas, por lo que los pacientes deben permanecer aislados por 15 días y posteriormente debe hacerse una validación para saber si las partículas virales infecciosas aún son detectables (Amanat *et al.*, 2020; Madjid *et al.*, 2020; Wu *et al*; 2020).

Esta enfermedad infecciosa también es asociada con una alta carga inflamatoria (inflamación vascular, miocarditis –que es la inflamación de la capa media de la pared del corazón- y arritmias cardíacas), también se sabe que el SARS-CoV-2 (y los coronavirus en general) afectan el sistema cardiovascular, debido a que las neumonías virales pueden causar manifestaciones o complicaciones extrapulmonares y es que una gran proporción de pacientes que han sido infectados en específico por SARS-CoV-2 tiene enfermedades cardiovasculares subyacentes o afectaciones de riesgo cardíaco (lo cual puede aumentar la incidencia y la gravedad de las enfermedades infecciosas como el COVID-19).

La tasa de letalidad está relacionada con factores como la edad avanzada, el sexo masculino y la presencia de comorbilidades (como hipertensión, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares o enfermedades cerebrovasculares); también los niveles elevados de troponina de alta sensibilidad (la cual se mide para detectar la formación de coágulos en las arterias del corazón) y el síndrome de dificultad respiratoria aguda se han observado en casos severos y están fuertemente asociadas con la mortalidad. Aunque la tasa de mortalidad global promedio es de 3.4%, ésta varía según la ubicación, intensidad de la transmisión, variaciones de la atención médica y los casos asintomáticos no diagnosticados; por ejemplo, una de las tasas más altas de mortalidad son las de Italia (8%) y se deben probablemente al gran porcentaje de personas de edad avanzada, mientras que las tasas de mortalidad bajas en Corea del Sur (0.6%) se deben a la cantidad de pruebas generalizadas en toda su población, las cuales aumentaron el denominador correspondiente a los casos asintomáticos portadores de COVID-19 (Amanat et al., 2020; Madjid et al., 2020).

Se ha sugerido que la razón por la que las personas jóvenes y niños no presentan un COVID-19 severo es porque han tenido un contacto más reciente con algunas vacunas que se aplican en los primeros años de vida, lo cual estimula al sistema inmunológico generando una inmunidad que aunque no es específica para los coronavirus podría ayudar a que el sistema inmune se encuentre mejor preparado. Esta hipótesis no es nueva ya que se han realizado observaciones epidemiológicas e inmunológicas que respaldan esta teoría, consisten en registros de las tasas de mortalidad antes y después de periodos de vacunación mientras se desarrollan pandemias como la de la gripe española o gripe asiática. Y es que se ha visto que ciertas vacunas al activar a las células T CD4⁺ (las cuales forman parte del sistema inmunológico) ayudan al organismo a recordar antígenos contra algunos patógenos (incluidos los coronavirus); es decir, estas vacunas además de generar inmunidad específica contra los patógenos de los que están hechas también tienen la capacidad de generar inmunidad contra otros, de esta manera podrían ayudar a combatir la infección COVID-19 mientras se desarrolla una inmunidad específica del

coronavirus, además de hacer que la inmunidad producida sea más rápida y duradera. Sin embargo esta hipótesis también considera la existencia de otros factores que contribuyen a la gravedad de COVID-19, como la senescencia del sistema inmune (donde después de los 50 años la inmunidad se vuelve más lenta y tarda más en recuperarse o reactivarse) (Letto, 2020).

3.2 Origen del SARS-CoV-2

British Broadcasting Corporation es una de las cadenas de comunicación más influyentes del mundo y ha reconocido que una de las hipótesis o mitos más escuchados sobre el SARS-Cov-2 es que éste tiene un origen artificial, ya que se piensa que fue creado en un laboratorio chino y fue lanzado al resto del mundo como un arma de destrucción biológica o que de alguna manera logró escapar cuando se experimentaba con éste (debido a actos de negligencia por parte de los científicos); quienes defienden estas teorías argumentan que no sería la primera vez que un suceso así ocurre en el mundo y señalan al Instituto de Virología de Wuhan como el responsable, sin embargo son numerosas las aportaciones científicas que han explicado que el virus es producto de un acontecimiento natural y no de una intervención de diseño por parte de científicos (Millán, 2020).

La información que esclarece el origen del SARS-CoV-2 ha sido resultado de investigaciones de análisis genómicos que muestran que los tres betacoronavirus patógenos en humanos (MERS-CoV, SARS-CoV y SARS-CoV-2) son resultado de recombinaciones entre diversos coronavirus que involucran al gen S (responsable de codificar la glicoproteína S de la superficie del virus) lo cual hizo factible la unión al receptor humano ACE2, los procesos de recombinación extensa entre coronavirus facilitan que éstos puedan saltar fácilmente entre especies y logren adaptarse a nuevos hospedadores, incluso se han encontrado más coronavirus de murciélago con la capacidad de unirse al receptor humano ACE2 y llevar a cabo la replicación en células humanas.

En el caso específico del SARS-CoV-2 los estudios de recombinación han mostrado que el virus existe gracias a (al menos) 3 coronavirus de murciélago pero aunque su origen se encuentre en el murciélago es posible que haya obtenido su motivo de unión al receptor (RBM, responsable de la unión a receptores humanos) gracias a la recombinación de coronavirus que infectan también al pangolín, esto se sabe gracias a los puntos de ruptura de recombinación encontrados antes y después de RBM en el virus; no obstante se ha observado que los coronavirus muestreados provenientes del pangolín se consideran suficientemente divergentes al SARS-CoV-2 como para pensar que son sus progenitores desde hace tiempo (recombinaciones

ancestrales) y también existe la posibilidad de que haya otros animales huéspedes de este coronavirus de los cuales no se sabrá nada más si no tuvieron infecciones generalizadas. Las condiciones sanitarias de un mercado húmedo son un ambiente ideal para la transmisión de infecciones contagiosas debido a la proximidad de los animales, aunque aún se busque el animal que sirvió como reservorio directo del SARS-CoV-2, es evidente que reducir o eliminar el contacto humano con animales o sus ambientes naturales es la mejor manera de prevenir otros eventos zoonóticos y nunca estará de más la vigilancia continua de virus emergentes en sus huéspedes naturales que den la suficiente información sobre la salud animal para detener rápidamente cualquier potencial brote infeccioso (Li *et al.*, 2020a).

4. Aspectos inmunológicos del SARS-CoV-2.

Cuando se habla de ponerle fin a la pandemia debe saberse que ésta acabará cuando exista una inmunidad de rebaño, es decir cuando al menos un 60 ó 70% de la población mundial sea inmune a la enfermedad y para esto existen dos caminos posibles, uno es con el despliegue generalizado de alguna vacuna que resulte eficaz y el otro escenario es desarrollar inmunidad por repetidas oleadas de la pandemia, sin duda el camino de una vacuna segura y eficaz es la opción que se desea. La obtención de una vacuna en meses o poco más de un año no tendrá precedentes, sin embargo para que ésta sea considerada realmente eficaz tendrá que considerar la respuesta del sistema inmunológico; por lo que es éste capítulo se abordarán los aspectos más importantes de la respuesta inmune ante un virus como el SARS-CoV-2 y más adelante también se mencionará toda la información inmunológica que se tiene sobre este virus que fue obtenida de la experiencia con otros coronavirus (Graham, 2020).

4.1 Funcionamiento del sistema inmune

El sistema inmunológico tiene como función la defensa del organismo contra patógenos y para su estudio se divide en 2 partes, sistema innato o sistema adquirido dependiendo de la inmunidad que produce, sin embargo esta clasificación es solo para facilitar su estudio, ya que en realidad ambos sistemas actúan de manera integrada, a continuación se explican las características de cada sistema y la inmunidad que producen haciendo especial énfasis en el sistema inmune adquirido, ya que éste se encargará de brindar protección a largo plazo contra el SARS-CoV-2 y es sobre el cual se trabaja en los proyectos de vacunación (Toche, 2020).

Sistema inmune innato (SII).

Este sistema inmune es el más antiguo y da una respuesta inmune temprana e inespecífica contra microorganismos, por lo que es la primera línea de defensa a la que se enfrenta un patógeno, se nombra innato porque los mecanismos que tiene para actuar de manera pronta ya existen en el organismo, tiene la capacidad de reconocer estructuras comunes de patógenos por lo que no llega a ser tan específico. Los mecanismos que tiene para la defensa contra patógeno son diversos e incluyen:

- **Barreras físicas y químicas:** Como las mucosas o enzimas.
- **Células fagocíticas:** Como los macrófagos o neutrófilos, encargados de fagocitar patógenos o sustancias invasoras.
- **Células NK:** Natural Killer que como su nombre lo indican matan a células infectadas.
- **Citoquinas:** También llamadas citocinas, son proteínas encargadas de regular la función celular.
- **Sistema del complemento:** Elimina patógenos en circulación.
- **Receptores de tipo Toll:** Proteínas que al reconocer patrones moleculares de agentes infecciosos estimulan respuestas inflamatorias (Toche, 2020).

Sistema inmune adquirido (SIA)

También es llamado sistema inmune adaptativo o específico debido a que proporciona una respuesta específica para cada patógeno, por lo que mejora la capacidad de defensa del organismo además de generar respuesta para una gran variedad de patógenos con características particulares, también tiene la capacidad de producir memoria frente a estos patógenos. Sus principales elementos son los linfocitos B y T, los cuales son activados en la presencia de antígenos usando células presentadoras de antígeno (APC, capaces de captar, reconocer y presentar dichas moléculas antigénicas). La capacidad de este sistema por realizar una respuesta inmune con memoria, le permite reconocer rápidamente a un patógeno con el que ya ha estado en contacto, también es capaz de reconocer minuciosamente a cada patógeno debido a la especificidad de receptores de antígenos que tienen los linfocitos, existen 3 tipos de estos receptores: las moléculas de histocompatibilidad (HLA), receptores de linfocitos T (TCR) y receptores de linfocitos B (BCR). El sistema inmune adquirido se divide según el

tipo de inmunidad que presenta, humoral o celular y las características de cada una son las siguientes:

- **Inmunidad humoral:** Esta inmunidad es el mecanismo de defensa central contra microorganismos extracelulares como las bacterias, en este tipo de inmunidad los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) provenientes de los linfocitos B serán los protagonistas. Estos anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) son polipéptidos constituidos por 4 cadenas (2 pesadas y 2 livianas), una región constante (Fc) la cual determinará la clase de inmunoglobina (pudiendo ser IgG, IgA, IgM, IgD o IgE) y sus funciones biológicas, finalmente posee una región variable (Fab) que le permitirá unión al antígeno, esto se puede apreciar en la Figura 4, en la cual se muestra como ejemplo a la estructura del anticuerpo IgG.

Figura 4. Estructura de la inmunoglobulina IgG.

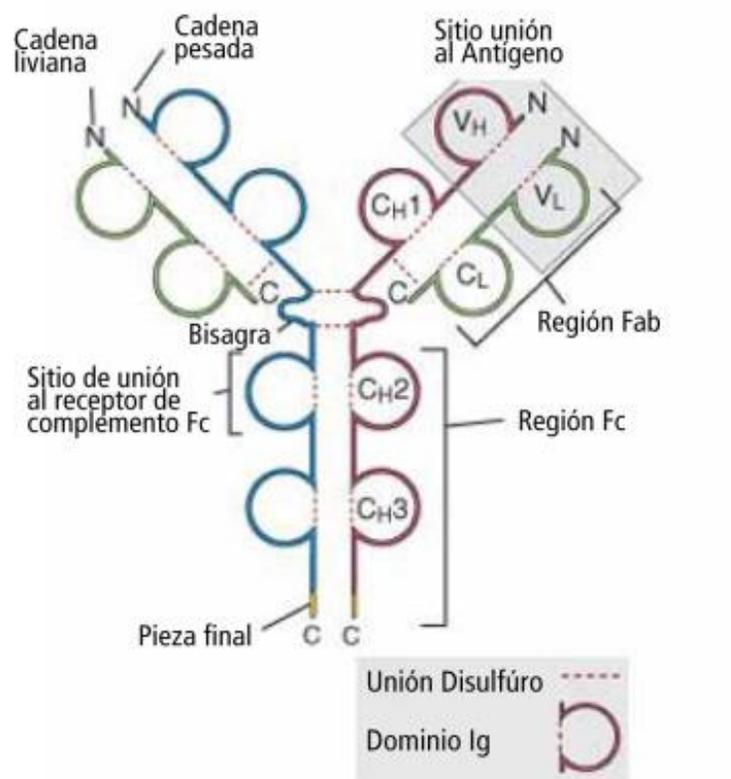


Figura 4. Recuperada de “Visión panorámica del sistema inmune”

Para que los linfocitos B puedan ser capaces de estimular la producción de anticuerpos primero deben de reconocer un antígeno gracias a su receptor (BCR), entonces los linfocitos B recurren a una célula presentadora de antígeno (APC) para presentar dicho antígeno a las

células T, estas últimas secretarán las citoquinas, que junto con moléculas co-estimuladoras como CD40 inducen un isotipo en el linfocito B para finalmente generar un anticuerpo específico contra el patógeno; es así como los anticuerpos tienen la capacidad de reconocer y neutralizar patógenos gracias a su región variable para posteriormente activar diversos mecanismos para su eliminación.

- **Inmunidad celular:** Es la principal defensa contra patógenos intracelulares como los virus, es mediada por los linfocitos T, los cuales promueven la fagocitosis o eliminación de células infectadas. Cuando un antígeno entra al organismo, son las células presentadoras de antígeno (APC) las encargadas de ingerirlos y transformarlos en péptidos que se expresarán en la membrana de APC, las células T son activadas al encontrarse con APC debido a que son capaces de reconocer el péptido en la membrana de APC gracias a sus receptores TCR, este reconocimiento ocasiona la proliferación y diferenciación de los linfocitos T, generando subpoblaciones de linfocitos T en las que destacan:

Linfocitos T CD4⁺. También llamados T helper, producen citoquinas que activan a macrófagos para producir fagocitosis del intruso y ayudan en la diferenciación de linfocitos B (para la secreción de anticuerpos específicos). Los linfocitos T CD4⁺ poseen una clasificación en los subconjuntos:

- Subconjunto TH1: T CD4⁺ se diferencia hacia TH1 en presencia de una citocina proinflamatoria llamada interleucina 12 (IL12) y se amplifica por interferón gamma (INF γ); a su vez los linfocitos TH1 secretan INF γ , factor de necrosis tumoral e interleucina-2 (IL2). El INF γ activa a macrófagos e incrementa la secreción de IL12, la fagocitosis, la eliminación de microorganismos y estimula la secreción de inmunoglobulina G (IgG) por parte de los linfocitos B.
- Subconjunto TH2: T CD4⁺ se diferencia hacia TH2 en presencia de una citocina antiinflamatoria llamada interleucina 4 (IL 4) y los linfocitos TH2 secretan IL4, interleucina-5 (IL5) e interleucina-13 (IL13), esta última estimula la producción de anticuerpos de tipo IgE en las células B, este tipo de anticuerpos son los responsables de mediar reacciones alérgicas y también trabajan como antihelmínticos.
- Subconjunto TH17: Son el subconjunto descrito más recientemente, se generan por el estímulo de la interleucina-23 (IL23) e interleucina-

17 (IL17), las cuales tienen efectos proinflamatorios y de activación de neutrófilos.

Linfocitos T CD8⁺. También llamados linfocitos T citotóxicos, son activados por T CD4⁺ también y su función es eliminar células infectadas.

En la Figura 5 se puede observar una representación gráfica con las características de la inmunidad del sistema humoral y celular descritas anteriormente (Toche, 2012).

Figura 5. Representación del sistema inmune adquirido.

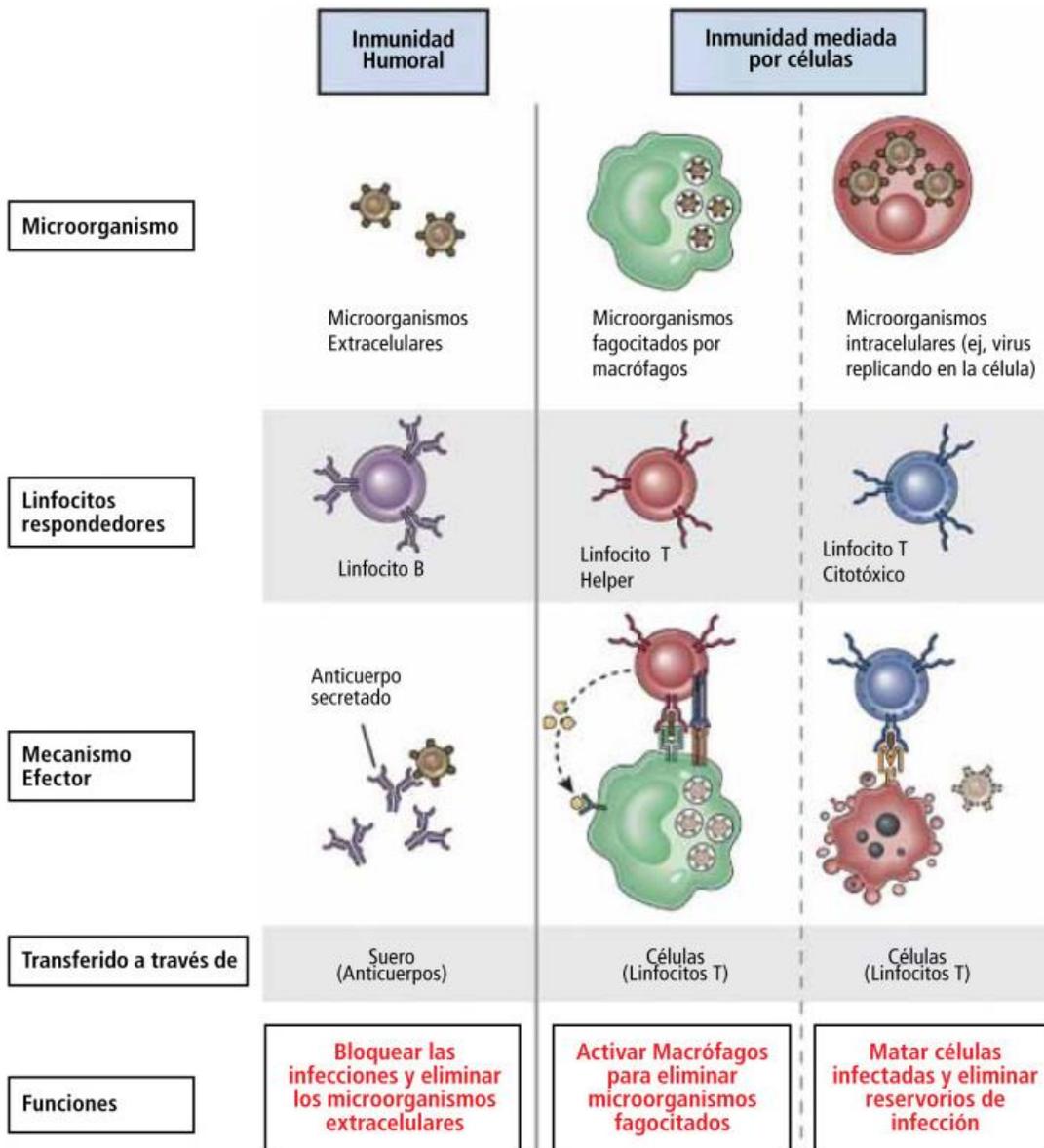


Figura 5. Recuperado de “Visión panorámica del sistema inmune.”

4.2 Correlato de protección del SARS-CoV-2.

Un correlato de protección es un conjunto de todas las respuestas inmunológicas necesarias para que el organismo pueda generar inmunidad contra un patógeno específico, es importante conocer el correlato de protección contra el SARS-CoV-2 para asegurar que las vacunas candidatas realmente proporcionen la inmunidad deseada. Anteriormente se ha mencionado que para que una vacuna funcione se debe exponer al sistema inmune con el virus completo o partes específicas de éste (como la proteína de pico del coronavirus), con la intención de proporcionar herramientas al sistema inmune para un futuro contacto con un coronavirus en estado salvaje pero la manera de analizar la inmunidad producida por las vacunas candidatas consiste en el análisis de los dos tipos de respuesta inmune: la medición de anticuerpos neutralizantes (los cuales tienen la capacidad de reconocer y neutralizar las partículas virales) y la inducción de células T (las cuales se encargan de matar a células infectadas y promueven otro tipo de respuestas inmunes). A continuación se muestra en la Figura 6 el proceso donde el SARS-CoV-2 al lograr entrar a la célula activa con su antígeno a la célula presentadora de antígeno, lo cual dará inicio a los mecanismos de defensa (producción de células B y T) que actuarán contra el virus (Callaway, 2020b).

Sin embargo pese a que los anticuerpos neutralizantes y las células T se consideren los dos brazos armados del sistema inmunológico para combatir a este nuevo coronavirus, la mayoría de los estudios clínicos realizados hasta ahora se han enfocado principalmente en la producción de anticuerpos neutralizantes generados por sus vacunas, en donde se ha observado que en muchas ocasiones (y como se verá en los siguientes capítulos) muchos voluntarios presentan estos anticuerpos después de la vacunación (al igual que lo haría un paciente recuperado después de una infección por COVID-19). La razón por la que las células T han recibido menos atención se debe a que son más difíciles de medir, sin embargo ahora se sabe que éstas poseen un papel importante en el control de la infección en este coronavirus, lo cual no resulta sorprendente ya que se ha visto desde años atrás que vacunas que impulsan la producción de las células T tienen propiedades antivirales. Los estudios que confirman esto para el SARS-CoV-2 consisten en pruebas en pacientes con COVID-19 leve (los cuales respondieron favorablemente a la infección) en donde en el 100% de los casos se detecta la presencia de células T CD4⁺ y en el 70% de los pacientes se detectaron células T CD8⁺ (Graham, 2020; Callaway, 2020b; Grifoni *et al.*, 2020).

Figura 6. Respuesta del sistema inmune adaptativo cuando SARS-CoV-2 entra al organismo.

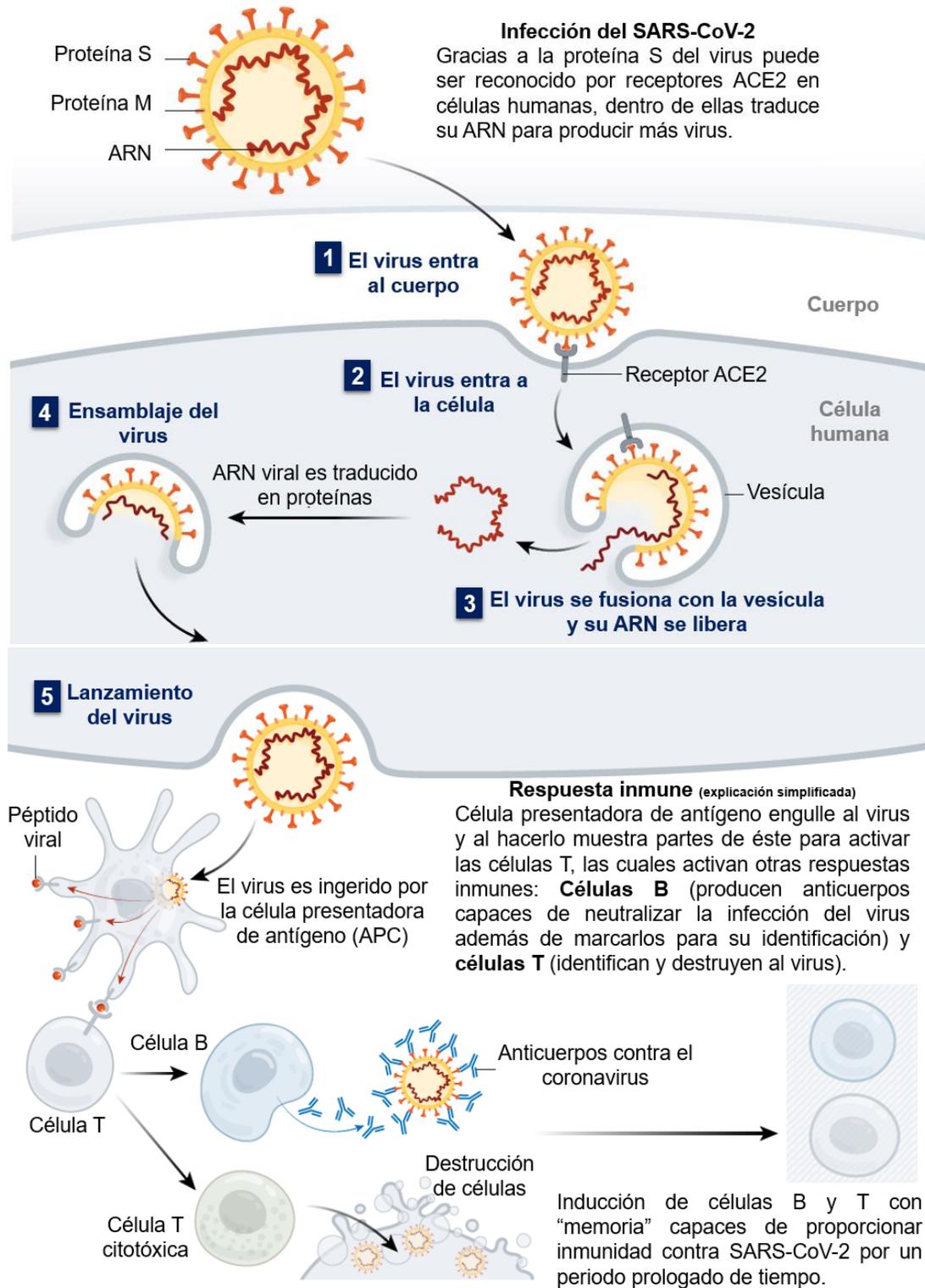


Figura 6. Traducido de "The race for coronavirus vaccines: a graphical guide".

Además las células T CD4⁺ favorecen la producción de anticuerpos y se han correlacionado directamente con la magnitud de los anticuerpos IgG e IgA (en donde IgG tienen una relación directa con la actividad neutralizante del coronavirus de una manera más fuerte y duradera en comparación con otros anticuerpos útiles en la lucha contra el SARS-CoV-2). Otro dato interesante es que se realizaron estudios para identificar las células T CD4⁺ en pacientes ya recuperados de COVID-19 y se encontró que el 50% de estas células estaba dirigida contra la proteína S y el otro 50% se dirigía contra el resto del virus; esta es una noticia favorable, ya que la mayoría de las vacunas consideraron que la proteína S era fundamental para el desarrollo de sus vacunas (Grifoni *et al.*, 2020; Pollán *et al.*, 2020).

También se han detectado células T CD4⁺ con capacidad de reaccionar ante el SARS-CoV-2 en personas que aún no han estado expuestas a este coronavirus (ya que sus muestras fueron tomadas entre 2015 y 2018), esta noticia ha causado una grata sorpresa ya que sugiere que probablemente las personas con este tipo de células tendrán más herramientas inmunológicas ante el inminente contacto con el virus, además se calcula que las personas con este tipo de células T pudieran llegar a ser de 40 a 60% de la población que aún no ha tenido contacto con el virus. La presencia de este tipo de linfocitos T específicos para el SARS-CoV-2 indica que existe una reactividad cruzada ante otros coronavirus con los que hemos estado en contacto (pudiendo ser incluso los coronavirus que ocasionan el resfriado común), así lo confirma el hecho de que en las pruebas para identificar anticuerpos también se encontraron IgG seropositivos (es decir, con la presencia de anticuerpos) a los coronavirus HCoV-OC43 y HCoV-NL63; sin embargo aún falta información para tener una comprensión más profunda sobre las células T y su grado de protección contra SARS-CoV-2. Por ahora se sabe que esta inmunidad cruzada podría llegar a ser importante, por ejemplo en la pandemia de influenza (H1N1) del 2009 se detectó la existencia inmunidad en células T preexistente contra proteínas virales de la influenza (dada por otros virus también de influenza) y se correlacionó la presencia de estas células T (normalmente en adultos) con una influenza de menor gravedad; desde luego esto mismo se desea para el SARS-CoV-2 (Grifoni *et al.*, 2020).

Por otro lado se han realizado estudios cualitativos que sugieren que la mejor selección de antígeno para una vacuna candidata de COVID-19, es aquella donde el antígeno sea capaz de producir anticuerpos neutralizantes contra el dominio de unión al receptor (RBD), ya que éste ha demostrado la inducción de un número mayor de anticuerpos con una afinidad de hasta 5 veces mayor si se le compara con otros antígenos también de la proteína S del virus; dichos estudios se realizaron con varios antígenos de la proteína de pico de SARS-CoV-2 en conejos midiendo la

calidad y función de éstos mediante ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas –ELISA– (Ravichandran *et al.*, 2020).

Toda esta información inmunológica obtenida indica que si una vacuna candidata es capaz de inducir la producción de células T (específicamente linfocitos T CD4⁺, T CD8⁺) y anticuerpos neutralizantes (específicos al RBD del SARS-CoV-2) probablemente tendrá mayor capacidad de protección ante el virus a largo plazo; sin embargo aún falta tiempo para que los ensayos en Fase III puedan describir con exactitud los resultados de eficacia y se pueda tener una información más completa al respecto de este correlato de protección, pero por ahora se considera que una respuesta temprana de los linfocitos T CD4⁺ y T CD8⁺ contra el SARS-CoV-2 constituye una de las mejores maneras de combatir al virus, sin embargo generar esta respuesta rápidamente no es sencillo para este coronavirus (Callaway, 2020b; Grifoni *et al.*, 2020).

Por el énfasis que los desarrolladores de vacunas están haciendo a los anticuerpos neutralizantes por encima de las células T, se esperaría que los anticuerpos tuvieran una importancia fundamental en la respuesta inmune (incluso por encima de las células T), sin embargo se han reportado pacientes recuperados de COVID-19 con resultados serológicos discrepantes, ya que en lugar de obtener resultados que confirmaran la presencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2, se mostraron seronegativos (es decir, no obtuvieron anticuerpos detectables) pero sí células T específicas contra SARS-CoV-2 detectables hasta los 80 días después de la infección; estos resultados podrían indicar que el sistema inmune (ante la exposición al virus) puede combatir la infección con células T sin necesidad de seroconversión. Esta situación podría conducir a una subestimación de la exposición al virus si solo se consideran los anticuerpos neutralizantes en los estudios clínicos, pero pese a esta posibilidad donde los anticuerpos neutralizantes no fuesen necesarios para la protección del sistema inmune se han hecho estudios seroepidemiológicos (los cuales cuantifican la proporción de personas con anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en una población específica) y han arrojado que la mayoría de personas en los casos confirmados por COVID-19 poseen anticuerpos específicos para la infección, lo cual podría indicar que aunque exista una protección con las células T sin necesidad de seroconversión, el porcentaje de personas que produce anticuerpos para combatir la infección es la mayoría; en el caso de España un estudio con 102 562 personas apunta a que de los casos confirmados por COVID-19 el 99% presentó anticuerpos, sin embargo habrá que prestar atención a la población que pudiera ser seronegativa, ya que aunque represente el 1% podría llegar a ser una cifra de personas significativas ante el panorama de vacunar a millones de personas. Por otra parte se considera que si bien la mayoría de las infecciones agudas dan como resultado el desarrollo de inmunidad protectora a largo plazo, los

casos en donde no se produjo esta inmunidad a largo plazo probablemente existan porque los anticuerpos fueron insuficientes en cantidad o durabilidad y aún se desconoce si las personas recuperadas de COVID-19 seronegativas tengan la posibilidad de reinfección a corto plazo (Gallais *et al.*, 2020; Grifoni *et al.*, 2020; Pollán *et al.*, 2020).

Además de los resultados de eficacia de la vacunación a gran escala, otros datos que pueden favorecer la creación de los correlatos de protección son el uso de adyuvantes de las vacunas (ya que además de influir en la magnitud y la durabilidad de la respuesta inmune mediada por anticuerpos, también pueden modular la respuesta inmune mediante la inducción de respuestas en células T) y la comparación de las vacunas, la cual no siempre es un trabajo sencillo, ya que las vacunas pueden arrojar resultados muy diferentes dependiendo de su formulación, lugar de elaboración, etc (Graham, 2020; Callaway, 2020b).

Hay elementos inmunológicos que empiezan a aclararse con respecto a este nuevo coronavirus, sin embargo aún hay lagunas de conocimiento que tendrán que llenarse; por ejemplo, aún se desconoce con exactitud qué proteínas del coronavirus son reconocidas por las respuestas inmunitarias de las células T. Sin duda el paso del tiempo y las investigaciones que se hagan en un futuro ayudarán a mejorar el correlato de protección contra el SARS-CoV-2 en cual beneficiará en gran medida el desarrollo y la evaluación de vacunas contra COVID-19, la cual se necesita con urgencia para ser producida en masa y desplegada a nivel mundial (Grifoni *et al.*, 2020; Ravichandran *et al.*, 2020).

5. Seguridad de la vacuna contra el SARS-CoV-2, aspectos a considerar.

La seguridad es un tema fundamental al hablar de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2, desde luego una vacuna que no sea segura podrá tener implicaciones graves en las personas saludables que la reciban, llegando incluso a adquirir una infección COVID-19 más agresiva; esto no es nuevo y existe una preocupación por parte de la comunidad científica al respecto, ya que estudios en gatos reflejan que las vacunas de virus inactivados contra el coronavirus felino que provoca peritonitis infecciosa felina (FIPV) pueden inducir infecciones de mayor gravedad. Aunque esta enfermedad causada por un coronavirus felino tiene características patogénicas distintas al SARS-CoV-2 en humanos la ineffectividad de los anticuerpos producidos por las vacunas en desarrollo para el coronavirus humano es un aspecto que siempre debe ser considerado; en ese sentido existen dos fenómenos que se desean evitar en las vacunas en desarrollo:

- Uno es un realce de la enfermedad dependiente de anticuerpos (Antibody Dependant Enhancement o ADE por sus siglas en inglés), la cual conduce a una mayor probabilidad de tener una enfermedad grave al tener contacto con el virus después de la vacunación; debido a la ineffectividad de anticuerpos (por no ser lo suficientemente neutralizantes ya sea por una concentración, especificidad o afinidad insuficiente) se potencia la entrada del virus en las células huésped, lo cual conduce a mayor infectividad y virulencia.
- El otro fenómeno es la generación de una enfermedad respiratoria asociada a la vacuna (VAERD), que como su nombre lo indica es la inducción de una enfermedad debida a la vacunación; esto ya ha sido observado en algunas vacunas de virus inactivados del sarampión y el virus sincitial respiratorio (VSR), en donde VAERD se asocia a una configuración incorrecta del antígeno, la cual da lugar a deposición del complejo inmune que se encontraba en una alta concentración pero sin ser neutralizante. En el caso del virus sincitial provocó inflamación y la obstrucción de las vías respiratorias en bebés a los que se les había aplicado a vacuna y lo mismo ocurrió en una vacuna contra el sarampión que fue administrada a macacos Rhesus; además si la vacuna está hecha con virus inactivado debe tener una especial vigilancia ante este fenómeno, ya que casi todos los ejemplos reportados en la literatura sobre VAERD en humanos son de vacunas que usan esta plataforma.

Con respecto a la inducción de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE) en COVID-19, se ha visto que tiene una relación con niveles elevados de citocinas liberadas por el subconjunto de linfocitos TH2, lo cual conduce a un COVID-19 grave. ADE y VAERD demuestran la importancia de obtener una vacuna que tenga una concentración, especificidad, afinidad y conformación adecuada, ya que de lo contrario podría causar una enfermedad más grave debido a la replicación viral o formación de complejos inmunes depositados en tejidos (los cuales favorecen inflamación), estos eventos provocan la disfunción de vías respiratorias y podrían retrasar la eliminación viral; por lo que los proyectos de vacunación tendrán que asegurar desde etapas tempranas que la vacuna en desarrollo induzca únicamente anticuerpos neutralizantes (en lugar de los no neutralizantes) y que no sea favorecida la replicación del virus (Graham, 2020; Grifoni *et al.*, 2020).

6. Lecciones aprendidas de otros coronavirus.

Existe una urgencia actual por encontrar un tratamiento o una vacuna para el COVID-19 debido a que la gravedad de la enfermedad está por encima de la influenza estacional o la influenza pandémica H1N1 del 2009, además de su veloz extensión por todo el mundo. Las interrogantes más escuchadas en estos momentos con respecto a las vacunas candidatas contra el nuevo coronavirus, son sobre el tiempo estimado en el que una vacuna efectiva y segura estará en el mercado lista para ser administrada a la población mundial y pese a que las vacunas en situaciones normales pueden tardar hasta 10 años, han existido situaciones en donde éstas tardan mucho menos debido a la gran cantidad de información previa que se conocía del patógeno o la familia de patógenos a la que pertenece, por ejemplo durante la pandemia del virus de la influenza H1N1 en el 2009, la vacuna estaba lista en 6 meses debido a que las investigaciones para la vacuna cambiaron rápidamente de dirección de la producción de vacunas trivalentes (las cuales tienen 3 componentes importantes del virus) a vacunas monovalentes, las cuales eran las vacunas requeridas para enfrentar la pandemia; la rapidez en la obtención de una vacuna se debió a que solo fue necesario realizar un cambio de cepas y procesos relativamente simples, ya que se conocían los correlatos de protección (es decir, los marcadores inmunológicos asociados a la protección) que estaban íntimamente relacionados entre la influenza pandémica y la influenza para la cual desarrollaban una vacuna anteriormente, aun así esos seis meses que pasaron para que la vacuna estuviese lista para ser distribuida no fueron suficientes para que pudiese llegar a tiempo para esa ola de la pandemia.

La lección dejada por la pandemia de influenza H1N1, es que el desarrollo de una vacuna para un virus emergente dependerá directamente de la información que se posea acerca de virus relacionados con el patógeno emergente, es decir, en la medida que se haya desarrollado información sobre los correlatos de protección, modelos animales eficaces, vacunas y medicamentos candidatos para esa familia de virus, más rápido se obtendrá una vacuna segura y eficaz. De esta manera resulta fundamental para el desarrollo de una vacuna contra el SARS-CoV-2 repasar la información que pudo ser recabada en las investigaciones y prácticas clínicas realizadas en los brotes del SARS-CoV y MERS-CoV, la cual se presenta a continuación (Amanat *et al.*, 2020).

- **Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo**

El síndrome respiratorio agudo severo (ocasionado por el SARS-CoV) fue identificado en el 2003 en la provincia de Guangdong, China; con un registro total de 8 096 personas contagiadas en 29 países y una tasa de mortalidad

del 10% (la cual también fue asociada a edad avanzada y comorbilidades subyacentes). Su aparición se relaciona a un evento zoonótico en los mercados de animales salvajes en China, SARS-CoV también es un betacoronavirus, usa a ACE2 como receptor y estudios indican que este virus se originó primero en murciélagos y fueron las civetas de palma o los perros mapache los probables huéspedes de amplificación que sirvieron de intermedios para la transmisión humana en donde puede propagarse mediante gotas respiratorias, con un periodo de incubación de 2 a 11 días, posee un R_0 de 3, como puede observarse sus características son muy similares a las del nuevo coronavirus SARS-CoV-2.

- **Síndrome Respiratorio del Medio Oriente**

El síndrome respiratorio del Medio Oriente (ocasionado por el MERS-CoV) fue identificado en el 2012 en Arabia Saudita, con características clínicas similares al brote de coronavirus del 2003 pero con una mortalidad de hasta el 37%. Se identificó que el huésped intermedio para el MERS era el camello dromedario y al igual que los otros dos betacoronavirus patógenos se originó en murciélagos. Este virus usa como receptor celular la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4), su propagación es mediante gotas respiratorias y contacto cercano, con un período de incubación de 2 a 13 días. Para el 2019, se habían confirmado 2 494 personas infectadas y 858 muertes, en 26 países (pero con la mayoría de los casos en Oriente Medio), el R_0 para el MERS-CoV es de 2 a 5. La mortalidad fue asociada igualmente a la edad avanzada, el sexo masculino y las afecciones médicas subyacentes (Amanat et al., 2020; Madjid et al., 2020; Wu et al., 2020).

Pese a que SARS-CoV y MERS-CoV ocasionaron cada uno una epidemia, no se realizaron proyectos completos para obtener vacunas o medicamentos comerciales efectivos, el haberlo hecho hubiese sido de gran valor científico y probablemente permitiría a la comunidad farmacéutica obtener con mayor rapidez la vacuna para el SARS-CoV-2. Las razones por las que estos proyectos para el desarrollo de vacunas quedaron estancados son variados, pero entre los más importantes se encuentra el desinterés por invertir dinero en vacunas cuando los casos eran relativamente bajos y lograron controlarse a tiempo antes de extenderse por todo el mundo, además de la dificultad de no encontrar modelos animales adecuados y rentables para las etapas preclínicas. A continuación se detallan los esfuerzos realizados para el desarrollo de una vacuna para estos dos coronavirus patógenos (Tabla 3).

Tabla 3. Plataformas de vacunación para SARS-CoV y MERS-CoV.

Coronavirus de relevancia clínica	Tipo de vacuna	Fase de desarrollo
SARS-CoV	Virus inactivado	Fase I
	Virus atenuado	No reportado
	Virus atenuado recombinante	Preclínico
	Virus recombinante	Preclínico
	Adenovirus recombinante	Preclínico
	Vacuna de ADN	Fase I
	Proteínas	Fase I
	Partículas similares a virus (VLP)	Preclínico
	Vacuna combinada (ADN, vector viral, péptidos)	Preclínico
MERS-CoV	Vivo Atenuado	In vitro
	Virus inactivado	Preclínico
	Vector viral	Fase 1
	Proteínas	Preclínico
	Nanopartículas	Preclínico
	Vacuna de ADN	Fase II
	Vacuna combinada (ADN y proteínas)	Preclínico

Tabla 3. Construida a partir de "Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus Strains"

La mayoría de las vacunas desarrolladas contra el SARS (el cual se convirtió en epidemia en el 2002) y MERS (2012) estaban dirigidas a la glucoproteína de pico (S) independientemente de su plataforma de elaboración, pero ninguna de las vacunas pudo llegar más allá de la Fase II; es de destacar que para las vacunas contra el MERS se menciona una vacuna hecha con nanopartículas, éstas eran parte de un conglomerado de proteínas, por lo que su tecnología de elaboración es similar a la que usan vacunas hechas de proteínas.

Anteriormente se mencionó que una de las limitaciones principales para el desarrollo de las vacunas contra el SARS y MERS fue lo difícil que era encontrar modelos animales, debido a que éstos desarrollaban una enfermedad viral muy limitada y rara vez morían a causa de ella, por ejemplo en el caso del MERS los macacos Rhesus enfermaban pero sin desarrollar fiebre, tos o aumento en las

frecuencia cardiaca o en el caso del SARS el virus manifiesta síntomas limitados en macacos cynomolgus y monos verdes africanos. Por esta causa se consideraron modelos animales transgénicos, los cuales se hacen más susceptibles a estos coronavirus y la evaluación de la sintomatología se vuelve clínicamente más relevante, ejemplo de esto fue la experimentación con ratones transgénicos que expresaban el receptor celular humano ACE2 (que permite que el SARS-CoV pueda ser reconocido en las células); estos ensayos con animales genéticamente modificados aumentan los costos de experimentación, pero han ayudado para que estos modelos animales estén disponibles comercialmente.

Otra cuestión fundamental a resolver sobre la vacuna que se desarrolla actualmente para SARS-CoV-2 es el tiempo que durará la inmunización, en los estudios clínicos para SARS y MERS la forma en la que solían medir el tiempo de inmunización era con el estudio de los anticuerpos neutralizantes persistentes después de la vacunación, sin embargo la contribución de las células T rara vez fue abordada en estos estudios, ya que no se tenía claro si era relevante (ahora se sabe que en efecto lo es). Otros coronavirus humanos estudiados son HCoV-229E y HCoV-OC43, estos virus no causan infecciones respiratorias graves en humanos, sin embargo en experimentos realizados se ha observado que la inmunidad presentada después de la enfermedad no posee larga duración, por lo que podría ser otro indicativo de que la vacuna contra el SARS-CoV-2 necesitará más de una aplicación. Por otro lado los estudios de seguridad del desarrollo de vacunas para SARS-CoV y MERS-Cov son realmente escasos. Otras cuestiones importante que preocupan a la comunidad científica en el desarrollo de una vacuna contra el SARS-CoV-2 es la amplificación de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE), efectos adversos de las vacunas, reexposición natural, entre otros; con respecto a esto, se sabe que las vacunas de coronavirus anteriores que usaron como antígeno el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S pudieron evitar ADE, además de inducir anticuerpos neutralizantes; sin embargo al quedar los estudios clínicos inconclusos han quedado también lagunas de conocimiento sobre los correlatos de protección para los betacoronavirus; los datos de inmunidad y seguridad para SARS-CoV y MERS-CoV se resumen en la Tabla 4 (Padron, 2020).

Tabla 4. Observaciones de las vacunas contra SARS-CoV y MERS-CoV en cuanto a inmunidad y seguridad.

Vacunas contra SARS-CoV	
Inmunidad	Las vacunas basadas en vectores virales y las basadas en proteínas indicaron en animales una protección de 4 a 12 meses después de la vacunación.
	Las células T de memoria se detectaron hasta 6 años después en personas que habían padecido la infección y habían sobrevivido, mientras que los anticuerpos neutralizantes pueden rastrearse hasta por 2 años.
Seguridad	Algunas vacunas que expresan la glucoproteína S (y particularmente la de virus inactivados), indujeron inmunopatología pulmonar y hepatitis en modelos animales.
Vacunas contra MERS-CoV	
Inmunidad	Sus vacunas combinadas con proteínas y ADN inducían una protección a largo plazo en sus modelos animales.
	En personas que tuvieron la infección y sobrevivieron, los anticuerpos neutralizantes persisten hasta por 3 años mientras que para las células T de memoria, se pueden detectar T CD4 ⁺ y CD8 ⁺ hasta por 2 años.
Seguridad	La vacuna de virus inactivados produjo infiltración pulmonar en ratones.

Tabla 4. Construida a partir de "Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus Strains"

Sin duda los conocimientos obtenidos a partir del desarrollo de vacunas contra coronavirus será de utilidad para el desarrollo de la vacuna contra el SARS-CoV-2, la cual deberá considerar seriamente los aspectos de seguridad poco conocidos o cubiertos de vacunas anteriores, como ADE y efectos adversos observados en las vacunas de SARS y MERS, de esta manera se puede puntualizar en varias consideraciones importantes:

- La proteína S presente la superficie del virus es el objetivo central para la formulación de las vacunas, debido que para SARS-CoV y SARS-CoV-2 la

proteína S es la que interactúa con el receptor humano ACE2, sin embargo las vacunas que consideren el uso de la proteína N en su formulación podrían generar una protección cruzada.

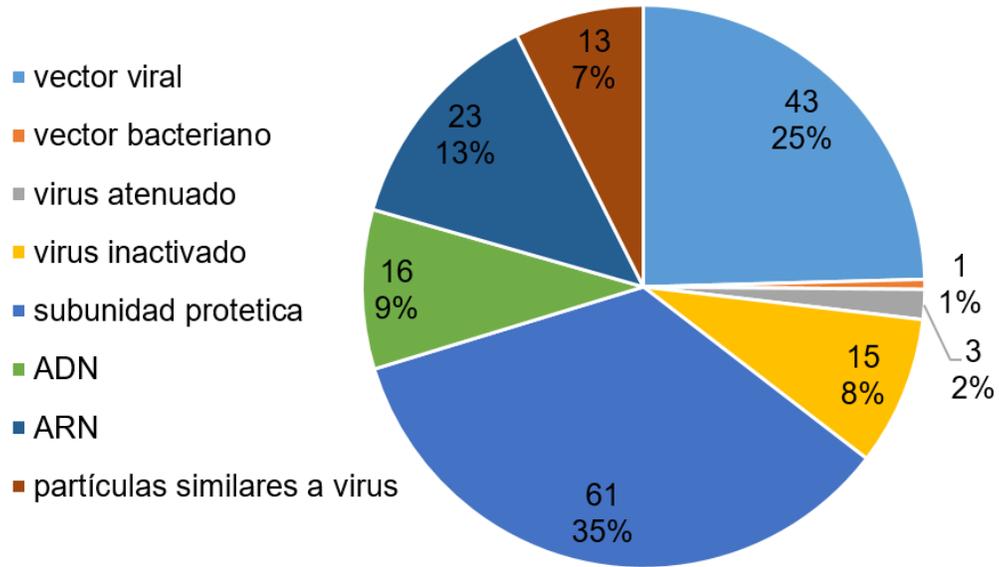
- Los anticuerpos inducidos por la infección de SARS-CoV y MERS-CoV no son de larga duración, por lo que la reinfección de un individuo con el mismo virus es posible después de un período de tiempo (meses o años), sin embargo estos anticuerpos neutralizantes sí estaban altamente asociados con una menor gravedad de las enfermedades respiratorias, además las células T también desempeñan un papel importante en la eliminación del virus, pese a que la mayoría de los estudios no se enfocaron en éstas, se observó que en modelos animales las células T inducían respuestas persistentes y protectoras. Sin duda la vacuna en desarrollo para el SARS-CoV-2 deberá generar esas respuestas de larga duración para evitar que el virus se vuelva endémico en algunas regiones, estacional o cause futuras epidemias.
- Anticuerpos monoclonales neutralizantes (los cuales son producidos por un solo clon de linfocitos B) que fueron aislados y observados, indican que éstos generan protección contra el SARS-CoV y tienen la capacidad de reaccionar de forma cruzada al dominio de unión al receptor de SARS-CoV-2, esto podría indicar que una vacuna contra el SARS-CoV pudiera también tener protección cruzada contra el SARS-CoV-2, pero sería poco probable que las vacunas para el MERS-CoV induzcan anticuerpos neutralizantes lo suficientemente fuertes para proteger también contra el SARS-CoV-2 debido a la distancia filogenética entre los dos virus; sin embargo, éstas son solo sugerencias ya que hace falta más información para apoyar esta hipótesis.
- Debido a que las vacunas se prueban en modelos animales, la determinación de un modelo animal resulta crucial, sin embargo ha sido difícil la elección de modelos animales para SARS-CoV-2 ya que éste al igual que en otros betacoronavirus no se desarrolla en ratones y solo induce una enfermedad leve en otros animales.
- Desafortunadamente, las personas mayores generalmente responden con dificultad a la vacunación debido a la senescencia inmune, en definitiva el desarrollo de una vacuna para el SARS-CoV-2 tendrá que considerar la débil respuesta en personas mayores realizando una vacuna específica para personas en este grupo de edad (Amanat *et al.*, 2020; Padron, 2020).

7. Proyectos de vacunas para el SARS-CoV-2.

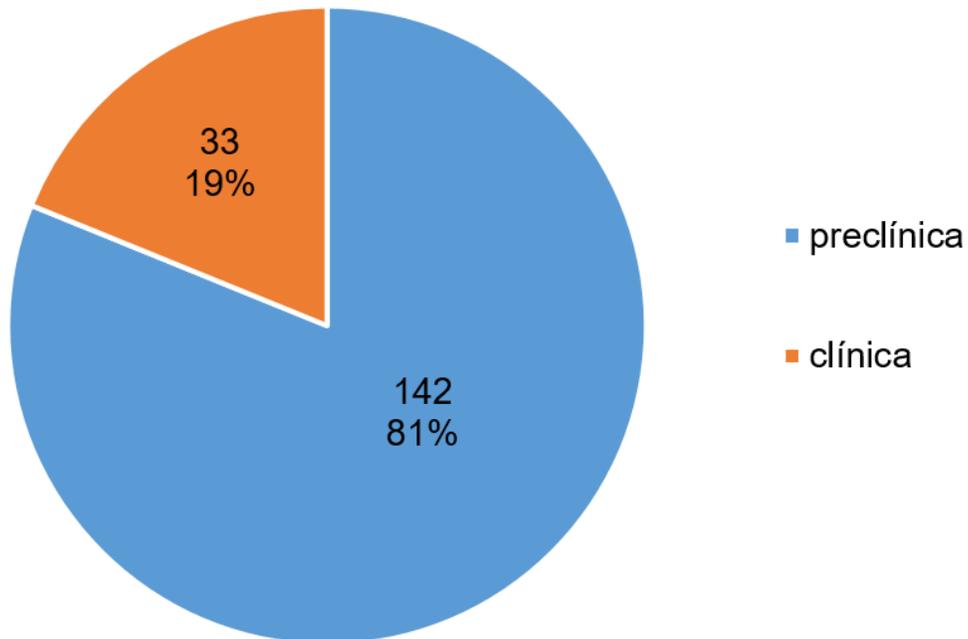
Sin duda la identificación de la secuencia genómica del SARS-CoV-2 fue hecha en tiempo récord y constituyó el elemento clave para el inicio de los proyectos de elaboración de vacunas candidatas contra este nuevo coronavirus, de esta manera el 10 de Enero del 2020 fue codificado el código genómico del virus y puesto a disposición de grupos de investigación en todas las partes del mundo, los cuales habían pronosticado que una vacuna contra el SARS-CoV-2 necesitaría mínimamente de 16 a 20 meses. En estos momentos las vacunas candidatas contra el SARS-CoV-2 se están desarrollando rápidamente, cuando salgan al mercado podrán reducir la movilidad y mortalidad del virus, sin embargo existe la probabilidad de que lleguen demasiado tarde para combatir las primeras olas de la pandemia y en ese caso todavía podrían ser útiles para futuras olas, si el virus se establece como un virus estacional o endémico. Sin duda los aprendizajes llevados a cabo en esta pandemia serán lecciones para el desarrollo de vacunas contra virus emergentes en un futuro. En el capítulo 2 se describió con más detalle que los ensayos de Fase I evalúan la seguridad de la vacuna en humanos, la Fase II detalla datos sobre la formulación, dosis y pueden indicar datos iniciales de eficacia, mientras que la Fase III demuestra de manera más robusta la seguridad y eficacia, estos ensayos usualmente se hacen de manera ordenada y consecutiva, sin embargo está cambiando debido a la situación actual de emergencia, algunos prospectos de vacunas han comprimido el esquema de fases para obtener una aprobación lo más pronto posible por parte de las autoridades reguladoras (Amanat *et al.*, 2020).

Hasta este momento (28 de Agosto del 2020), se están desarrollando 175 candidatos de vacunas contra el SARS-CoV-2 usando diferentes plataformas vacunales, en donde predominan las vacunas realizadas a partir de proteínas del virus (específicamente de la subunidad proteica) seguido de los vectores virales (tan solo estas dos plataformas conforman el 60% de todas las vacunas en desarrollo). Del total de vacunas, 142 se encuentran en etapa preclínica y 33 en etapa clínica, esto puede representarse en los siguientes diagramas.

***Figura 7. Diagrama de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 según la plataforma que usan.**

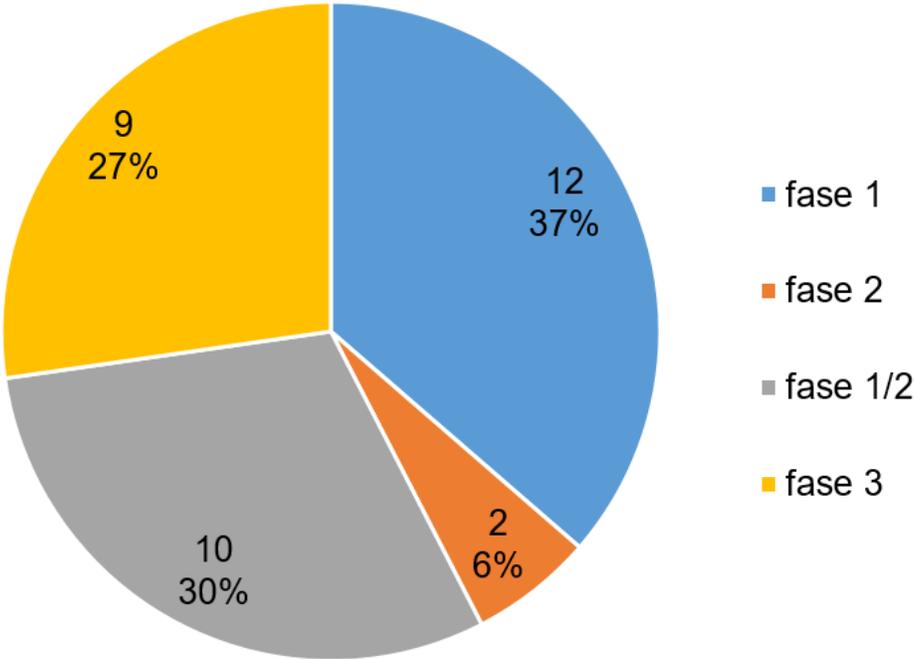


***Figura 8. Diagrama de la etapa en desarrollo en la que se encuentran las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2.**



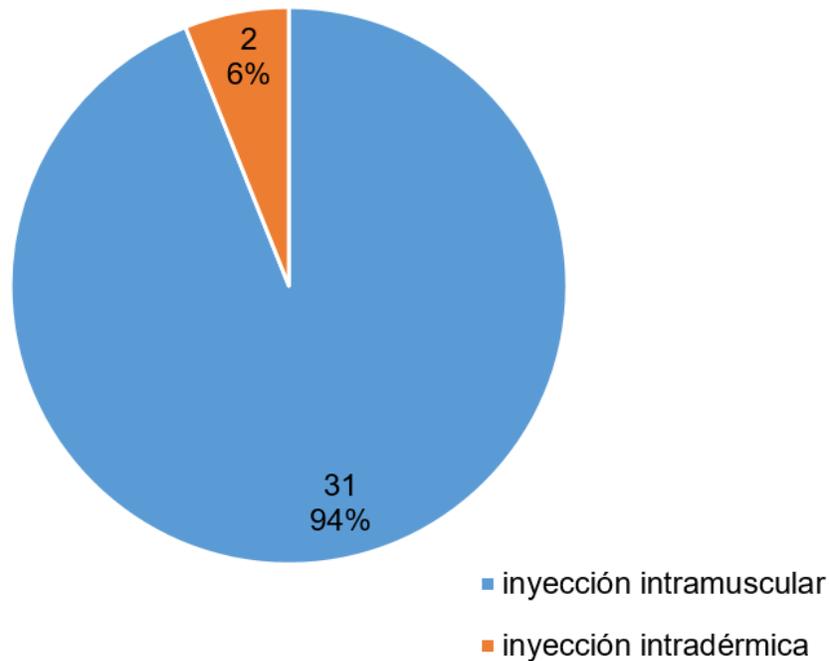
De la etapa clínica, 12 proyectos se encuentran en Fase I, 2 proyectos en Fase 2, 10 realizan simultáneamente ensayos de Fase 1 / 2 y en Fase 3 se encuentran 9 vacunas candidatas, esto puede verse reflejado en la Figura 9.

***Figura 9. Diagrama de las fases en etapa clínica de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2.**

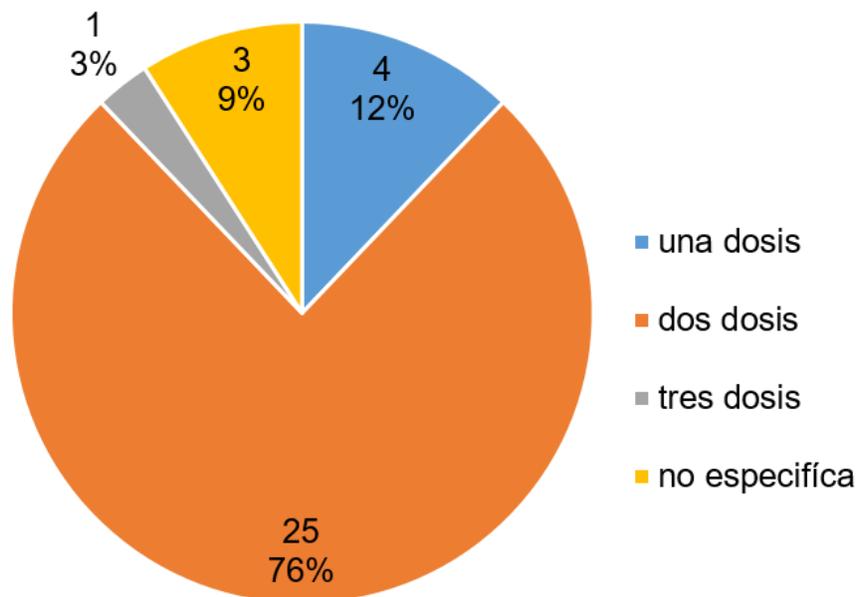


Por otro lado, todas las vacunas candidatas en etapa clínica consideran la inyección como su forma de administración, más del 90% planea una inyección intramuscular mientras que un porcentaje minoritario lo hará de forma intradérmica (Figura 10); las diferencia entre cada inyección dependerá del ángulo que forma la aguja al entrar en la piel, dicho ángulo hará que la vacuna sea colocada entre los músculos o en la dermis. De estas 33 vacunas en etapa clínica, el 76% considera que su vacuna debe de ser administrada en dos dosis (Figura 11) (Organización Mundial de la Salud, 2020c).

***Figura 10. Modo de administración de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 que están etapa clínica.**



***Figura 11. Diagrama del número de dosis estimadas para la aplicación de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 en etapa clínica.**



*Las figuras 7 a 11 fueron construidas a partir de la información obtenida en “Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines.”

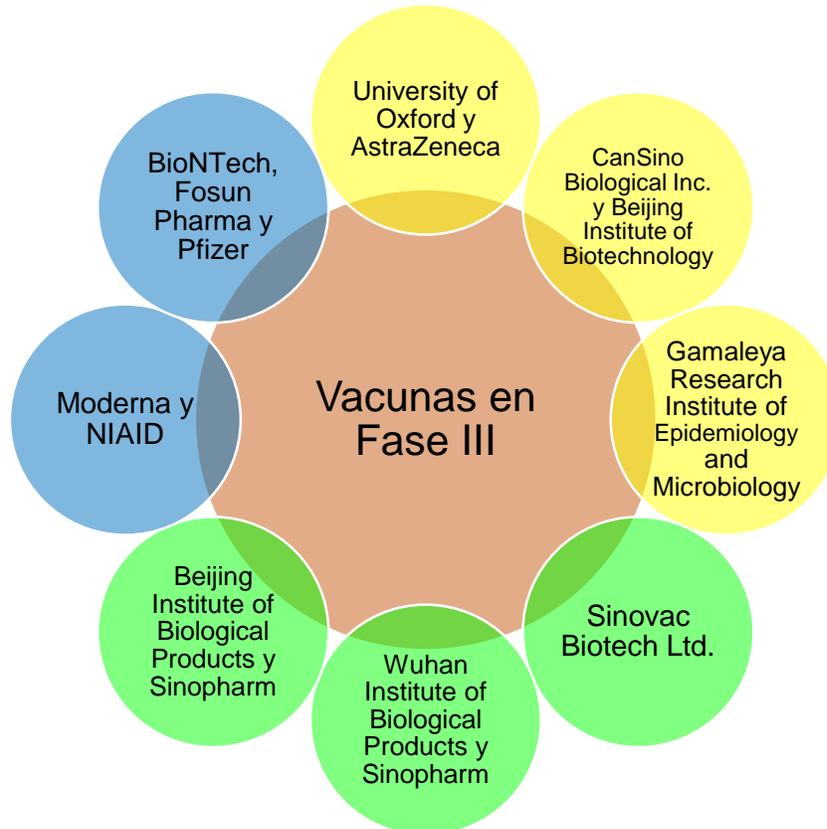
Todo parece indicar que las primeras vacunas lanzadas al mercado estarán disponibles a principios del 2021, esto sin duda será un cambio de paradigma en el desarrollo de vacunas, en donde la emergencia sanitaria, social y económica sirve como un catalizador que cambia la estructura tradicional del desarrollo de vacunas hacia esquemas más flexibles como llevar a cabo paralelamente las etapas clínicas, procesos regulatorios innovadores, la planificación de una estructura de escalado de vacunas lista para usarse aún en la incertidumbre de si la vacuna realmente cumplirá los estándares de seguridad y eficacia (Thanh *et al.*, 2020).

En lo que resta de este capítulo se abordarán los avances más relevantes encontrados de las 8 vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 con mayor avance en sus ensayos clínicos (Figura 12, en donde las vacunas que usan vectores virales se encuentran en amarillo, las vacunas de virus inactivados en verde y vacunas de ARN en azul), se clasificarán según la tecnología que usan, se mencionarán nuevamente las distintas ventajas y desventajas de cada proyecto de vacunación, así como sus resultados de estudios de seguridad y eficacia disponibles (los cuales son las pruebas que fungen como cuello de botella para seleccionar la mejor vacuna para una población específica), su geografía, financiamiento y cualquier detalle que pueda resultar relevante como las vacunas que han contemplado en sus ensayos clínicos a las poblaciones más vulnerables a contraer COVID-19 (personas mayores de 60 años y personas con enfermedades subyacentes) (Chen *et al.*, 2020).

Es probable que al leer los avances publicados por estos los grupos de investigación de estas vacunas candidatas el lector se pregunte qué vacuna es mejor en cuanto a seguridad y eficacia para una población específica y aunque los investigadores que realizan estas vacunas afirman que sus vacunas son lo suficientemente buenas o prometedoras, la realidad es que aún no conoce la naturaleza exacta de las respuestas inmunes que protegen contra SARS-CoV-2; sin embargo esto solo podrá saberse con el tiempo, cuando los ensayos de Fase III hayan finalizado, como se sabe la única manera que hay para decidir si una vacuna es lo suficientemente segura y eficaz son con ensayos a gran escala, los ensayos preclínicos y las fase I / II de etapas clínicas son indicativos sobre el lugar hacia donde se dirigen las vacunas, sirven para evaluar si los resultados son lo suficientemente buenos como para continuar los ensayos o partir desde cero con una nueva formulación. Sumando a esto, hay que considerar que las mediciones de marcadores inmunológicos no son sencillas y los datos al ser aún tempranos y preliminares hace que las comparaciones entre vacunas a estas alturas no tenga sentido, ya que no existe evidencia suficiente para decir que una vacuna es mejor que otra, afortunadamente esta cuestión se irá resolviendo a medida de que transcurra el tiempo y los resultados podrían causar asombro (por ejemplo, observando que las

vacunas se adaptan a subtipos de población específicos) (Callaway, 2020b; Thanh *et al.*, 2020).

Figura 12. Vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 que se encuentran en Fase III.



La Figura 12 fue construida a partir de la información obtenida en “Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines”.

7.1 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan virus inactivados.

Esta plataforma altera las proteínas de la superficie del virus con el fin de desactivarlo, el objetivo es mermar su capacidad de infección pero que aún pueda provocar una respuesta inmune robusta en el organismo, el reto principal de este tipo de vacunas consiste precisamente en llegar al equilibrio patogenicidad-inmunogenicidad. Es conveniente que las vacunas desarrolladas con esta

tecnología tengan una vigilancia mayor que cualquier otra vacuna que use otra plataforma y es que se han observado en otras vacunas de virus enteros (como la del virus sincitial respiratorio) que existe una mayor probabilidad de generar una enfermedad respiratoria grave (además de la preocupación adicional sobre el fenómeno ADE) (Lowe, 2020a; Mulligan, 2020).

Tres de las ocho vacunas candidatas en fase III fueron elaboradas con virus inactivados: *CoronaVac* de la empresa china Sinovac Biotech Ltd, *CNCG Wuhan* de Wuhan Institute of Biological Products y la farmacéutica china Sinopharm y *BBIBP-CorV* de Beijing Institute of Biological Products y nuevamente la farmacéutica Sinopharm; a continuación se detallan los avances de estas vacunas.

7.1.1 Vacuna candidata de Sinovac Biotech Ltd.

La biofarmacéutica china Sinovac Biotech Ltd. desarrolló una vacuna usando virus inactivados, esta vacuna se apoya de un adyuvante adquirido gracias a una asociación entre Sinovac y la empresa Dynavax, de EE. UU. (la cual ya tenía el registro del adyuvante para una vacuna contra la hepatitis B); Sinovac Biotech Ltd. llamó a su vacuna *PiCoVacc*, la cual logró inducir anticuerpos neutralizantes en ensayos preclínicos con ratones y macacos Rhesus, la gran noticia de esto fue que estos anticuerpos tuvieron la capacidad de neutralizar 10 de cepas representativas del SARS-CoV-2. Estos estudios preclínicos obtuvieron las diferentes cepas a partir de 11 pacientes hospitalizados alrededor del mundo (5 se encontraban en cuidados intensivos), de las cuales solo fue elegida una cepa causante de síntomas clínicos graves (como la insuficiencia respiratoria que requiere un ventilador) para la elaboración de la misma vacuna, que fue replicada en células Vero y posteriormente purificada por filtración profunda y dos pasos optimizados de cromatografía (Gao *et al.*, 2020; Lowe, 2020b).

Para estos ensayos preclínicos se usaron 10 ratas Wistar y 10 ratones BALB/c, los cuales fueron divididos en grupos a los cuales se les administró dos dosis (los días 0 y 7) de la vacuna con su adyuvante de alumbre (1.5, 3 ó 6 μg por cada dosis) además de existir un grupo control al que solo se le administró una solución salina fisiológica, se evaluaron las respuestas de anticuerpos específicas de S, RBD y la proteína N producidos por ratas y ratones mediante ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). Se observó la presencia de anticuerpos neutralizantes característicos de la proteína S del SARS-CoV-2 (en especial la inmunoglobulina G -IgG-) desde la primera semana después de la inmunización, alcanzando un nivel

máximo en la séptima semana para las ratas y la sexta semana para los ratones (por ejemplo, para éstos últimos se obtuvieron niveles máximos en $> 819\,200$ IgG específica de S y $>409\,600$ IgG específica de RBD), además los anticuerpos IgG específicos de RBD fueron aproximadamente la mitad de las respuestas de anticuerpos inducidas por S, lo que hace a RBD el inmunógeno dominante mientras que los anticuerpos IgG específicos de N fueron 30 veces menores que los dirigidos a S; el grupo control no presentó anticuerpos específicos del virus que fueran detectables. La cantidad de anticuerpos específicos es 10 veces mayor en el suero de los ratones BALB/c si se le compara con la cantidad de anticuerpos encontrada en el suero de los pacientes con COVID-19 ya recuperados (esto no significa que la vacuna causará el mismo efecto en las personas, pero podría ser un indicativo de su potencialidad para estimular una respuesta inmune robusta). Paralelamente fueron medidos los anticuerpos neutralizantes específicos contra una cepa representativa de SARS-CoV-2 (CN1) mediante ensayos de microneutralización (MN50), también detectó actividad de éstos a partir de la semana 1 después de la primera inmunización y a la semana 7, los ratones alcanzaron un título de 1 500 para la dosis baja y media, mientras que para la dosis alta alcanzó un título de 3 000. Los resultados fueron parecidos en ratas Wistar, ya que alcanzaron títulos de neutralización de 2 048 a 4 096 en la semana 7; estos ensayos de microneutralización se repitieron para otras nueve cepas aisladas de SARS-CoV-2 usando los anticuerpos presentes en el suero de ratones y ratas a las 3 semanas después de la vacunación y se encontró que los títulos neutralizantes tuvieron potentes actividades de neutralización contra todas las cepas.

Por su parte 4 macacos Rhesus fueron divididos en grupos para ser inmunizados, cada grupo con una dosis (3 ó 6 μg por dosis) de la vacuna *PiCoVacc* inyectada vía intramuscular en tres ocasiones (al día 0, 7 y 14), además de tener un grupo control de otros 4 macacos que también fueron divididos en dos para administrar adyuvante o una solución salina fisiológica; antes de ser infectados con el virus (a la segunda semana después de la primera inmunización) ya presentaban la presencia de anticuerpos neutralizantes (en especial IgG) en cantidad similar a la de los pacientes de COVID-19 ya recuperados, para posteriormente ser infectados con 10^6 TCID₅₀ de SARS-CoV-2 CN1 por vía intratraqueal una semana después de la tercera inmunización. Los resultados indicaron que el grupo control presentó una carga viral grande en faringe y pulmones, acompañado con los síntomas clínicos de una neumonía severa, mientras que todos los macacos que recibieron la vacuna estaban protegidos contra la infección, con una reducción del 95% de la carga viral para los que recibieron la dosis de 3 μg de *PiCoVacc* y sin carga viral detectable para los que recibieron la vacuna de 6 μg por dosis. En ambos grupos de macacos también se observó una ligera disminución de anticuerpos neutralizantes para combatir al virus, seguido de un aumento para mantener la eficiencia de la

inmunización, por otro lado no se observó ninguna evidencia de la mejora de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE) sin embargo aún existe la posibilidad de que aparezca este fenómeno cuando la carga de anticuerpos neutralizantes disminuya, sin duda será un punto a destacar en los resultados de los siguientes ensayos.

El equipo que realizó estos ensayos preclínicos considera que la inmunidad necesaria para combatir el SARS-CoV-2 de manera duradera está mediada principalmente por los mecanismo de la inmunidad humoral, sin embargo también realizaron mediciones de células T debido a la relación que tienen las células TH2 con inmunopatologías pulmonares no deseadas, para esto se realizó otro estudio con 10 macacos, los cuales también fueron vacunados tres veces (día 0, 7 y 14) y divididos en grupos para administrarles dos dosis de vacunas (1.5 y 6 µg), además del grupo placebo conformado por otros 10 macacos, a los cuales se les administró el adyuvante o una solución salina fisiológica, no se observaron síntomas clínicos en los macacos a los cuales se les inyectó la vacuna *PiCoVacc* además de tampoco encontrar daños histopatológicos en varios órganos (pulmón, corazón, bazo, hígado, riñón y cerebro). Para la detección de las células T y citocinas claves que agravan la enfermedad se realizaron análisis hematológicos de todos grupos de macacos un día antes de la primera inmunización, 3 días después de la segunda vacunación y 7 días después de la tercera inmunización y los resultados indicaron que no se encontraron cambios notables de los linfocitos CD3⁺, CD4⁺ y CD8⁺ ni de las citocinas que agravan la enfermedad entre los grupos de macacos vacunados con *PiCoVacc* ni los del grupo control (Gao *et al.*, 2020).

Los estudios de Fase I y II de *PiCoVacc* (con número de identificación NCT04383574) empezaron a hacerse simultáneamente en Jiangsu, China el 16 de abril de 2020, con el propósito de evaluar la inmunogenicidad y seguridad se llevaron a cabo estudios aleatorizados (es decir, la elección de voluntarios y sus grupos es al azar), doble ciego (en donde el médico y el voluntario desconocen el grupo de ensayo al que pertenecen) y controlados con placebo en adultos de entre 18 y 59 años; en la Fase I participaron 744 voluntarios y se les asignó dos dosis medias de la vacuna (3 µg/0.5 mL y con una diferenciación de 14 ó 28 días entre cada dosis), por su parte la Fase II reclutó a 600 participantes a los cuales se les administraron dos dosis (3 µg/0.5 mL ó 6 µg/0.5mL, igualmente a los 14 ó 28 días) (National Library of Medicine, 2020a).

En el transcurso de los ensayos de Fase clínica I y II, la biofarmacéutica China decidió cambiar el nombre de su vacuna de *PiCoVacc* a *CoronaVac*, por lo que de ahora en adelante será nombrada con su actual nombre, los resultados de Fase I y II aún no han sido publicados en una revista, sin embargo el artículo que explica los

resultados de la Fase II, ya se encuentra en revisión por pares y se encuentra completo en el sitio de internet *medRxiv*, el cual es un sitio de Internet que distribuye artículos no publicados que se encuentran aún en revisión y que gracias a que Sinovac Biotech Ltd. ha otorgado a *medRxiv* una licencia para exhibir la preimpresión de sus resultados de Fase II, pueden ser consultados antes de publicarse, a continuación se detallan estos resultados.

CoronaVac para este ensayo fue usada junto con un adyuvante de hidróxido de aluminio, se elaboró propagando el virus en células Vero, para posteriormente inactivar los virus con β -propiolactona que fueron recolectados de dichas células para ser purificados y absorbidos en hidróxido de aluminio. Como se ha mencionado anteriormente, este ensayo consistió en 600 adultos sanos (de entre 18 y 59 años) los cuales fueron asignados al azar en 3 grupos, todos los grupos recibieron 2 inyecciones con 14 ó 28 días de diferencia y en dosis de 3 μ g/ 0.5 mL, 6 μ g/0.5 mL ó un placebo que solo contenía hidróxido de aluminio sin presencia del antígeno vacunal; para evaluar los resultados de seguridad de esta fase, se recopilaron datos de efectos adversos después de la inmunización, mediante tarjetas que fueron proporcionadas a los participantes para que describieran los diversos síntomas que van desde lo efectos adversos *in situ* que se manifiestan a los primeros 30 minutos después de la inmunización, hasta eventos adversos solicitados (que se manifiestan en los primeros 7 días después de la aplicación, como fiebre, diarrea o anomalías en la piel) o eventos adversos no solicitados (donde se observan después de los 28 días aplicada la inmunización y pueden ser vómitos, fatiga, dolor muscular o de cabeza, entre otros); se encontró que para los grupos de voluntarios que fueron inmunizados con la segunda dosis de *CoronaVac* a los 14 días tuvieron una tasa ligeramente mayor (alrededor de 15% en promedio) de eventos adversos, comparados con los voluntarios que recibieron la segunda inmunización a los 28 días, sin embargo todos los eventos adversos se evaluaron mediante su gravedad y hasta el momento no se han observado problemas de seguridad al aplicar *CoronaVac*, ya que las reacción adversas presentadas por la inmunización son reacciones de gravedad leve (siendo dolor en el lugar de la inyección el evento más común) que se resolvieron en 72 horas posteriores a la inmunización, evitando de esta manera los eventos adversos graves.

Para evaluar la respuesta inmune, se recolectaron muestras de sangre de cada participante en los 3 grupos de dosis para evaluar los anticuerpos (capaces de unirse al dominio RBD del SARS-CoV-2) presentes en sangre mediante ensayo inmunoabsorbente (ELISA). Al diluir los anticuerpos generados por los participantes que recibieron la vacuna se encontró que a una dilución de 1:160 éstos aún presentaban actividad; además todos los voluntarios que recibieron la vacuna (ya sea en 3 μ g y 6 μ g) presentaron un aumento de este tipo de anticuerpos sin una

diferencia significativa según el día de la segunda aplicación y en un rango de títulos medios geométricos (GMT) de 1 024 a 2 048 a partir de los 14 días después de la segunda inyección y hasta el día 28; los anticuerpos neutralizantes también fueron medidos mediante ensayos de efecto citopatógeno y mostraron una tendencia similar a los anticuerpos anti RBD, con un aumento significativo después de la segunda inyección, pero con mejores resultados de GMT para el programa de vacunación del día 0 y 28; el grupo placebo no tuvo un aumento significativo de los anticuerpos anti RBD ni en títulos de neutralización. Por otro lado se consideró como seropositividad un aumento de 4 veces los anticuerpos iniciales (este aumento por 4 es un estándar general al hablar de seropositividad usado por todos los grupos de investigación de vacunas candidatas en este documento). Antes de la aplicación de las vacunas se registró que todos los participantes eran seronegativos pero al día 28 después de la segunda aplicación se determinó que en la dosis de 3 µg/0.5 mL hubo una seroconversión del 92.4% cuando su repuesto fue aplicado a los 14 días, mientras que se encontró una seroconversión del 97.4% cuando la segunda dosis se aplicó a los 28 días, de esta manera se concluyó que aunque los pacientes vacunados al día 28 presentaron un nivel más elevado de seroconversión (independientemente de la dosis), realmente las diferencias no son significativas en las tasas de seroconversión según el día de la segunda aplicación (14 ó 28 días); de manera adicional se observó que los anticuerpos neutralizantes disminuyeron significativamente con la edad de los voluntarios.

De esta manera los desarrolladores de la Fase II de *CoronaVac* declaran que la vacuna ha demostrado obtener resultados seguridad e inmunogenicidad favorables en ambos esquemas (vacunación a los 14 ó 28 días) y en ambas dosis (3 µg/0.5 mL ó 6 µg/0.5 mL); además aseguran que los resultados de eficacia obtenidos en esta fase son más prometedores que en su Fase I (los cuales son han sido publicados aún), lo cual lo atribuyen a que en la Fase II se utilizaron muestras virales con más picos promedio por virus (casi el doble), lo cual genera más inmunógenos, todo esto respaldado mediante exámenes microscópicos electrónicos de las muestras; paralelamente aseguran que la vacuna es lo suficientemente segura como para poder ser llevada a Fase III (en la cual se centrarán en la dosis de 3 µg/0,5 mL), sin embargo reconocen 2 principales limitaciones de sus ensayos, la primera sería que solo se evaluó la respuesta inmune humoral, ya que una evaluación más amplia hubiese incluido en respuestas de TH1 y TH2, otra limitación importante sería que el estudio se basó en adultos sanos, dejando a un lado las poblaciones más susceptibles a un COVID-19 severo que incluyen personas con comorbilidades o personas mayores de 60 años (Zhang *et al.*, 2020).

Para superar una de las limitaciones planteadas anteriormente, el 12 de Mayo Sinovac realizó en la provincia de Hebei, China otros estudios de Fase I y II

simultáneos para personas sanas mayores de 60 años (número de identificación: NCT04352608), se tratan de estudios aleatorizados y doble ciego; en la Fase I se inscribieron 422 voluntarios, los cuales fueron divididos en 2 grupos, uno al que se le administró la vacuna con un contenido del antígeno bajo (de 300 SU/0.5mL) y un grupo placebo, mientras que en la Fase II hubo 350 voluntarios, con 3 grupos, uno que recibió 600 SU/0.5mL, otro 1200 SU/0.5mL y el grupo al que se le administra un placebo, en ambas fases se administraron 2 dosis *PiCoVacc* espaciadas por 28 días. (National Library of Medicine, 2020b).

Aunque Sinovac aún no ha publicado sus resultados de la Fase I de adultos de 18 a 59 años ni ningún resultado de Fase I / II de adultos mayores de 60 años, el director ejecutivo Weidong Yin ha anunciado (mediante comunicados), que los datos preliminares demuestran que la vacuna es segura y eficaz para la Fase I y II en todos los grupos de edades (aunque las respuestas inmunes provocadas en adultos mayores fueron levemente más débiles que en los adultos jóvenes), además que la vacuna podrá ser almacenada hasta por tres años, de la misma manera ha dicho que *CoronaVac* se encuentra actualmente realizando los estudios de Fase III en Brasil e Indonesia (Feuerstein, 2020a; Forbes México, 2020a).

Tal como indicó el CEO de la empresa, la Fase III se está llevando a cabo en Brasil con 8 870 participantes (con el número de registro NCT04456595) y empezó el 21 de julio del 2020, se trata de un ensayo doble ciego controlado con placebo, en donde los participantes están siendo asignados al azar para el grupo placebo o el grupo que realmente recibirá la vacuna; la vacunación consistirá en dosis de inyecciones intramusculares, donde la segunda dosis será administrada en un lapso de 14 días, esta Fase III incluyen los dos grupos de edad a los que se les realizaron estudios de Fase II (adultos de 18-59 años y mayores de 60 años), los cuales serán monitoreados hasta por un año después de la inmunización. Paralelamente otro estudio de Fase III se está llevando a cabo en Indonesia (con el registro INA-WXFM0YX) con 1 620 participantes, el cual es un estudio ciego al observador, aleatorizado y al igual que el que se lleva a cabo en Brasil, tiene dos grupos, uno placebo y el otro al que se le administra la vacuna inactivada, esta vez solamente entre pacientes de 18 a 59 años; cabe mencionar que ninguno de los dos registros para esta Fase III indican las dosis administradas (Indonesia Registry Center, 2020; National Library of Medicine, 2020c).

Con respecto al financiamiento de la empresa china Sinovac Biotech Ltd, se sabe que ha obtenido un crédito por 60 millones de yuanes del Banco de Beijing con una tasa de interés baja, además que la empresa ha hecho una inversión similar para la construcción de una nueva planta de producción que estará lista a finales de este año y tendrá como objetivo principal aumentar la capacidad de producción de su

vacuna, ya que Sinovac (con sede en Beijing) tiene como objetivo producir hasta 100 millones de dosis de *CoronaVac*, una vez que ésta sea aprobada por las instituciones reguladoras; Sinovac sabe que si su vacuna candidata de virus inactivados tiene éxito, la empresa podría tener demanda de cientos de millones de dosis en China y de fallar, la infraestructura que se está construyendo será empleada para proyectos de vacunas para otras enfermedades que también se están desarrollando dentro de la misma empresa (Liu *et al.*, 2020a).

7.1.2 Vacuna candidata de Wuhan Institute of Biological Products y Sinopharm.

Esta colaboración entre Wuhan Institute of Biological Products y la empresa farmacéutica China Sinopharm hizo posible la realización de otra vacuna anti COVID-19 a partir de virus inactivados, ha sido nombrada *CNBG Wuhan* y hasta hace poco más de un mes no se sabía nada sobre ésta (más que su plataforma de uso), llegando incluso a la Fase III sin haber compartido ningún resultado públicamente, lo cual resultó preocupante a la comunidad científica debido a que esta vacuna fue una de las seleccionadas por el gobierno chino para ser administrada a cientos de miles de trabajadores chinos en los sectores esenciales, esta iniciativa permitió aplicar algunas vacunas chinas a la población sin completar aún los ensayos clínicos, ahora los financiadores de la *CNBG Wuhan* han anunciado que donarán 200 mil dosis de esta vacuna a la ciudad de Wuhan para seguir vacunando a trabajadores y esperan obtener las aprobaciones necesarias para aplicar *CNBG Wuhan* al grueso de la población china este mismo año. Por otra parte se encuentran disponibles solo los resultados de la Fase I y II, las cuales se llevaron a cabo de manera simultánea (Liu *et al.*, 2020b; Organización Panamericana de la Salud *et al.*, 2020; Taylor, 2020).

Para la elaboración de *CNBG Wuhan* se aisló una cepa del SARS-CoV-2 (GenBank: MN996528) de un paciente en un hospital de Wuhan, células Vero fueron usadas para la propagación del virus y posteriormente se inactivó mediante dos pasos idénticos: usando β -propiolactona por 48 horas a una temperatura de 2 a 8 °C (en donde en el intermedio hubo un paso de ultrafiltración); posteriormente la vacuna se dejó adsorber en 0.5 mg de alumbre y se envasó junto con una solución tampón de fosfato salino. Los datos iniciales de la Fase I y II de esta vacuna inactivada se registraron el 12 de Abril del presente año en Chinese Clinical Trial Registry (número de registro: ChiCTR2000031809), en donde se anuncia que estos ensayos se llevaron a cabo en China (provincia He'nan), se trató de estudios intervencionistas,

aleatorizados, doble ciego y controlados con placebo, tuvieron como objetivo evaluar la seguridad, inmunogenicidad y persistencia de la vacuna *CNBG Wuhan* en personas sanas de entre 18 y 59 años. En el ensayo de Fase I participaron 96 voluntarios divididos en tres grupos, a los que se les administraron diferentes dosis (2.5, 5 y 10 µg/dosis) y un grupo control al que le administró solamente el adyuvante de la vacuna (hidróxido de aluminio), cada grupo recibió 3 inyecciones intramusculares en los días 0, 28 y 56. Con respecto al ensayo de la Fase II, hubo 224 adultos voluntarios y fueron asignados para recibir siempre la misma dosis (5 µg/dosis) pero para 84 pacientes se les aplicaron inyecciones los días 0 y 14, mientras que la misma cantidad de pacientes los días 0 y 21, además para cada programa de inmunización existía un grupo control (con 28 pacientes cada uno) al que solo se le inyectó el adyuvante (Chinese Clinical Trial Registry, 2020a; Xia *et al.*, 2020).

Para reportar los resultados de seguridad de esta Fase I / II, se midieron las reacciones adversas después de cada inyección además de realizarse pruebas de laboratorio (como análisis de sangre y orina para evaluar la toxicidad del producto) antes y a los 4 días después de administrar las inyecciones, para la Fase I las pruebas de seguridad de laboratorio antes y después de la vacunación no tuvieron cambios notables en ninguna de la dosis administrada, además se observó una tendencia general en donde las reacciones adversas aumentaron según el aumento de µg/dosis en donde 12.5%, 20.8%, 16.7% y 25.0% fueron los porcentajes de pacientes con reacciones adversas para el grupo control, 2.5, 5 y 10 µg/dosis respectivamente, para esta fase también se estimó la distribución de linfocitos en sangre (para identificar células T CD3⁺, CD4⁺, y CD8⁺) además de citocinas clave, antes y a los 14 días después de cada inyección, los resultados indican que tampoco se encontraron cambios notables a lo largo del tiempo y en los diferentes grupos; por su parte en la Fase II los pacientes recibieron 5 µg/dosis siempre, pero los pacientes que fueron inyectados los días 0 y 21 mostraron más probabilidad de tener efectos adversos que los que fueron inmunizados los días 0 y 14 (6% y 19%) respectivamente. En ninguna de las fases se observaron reacciones adversas graves, la reacción más común fue dolor en el lugar de la inyección y fiebre autolimitada, las cuales no requerían ningún tipo de tratamiento.

Para la inmunogenicidad se midieron los títulos de anticuerpos de unión a IgG específicos del SARS-CoV-2 y los anticuerpos neutralizantes 14 días después de la última inmunización de muestras de sangre recolectadas de los pacientes y mediante pruebas ELISA, en la Fase I se observó para los anticuerpos IgG específicos de SARS-CoV-2 que la dosis baja (2.5 µg/dosis) fue la que produjo mayor presencia de estos títulos con una media geométrica (GMT) de 415, seguida de la dosis media (5 µg/dosis) con GMT de 349 y 311 para el grupo de dosis alta

(10 µg/dosis); con respecto a los anticuerpos neutralizantes, el grupo que recibió la dosis más baja produjo una mayor cantidad de anticuerpos neutralizantes con GMT de 316, seguido del grupo de dosis alta con GMT de 297 y luego de dosis media con GMT igual a 206. Con respecto a la seroconversión (definida como un aumento de 4 veces los anticuerpos iniciales), se puede decir que para los anticuerpos neutralizantes se observó que los participantes de dosis baja y alta tuvieron una seroconversión del 100%, mientras que el grupo de dosis media un 95.8%; pero para los anticuerpos IgG específicos de SARS-CoV-2 se observó una seroconversión del 100% en todos los grupos de dosis; adicionalmente a esto se registró que la mayoría de los pacientes empezaron a producir anticuerpos después de la segunda inyección y al día 14 después de la tercera inyección registraron los niveles más altos de éstos.

Para la Fase II también se midieron los títulos de anticuerpos al día 14 después de la última inyección y se observó que el programa de vacunación al día 0 y 21 hizo que los participantes tuvieran más anticuerpos neutralizantes (incluyendo los específicos del SARS-CoV-2) por ejemplo, el grupo de dosis media tuvo como GMT 121 en el programa de vacunación de los días 0 y 14, mientras que tuvo 247 con el programa de vacunación de los días 0 y 21; para la misma dosis, los GMT del anticuerpo IgG específico al coronavirus fueron 74 cuando las inyecciones fueron aplicadas los días 0 y 14, y GMT fue de 215 cuando fueron aplicadas los días 0 y 21. Para los dos esquemas de vacunación en esta fase se observó una seroconversión del 97.6% de anticuerpos neutralizantes y para anticuerpos específicos de SARS-CoV-2 se seroconvirtieron el 100% de los voluntarios del esquema de vacunación del día 0 y 21, mientras que solo el 85.7% de los participantes del esquema de los días 1 y 14 se seroconvirtieron; en ambas fases (I y II) no hubo respuesta de anticuerpos detectables característicos del SARS-CoV-2 antes ni después de la aplicación de las inyecciones.

De esta manera se concluyó que la vacuna *CNBG Wuhan* mostró una tasa baja de efectos adversos (además de no presentar hasta ahora el fenómeno ADE) y con respecto a la inmunogenicidad todo parece indicar que se necesitará una vacuna de refuerzo y aunque el programa de vacunación de los días 0 y 21 parece ser el más adecuado, aún se necesitan más estudios para evaluar efectos adversos y aspectos de eficacia en una muestra de personas más grande (Fase III), otra observación importante realizada por el equipo de investigación es que pese a que la vacuna produjo fuertes respuestas de anticuerpos eso no significa que sea capaz de proteger de COVID-19, sin embargo estos aspectos están por resolverse (Xia *et al.*, 2020).

Una consideración importante sobre este estudio tiene que ver con que no se consideraron los anticuerpos neutralizantes generados por pacientes que se han recuperado de COVID-19; aunque no existe una cantidad umbral asociada a la protección total de la enfermedad, la comparación de títulos neutralizantes resulta un parámetro útil sobre la capacidad inmune que puede generar cualquier vacuna y no hacerlo complica la interpretación sobre si la vacuna realmente confiere inmunidad; pese a esto los autores declararon que los resultados de la Fase I y II habían tenido resultados favorables (tanto como los obtenidos en las vacunas candidatas que ahora se encuentran en Fase III de otras empresas desarrolladoras de vacunas como AstraZeneca, BioNTech y Moderna) sin embargo también reconocen que las comparaciones deben entenderse con cautela, ya que todos estos desarrolladores han usado métodos y plataformas distintos que dificultan la comparación (Mulligan, 2020; Taylor, 2020).

Es así como *CNBG Wuhan* se encuentra realizando un estudio clínico de Fase III (con un número de registro: ChiCTR2000034780) desde el 18 de Julio del 2020, se trata de un ensayo que considera a voluntarios sanos, mayores de 18 años en un ensayo aleatorizado, doble ciego y también controlado por un placebo, se lleva a cabo en Abu Dhabi de los Emiratos Árabes Unidos con dos grupos (de 50 00 participantes por cada grupo) a los que se les administran dosis diferentes (aunque el registro no especifica las dosis exactas) (Chinese Clinical Trial Registry, 2020b).

Con respecto al financiamiento de esta vacuna, se sabe que está siendo apoyado por el gobierno chino mediante los programas National Program on Key Research Project of China (con clave 2020YFC0842100) y el Major Science and Technology Project of the National New Drug Development of China (con clave 2018ZX09734-004), además de la compañía China National Biotec Group Co Ltd (con siglas CNBG –de allí el nombre de la vacuna–) (Xia *et al.*, 2020).

7.1.3 Vacuna candidata de Beijing Institute of Biological Products y Sinopharm.

La biofarmacéutica Sinopharm está a cargo de otra vacuna candidata elaborada a partir de virus inactivados pero esta vez con el Beijing Institute of Biological Products, esta asociación china nombró a esta candidata como *BBIBP-CorV* y fue elaborada a partir del aislamiento de tres cepas diferentes y dispersas en el árbol filogenético del SARS-CoV-2 (obtenidas de pacientes hospitalizados mediante frotis de faringe o lavado broncoalveolar), de las tres cepas obtenidas se seleccionó una según su tasa de replicación, similitud con cepas internacionales y la homología de la proteína S del SARS-CoV-2 (la cual fue del 100%), el virus fue purificado y para

su replicación se usaron células Vero y para su inactivación se usó β -propionolactona a temperaturas de -8°C , finalmente se verificó la presencia de proteínas virales mediante un análisis Western blot y una microscopía electrónica (Organización Panamericana de la Salud *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020).

Al igual que la otra vacuna elaborada por Sinopharm, no se ha dado demasiada información sobre los resultados de los ensayos de seguridad e inmunogenicidad de *BBIBP-CorV*, (a excepción de la publicación de los ensayos preclínicos que se explicarán a continuación), los desarrolladores se han limitado a lanzar comunicadores a través de redes sociales (en especial Weixin, la cual es una aplicación popular China), en donde han anunciado (sin dar ningún dato preciso) que su vacuna *BBIBP-CorV* ha dado buenos resultados de seguridad y es capaz de inducir anticuerpos neutralizantes, además de informar que Sinopharm construye instalaciones de producción de vacunas con bioseguridad de alto nivel a una velocidad sin precedentes, la cual será capaz de producir 120 millones de dosis vacunales por año en cuanto se encuentre en funcionamiento (Bloomberg News, 2020; China Bio, 2020).

Para evaluar la inmunogenicidad de la vacuna *BBIBP-CorV*, en los ensayos preclínicos se usaron como modelos animales a ratones, ratas, cobayas, conejos, monos cynomolgus y macacos Rhesus en los que se registró un aumento de anticuerpos neutralizantes al administrar *BBIBP-CorV* por vía intramuscular, 10 ratones BALB/c fueron divididos en grupos a los cuales se les asignaron diferentes dosis vacunales (2, 4 u 8 $\mu\text{g}/\text{dosis}$) con hidróxido de aluminio como adyuvante en solo una inyección intraperitoneal y se midieron los anticuerpos neutralizantes a los 7, 14, 21 y 28 días después de la primera inmunización, los resultados mostraron que hubo un 100% de seroconversión en todos los grupos a los que fue administrada la vacuna (independientemente de la dosis) a los 7 días, de manera paralela se inmunizaron la misma cantidad de ratones con las mismas dosis de *BBIBP-CorV* pero con dos aplicaciones (en donde la segunda aplicación era realizada al día 7, 14 ó 21) y aunque todos los grupos nuevamente alcanzaron el 100% de seroconversión a los 7 días de la primera aplicación, el nivel de inmunización fue mayor comparado con una única aplicación de *BBIBP-CorV*, siendo el día 0 y 21 el mejor intervalo de tiempo para alcanzar mayor cantidad de anticuerpos neutralizantes. Adicionalmente se probó también en ratones un programa de inmunización con las mismas dosis (2, 4 u 8 $\mu\text{g}/\text{dosis}$) pero con tres aplicaciones (los días 0, 7 y 14) y los niveles de anticuerpos neutralizantes se determinaron los días 7, 14, 21 y 28 después de primera inyección, la tasa de seroconversión al día 7 era 100% para todos los grupos y los resultados mostraron que el programa de inmunización de tres dosis generaba niveles de anticuerpos neutralizantes más altos que el programa de una y dos dosis.

La misma metodología del programa de inmunización de una sola aplicación se empleó para medir la inmunogenicidad de *BBIBP-CorV* en 5 conejos, 10 cobayas, y 10 ratas, los resultados finales indicaron al día 21 después de la primera inmunización todos los animales alcanzan un 100% de seroconversión; mientras que el programa de inmunización de tres aplicaciones fue replicado en 10 monos *cynomolgus*, 5 conejos, 10 cobayas y 10 ratas, se observó también que a los 21 días después de la primera inmunización se alcanza el 100% de seroconversión en todos los animales de este programa y tal como resultó para los ratones, el programa de tres aplicaciones resultó tener mayor inmunogenicidad para la vacuna que el programa de una aplicación.

Por otra parte, fueron usados 10 macacos Rhesus en los cuales se aplicó mediante inyecciones intramusculares el programa de doble inmunización (al día 0 y 14), fueron divididos en 2 grupos con diferentes dosis y un grupo placebo, a 4 macacos se les administró 2 µg/dosis, a otros 4 macacos 8 µg/dosis y al grupo placebo se le administró solución salina fisiológica y se les expuso a 10^6 TCID₅₀ del SARS-CoV-2 a los 10 días después de la última inmunización (antes de la exposición el título medio geométrico de anticuerpos neutralizantes (GMT) era de 215 para el grupo de 2 µg/dosis y 256 para el de 8 µg/dosis), los macacos tratados con placebo produjeron niveles bajos de anticuerpos neutralizantes con un título de 1:16, mientras que los niveles de estos anticuerpos fueron 1: 860 en el grupo de dosis alta y 1: 512 en el grupo de dosis baja. Se realizaron mediciones en la temperatura de los macacos y no se observaron cambios significativos los primeros 7 días después de la inoculación; los parámetros bioquímicos del suero en los macacos fueron medidos antes y después de la inoculación pero permanecieron constantes siempre.

También se realizaron pruebas con hisopos para medir su carga viral en garganta y ano a los 3, 5 y 7 días después de la inoculación con SARS-CoV-2, en ellas se encontró los macacos del grupo placebo presentaron carga viral durante todo el periodo de evaluación, los macacos del grupo de dosis baja y alta no presentaron carga viral en garganta detectable y dos de los cuatro macacos que recibieron la dosis alta de vacunación solo mostraron carga viral en pruebas anales; de la misma manera se llevaron a cabo observaciones para detectar carga viral en pulmones mediante exámenes histopatológicos cuando los animales fueron sacrificados y notaron que ningún macaco (de dosis baja o alta) tenía carga viral en ningún lóbulo pulmonar (cosa que contrastaba con la carga viral alta observable en el grupo que había recibido el placebo), mientras que los análisis histológicos en pulmones, señalaban que el grupo placebo tenía neumonía intersticial grave, mientras que los pulmones de los macacos que sí recibieron alguna dosis de *BBIBP-CorV* mostraban

cambios leves en pocos lóbulos, sin además mostrar signos de alguna infección dependiente de los anticuerpos (ADE).

Para evaluar la seguridad de esta vacuna de Wuhan Institute of Biological Products y Sinopharm se les inyectó intramuscularmente a 20 ratas Sprague-Dawley 3 dosis de (8 μg /dosis ó 24 μg /rata) de *BBIBP-CorV*, controlado por un grupo al que se le administró solamente una solución salina fisiológica, se les inoculó con el SARS-CoV-2 y se llevaron a cabo observaciones continuas por 14 días y se realizaron pruebas de anatomía al ser sacrificadas después del periodo de observación, ninguna rata murió ni tuvo signos clínicos de gravedad, tampoco hubo cambios visibles histopatológicos entre las ratas que recibieron el placebo y las que recibieron la vacuna, de esta manera los investigadores declaran que la dosis máxima tolerada es de 24 μg /rata, lo cual equivale a casi 900 veces más que la dosis administrada en humanos, lo cual podría dar indicios de la seguridad de la vacuna. Para evaluar otros aspectos de seguridad como la anafilaxia sistémica (reacción alérgica aguda provocada por una respuesta inmunitaria severa, generalizada y potencialmente mortal) se trabajó con 36 cobayas mediante inyecciones intramusculares e intravenosas, fueron divididos en 4 grupos que recibieron distintas dosis de la vacuna: 0.1xdosis/sensibilización, 0,2xdosis/estimulación (dosis baja), 1xdosis/sensibilización, 2xdosis/estimulación (dosis alta), solución salina fisiológica (grupo de control negativo), albúmina en sangre humana, 20 mg/sensibilización, 40 mg/estimulación (grupo de control positivo), para que ocurra la anafilaxia sistémica es necesario la presencia de sensibilizadores o estimulantes, en este caso se usaron varios sensibilizadores y excitaciones intravenosa a través del pie, de esta manera el grupo de control positivo fue altamente positiva, mientras que los cobayas que recibieron las dosis vacunales bajas y altas no tuvieron reacciones alérgicas ante los sensibilizadores utilizados, al igual que el grupo de control negativo. Otra prueba de seguridad para probar la toxicidad a largo plazo de *BBIBP-CorV* utilizó 40 monos cynomolgus, los cuales fueron divididos en cuatro grupos a los que se les inyectó por vía intramuscular 2, 4 u 8 μg /0.5 mL la vacuna una vez cada semana durante un mes, además de un grupo control, que recibió una inyección de solución salina fisiológica y no se presentó ningún caso en ninguno de los grupos de estudio de muerte, ni anomalías fisiológicas ni patológicas a los grupos a los que se les inyectó la vacuna. De esta manera de la investigación de Fase preclínica se concluyó que la inmunización de 2 μg /0.5 mL de *BBIBP-CorV* es capaz de inducir altos niveles de anticuerpos neutralizantes en seis especies diferentes de mamíferos (ratas, ratones, cobayas, conejos, monos cynomolgus y macacos Rhesus), por lo que protege eficazmente a estos animales de la infección COVID-19 (esto se observa en la ausencia de carga viral detectable en los pulmones a los 7 días posteriores a la

inoculación del virus), además de resultar segura y sin un aumento de la infección dependiente de los anticuerpos (ADE) (Wang *et al.*, 2020).

El 29 de Abril del 2020 se registró el ensayo clínico simultáneo de la Fase I / II de *BBIBP-CorV*, se trata de un ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con un placebo, el cual tiene como objetivo evaluar la seguridad e inmunogenicidad de esta vacuna inactivada, este ensayo incluye también niños, ya que el criterio de elegibilidad consideraba personas sanas de 3 años en adelante (tiene ChiCTR2000032459 como número de registro) y se llevó a cabo en He'nan, China; la aplicación consiste en inyecciones administradas en 3 dosis (baja, media, alta) y con distintos programas de días vacunación, los ensayos no especifican las dosis exactas ni los días entre las dosis vacunales. Mientras que la Fase III se trata también de un ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con un placebo (número de registro: NCT04560881) pero éste fue iniciado el 16 de septiembre de este año con 3 000 participantes argentinos de 18 a 85 años, a los que se les aplicarán 2 dosis de la *BBIBP-CorV* en un programa de vacunación del día 0 y 21, este registro tampoco especifica las dosis empleadas (Chinese Clinical Trial Registry, 2020c; National Library of Medicine, 2020d).

7.2 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan vectores virales.

En esta plataforma se rediseña a un virus que no tiene relación con SARS-CoV-2, con la finalidad de que sirva como vector para entregar la información genética del coronavirus a la maquinaria celular para la producción de proteínas de interés. La preocupación principal sobre estas vacunas es la inmunidad preexistente al vector utilizado y es que esto podría ocasionar que el sistema inmune destruya al vector viral sin que éste logre generar la respuesta inmune deseada, sin embargo para eliminar este inconveniente se han desarrollado algunas estrategias como la incorporación de una cápside al antígeno, dicha cápside tiene proteínas que le permiten incorporar adecuadamente el antígeno a la vez que lo protege hasta lograr la inmunogenicidad; estas vacunas basadas en vectores virales además poseen estabilidad a largo plazo e inducen fuertes respuestas inmunes, además que la industria farmacéutica tiene experiencia en la producción a gran escala de proteínas recombinantes por lo que su masificación tiene ventaja (Lowe, 2020a; Lowe 2020b; Zhang *et al*, 2016).

En las últimas décadas se han usado vectores adenovirales para la formulación de vacunas, tratamientos contra el cáncer, entre otras investigaciones científicas y es que los adenovirus son considerados los mejores virus para ser usados como vectores, ya que son inmunogénicos, inducen respuestas robustas del sistema inmunológico innato y adaptativo, el tamaño de su genoma permite una

manipulación adecuada y tiene un riesgo bajo de mutagénesis (porque su ADN no se integra a las células huésped) y son altamente efectivos como portadores de antígenos hacia las células huésped; estas cualidades han hecho que las vacunas más avanzadas contra el SARS-CoV-2 que se repasarán a continuación usen vectores adenovirales como: *ChAdOx1-nCov19* de University of Oxford y AstraZeneca, *Ad5-nCov* de CanSino Biological Inc. y Beijing Institute of Biotechnology y *Gam-COVID-Vac* de Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Zhang *et al*, 2016).

7.2.1 Vacuna candidata de University of Oxford y AstraZeneca.

La vacuna *ChAdOx1-nCov19* o *AZD1222* está siendo desarrollada por University of Oxford y la empresa farmacéutica AstraZeneca (ambas con sede en Reino Unido), esta vacuna usa un vector de adenovirus de chimpancé con replicación deficiente de la empresa (también británica) Vaccitech, esta vacuna vectorizada tiene como función activar (gracias a una secuencia codificante) la producción de la proteína S del SARS-CoV-2 para dar paso a la producción de anticuerpos. Se han realizado varios estudios preclínicos con esta vacuna de Oxford y AstraZeneca en los que se ha demostrado que esta vacuna tiene la capacidad de activar al sistema inmunitario e inducir una respuesta inmune en ratones; otros estudios complementarios de un laboratorio de National Institutes of Health (NIH) en Colorado, EE.UU. demostraron que también protege contra la propagación viral en macacos Rhesus, donde se observa una fuerte estimulación del sistema inmune adquirido (con sus dos grandes pilares, la inmunidad humoral y celular) con tan solo una aplicación de esta vacuna, además de no observarse evidencia de la potenciación de la enfermedad dependiente de los anticuerpos producidos (efecto ADE) después de la vacunación (Folegatti *et al.*, 2020; Lowe 2020b).

En estos modelos animales se hicieron pruebas de desafío (contagio deliberado después de la vacunación) para posteriormente hacer pruebas de seguridad e inmunogenicidad mediante pruebas como ELISA, IFN γ ELISpot y tinción de citocinas. En el caso del estudio con ratones, se usaron dos cepas (5 ratones BALB/c y 8 ratones CD1) los cuales fueron divididos en dos grupos, para suministrar *ChAdOx1 nCoV-19* mediante una inyección y otro al que se le suministró una vacuna control, el grupo de ratones al que se le inyectó la vacuna *ChAdOx1 nCoV-19* mostró títulos IgG, IgM específicos del SARS-CoV-2 y linfocitos TH1 (respaldados por altos niveles de expresión de IFN γ , TNF y bajos niveles de expresión de IL-4 e IL-10); sin embargo no se detectaron este tipo de anticuerpos ni células T en el grupo que recibió la vacuna control.

Por otra parte los macacos Rhesus fueron elegidos como modelos animales debido a que presentan una infección seria en el tracto respiratorio superior e inferior y se usaron 6 macacos por grupo en dos programas de vacunación (el programa de una inyección intramuscular 28 días antes de la exposición de SARS-CoV-2 o dos inyecciones aplicadas 56 y 28 días antes de la exposición del virus), la vacunación tenía 2.5×10^{10} partículas virales por dosis de *ChAdOx1 nCoV-19*, de la misma manera se usaron 6 primates más como grupo control (5 con el programa de una sola aplicación y 1 con el de dos aplicaciones de una vacuna control), a los 14 días después de la vacunación ya se encontraba presencia de títulos IgG específicos de SARS-CoV-2 en el grupo que recibió *ChAdOx1 nCoV-19* (con títulos de 400-6 400 para el grupo que recibió solo una dosis y 400-19 200 al que recibió dos aplicaciones), los anticuerpos neutralizantes también tuvieron un aumento significativo en los macacos que recibieron una segunda aplicación (con títulos de 5-40 para el grupo de una aplicación y 10-160 al grupo de dos aplicaciones); de la misma manera no se detectaron anticuerpos neutralizantes específicos del virus en los macacos del grupo control. Se detectaron respuestas de células T específicas de SARS-CoV-2 el día de la exposición al virus y no se encontraron diferencias significativas entre los distintos programas de vacunación con *ChAdOx1 nCoV-19*. Se realizaron lavados broncoalveolares a los macacos y se detectó presencia del ARN genómico viral (ARNg) y ARN subgenómico viral (sgARN, el cual se produce con la replicación del virus pocos días después de la inoculación) en todo el grupo control y en 2 macacos que recibieron *ChAdOx1 nCoV-19*, aunque la carga viral en éstos últimos fue significativamente menor; por otra parte se detectaron ARNg viral en frotis nasales de todos los animales sin diferenciarse ningún día los animales vacunados y los de control.

Con respecto a la sintomatología clínica, es de destacarse que tras la exposición de *ChAdOx1 nCoV-19* o la vacuna control hubo diferencias significativas, en las que los animales vacunados con *ChAdOx1 nCoV-19* no presentaron ninguna patología pulmonar y en general tuvieron una puntuación clínica menor en comparación con los que recibieron la vacuna control, ya que éstos últimos mostraron aumento en la frecuencia respiratoria en un tiempo más prolongado que los que sí recibieron la vacuna candidata real. Al sacrificar a los animales se hicieron estudios histológicos e inmunohistoquímicos en los pulmones de los macacos, se observó que los que recibieron la vacuna candidata anti COVID-19 no presentaron ninguna evidencia de enfermedad pulmonar visible, ni se detectó el antígeno del SARS-CoV-2, aunque algunos macacos sí presentaron una carga viral menor en al menos una parte de los pulmones (2 macacos con carga viral de ARNg y 1 con carga sgRNA en cada programa de vacunación). En 3 de los 6 macacos control se presentaron lesiones y

cambios histológicos pulmonares, con una carga de ARN viral alta en los tejidos pulmonares en 5 de los 6 macacos, además de presencia del antígeno viral. Este estudio indicaría que la vacuna previene la replicación del coronavirus en el tracto respiratorio inferior pero aún sin reducir la carga viral en la nariz, lo cual podría deberse a las altas dosis del virus a los que los macacos fueron expuestas, sin embargo es importante tener presente ese aspecto (Doremalen *et al.*, 2020).

Bill Haseltine es un médico de Harvard Medical School y se ha presentado como un fuerte detractor de la afirmación que asegura que la vacuna de Oxford previene contra la neumonía viral COVID-19 en monos Rhesus y es que asegura que los monos vacunados con *ChAdOx1 nCoV-19* realmente no lograron neutralizar la carga viral ya que se recuperó ARN viral de sus secreciones nasales en todos ellos (lo cual resulta totalmente inconveniente ya que las pruebas para detectar COVID-19 se realizan mediante secreciones nasales también), lo cual indica que todos los macacos vacunados estaban también infectados, solo que tenían una atenuación de los síntomas de la enfermedad, cosa que por ejemplo contrasta con los resultados preclínicos de otras vacunas como la desarrollada por Sinovac, en donde los macacos no presentaron presencia del virus en la secreciones nasales (ni en los pulmones o recto) después de la aplicación de la vacuna.

Parte de la crítica también señala que la cantidad de anticuerpos neutralizantes encontrada en los macacos vacunados es muy baja, ya que los anticuerpos neutralizantes generados por las vacunas realmente efectivas se pueden diluir hasta mil veces y aun así conservar actividad, sin embargo los anticuerpos generados por la *ChAdOx1 nCoV-19* apenas llegan a la dilución número 40 antes de perder actividad; además al medir la cantidad de virus en los pulmones de los macacos vacunados se detectó carga viral en algunos de ellos. Sin embargo pese a que la vacuna no genera una inmunidad suficientemente buena, sí protegió a los animales de un COVID-19 severo; es decir, la vacuna desarrollada por Oxford ofrece solo una protección parcial de la enfermedad en macacos Rhesus y es probable que en humanos sea de la misma manera, la pregunta obligada es si la protección parcial de esta vacuna será suficiente para controlar la pandemia en los sitios donde será administrada, Haseltine asegura que no lo será ya que no proporcionará la inmunidad colectiva necesaria para que todo vuelva a una relativa normalidad, pero es probable que aun con esto la vacuna logre evitar el empeoramiento de la neumonía y condiciones clínicas que hacen que las personas necesiten un ventilador para poder respirar, por lo que en ese sentido podría salvar vidas (sobre todo de adultos mayores y personas con comorbilidades) aún con su inmunidad parcial. En ese sentido parece indicar que la vacuna *ChAdOx1 nCoV-19*

se parecerá más a la vacuna contra la gripe (la cual solo reduce la gravedad de los síntomas pero no siempre previene de la enfermedad).

Desde luego la observación de Haseltine no ha sido tomada a la ligera debido a la trayectoria científica y reconocimiento que tiene en el área médica, ya que su equipo fue pionero en desarrollar un tratamiento genómico para el VIH (SIDA), actualmente es presidente de ACCESS Health International que se dedica a incorporar avances cuánticos en la tecnología médica emergente. Esta crítica también es apoyada por otros expertos en el tema como John Mascola el cual es jefe de National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) de los National Institutes of Health en EE.UU; el cual se muestra con una postura más optimista que Haseltine pero aun así desalentadora para las grandes expectativas puestas en las vacunas (las cuales se perciben como –la solución a la pandemia–), Mascola considera que la vacuna todavía podría tener la potencialidad de detener la pandemia aunque debido a su eficacia parcial podría tomar más tiempo y muchos más vacunados de los que se tenía previsto, además una vacuna con estas características también presenta más dificultades al momento de valoración de los ensayos clínicos, ya que se requerirá una mayor cantidad de voluntarios y datos serológicos para determinar más precisiones sobre su efectividad. Establecer expectativas puede ser tan importante como crear vacunas y terapias, pero las vacunas no servirán de nada si son rechazadas por un público confundido acerca de la eficacia o decepcionado por algo que no genere una protección completa.

Ante el panorama decepcionante donde la *ChAdOx1 nCoV-19* no está resultando tan buena como se pensaba inicialmente resuenan las palabras de Peter Marks, director de Center for Biologics Evaluation and Research de la FDA, el cual ha afirmado que encontrar una vacuna que logre generar una inmunidad completa y colectiva sería lo ideal, pero que ante la situación pandémica actual realmente trabajarán con lo que se tenga (Haseltine, 2020a; Haseltine, 2020b; Usdin, 2020).

Los ensayos clínicos de la Fase I y II para esta vacuna se realizaron de forma simultánea en Sudáfrica y Reino Unido, para Sudáfrica empezaron a realizarse a partir del 24 de Junio del 2020 en 2 000 adultos (de los cuales 1 950 eran adultos sanos y 50 de ellos viven con VIH), con edades de 18 a 65 años (número de registro del ensayo PACTR202006922165132), se trató de un ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo (al cual se le inyectó solución salina fisiológica), hubo dos programas de vacunación: con una sola inyección y otro con 2 dosis aplicadas los días 0 y 28, la concentración de la vacuna fue de 5×10^{10} partículas virales por dosis (Pan African Clinical Trial Registry, 2020).

Para la Fase I y II (con número de registro NCT04324606) que inició el 23 de abril del presente año y fue llevada a cabo en varios lugares de Reino Unido (Southampton, Bristol, Oxford y Londres) se aplicaron una o dos dosis (al día 0 y 28) vía inyecciones intramusculares según el programa al que fueran seleccionados los grupos, en total fueron 1 077 adultos sanos de entre 18 y 55 años para recibir 5×10^{10} partículas virales por dosis (cabe mencionar que la dosis vacunal ha sido elegida por la experiencia del equipo de trabajo en la investigación de *ChAdOx1 MERS*), este ensayo fue simple ciego y además usó como control otra vacuna, la *MenACWY* la cual es una vacuna antimeningocócica conjugada, los resultados de los primeros tres meses ya se encuentran disponibles pero todos los participantes serán monitoreados hasta un año después de la vacunación (EU Clinical Trials Register, 2020a; Folegatti *et al.*, 2020; National Library of Medicine, 2020e).

Para esta fase llevada a cabo en varios centros de Reino Unido se midieron las respuestas de la inmunidad humoral antes y después de los programas de vacunación mediante pruebas ELISA que detecta IgG total contra la proteína S del SARS-CoV-2 y diversos ensayos de neutralización: microneutralización de placa de Public Health England (PHE MNA), prueba de neutralización por reducción de placas Public Health England (PHE PRNT), ensayo de neutralización del virus de Marburg y un ensayo de neutralización de pseudovirus con el fin de obtener la correlación de títulos entre las distintas pruebas, la prueba de neutralización que tuvo mayor correlación con los ensayos ELISA fue el ensayo de neutralización del virus de Marburg con $R^2=0.67$. Por otra parte, 543 participantes recibieron *ChAdOx1 nCoV-19* (10 de ellos con una dosis de refuerzo al día 28 y el resto con un programa de vacunación de solo una dosis) mientras que 534 participantes recibieron la vacuna placebo *MenACWY*. Se observó que todos los participantes en el grupo de *ChAdOx1 nCoV-19* generaron anticuerpos IgG anti proteína S del SARS-CoV-2, el programa de vacunación de dos dosis resultó en la generación de más anticuerpos contra la proteína S del virus comparado por el programa de una sola dosis y es que las respuestas ELISA fueron de 157 UE al día 28 después de la primera vacunación y aumentaron a 639 UE después de la segunda dosis; además las respuestas de anticuerpos neutralizantes se correlacionaron fuertemente con los niveles de anticuerpos medidos por ELISA y es que todos los participantes que tuvieron una dosis de refuerzo también tuvieron alta actividad neutralizante.

Se seleccionaron 35 participantes que recibieron *ChAdOx1 nCoV-19* en el programa de una aplicación y 9 voluntarios en el programa de dos dosis para realizarles la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT₅₀ y PHE MNA₈₀), pruebas que determinan hasta qué punto el suero se puede diluir y aun así reducir la formación de SARS-CoV-2 en un 50 u 80%, los resultados al día 28 de la vacunación y para los voluntarios que recibieron una sola dosis de la vacuna indicaron que para PRNT₅₀ se obtuvo un GMT de 218 en 100% de los participantes y para la PHE

MNA₈₀ un GMT de 51 en 91% de los voluntarios, mientras que para los voluntarios que recibieron dos dosis se induce un GMT de 136 en el 100% de estos voluntarios. En el ensayo Marburg VN, se seleccionaron 37 voluntarios del programa de una dosis y 10 del programa de dos aplicaciones, se registró que el 62% de los voluntarios que recibieron una dosis tenían anticuerpos neutralizantes que inducían una inhibición completa del efecto citopático causado por el SARS-CoV-2 al día 56 después de la vacunación, pero el 100% de los participantes del programa de vacunación de dosis mostraba una inhibición total con un GMT de 29.

Los anticuerpos generados por *ChAdOx1 nCoV-19* llegaron a su punto máximo el día 28 después de la vacunación pero permanecieron en niveles altos hasta el día 56, antes de iniciar los programas de vacunación el 4% de los participantes presentaba niveles altos de los anticuerpos neutralizantes contra la proteína de pico del SARS-CoV-2, lo que indica una infección asintomática previa, mientras que el 18% de los participantes también poseían dichos anticuerpos pero en niveles más bajos; también el 1% poseía anticuerpos neutralizantes anti-*ChAdOx1* en niveles altos, pese a esto los autores del ensayo declararon no encontrar relación entre los anticuerpos contra la vacuna y la generación de anticuerpos contra el SARS-CoV-2. Adicionalmente y a manera de comparación se obtuvieron muestras de plasma de pacientes adultos que habían adquirido la infección por SARS-CoV-2 y que se encontraban ingresados en el hospital y de trabajadores sanitarios asintomáticos, estas muestras de plasma fueron analizadas para servir como referencia de las propiedades inmunológicas del COVID-19, se observó que los niveles de anticuerpos generados con la *ChAdOx1 nCoV-19* en el programa de una dosis fue similar a los anticuerpos presentes en el suero de los pacientes.

Por su parte la inmunidad celular fue evaluada debido a que el grupo de investigación consideró que juegan un papel importante en la mitigación de una infección por COVID-19 y porque se han observado que personas asintomáticas son capaces de desarrollar una respuesta sólida de células T en ausencia de anticuerpos detectables, esta inmunidad fue evaluada mediante un ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISpot) y dio como resultado un notable aumento de las respuestas de las células T características de la proteína S del SARS-CoV-2 desde los primeros 7 días después de la inmunización pero alcanzando su pico máximo al día 14 (en donde se hallaron 856 células formadoras de manchas por cada millón de células mononucleares en sangre periférica) y disminuyendo a 424 al día 56, además es importante mencionar que no se observó un aumento en las respuestas celulares después de la inyección de refuerzo de la vacuna.

La seguridad fue evaluada durante 28 días después de la inmunización y los eventos adversos graves durante todo el período de seguimiento, se hicieron

también extracciones de muestras de sangre para realizar evaluaciones clínicas de seguridad e inmunología, se observó que las reacciones locales y sistémicas más comunes se presentaron con mayor frecuencia en los grupos que recibieron *ChAdOx1 nCoV-19*, pero se trataron de síntomas de intensidad de leve a moderada como dolor, fiebre, escalofríos, dolor muscular y de cabeza, además los síntomas de algunos pacientes fueron controlados con paracetamol lo cual hizo que mostraran menos molestias (reduciendo los casos casi la mitad y comparados con los pacientes que no recibieron ningún tratamiento). Por otra parte la mayoría de los pacientes que recibieron *MenACWY* pero sobre todo *ChAdOx1 nCoV-19* reportaron tener fatiga y dolor de cabeza (lo que las convierte en las reacciones sistémicas de mayor frecuencia), pese a esto los síntomas desaparecieron en máximo un día después de la vacunación, cabe destacar que los voluntarios que recibieron *ChAdOx1 nCoV-19* en dos dosis reportaron menos reacciones adversas en su vacuna de refuerzo que en la recibida en el día cero. Por su parte las extracciones de sangre para análisis clínico mostraron eventos adversos autolimitados y de gravedad de leve a moderada, como cambios hematológicos transitorios en 46% de los participantes que recibieron *ChAdOx1 nCoV-19*, lo cual contrasta con el 7% de los voluntarios que recibieron *MenACWY*, sin embargo en este grupo control hubo un evento adverso grave de anemia hemolítica que se produjo 9 días después de la dosis vacunal.

En conclusión, *ChAdOx1 nCoV-19* fue segura (la reactogenicidad se redujo con paracetamol) y los efectos adversos fueron de gravedad leve o moderada, la vacuna también resultó ser inmunogénica, el programa de una sola dosis provocó respuestas humorales y celulares contra el SARS-CoV-2 pero la inmunización con la dosis de refuerzo aumentó los niveles de anticuerpos neutralizantes anti SARS-CoV-2; se realizaron distintos ensayos de neutralización de anticuerpos y aunque los resultados de cada uno muestran cierta correlación los resultados tienen discrepancias entre sí, esto destaca la necesidad de la construcción de una infraestructura centralizada para la obtención de vacunas de calidad de la manera más rápida posible. Por otra parte los resultados obtenidos sobre las respuestas de las células T concuerdan con la información previa de las vacunas vectorizadas con un adenovirus, en donde se ha visto que son capaces de inducir una inmunidad celular fuerte; la limitación del estudio es clara, la ausencia de población propensa de un COVID-19 severo, por lo que otros estudios tendrán que incluir otros grupos poblacionales de diferentes edades, con comorbilidades o en poblaciones étnicas y diversas geográficamente, para lo que la *ChAdOx1 nCoV-19* ya está siendo probada también desde el mes de abril en otro estudio de Fase II y III (número de identificación 2020-001228-32) en Reino Unido en personas mayores de 65 años (240 participantes), niños de 2 a 11 años (60 participantes) y adultos de 18 a 64 años (12 090 participantes), este último grupo tiene un subgrupo de individuos con

VIH positivo que recibe terapia antirretroviral y que los hace poseer una carga viral del VIH indetectable; se trata también de un estudio con programas de una y dos dosis de *ChAdOx1 nCoV-19* inyectable intramuscularmente controlado con placebo (*MenACWY*) (EU Clinical Trials Register, 2020b; Folegatti *et al.*, 2020).

Otro ensayo de Fase II y III se está realizando en la India, empezó el 24 de Agosto del 2020 con 1 600 voluntarios, los cuales recibieron 2 dosis vacunales los días 1 y 29, se trata de un ensayo aleatorizado para evaluar la seguridad e inmunogenicidad de *Covishield* (la primera vacuna india contra COVID-19 elaborada por Serum Institute of India) y de la *ChAdOx1 nCoV-19* realizada por University of Oxford y AstraZeneca, controlado con placebo y dirigida para adultos indios sanos de 18 a 99 años, el cegamiento es para el participante, investigador, evaluador de resultados y operadores (Clinical Trials Registry India, 2020).

Con respecto a los estudios de Fase III de la *ChAdOx1 nCoV-19*, se sabe que se están llevando a cabo en varios centros: el 26 de Mayo del presente año empezaron un estudio con 2 000 participantes sanos en Brasil (número de registro ISRCTN89951424) de entre 18 y 55 años, usando como control también *MenACWY* y llevando a cabo un enmascaramiento cuádruple (participante, proveedor de atención, investigador y evaluador de resultados); otro lugar en el que está siendo llevada a cabo la Fase III de esta vacuna es EE.UU. (número de registro NCT04516746) con 30 000 adultos de más de 18 años, empezó el 18 de Agosto y se trata de un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. El 26 de agosto del 2020 se empezó otro estudio de Fase III en la Federación de Rusia (número de registro NCT04540393) con 100 participantes mayores de 18 años, los cuales recibieron 2 dosis de *ChAdOx1 nCoV-19* vía intramuscular al día 1 y 29 con una concentración de 5×10^{10} vp (International Standard Randomised Controlled Trial Number, 2020; National Library of Medicine; 2020f; National Library of Medicine; 2020g).

Recientemente se ha cuestionado la seguridad de esta vacuna desarrollada por University of Oxford y AstraZeneca y es que el 8 de Septiembre de este año los fabricantes anunciaron que pausarían sus ensayos de Fase III en Brasil, Sudáfrica y el Reino Unido por un evento adverso pero sin especificar la gravedad o la fecha exacta de cuándo ocurrió el incidente, aunque casi instantáneamente se filtró información de una llamada entre Pascal Soriot (el director ejecutivo de AstraZeneca) y los inversores JP Morgan en donde se decía que la razón por la que pararon dichos ensayos se debió a que una voluntaria desarrolló los síntomas de una mielitis transversa al poco tiempo de haber recibido la *ChAdOx1 nCoV-19*, la cual es un enfermedad poco común en donde hay una inflamación de la médula espinal debido a una pérdida de la mielina desencadenada por varios factores ambientales, (esta enfermedad compromete la coordinación y sensibilidad de los

miembros superiores y puede evolucionar a una paraplejia con disfunción vesical e intestinal); según hojas informativas de los registros de los ensayos clínicos y voluntarios que han participado en el estudio declaran que esta sería la segunda ocasión en la que se detienen los ensayos clínicos en Reino Unido, parece ser que un voluntario ya había desarrollado síntomas de mielitis transversa pero se reanudaron los ensayos sin mayores complicaciones y se clasificó ese suceso como una "enfermedad neurológica no relacionada". Este suceso ha llamado la atención de las agencias farmacéuticas estadounidenses (quienes por el momento presentan una presión política para la aprobación de una vacuna candidata antes de que acaben las elecciones presidenciales de EE.UU.) y de la comunidad científica, quienes demandan mayor transparencia en los datos de seguridad de esta vacuna (Feuerstein; 2020b; Martínez *et al*, 2018; Phillips *et al*, 2020).

Después del 8 de Septiembre, transcurrió apenas una semana cuando University of Oxford y AstraZeneca anunciaron que reanudarían los ensayos clínicos interrumpidos por una "reacción adversa", University of Oxford dijo en un comunicado de prensa que era de esperarse que algunos participantes en esta fase no se sintieran del todo bien pero que se trataba de un procedimiento normal, esto sin dar más explicaciones sobre el efecto adverso y sin siquiera mencionar la mielitis adversa (BBC News Mundo; 2020a).

La etiología de la mielitis transversa así como de otros padecimientos neurológicos como el síndrome de Guillain-Barré se han asociado a infecciones víricas o aplicaciones de vacunas como la de la hepatitis B, sarampión, paperas, rubéola, difteria, tétanos, tos ferina y otras (en donde las afecciones neurológicas se han desarrollado varios días o hasta 3 meses después de recibir la vacuna), por otra parte también se han reportado casos de mielitis transversa aguda por infección de SARS-CoV-2, de esta manera se sospecha que un COVID-19 no solo puede causar manifestaciones neurológicas comunes como la anosmia (pérdida total del olfato) o disgeusia (alteración en el sentido del gusto) sino otras complicaciones neurológicas menos comunes como el síndrome de Guillain-Barré o accidentes cerebrovasculares y es que el COVID-19 provoca una cascada inflamatoria que puede perjudicar múltiples sistemas, como en la mielitis transversa en donde las complicaciones inflamatorias afectan la mielina en la médula espinal (Agmon *et al.*, 2009; Valiuddin *et al.*, 2020).

En la historia de EE.UU. existe un caso en el que estuvo asociada la aplicación de una vacuna de virus inactivados contra la gripe con 450 casos del síndrome de Guillain-Barré, en 1976 una cepa de influenza completamente nueva causó afectaciones en el estado de New Jersey a cientos de personas, este virus se estudió en el Centers for Disease Control and Prevention (CDC) en Atlanta y se relacionó genéticamente con el virus responsable de la pandemia de gripe de 1918

que cobró la vida de 100 millones de personas en el mundo por lo que los funcionarios de salud pública liderados por el ex presidente Gerald Ford planificaron una campaña masiva de vacunación por el temor de una nueva pandemia, a los 10 meses ya se habían vacunado 45 millones de personas (25% de la población estadounidense de ese entonces).

Esta campaña de vacunación estuvo llena de complicaciones, incluso los fabricantes de vacunas dieron un ultimátum al gobierno federal para tener una indemnización contra posibles reclamaciones de reacciones adversas, a los pocos meses después se registraron la muerte de 3 personas mayores tras recibir la vacuna en la misma clínica y aunque se determinó que no había relación causal entre las muertes y la vacuna, las sospechas de la seguridad de la vacuna se atenuaron cuando 450 personas vacunadas adquirieron el síndrome de Guillain-Barré; al mismo tiempo, con más evidencia epidemiológica y nuevas pruebas de laboratorio descartaron que la nueva enfermedad tuviera si quiera relación con el virus que causó la epidemia en 1918 (Kreston, 2013; Sencer *et al.*, 2006).

Pese a esto existen figuras académicas y políticas como el Institute for Vaccine Safety del Department of International Health en la Johns Hopkins University School of Public Health que están en contra de que las vacunas puedan provocar estos padecimientos neurológicos y es que argumentan que no existen suficientes pruebas para vincular el uso de las vacunas aprobadas con casos de mielitis transversa (Institute for Vaccine Safety; 2020).

Muchos países, incluidos EE.UU, Australia, Japón, algunos más de Latinoamérica y la Unión Europea han reservado millones de dosis de *ChAdOx1 nCoV-19*, llegando a ser una de las vacunas dentro de las cuales hay mayores expectativas (hasta el mes de Agosto ésta era la vacuna más solicitada, con pedidos de hasta 2 940 millones de dosis), esta vacuna ha sido financiada por múltiples gobiernos y organizaciones como la Fundación Bill y Melinda Gates, el Comité de Investigación Médica de Sudáfrica, el gobierno de EE.UU. y Reino Unido (BBC News Mundo; 2020b; Murphy, 2020; Pan African Clinical Trial Registry, 2020; Phillips *et al*, 2020).

7.2.2 Vacuna candidata de CanSino Biological Inc. y Beijing Institute of Biotechnology.

La vacuna nombrada como *Ad5-nCov* fue elaborada por CanSino Biological Inc. con el Beijing Institute of Biotechnology (ambos con sede en China), esta vacuna se trata de un vector viral de adenovirus llamado Ad5 el cual infecta fácilmente a las

células humanas y al igual que el vector Ad2 ha sido ampliamente utilizados como vectores virales, los adenovirus son virus de ADN icosaédricos con diámetros de aproximadamente 90 a 100 nm, fueron aislados en humanos desde 1953 y actualmente se reconocen más de 50 serotipos en nuestra especie, sin embargo se sabe que también existen en bovinos, ovinos, murinos, caninos, equinos, porcinos y hasta caprinos, estos virus provocan una enfermedad respiratoria leve que puede empeorar con la edad y comorbilidad de otras enfermedades. La vacuna *Ad5-nCov* es defectuosa en su replicación pero que es capaz de expresar la glicoproteína de pico del SARS-CoV-2, se realizó mediante la clonación de un gen de la glicoproteína de pico y el gen de una proteína llamada “activador tisular del plasminógeno” del vector Ad5 (Khare *et al.*, 2011; Lowe, 2020b; Zhu *et al.*, 2020a).

En el mes de marzo se registraron los datos de la Fase I para *Ad5-nCov* (número de registro: ChiCTR2000030906) en Wuhan, China con 108 voluntarios de entre 18 y 60 años, a los cuales se les dividieron en tres grupos para recibir una dosis baja (5×10^{10} vp), media (1×10^{11} vp) o alta (1×10^{11} vp) de la vacuna vía inyección intramuscular, se trató de un ensayo no aleatorio y de etiqueta abierta (en donde el paciente e investigador sabían la dosis aplicada) (Chinese Clinical Trial Registry; 2020d).

La seguridad de este ensayo de Fase I fue evaluada durante los primeros 28 días después a la vacunación (los primeros 14 días por los investigadores y los días restantes mediante tarjetas emitidas por los voluntarios), no se presentaron eventos adversos graves y todos los grupos presentaron al menos una reacción adversa dentro de los primeros 7 días posteriores a la vacunación (83% para los de dosis baja, de la misma manera 83% para los de dosis media y 75% para los de dosis alta); es decir, no se observaron diferencias significativas entre el número total de las reacciones adversas y los grupos de tratamiento, además la mayoría de las reacciones adversas fueron de gravedad leve o moderada, los eventos más comunes fueron dolor en el lugar de la inyección, fiebre, fatiga, dolor muscular o de cabeza pero ninguno duró más de 48 horas. Es interesante destacar que la alta inmunidad preexistente al vector Ad5 estuvo asociado a los casos de fiebre; adicionalmente se realizaron pruebas de seguridad de laboratorio al día 7 después de la vacunación (como recuento de glóbulos blancos, linfocitos, neutrófilos, plaquetas, hemoglobina, glucosa en sangre en ayunas, entre otros) para descartar cualquier efecto tóxico posterior a la vacunación, en estos estudios se observó que del total de los pacientes y después de la vacunación el 8% tuvo un ligero aumento de bilirrubina, 9% aumento de alanina aminotransferasa y 4% hiperglucemia en ayunas, sin embargo estas observaciones no fueron clasificadas como casos clínicamente importantes.

Para evaluar la inmunogenicidad de la *Ad5-nCov* se midieron los anticuerpos mediante una prueba ELISA y para detectar las respuestas de los anticuerpos neutralizantes se realizaron pruebas de neutralización del SARS-CoV-2 y neutralización de pseudovirus, en estas pruebas se observó que los tres grupos tuvieron respuestas de anticuerpos anti-RBD del SARS-CoV-2 negativas antes del estudio y empezaron a aumentar a partir del día 14 llegando a una respuesta máxima de anticuerpos al día 28, en donde la media geométrica (GMT) de los títulos de anticuerpos fue más elevada para la dosis alta (1 445) en comparación con las dosis media (806) y baja (615), se puede añadir que 97% de los voluntarios que recibieron la dosis baja tuvieron un aumento de al menos 4 veces los anticuerpos neutralizantes, 94% para los que recibieron la dosis media y 100% en los de la dosis alta; observaciones parecidas se registraron para los anticuerpos neutralizantes y es que al día 28 se observaron también sus puntos máximos, en donde GMT fue de 34 para la dosis alta, 16 para el grupo de dosis media y 14 para el de dosis baja.

Para evaluar los anticuerpos neutralizantes anti-Ad5 antes y después a la vacunación se realizaron ensayos de neutralización de suero y en ellos se observó que aproximadamente el 50% de los voluntarios tenían anticuerpos neutralizantes preexistentes para este vector pero solo los participantes que tenían títulos altos de estos anticuerpos (25% de los participantes que recibieron la dosis baja, 37% de los dosis media y 63% en la dosis alta) tuvieron una seroconversión comprometida con resultados de anticuerpos neutralizantes para el SARS-CoV-2 menores que la media, independientemente de la dosis recibida; las respuestas de los linfocitos T también se evaluaron con citometría de flujo e inmunospot ligado a enzimas (ELISPOT) y se registró que al iniciar el estudio estas células eran indetectables en todos los participantes pero llegaron a su punto máximo al día 14 después de la vacunación (20.8 para el grupo de dosis baja, 40 para el de dosis media y 58 en la dosis alta de células T detectadas por cada 100 000 células) pero con una ligera disminución al día 28; las células T CD4⁺ y CD8⁺ también fueron evaluadas mediante la secreción de IFN γ , interleucina-2 (IL-2) y el factor de necrosis tumoral α (TNF α) con ensayos de tinción de citocinas intracelulares en células mononucleares de muestras de sangre con citometría de flujo, se detectó en todos los grupos de dosis IFN γ de las células T CD4⁺ y CD8⁺ a partir del día 14 después de la vacunación, pero la expresión de TNF α de las células T CD4⁺ y CD8⁺ en este día fueron mayores en el grupo de dosis alta, seguido del grupo de dosis media y baja; de esta manera al día 28 el 78% de los participantes en el grupo de dosis baja, 92% de los participantes del grupo de dosis media y 100% de participantes en el de dosis alta mostraron células T capaz de aumentar la producción de los anticuerpos neutralizantes.

De esta manera se concluyó que esta vacuna contra el COVID-19 es tolerable e inmunogénica para adultos sanos y a los 28 días después de la vacunación, debido a que una sola dosis de las tres presentaciones fue capaz de inducir anticuerpos específicos y células T en la mayoría de los voluntarios (aunque la dosis alta fue más inmunogénica también fue la dosis asociada a mayor reactogenicidad), sin embargo las reacciones adversas fueron transitorias y autolimitadas, por lo que se justificaría la realización de la siguiente fase de los ensayos clínicos (Zhu *et al.*, 2020a).

El ensayo clínico de Fase II para esta vacuna (con el número de registro: ChiCTR2000031781) se realizó en Wuhan, China desde el 10 de Abril del 2020 y fue un ensayo aleatorizado, doble ciego, en el cual se seleccionaron 508 personas sanas mayores de 18 años (sin límite de edad) y se les dividió en grupos, a 253 voluntarios se les administró una dosis media (1×10^{11} vp), a 129 una dosis baja (5×10^{10} vp) mediante una única inyección intramuscular, 126 voluntarios más formaron parte del grupo placebo (Chinese Clinical Trial Registry; 2020e).

Los criterios para la evaluación de la inmunogenicidad de este ensayo de Fase II fueron los títulos medios geométricos (GMT) de las respuestas de anticuerpos obtenidos por ELISA y específicos al dominio de unión al receptor (RBD) al día 0, 14 y 28 tomando como referencia la vacunación, cuando éstos alcanzaron el máximo (día 28) llegaron a tener un GMT de 656 para la dosis media y 571 para la dosis baja, con una tasa de seroconversión del 96% para la dosis media y 97% para los voluntarios que recibieron la dosis baja, mientras que los participantes en el grupo de placebo no mostraron aumento de anticuerpos; también al día 28 ambas dosis vacunales fueron capaces de inducir respuestas de anticuerpos neutralizantes contra virus “vivos” o pseudovirus con títulos medios geométricos de 19 para la dosis media y 18 para la dosis baja, la seroconversión de las respuestas de estos anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2 fueron de 59% para los participantes de dosis media y 47% de participantes en la dosis baja; por su parte los GMT de las respuestas de anticuerpos neutralizantes al pseudovirus fueron 61 en el grupo de dosis media (con seroconversión del 85%) y 55 en el grupo de dosis baja (con seroconversión del 83%), de esta manera se puede concluir que no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de dosis en las respuestas de anticuerpos neutralizantes al virus “vivo” y pseudovirus.

Otra característica también evaluada en este ensayo fueron los anticuerpos neutralizantes anti-Ad5 preexistentes en donde el 52% del total de los participantes eran poseedores de niveles altos de dichos anticuerpos y el 48% tenían baja inmunidad (en ambos grupos de tratamiento los títulos de anticuerpos neutralizantes de Ad5 preexistentes fueron similares), se observó de manera general que los voluntarios con inmunidad al vector Ad5 preexistente alta tenían la mitad de

anticuerpos ELISA específicos de RBD y niveles de anticuerpos neutralizantes comparado con los participantes con inmunidad al vector Ad5 baja; otro factor que afecta negativamente las respuestas de anticuerpos contra SARS-CoV-2 fue la edad y es que los voluntarios de más de 55 años tenían respuestas de anticuerpos más bajas independientemente de la dosis, aun así este grupo poblacional presentó un nivel más elevado de respuesta de anticuerpos comparada con el grupo placebo.

El otro gran criterio para la evaluación de la inmunogenicidad fue la medición de respuestas específicas de células T al día 0 y al 28 después de la vacunación, las respuestas iniciales indicaron respuestas de células T negativas en 99% de los participantes y al día 28 el 90% de los participantes del grupo que recibió la dosis media de la vacuna indujo respuestas significativas de IFN γ , mientras que el 88% de los participantes de la dosis baja lo hizo, además el 95% de los participantes en el grupo de dosis media y el 91% del grupo de dosis baja mostraron respuestas positivas de linfocitos T en general; la dosis media tuvo una mediana de 11 células formadoras de manchas por cada 1×10^5 células mononucleares de sangre periférica, mientras que el grupo de la dosis baja presentó 10 células formadoras de manchas, esto es un aumento de más de diez veces de estas células para ambos grupos. El grupo de investigación concluyó que la vacuna de prueba era capaz de inducir las respuestas de células T debido a que no se detectaron respuestas positivas de células T de IFN γ -ELISpot en el grupo de placebo y además no fueron significativamente diferentes entre los grupos de dosis al día 28; por otro lado la edad no influyó en la generación de los linfocitos T.

Para la evaluación de la seguridad los participantes fueron monitoreados durante 30 minutos después de la inyección para detectar reacciones adversas inmediatas y se realizó un registro de la incidencia de reacciones adversas a los 14 y 28 días después de la vacunación, dentro de los primeros 14 días en el grupo de dosis media se informó que un 72% de voluntarios habían presentado alguna reacción adversa y el 9% presentó una reacción adversa grave, mientras que del grupo de dosis baja un 74% presentó al menos una reacción adversa y el 1% presentó una reacción adversa grave, las reacciones más comunes para ambos grupos de dosis fueron fatiga, fiebre, dolor de cabeza y la más común que fue dolor en el lugar de la inyección, la mayoría de éstas se notificaron como leves o moderadas; las reacciones adversas graves fueron significativamente más altas en el grupo de dosis media que en los grupos que recibieron la dosis baja y el placebo y la reacción grave más común fue la fiebre autolimitada, la cual se resolvió antes de las 96 horas después de su aparición sin ningún tipo de medicación, por su parte el grupo placebo presentó un 37% de participantes con alguna reacción adversa; las reacciones adversas no solicitadas en el día 28 registraron que el 77% de los participantes del grupo de dosis media, 76% del grupo de dosis baja y 48% del grupo

de placebo experimentaron al menos un eventos adversos leve o moderado, lo cual indica que al día 28 no hubo diferencias significativas entre los grupos.

En esta Fase II se eliminó el límite de edad de los voluntarios adultos para obtener más evidencia de la inmunogenicidad y seguridad de esta vacuna vectorizada, el 61% de los voluntarios tenían de 18 a 44 años, 26% de 45 a 54 años y 13% de 55 años en adelante, se encontró que las personas mayores tienen una respuesta inmune significativamente más baja (cosa observada en otras vacunas también) pero a la vez también tuvieron una mayor tolerabilidad de la *Ad5-nCov*, esto podría indicar que la población mayor podría recibir una vacuna de dosis media o un refuerzo de esta vacuna, de manera adicional se esperaba que el aumento del antígeno estuviera relacionado con el un aumento de la inmunogenicidad pero el grupo de trabajo consideró que las respuestas de seguridad e inmunogenicidad fueron comparables y no fueron radicalmente distintas; otra relación observada tiene que ver con la aparición de fiebre la cual para esta vacuna estuvo asociada con la disminución de la edad y la baja inmunidad preexistente al vector Ad5 (el 90% de los voluntarios con fiebre no tenían inmunidad preexistente al Ad5) y es que la inmunidad anti-Ad5 preexistente de esta vacuna se considera el mayor obstáculo a vencer para que pueda ser inmunogénica y segura en gran parte de la población a la que será administrada. De esta manera la limitación más grande de estudio tiene que ver que se realizó en Wuhan, la cual podría no ser precisamente una población representativa a nivel mundial con respecto a la inmunidad anti-Ad5 y es que se ha observado que esta inmunidad varía significativamente en adultos de un lugar a otro (Zhu *et al.*, 2020b).

Con resultados favorables para la *Ad5-nCov* se iniciaron los ensayos clínicos de Fase III el 26 de Agosto del 2020 (número de identificación NCT04526990) en Pakistán con 40 000 participantes para adultos mayores de 18 años, se trata de un ensayo de enmascaramiento cuádruple (participante, proveedor de atención, investigador, evaluador de resultados) controlado con placebo y al que se le administra una dosis única (sin especificar la cantidad) de la vacuna vía inyección intramuscular, de manera simultánea el 7 de septiembre de 2020 se empezó otro ensayo para esta fase en la Federación Rusa (número de identificación NCT04540419) el cual es más pequeño que el de Pakistán, con tan solo 500 participantes de entre 18 años a 85 años, es un estudio aleatorizado también con enmascaramiento cuádruple con dos grupos, uno al que se le administra la vacuna en una concentración de 5×10^{10} vp y el grupo placebo (National Library of Medicine; 2020h; National Library of Medicine; 2020i).

La empresa CanSino Biologics ha tenido un aumento en sus acciones hasta del 87.45% y a partir de junio de este año la empresa ya cotiza en la bolsa de valores de Hong Kong, su financiamiento ha sido apoyado por Jiangsu Provincial Center for

Disease Control y Prevention, Ministry of Science and Technology of China, eso y la venta de algunas de sus acciones les ha permitido la construcción de una planta para la investigación, desarrollo y la fabricación de su vacuna, desde hace meses se encuentra también llevando a cabo la planeación de un sistema logístico de cadena en frío para el almacenamiento y distribución de su vacuna. La *Ad5-nCov* fue aprobada por el gobierno chino para ser aplicada el ejército chino, adicionalmente el pasado agosto esta vacuna le fue otorgada la primera patente por la Oficina Estatal china de Propiedad Intelectual, la intención del gobierno chino es la distribución masiva de la vacuna, todo esto pese a no haber concluido los ensayos clínicos de Fase III aún (Chinese Clinical Trial Registry; 2020d; El Español, 2020; Excélsior, 2020; Hesman, 2020).

7.2.3 Vacuna candidata de Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology.

Esta vacuna candidata proviene de la Federación de Rusia y fue desarrollada por Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, su nombre es *Gam-COVID-Vac* (aunque popularmente es conocida como *Sputnik V*), se trata de una vacuna heteróloga compuesta por dos vectores de adenovirus, uno es el vector recombinante tipo 26 (rAd26) y otro es el vector de adenovirus recombinante tipo 5 (rAd5), estos dos vectores contienen el gen que codifica para la glicoproteína de pico del SARS-CoV-2 y cuando dichos vectores contienen al gen de este coronavirus de denominan rAd26-S y rAd5-S respectivamente. Esta vacuna rusa ha sido de las vacunas candidatas más controvertidas y que ha recibido más críticas por parte de la comunidad científica internacional debido a la poca transparencia de sus datos (los cuales –Fase I y II– fueron publicados el 4 de Septiembre del presente año) y por haber otorgado la licencia de la vacuna el 11 de Agosto del 2020 (declarándola lista para su uso), este suceso convirtió a Rusia en el primer país en registrar oficialmente una vacuna contra el coronavirus sin haber concluido los ensayos clínicos, fue el mismo presidente de la Federación de Rusia, Vladímir Putin quien anunció que la vacuna demostró en todas las pruebas ser eficaz y que una de sus prioridades es la seguridad de ésta (llegando a afirmar incluso que su hija fue sometida a la inmunización con apenas una temperatura autolimitada pero con una generación de anticuerpos exitosa); sin embargo, la comunidad científica nacional y extranjera han advertido los peligros de aprobar una vacuna que aún no ha demostrado ser eficaz y se encuentran cautelosos y escépticos sobre los resultados de esta vacuna que consideran que ha traído consigo una campaña propagandística nacionalista, aun así una representante del Ministerio de Salud de Rusia afirmó más recientemente (9 de Noviembre de 2020) que esta vacuna tiene

una eficacia superior al 90% y dicha declaración llega después de que las farmacéuticas Pfizer y BioNTech anunciaran que su vacuna candidata tiene una efectividad de más del 90% (Euronews, 2020; Logunov *et al.*, 2020; Reuters, 2020b).

Los estudios de Fase I y II comenzaron el 18 de Junio y se llevaron a cabo en Rusia, se trató de ensayos clínicos no aleatorios, con 76 participantes (38 en cada fase y de los cuales algunos eran voluntarios civiles y otros militares –estos últimos percibían un salario–) pero todos eran adultos sanos de 18 a 60 años, para la Fase I se administró una dosis (10^{11} partículas virales por dosis, el grupo de investigación declara que esta dosis fue aceptada gracias a los resultados preclínicos que aún no han sido publicados) de la vacuna con el vector rAd26-S o con el rAd5-S; la Fase II comenzó 5 días después del comienzo de la fase anterior y se trató de 2 dosis vacunales, al día 0 con una inyección intramuscular con rAd26-S y otra inyección de refuerzo al día 21 con rAd5-S; cabe mencionar que para estos ensayos clínicos se probó la vacuna congelada o liofilizada para evaluar su impacto en la seguridad e inmunogenicidad según la formulación de la vacuna, *Gam-COVID-Vac* hace referencia a la formulación de vacuna congelada (la cual tiene un volumen de 0.5 mL por dosis, puede ser almacenada a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ y está registrada con el identificador: NCT04436471) mientras que *Gam-COVID-Vac-Lyo* se refiere a formulación de vacuna liofilizada (la cual se reconstituye en 1 mL -por dosis- de agua estéril antes de la inyección, su almacenamiento puede ser de $2\text{ a }8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y su número de identificación es: NCT04437875) (Logunov *et al.*, 2020; National Library of Medicine; 2020j; National Library of Medicine, 2020k).

Para la evaluación de la inmunidad humoral para estas fases simultáneas se midieron los anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 por ELISA y además se realizaron ensayos de neutralización del SARS-CoV-2 los días 0, 14, 21 y 28 en la Fase I y los días 0, 14, 21, 28 y 42 en la fase II; los registros más importantes de la Fase I son:

Día 14: Se detectaron IgG específicas de RBD del SARS-CoV-2 en el 88.9% de los participantes que recibieron rAd26-S y 84.2% en los que recibieron rAd5-S (estos porcentajes representan los datos para las formulaciones de vacunas liofilizadas y congeladas).

Día 21: Se detectó IgG específicas del RBD del coronavirus para para el 100% de los participantes vacunados.

Día 28: Los participantes que recibieron rAd26-S registraron GMT específicos de RBD del coronavirus más bajos que los voluntarios que recibieron la vacuna de refuerzo en la Fase II (1 866 después de rAd26-S de *Gam -COVID-Vac* y 1 372 después de rAd26-S de *Gam-COVID-Vac-Lyo*), adicionalmente es de destacar que

al grupo al que se le administró rAd26-S tuvo una tasa de seroconversión del 61.1% en anticuerpos neutralizantes (comparada con el 100% obtenido para los participantes de la Fase II que recibieron un refuerzo adicional).

Mientras que la información más relevante obtenida para la Fase 2 es la siguiente:

Día 14: Después de la aplicación de la primera dosis (rAd26-S) las respuestas IgG específicas de RBD se registraron en 85% de los participantes.

Día 21: El día de la aplicación de refuerzo con rAd5-S, se encontró que el 100% de participantes con IgG específicas de RBD del SARS-CoV-2 en donde los títulos medios geométricos (GMT) eran de 1 629 para la *Gam-COVID-Vac* (formulación congelada) y 951 con *Gam-COVID-Vac-Lyo* (la formulación liofilizada).

Día 28: Después de una semana de haber aplicado el refuerzo rAd5-S, los GMT anti-RBD ya habían aumentado a 3 442 con *Gam-COVID-Vac* y 5 322 con *Gam-COVID-Vac-Lyo*.

Día 42: Los GMT de IgG específicas de RBD del coronavirus fueron de 14 703 con *Gam-COVID-Vac* y 11 143 con *Gam-COVID-Vac-Lyo*, el 100% de los participantes mostró la producción de anticuerpos neutralizantes (GMT 49 con *Gam-COVID-Vac* y 45 con *Gam-COVID-Vac-Lyo*), de manera adicional este día también fueron evaluados los IgG específicos de la subunidad S1 del SARS-CoV-2 y éstos fueron 53 006 GMT con *Gam-COVID-Vac* y 51 200 con *Gam-COVID-Vac-Lyo*.

A manera de comparación se evaluó el plasma convaleciente proveniente de muestras de sangre de 4 817 personas recuperadas durante al menos dos semanas después de la infección de COVID-19 y la comparación de los resultados de las respuestas de anticuerpos al SARS-CoV-2 se realizó para los días 28 y 42, se mostró que los títulos de ELISA posteriores de la vacunación fueron significativamente más altos que los títulos generados después de una infección por COVID-19 sin embargo no se observaron diferencias significativas en los anticuerpos neutralizantes. Para evaluar la inmunidad celular se midieron los porcentajes de proliferación de células T CD4⁺ y CD8⁺ mediante una estimulación antigénica en cultivo, también se midió la concentración de interferón- γ los días 0, 14 y 28 por citometría de flujo, se registró una proliferación celular del 5% de células T CD4⁺ y 3% para CD8⁺ en la formulación congelada mientras que del 3% en T CD4⁺ y 1% CD8⁺ para la formulación liofilizada, hacia el día 28 las respuestas de las células T alcanzaron su punto máximo y se detectaron respuestas celulares en todos los pacientes. La respuesta inmune preexistente a los vectores rAd25 y rAd26 se evaluó al día 0 y 28 en la Fase I y II para todos los pacientes, se observó que después de la aplicación de la vacuna se desarrolla una respuesta inmune también para los vectores utilizados, además se sabe que no existe reactividad cruzada con los vectores y el antígeno. Al analizar la formación de anticuerpos neutralizantes

contra los vectores rAd26 y rAd5 no se observó una correlación significativa entre el título de anticuerpos neutralizantes (en muestras del suero de pacientes) frente a los vectores virales recombinantes, por lo que se concluyó que la administración de rAd26 no incrementa el título de anticuerpos neutralizantes de rAd5 y viceversa y la presencia de una respuesta inmune preexistente a los vectores vacunales rAd26 y rAd5 no afecta el título de anticuerpos específicos de RBD del SARS-CoV-2.

La seguridad fue evaluada durante los primeros 28 días después de la vacunación para la Fase I y se les realizó evaluaciones clínicas y de laboratorio los días 0, 2 y 14 (incluyendo estudios de sangre y orina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, proteína, bilirrubina, colesterol total, lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, índice de protrombina, glucosa, urea y creatinina); para la Fase II las evaluaciones se llevaron a cabo 0, 14, 28 y 42, la mayoría de los participantes que recibieron rAd26 y rAd5 mostraron eventos adversos después de la segunda vacunación; los eventos adversos identificados durante ambas fases se clasificaron como característicos de otras vacunas hechas también de vectores virales recombinantes y es que los eventos adversos más comunes en ambas fases fueron leves como dolor en el lugar de la inyección, fiebre, dolor de cabeza, fatiga y dolor muscular/articular, no se registraron eventos adversos graves.

El grupo de investigación concluyó que su vacuna fue segura, tolerada (sin presentar eventos adversos graves causados por la inmunización) y tuvo la capacidad de inducir fuertes respuestas humorales (en donde los anticuerpos contra la glicoproteína del SARS-CoV-2 tuvieron un aumento significativo al día 14 después de la inyección y continuaron aumentando hasta el último día de medición) y celulares (en donde hubo formación de células T CD4⁺ y CD8⁺) en todos los voluntarios; de la misma manera exponen que su principal preocupación (al igual que otros grupos que usan vectores virales en sus vacunas) es la inmunidad preexistente en los vectores adenovirales usados, en donde el proceso de inmunización pudiera comprometerse; sin embargo la intención del uso de dos vectores en lugar de uno es que los anticuerpos neutralizantes preexistentes de rAd26 no puedan neutralizar a rAd5 y viceversa. Con el fin de obtener más datos de seguridad e inmunogenicidad el 28 de Agosto del 2020 empezaron sus ensayos clínicos de Fase III en Moscú, Federación de Rusia (número de identificación: NCT04530396), se trata de un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y multicéntrico (llevado a cabo en varios puntos de Moscú), reclutaron a 40 000 voluntarios de 18 a 111 años saludables a los que se les administró *Gam-COVID-Vac* mediante inyección intramuscular; de la misma manera el 25 de septiembre iniciaron otro ensayos de Fase III con las mismas características (a excepción que éste reclutó a 110 voluntarios de entre 18 y 60 años en Minsk, Bielorrusia. Cabe mencionar que el financiamiento de los ensayos clínicos de esta vacuna provienen del instituto desarrollador, el Health Ministry of the Russian

Federation, RDIF (Russian Direct Investment Fund), Acellena Contract Drug Research and Development y el gobierno de la ciudad de Moscú (Logunov *et al.*, 2020; National Library of Medicine, 2020l; National Library of Medicine, 2020m).

7.3 Vacunas en desarrollo contra el SARS-CoV-2 que usan ARNm o ADN.

Esta tecnología de vacunas es nueva ya que no se ha aprobado ninguna vacuna de este tipo para humanos, sin embargo esta plataforma posee una gran flexibilidad de manipulación de antígenos y su elaboración se considera veloz; estas vacunas aprovechan toda la maquinaria celular en donde a través de un ARNm o plásmido de ADN (que codifica para alguna proteína antigénica), se le da instrucciones a las células para traducir a las proteínas necesarias para desencadenar una respuesta inmune (ADN → ARN → proteínas), algunos de los principales retos para esta plataforma son el lograr una respuesta inmune fuerte, estabilidad del ADN o ARNm desde su elaboración hasta el momento de la inyección y conseguir que la vacuna no sea destruida al entrar al torrente sanguíneo (Lowe, 2020a; Lowe 2020b).

Aunque esta plataforma se considere como una de las más rápidas en producir grandes cantidades de dosis, nunca ha sido escalada, por lo que identificar, producir y adaptar instalaciones será una experiencia nueva que puede conllevar un riesgo muy amplio, ya que no hay certezas de que realmente pueda ser escalable y los problemas asociados a esto están aún por conocerse. La plataforma de vacunas de ARN ha permitido un rápido desarrollo de vacunas en respuesta a esta pandemia, prueba de ello es que las dos vacunas candidatas más avanzadas que usan ácidos nucleicos como plataforma vacunal, usan ARN y son *ARNm-1273* de Moderna y National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) y *BNT162* de BioNTech, Fosun Pharmaceutical y Pfizer; no es de extrañarse que el ARN se preferido para la fabricación de estas vacunas y es que hay una larga trayectoria de tratamientos e investigaciones que usan ARN es su formulación, la misma empresa Moderna se especializa en ello, además el ARN no se integra en el genoma (ya que su expresión es transitoria), se metaboliza y elimina por los mecanismos naturales del organismo (Lurie *et al.*, 2020; Mulligan *et al.*, 2020).

7.3.1 Vacuna candidata de Moderna y National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID).

La empresa biotecnológica Moderna en colaboración con National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) está llevando a cabo los ensayos clínicos de Fase III de su vacuna *ARNm-1273*, esta vacuna de origen estadounidense usa

un ARN mensajero modificado y encapsulado en nanopartículas lipídicas para entrar en las células y ser traducido en la proteína S (2P), la cual es la proteína S del SARS-CoV-2 modificada genéticamente (con dos sustituciones de prolina, de allí su nombre 2P) y estabilizada en su conformación de prefusión, esta proteína modificada es el antígeno de la vacuna y tiene la finalidad de desencadenar una respuesta inmune; para la elaboración de la vacuna se sintetizó *in vitro* un ARNm (capaz de codificar para la proteína S (2P) de SARS-CoV-2) mediante una reacción de transcripción con ARN polimerasa, la cual incluyó un molde de ADN que contenía el marco de lectura abierto del inmunógeno deseado, una vez terminada la reacción el ARNm se llevó a un proceso de purificación por afinidad con oligo-dT y filtración, a este punto la vacuna podría conservarse a una temperatura de -20 °C, sin embargo fue necesario realizar un encapsulamiento, el cual ocurrió mediante una nanoprecipitación en la que se mezclaron lípidos con el ARNm en tampón con pH=5, dicha mezcla fue neutralizada con Tris-Cl pH=7.5, para comprobar la pureza de la vacuna se realizaron varias pruebas analíticas como la determinación del tamaño de partícula y polidispersidad, encapsulación, pureza del ARNm, osmolalidad, pH, endotoxinas y carga biológica, para favorecer la protección se añadió sacarosa (la cual funciona como sustancia crioprotectora), se esterilizó por filtración y el producto final se almacenó a -70 °C hasta su uso posterior. Aunque es una tecnología nueva para vacunas humanas su mayor ventaja es la velocidad y es que Moderna/NIAID iniciaron sus pruebas clínicas solo 2 meses después de la identificación de la secuencia, sin embargo se ha cuestionado mucho sobre si los ensayos clínicos fueron precipitados y es que los investigadores de esta vacuna no esperaron ver qué tan bien previene la infección en animales antes de probarla en personas, así lo expresó el director médico de Moderna Tal Zaks, argumentando que las pruebas preclínicas con animales no eran consideradas un paso crítico para la fase clínica por lo que se trabajarían en paralelo, sin duda la ruptura del protocolo habitual es cuestionable desde un punto de vista moral pero a su vez expresa la urgencia por encontrar una vacuna contra el SARS-CoV-2 (Boodman, 2020; Corbett *et al.*, 2020; Jackson *et al.*, 2020; Lowe, 2020b).

No es la primera vez que se usan vacunas de ARNm formulado en nanopartículas lipídicas contra algún coronavirus, de hecho Moderna ya había concluido que este tipo de vacunas son potentemente inmunogénicas, en el caso de la vacuna de ARNm contra MERS-CoV desarrollada por la misma compañía, en donde el objetivo principal también era la proteína S y la vacuna provocó inmunidad humoral y celular en ratones transgénicos en los cuales no se observaron los efectos de ADE o VAERD; los ensayos preclínicos realizados para la *ARNm-1273* contra el SARS-CoV-2 usaron ratones BALB/cJ, C57BL/6J y B6C3F1/J, todos de 6 semanas de edad, es importante aclarar que aunque los ratones no resultan el mejor modelo animal para una infección por SARS-CoV-2 los animales usados para este ensayo

tuvieron que modificarse genéticamente para permitir que el virus pudiera unirse al receptor ACE2 y así provocar una infección en el tracto respiratorio, la vacuna consistió en 2 inyecciones intramusculares en dosis de 0.01, 0.1 ó 1 μg de *ARNm-1273* (además de usarse un grupo placebo al que se le inyectó una solución salina), cada inyección estaba separada por un intervalo de 21 días, pasadas las 5 semanas después del programa de vacunación de dos dosis se expuso a los ratones al SARS-CoV-2 y los días 2 y 4 después de la exposición se realizaron tinciones y microfotografías para identificar los virus detectables en pulmones, los resultados más relevantes presentados por el grupo de investigación son los siguientes:

Día 2: Los ratones del grupo control presentaban una inflamación de moderada a grave en bronquiolos y una fuerte inflamación de los capilares alveolares, el grupo que recibió la dosis 0.01 μg tuvo una inflamación mínima, el grupo de 0.1 μg mostró solo algunas áreas inflamadas (sobre todo bronquiolos).

Día 4: Los pulmones de los ratones del grupo control tuvieron una inflamación general moderada y atenuada en los tabiques alveolares, los ratones de la dosis 0.01 μg presentaban aún una inflamación prácticamente nula, el grupo de 0.1 μg mostraron una inflamación linfocítica leve.

Otra observación importante del ensayo fue la relación encontrada entre las diferentes dosis con la eficacia de la vacuna y es que los ratones que recibieron 1 μg de *ARNm-1273* se encontraban totalmente protegidos de la replicación viral en pulmones después de las 5 semanas posteriores al programa de vacunación, adicionalmente esta dosis vacunal presentó anticuerpos capaces neutralizar al SARS-CoV-2 de tipo salvaje (D614) y la mutante 2 (D614G) la cual se ha convertido en la mutante predominante en todo el mundo; mientras que las dosis de 0.1 μg redujeron la carga viral pulmonar 100 veces y las dosis de 0.01 μg la redujeron solamente 3 veces, la dosis de 1 μg también fue capaz de generar una potente neutralización de pseudovirus para una concentración inhibitoria IC_{50} con títulos medios geométricos (GMT) de 819 para los ratones BALB/cJ, 89 para C57BL/6J y 1 115 para B6C3F1/J. Adicionalmente se inmunizaron ratones BALB/cJ con varias dosis únicas que iban de 0.0025 a 20 μg de *mRNA-1273*, para medir la inmunogenicidad de una sola aplicación determinando la existencia de una correlación positiva entre la dosis y las respuestas de anticuerpos neutralizantes, los ratones con este programa de vacunación fueron expuestos al virus a la semana 7 después de haber recibido una dosis de *ARNm-1273*, se observó la presencia de anticuerpos a partir de una sola dosis de 1 μg de vacuna y a modo de referencia se sabe que la dosis única de 10 μg generó una actividad neutralizante de pseudovirus con 315 GMT en IC_{50} con un máximo de anticuerpos que inicia a la semana 2 después de la vacuna y se mantiene hasta la cuarta semana, esto sugiere que la

respuesta de anticuerpos y la actividad neutralizante de pseudovirus puede inducirse con una sola dosis de la vacuna aunque el programa de dos dosis resulte más prometedor.

La *ARNm-1273* fue modificada en su formulación para evaluar el impacto de los patrones de citocinas generados en las células T CD4⁺ mediante tinción con citocinas intracelulares (a las 7 semanas después de la segunda inyección) y es que se sabe que la mejora de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE) y la generación de una enfermedad respiratoria asociada a la vacuna (VAERD) son fenómenos dependientes a dichos patrones, por lo que una formulación fue hecha con alumbre y mostró respuestas sesgadas en TH2 lo cual no resulta favorable ya que este sesgo se ha asociado anteriormente con VAERD además la vacuna formulada con alumbre también disminuyó las respuestas IgG; por su parte la formulación sin alumbre provocó respuestas equilibradas de TH1, TH2 y es capaz de inducir una respuesta robusta de células T CD8⁺; debido a los resultados expuestos en esta etapa preclínica se consideró que la vacuna protege contra la infección por SARS-CoV-2 en pulmones y narices de ratones sin evidencia de inmunopatología, lo cual les permitió empezar con los ensayos clínicos (Corbett *et al.*, 2020).

El 25 de febrero del 2020 se iniciaron los ensayos clínicos de Fase I de esta vacuna desarrollada por Moderna/NIAID (número de identificación: NCT04283461), reclutaron a 45 participantes saludables de 18 a 55 años a los que se les administró varias dosis: 25, 100 ó 250 mcg/0.5 mL mediante dos dosis aplicadas con inyecciones los días 1 y 29, este ensayo fue de etiqueta abierta (en donde tanto el paciente como el investigador saben el tratamiento recibido) y se llevó a cabo en varios centros de EE.UU. (Georgia, Maryland y Washington) (National Library of Medicine; 2020n).

Después de la aplicación de la primera dosis de la vacuna se observó un rápido aumento del título medio geométrico de anticuerpos anti glicoproteína S del SARS-CoV-2 (con seroconversión de los participantes al día 15), las respuestas de los anticuerpos fueron medidas al día 29 después de la primera inyección mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), mostraron como título medio geométrico (GMT) de anticuerpos anti proteína S del SARS-CoV-2, 40 227 para el grupo que recibió 25 µg, 109 209 para el grupo de 100 µg y 213 526 en el grupo de 250 µg, este tipo de anticuerpos también fueron medidos al día 57 (al día 29 de la segunda vacunación) y se obtuvieron 299 751, 782 719 y 1 192 154 GMT para la dosis 25, 100 ó 250 mcg respectivamente, como puede observarse la vacunación con la dosis 250 mcg resultó ser el programa de inmunización que más anticuerpos generó. La actividad neutralizante inducida por la vacuna fue medida mediante un

ensayo de neutralización de infección de una sola ronda de reportero de lentivirus pseudotipado (PsVNA con una dilución inhibitoria al 50%) y un ensayo de neutralización por reducción de placas de SARS-CoV-2 (PRNT con una dilución inhibitoria al 80%) los días 1, 15, 29, 36, 43 y 57, (sin embargo para los resultados de PRNT solo se reportaron los datos del día 1 y 43 y en los grupos que recibieron 25 µg y 100 µg), antes de la vacunación ningún voluntario presentó respuestas de PsVNA detectables, pero después de la primera aplicación de la vacuna se detectó para la neutralización este tipo, respuestas en al menos el 50% de los voluntarios y después de la segunda dosis todos los participantes presentaban respuestas PsVNA, los GTM al día 43 después de la primera dosis fueron: 1 123 para el grupo de dosis de 25 µg, 3 438 en el de 100 µg y 3 322 en el de 250 µg. Para la prueba PRNT se registró que ningún participante tuvo un 80% de neutralización del virus antes de empezar con el programa de vacunación, sin embargo para el día 43 se detectó actividad neutralizante del coronavirus en todos los participantes con medias geométricas de 3 397 en el grupo de 25 µg y 6 543 en el de 100 µg.

El nivel de neutralización inducido por la vacuna fue comparado con 41 muestras de suero de pacientes con previa infección de SARS-CoV-2 y la media de las respuestas de anticuerpos después de la primera vacunación en las dosis de 100 y 250 µg fue muy similar a las respuestas de anticuerpos en las muestras de suero, sin embargo al día 57 después de la primera inmunización la media de los resultados de los pacientes después de haber recibido la segunda vacuna reflejan hasta 4 veces más la inducción de respuestas de los anticuerpos comparados con las respuestas de suero de los pacientes con previa infección de COVID-19 (los cuales reportaron 142 140 GMT). Las respuestas de las células T contra la proteína S también fueron medidas mediante un ensayo de tinción de citocinas intracelulares a los días 1, 29 y 43, aunque nuevamente los resultados solo reflejan los datos de los grupos que recibieron 25 y 100 µg, en los cuales se pudieron identificar respuestas de las células T CD4⁺ (con mayor presencia de células del subtipo TH1 en lugar de TH2, lo cual es un alivio, ya que son las células TH2 las que están asociadas a un realce de la enfermedad dependiente de anticuerpos -ADE-), también se identificaron células T CD8⁺ aunque en niveles más bajos (incluso después de la segunda dosis y en el grupo de 100 µg).

Los eventos adversos después de la primera vacunación estuvieron presentes en 33% de los participantes que recibieron la dosis de 25 µg, 67% para el grupo de 100 µg y 53% para los voluntarios que recibieron 250 µg, todos éstos se clasificaron con gravedad leve o moderada, después de la aplicación de la segunda dosis de la vacuna los eventos adversos fueron más frecuentes (se presentaron en más de la mitad de los voluntarios), con 54% para el grupo de 25 µg, 100% en el grupo de 100 µg y 93.3% en el de 250 µg, siendo la fatiga, escalofríos, dolor de cabeza, dolor muscular o en el lugar de la inyección los más comunes, sin embargo no se

presentaron eventos adversos graves; de la misma manera cabe mencionar que 3 voluntarios no recibieron la segunda dosis de *mRNA-1273*, debido a que uno presentó urticaria en ambas piernas días después de recibir la primera dosis y dos más se aislaron por sospecha de COVID-19 (con resultados negativos constatados posteriormente), pero ninguno de los síntomas de los voluntarios se relacionó con la primera vacunación. En consecuencia el estudio concluyó que las dos dosis de *mRNA-1273* no presentaron toxicidad grave y aunque hubo mayor reactogenicidad (sobre todo en el grupo de en el grupo de 250 µg) después de la segunda aplicación, además los resultados de anticuerpos específicos de SARS-CoV-2 y células T comprobaron que la vacuna fue inmunogénica en todos los participantes, con una rápida seroconversión de anticuerpos producida en dos semanas después de la primera dosis de vacunación (Jackson *et al.*, 2020).

Por consiguiente la vacuna *mRNA-1273* pasó a la Fase II de los ensayos clínicos el 28 de mayo de 2020 (número de identificación: NCT04405076) con 600 participantes de 18 años en adelante, los cuales fueron divididos en grupos: dos a los que se le aplicarían dos dosis de 50 ó 100 mcg de *mRNA-1273* y un tercer grupo que recibió un placebo (solución salina fisiológica), este estudio tiene un enmascaramiento doble (ni el participante, ni el investigador saben el tratamiento) y se llevó a cabo en varios centros de EE.UU. como Georgia, Kansas, Misuri, Nebraska, Carolina del Norte, Dakota del Sur, Texas y Utah; la Fase III también se llevó a cabo en EE.UU. con la diferencia de que se extendió hasta en 100 ubicaciones diferentes, esta fase inició el 14 de julio del 2020 (número de identificación: NCT04470427) con 30 000 participantes, formando solo dos grupos: uno al que se le aplicó 100 mcg de *ARNm-1273* y un grupo placebo, administrando dos dosis (al día 1 y 29) para ambos grupos, el estudio se planeó para tener un enmascaramiento cuádruple (en donde el participante, proveedor de atención, investigador y evaluador de resultados desconocen el grupo al que pertenecen los voluntarios) (National Library of Medicine, 2020ñ; National Library of Medicine, 2020o).

La empresa Moderna tiene varias asociaciones financieras y se encuentra preparada para producir 100 millones de dosis en EE.UU. de su vacuna cuando ésta sea aprobada por la FDA, una de estas asociaciones es con la multinacional Catalent, la cual empaquetará las dosis vacunales y apoyará en la logística para que la producción de vacunas sea las 24 horas; otra de sus asociaciones es con la multinacional suiza Lonza Group, con la cual planea producir mil millones de dosis de vacunas al año durante al menos los próximos 10 años. Estos sucesos han llamado la atención del público debido a que la vacuna *ARNm-1273* no ha concluido sus ensayos clínicos y no ha sido aprobada por las autoridades regulatorias, no

obstante esta vacuna candidata ha recibido grandes inversiones durante estos meses, como la de Biomedical Advanced Research and Development Authority (BARDA) que apoyó con 483 millones de dólares para aumentar el trabajo clínico y la posterior producción (Lowe, 2020b; Reuters, 2020a).

7.3.2 Vacuna candidata de BioNTech, Fosun Pharmaceutical y Pfizer.

La biotecnológica alemana BioNTech, la farmacéutica china Fosun Pharmaceutical y la empresa estadounidense Pfizer conforman la asociación que está desarrollando los ensayos clínicos de cinco vacunas candidatas basadas en ARNm, el nombre genérico para estas 5 vacunas es *BNT162* y su terminación indica a una vacuna candidata en específico, su diferenciación se debe al uso de diferentes formatos de ARNm: *BNT162a1*, *BNT162b1*, *BNT162b2*, *BNT162b3*, *BNT162c2*. Las vacunas *BNT162b1*, *BNT162b2* y *BNT162b3* usan ARNm modificado (modRNA) con nucleósidos, *BNT162a1* es un ARNm que contiene uridina (la cual presumiblemente aumenta la respuesta inmune del producto proteico formado) y *BNT162c2* es un ARNm autoamplificador (el cual posee una secuencia para una enzima replicasa) que tiene la función de hacer más copias del ARNm para estimular una respuesta inmune más potente. El objetivo de realizar 5 vacunas simultáneas consiste en tener mayor probabilidad de éxito, identificando la vacuna más prometedora; estas empresas actualmente se encuentran trabajando en su vacuna más importante según los resultados de los ensayos clínicos, la *BNT162b1* se encuentra ahora en la Fase III (AI, 2020; Lowe, 2020b).

El 20 de abril del 2020 empezó el primer ensayo clínico de Fase I y II para 4 de las vacunas desarrolladas por la asociación BioNTech/Fosun Pharmaceutical/Pfizer (sin especificar cuáles fueron en el registro) en múltiples sitios de la Unión Europea, la finalidad fue evaluar la seguridad e inmunogenicidad de esta vacuna de ARN utilizando diferentes regímenes de dosificación en adultos y ancianos; otro ensayo de Fase I / II (número de identificación: NCT04380701) empezó días después, el 23 de abril de 2020 con 456 participantes de 18 años a 85 años para recibir *BNT162a1*, *BNT162b1*, *BNT162b2* y *BNT162c2* en dos programas de vacunación (dos o una única dosis), esta fase no tuvo ningún tipo de enmascaramiento (ensayo de etiqueta abierta) y se llevó a cabo en las ciudades de Berlín y Mannheim, Alemania; casi paralelamente, el 30 de abril del 2020 empezó una Fase I / II / III (número de identificación: NCT04368728) en la que participaron 43 998 voluntarios divididos en grupos para recibir *BNT162b1*, *BNT162b2* o un placebo, se trató de un programa de 2 aplicaciones inyectadas vía intramuscular (separadas por 21 días) con dosis baja, media o alta, este estudio contó con un enmascaramiento triple en donde el participante, proveedor de atención e

investigador desconocían los grupos asignados a los que pertenecían los voluntarios, esta fase se encuentra dirigida a niños (mayores de 12 años), adultos y adultos mayores localizados en 175 ubicaciones de los países: EE.UU, Argentina, Brasil, Alemania, Sudáfrica y Turquía. Poco después el 21 de Julio del 2020 se registró otro estudio de Fase I (número de identificación: ChiCTR2000034825) también para la *BNT162b1*, se trató de un estudio aleatorizado, controlado con placebo y ciego al observador, realizado en China con 144 participantes mayores de 18 años a los que se les administraron dosis baja, alta o un placebo en un programa de vacunación de dos dosis administradas con 21 días de diferencia. Los ensayos de Fase I y II para la vacuna candidata *BNT162b3* (número de identificación: NCT04537949) empezaron el 3 de septiembre de 2020 con 120 participantes mayores de 18 años divididos en dos grupos adultos de 18 a 55 años y el grupo de adultos mayores de 56 a 85 años, la vacuna fue administrada mediante inyección intramuscular y el estudio se llevó a cabo en Berlín y Mannheim (Alemania) (Chinese Clinical Trial Registry, 2020f; EU Clinical Trials Register, 2020c; National Library of Medicine, 2020p; National Library of Medicine, 2020q; National Library of Medicine, 2020r).

Actualmente se encuentran disponibles algunos resultados del ensayo con el número de identificación: NCT04368728, que pese a ser un ensayo de Fase I / II / III en varios países, los datos reportados son solo para 45 voluntarios estadounidenses que conformaron la Fase I de ese ensayo y que recibieron la vacuna *BNT162b1*. La vacuna *BNT162b1* es un ARNm modificado con 1-metil-pseudouridina, (para amortiguar la detección del sistema inmune innato y aumentar la traducción del ARNm) que codifica para el dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de pico del SARS-CoV-2 y también se encuentra en una formulación en nanopartículas lipídicas para facilitar la entrada a las células, los 45 voluntarios fueron adultos sanos y su edad se encuentra entre los 18 a 55 años, las dosis que recibieron grupos de 12 personas fueron 10 µg, 30 µg ó 100 µg de *BNT162b1* y un grupo placebo de 9 personas, en un programa de vacunación de dos dosis sin embargo los pacientes que recibieron la primera dosis de 100 µg no recibieron la segunda debido al aumento de la reactogenicidad y la falta de resultados que indicaran un aumento significativo de la inmunogenicidad para esa dosis.

Para la evaluación de la inmunogenicidad se determinaron las concentraciones de IgG de unión a RBD y los títulos de neutralización del SARS-CoV-2 antes de la primera dosis de *BNT162b1* y a los días 7, 21, 28 y 35 posteriores a la primera dosis, al día 21 para las tres dosis administradas las concentraciones medias geométricas (CMG) de IgG estuvieron dentro del rango de 534 a 1778 U/mL y al día 28 (7 días después de la segunda dosis) el grupo de dosis de 10 µg presentó 4 813 U/mL y el grupo de 30 µg 27 872 U/mL, que comparado con la media de 38 muestras de suero

proveniente de pacientes convalecientes de COVID-19 de 602 U/mL fueron significativamente mayores; asimismo se registró que las concentraciones de anticuerpos de unión a RBD del grupo de 100 µg no aumentó después de los 21 días después de la primera vacunación comparado con los grupos de dosis de 10 y 30 µg que registraron un aumento hasta el último momento en que fueron evaluados (día 35), en el CMG tuvieron un rango de 5 880 a 16 166 U/mL. Los títulos medios geométricos (GMT) neutralizantes del SARS-CoV-2 también fueron evaluados y de manera general se observó un aumento de éstos en todas las dosis a los 21 días posteriores de la primera aplicación, aumentando aún más al día 35 después de esa primera aplicación teniendo un GMT de 180 en el grupo de 10 µg y 437 en el de 30 µg (evidentemente mayores que el GMT neutralizantes de 94 encontrado en el suero de los pacientes convalecientes).

Las reacciones adversas locales y sistémicas fueron notificadas dentro de los 7 días posteriores a la vacunación, el dolor en el lugar de la inyección fue la reacción local más frecuente después de la primera inyección con presencia en 22.2% en el grupo de placebo, 58.3% en voluntarios que recibieron 10 µg, 100% del grupo de 30 y 100 µg, después de la segunda inyección tuvo presencia en el 16.7% del grupo placebo, 83.3% del grupo de 10 µg y el 100% en el grupo de 30 µg; mientras que el evento sistémico más común fue la fatiga y se presentó con mayor frecuencia después de la segunda aplicación, también se notificaron eventos como escalofríos, dolor muscular y dolor en las articulaciones (los cuales no se presentaron en el grupo placebo). Sumado a esto se consideró que todas las reacciones locales y sistémicas fueron de gravedad leve o moderada y se resolvieron a la semana de aparición, a excepción del grupo de 100 µg que reportó un evento de dolor severo, este grupo de dosis alta también presentó en el 50% de sus participantes temperatura mayor a 38 °C (contrastando con el 8.3% de los grupos de 10 y 30 µg). Adicionalmente se realizaron estudios de laboratorio para detectar anomalías ocasionadas por la vacuna y se reportó que los cambios más notables se trataron de disminuciones en el recuento de linfocitos, después de la primera dosis se presentaron en el 8.3% del grupo de dosis 10 µg, el 45.5% de 30 µg y el 50% del de 100 µg, sin embargo esta disminución fue transitoria y se regularizó después de la semana posterior a la vacunación; un participante en el grupo de 10 µg y otro en el de 30 µg tuvieron neutropenia (la cual es un número anormalmente bajo de neutrófilos) después de 1 semana posterior a la última vacuna sin embargo los investigadores declaran no haber encontrado manifestaciones clínicas de neutropenia. Es así como se concluyó que *BNT162b1* generó reacciones adversas dependientes de la dosis aplicada, en donde la dosis baja y media tuvieron eventos de gravedad moderada y fueron autolimitados, la generación de anticuerpos IgG de unión a RBD y los títulos de neutralización del virus también fueron dependientes de la dosis y tuvieron un

aumento significativo después de la segunda aplicación: los títulos de neutralización fueron de 1.9 hasta 4.6 veces más alta que las respuestas generadas por muestras de suero de pacientes convalecientes de COVID-19 y las GMC de IgG fueron de 8 a 50 veces mayores (después de la segunda aplicación) de 10 µg o 30 µg que las GMC de las muestras de sueros; las principales limitaciones del estudio son: aunque se usaron sueros de pacientes convalecientes de COVID-19, aún no se conoce con exactitud el correlato de protección de la enfermedad (por lo que no existen datos inmunitarios adecuados que indique una protección total contra la infección vírica), los datos de seguridad e inmunogenicidad solo fueron evaluados 14 días después de la última inyección aunque los voluntarios seguirán siendo evaluados hasta por dos años más, los resultados solo abarcan a una población menor de 56 años, de la misma manera el grupo de investigación afirma que seguirá reportando resultados de sus estudios con poblaciones mayores y diversas en un futuro (Mulligan *et al.*, 2020).

Otros resultados que se encuentran disponibles y se centran en las respuestas de anticuerpos y células T son los del ensayo con el número de identificación: NCT04380701, el cual se trató de un ensayo de Fase I / II de etiqueta abierta no aleatorizado con 456 participantes adultos de 18 a 55 años de edad a los que se les administraron 4 vacunas diferentes contra COVID-19 en Alemania, aunque los resultados solo reflejan los datos para 60 participantes que recibieron 1 µg, 10 µg, 30 µg, 50 µg, ó 60 µg de *BNT162b1* (12 voluntarios por cada dosis en un programa de dos dosis al día 1 y 22 –a excepción del grupo que recibió 60 µg, la cual fue aplicada en una sola dosis–), se evaluaron también los eventos adversos dentro de los primeros 7 días después de cada inyección, siendo dolor y sensibilidad en el lugar de la inyección los eventos más reportados en todas las dosis, aunque también estuvieron presentes síntomas como: fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolor muscular, dolor en las articulaciones con intensidad de leve a moderada y con pocas manifestaciones graves que fueron autolimitadas o tratadas fácilmente con paracetamol; la reactogenicidad dependió de la dosis y fue más pronunciada después de la dosis de refuerzo. También se realizaron estudios de laboratorio y aunque no se detectaron cambios importantes inducidos por la vacunación sí pudieron detectarse dos cambios en función de la dosis recibida: el aumento transitorio en la proteína C reactiva (o PCR, la cual es una proteína inflamatoria usada como biomarcador de algunas vacunas) y una reducción temporal en los recuentos de linfocitos en sangre (probablemente originada por la redistribución de linfocitos relacionada con la estimulación inmune).

Para evaluar la inmunogenicidad se midieron las concentraciones de IgG de unión a RBD y los títulos de neutralización de SARS-CoV-2 al inicio del estudio, 7, 21, 29 y 43 días posteriores de la primera dosis y se observó que la respuesta de los anticuerpos de IgG fue dependiente de la dosis, al día 21 de la primera dosis las

GMC de las dosis de 1 a 50 μg tenían un rango de 265 a 1 672 U/mL pero al día 29 estos mismo grupos tenían resultados que oscilaban de 2 015 a 25 006 U/mL y al día 43 las GMC tenían un rango de 3 920 a 18 289 U/mL, dichos resultados resultan prometedores si se les compara con los GMC de 38 muestras de suero de pacientes convalecientes por COVID-19 (las cuales de media tenían 602 U/mL); cabe precisar que el grupo que recibió 60 μg de *BNT162b1* presentó 755 U/mL, lo que indica que el programa de dos dosis es más efectivo para estimular la producción de anticuerpos. Con respecto a los títulos medios geométricos (GMT) de anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2 50% (VNT 50) se puede decir que tuvieron un aumento significativo dependiente también de la dosis y con mayor presencia a partir del día 21 después de la primera inyección y llegando al pico más alto al día 29 alcanzando GMT de 36 para el grupo que recibió 1 μg de vacuna, 158 para el grupo que recibió 10 μg , 308 para el de 30 μg y 578 para el de 50 μg , mientras que las muestras de suero usadas como comparador obtuvieron 94. Tanto las GMT neutralizantes y las GMC que se unen a RBD disminuyeron al día 43 a excepción del grupo de dosis de 1 μg . Una prueba más para estimar la actividad neutralizante de los anticuerpos generados por la vacuna se realizó con ensayos de neutralización de pseudovirion en donde se probaron 16 variantes de RBD de SARS-CoV-2 (incluida la variante dominante en el mundo D614G) al día 29 después de la primera vacunación, los resultados indicaron la presencia de altos títulos de neutralización para cada una de las variantes de picos del virus.

El grupo de investigación que desarrolló este ensayo clínico declaró la importancia de la inmunidad celular, ya que explican que ésta puede conferir memoria inmunitaria duradera contra los coronavirus incluso durante años (tal es el caso de quienes se contagiaron de SARS-CoV-1 y generaron una respuesta robusta de T CD8⁺ hasta por 11 años), además de considerar importante los pacientes que tuvieron un COVID-19 asintomático con una respuesta inmune celular sin seroconversión, por lo que las respuestas celulares fueron evaluadas mediante la medición de las respuestas de células T CD4⁺ y CD8⁺ en los voluntarios que recibieron la vacuna *BNT162b1* al inicio del estudio, los días 21 y 29 después de la primera dosis aplicada, mediante el seguimiento de IFN γ por un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas de puntos (ELISpot); las respuestas de las células T de otros patógenos comunes (como citomegalovirus –CMV–, virus de Epstein Barr –EBV–, virus de la influenza y paneles de péptidos inmuno dominantes derivados del toxoide tetánico) sirvieron para evaluar la reactividad general de las células T y como control negativo se usó un medio de cultivo celular, al inicio del estudio no se encontró presencia de T CD4⁺ específicas del SARS-CoV-2 a excepción de tres participantes (uno del grupo de dosis de 50 μg y dos de del grupo de 1 μg) quienes poseían un número bajo de células este tipo de células pero presentaron un aumento de respuestas en células T después de la vacunación, los

resultados indican que en los grupos de 1 a 50 µg el 95.2% de los voluntarios presentaron respuestas celulares T CD4⁺ específicas de RBD con un promedio de diez veces más de respuestas T CD4⁺ de pacientes estimulados con otros patógenos, el grupo que recibió la dosis de 60 µg presentó una respuesta celular en el 55.6% de sus participantes. Con respecto a las respuestas de T CD8⁺ se observó que en los grupos de 1 a 50 µg el 76.2% tenía fuertes respuestas para este tipo de células T (comparables a las respuestas obtenidas contra CMV, EBV y virus de la influenza), pero para los participantes que recibieron 60 µg se reportó que el 44% ellos tenían dicha respuesta de células T CD8⁺.

Adicionalmente se evaluaron las citoquinas secretadas mediante citometría de flujo, inmunoensayo basado en perlas y tinción intracelular (ICS) realizados antes y después de la primera vacunación en 5 voluntarios y se encontró que después de la inmunización las células T CD4⁺ y T CD8⁺ específicas de RBD secretaron las citocinas proinflamatorias IFN γ , IL-2, TNF, IL-1 β e IL-12p70, pero no secretaron IL-4 ni IL-5 (lo que sugiere una respuesta auxiliar TH1 predominante). De esta forma se concluyó que la vacuna *BNT162b1* provocó respuestas CD4⁺, CD8⁺ y de anticuerpos de manera robusta, con concentraciones de IgG de unión a RBD superiores a las generadas en las muestras de suero de pacientes covalencientes y de manera proporcional según la dosis (al día 43 después de la primera inmunización eran 0.7 más en el grupo de 1 µg y 3.5 más veces en el grupo de 50 µg); pese a esto el grupo de investigación reconoce las limitaciones de este estudio entre las que menciona el pequeño tamaño de la muestra, no haber reclutado personas mayores de 56 años, los pocos análisis sobre células T (mencionando que se pudieron haber hecho: desconvolución de la diversidad de epítomos, caracterización de la restricción de HLA, fenotipado de células T o análisis del repertorio de TCR) (Sahin *et al.*, 2020).

En el mes de julio de este año Albert Bourla el director ejecutivo de Pfizer, aumentó las expectativas sobre su vacuna candidata argumentando que era posible que la FDA emitiera una aprobación en octubre y es que sus vacunas *BNT162b1* y *BNT162b2* recibieron la designación Fast Track (el cual es un programa diseñado para facilitar el desarrollo y revisión de las nuevas vacunas más prometedoras) por parte de la FDA por considerarlas como las vacunas candidatas más avanzadas de las 5 candidatas en desarrollo contra COVID-19 por parte de la empresa, Bourla además mencionó que la empresa estaría lista para producir primero decenas de millones de dosis y aumentando su producción hasta llegar a su capacidad máxima de 100 millones y que la vacuna podría costar tentativamente 19.50 dólares por dosis, este CEO también ha mencionado que la inversión realizada a esta vacuna supera los 2 mil millones de dólares los cuales no han provienen del gobierno de EE.UU. ni de ningún otro gobierno del mundo. El 9 de noviembre la asociación Pfizer/BioNTech anunciaron que su candidata más prometedora es capaz de inducir

al menos el 90% de protección contra COVID-19, lo cual ha aumentado las expectativas sobre su vacuna (Fischetti *et al*, 2020; La Mattina, 2020; Pfizer, 2020; Shapiro, 2020).

8. Estrategias para acelerar los procesos de desarrollo de las vacunas candidatas contra SARS-CoV-2 más prometedoras.

El SARS-Cov-2 es un virus que ha impactado enormemente en familias, sociedades, sistemas de salud y economías en todo el planeta, aunque este virus se encuentre con un bajo número de muertes y contagios en algunos países (en los que pareciera que ya han superado la primera ola de la enfermedad) no se puede considerar que éstos estén libres por completo de la enfermedad hasta que todos los países del mundo se encuentren también en una situación de riesgo mínimo o sin riesgo de contraer la enfermedad, por lo tanto existe una necesidad urgente de encontrar tratamientos y vacunas innovadoras que puedan prevenir el COVID-19 y a su vez puedan estar disponibles para todas las personas; esta situación ha hecho que sea tal la urgencia por obtener una vacuna segura y efectiva que se planteó en varias ocasiones realizar ensayos de desafío (los cuales consisten en exponer intencionalmente a los voluntarios vacunados en el ensayo clínico con el SARS-CoV-2, tal y como se hace con animales en los ensayos preclínicos). Los ensayos clínicos tal y como se realizan ahora constituyen un proceso que duraría mínimo un año, sin embargo llevar a cabo los ensayos de desafío podría reducir mucho el tiempo de los ensayos clínicos, llegando incluso a comprobar si una vacuna es eficaz en 2 ó 3 meses; esta propuesta es sin duda éticamente complicada pero no imposible, ya que desde hace 2 siglos se han realizado estudios de desafío e incluso actualmente se realizan para enfermedades como la influenza, dengue y cólera. Voces críticas argumentan que realizar pruebas de desafío en estos momentos sería éticamente incorrecto porque el SARS-CoV-2 es un virus muy nuevo del cual aún no se tienen claras las complicaciones en la salud que dejará a largo plazo ni se posee aún de un medicamento aprobado (en caso de que la enfermedad se complique en dichos ensayos), de hecho para que puedan realizarse estos ensayos de desafío en humanos para una vacuna candidata en una enfermedad infecciosa se necesita una aprobación por los organismos reguladores en donde se justifique las cuestiones técnicas y éticas de dichos experimentos.

Los defensores de los ensayos de desafío sostienen que éstos podrían realizarse con adultos jóvenes (los cuales por lo general no presentan una tasa de mortalidad ni gravedad de la enfermedad elevada), se refieren a personas de entre 18 y 30 años, además de que su infección no representaría una amenaza a su salud debido a que se realizaría en condiciones muy controladas que favorezcan una infección

leve e inofensiva, como por ejemplo el uso de virus debilitados, modificados genéticamente o aplicados en una concentración limitada del SARS-CoV-2, también argumentan que la crisis sanitaria en la que gran parte del mundo se encuentra actualmente, justifica esta práctica con riesgos aceptables, sin embargo la idea no ha prosperado y los organismos reguladores no han aceptado los ensayos de desafío (Cohen, 2020b, Hesman, 2020; World Health Organization; 2020a).

Otra estrategia que sí se ha implementado y que también tiene como fin obtener una o varias vacunas que puedan poner fin a la pandemia, es la asociación entre laboratorios, institutos, gobiernos, empresas e inversionistas para impulsar la rápida investigación, regulación y evaluación de las vacunas candidatas más avanzadas sin importar su origen geográfico; prueba de ello es la creación de Accelerating COVID-19 Therapeutic Interventions and Vaccines (ACTIV), la cual es una asociación con el sector público y privado internacional para desarrollar un marco de colaboración que sea capaz de identificar, priorizar y facilitar los procesos de evaluación y escalado de las vacunas candidatas más avanzadas y prometedoras con el fin de acelerar a una velocidad sin precedentes las vacunas necesarias para todo el mundo.

ACTIV se consolidó en el mes de abril de este año, inicialmente con 18 empresas biofarmacéuticas líderes y varias agencias gubernamentales (incluida la FDA y la Comisión Europea) pero ha ido creciendo con el paso de los meses y ahora se encuentra liderada por National Institutes of Health (NIH), lo que ha hecho que sus facultades no solo se reduzcan a la gestión administrativa de ensayos clínicos y pruebas regulatorias sino también a la rápida obtención de una infraestructura (como redes de laboratorios con bioseguridad de nivel 3), experiencia en el desarrollo de vacunas (lo cual facilitará la estandarización y validación de métodos), programas de descubrimiento y desarrollo de adyuvantes, financiamiento y hasta la recopilación y análisis de datos clínicos para llevar a cabo estudios en la ciencia de datos. De esta manera la ACTIV ha dividido sus actividades en 4 grupos de trabajo con el fin de delegar actividades específicas, facilitar la comunicación y exposición de los resultados de trabajo: grupo de trabajo preclínico, trabajo clínico terapéutico, trabajo de capacidad de ensayos clínicos y el grupo de trabajo sobre vacunas. Pese a la reciente creación de esta asociación se ha desarrollado un progreso veloz y sin precedentes, ya que nunca antes se había visto la colaboración de tantas instituciones públicas y privadas para llevar a cabo un proyecto biomédico de esta envergadura.

El COVID-19 se ha convertido en el desafío de salud global más importante de nuestros tiempos, sería prácticamente imposible que una sola empresa resuelva sola el suministro de vacunas y tratamientos en un tiempo adecuado para que

resulte útil para frenar la pandemia, por lo que es necesario una organización global conjunta que incluya a los gobiernos, autoridades reguladoras, laboratorios de investigación, organizaciones no gubernamentales e industrias farmacéuticas tal como la ACTIV, la cual es por el momento la asociación público-privada más notoria que enfoca y acelera las vacunas candidatas para aumentar sus posibilidades de éxito, es probable que esta poderosa asociación haya llegado para quedarse como herramienta que pueda gestionar en un futuro las amenazas globales de salud (Collins *et al.*, 2020; National Institutes of Health, 2020).

Por otro lado, existen una serie de dificultades con las vacunas que viene de años atrás y es que la experiencia en pandemias anteriores como la de (VIH o H1N1) han demostrado que el despliegue de medicamentos y vacunas no ha podido ser distribuido de manera equitativa a los millones de personas en el mundo en momentos pandémicos críticos, sumado a esto algunos países llevan años con interrupciones en la producción y suministro de al menos una vacuna en sus territorios, se sabe que la causa de esto (al menos en los países en vías de desarrollo) es la falta de recursos económicos para el desarrollo de proyectos de elaboración de vacunas candidatas y sin la posibilidad de comprarlas a otros países; tal es el caso de los países africanos, en donde la vacuna contra la malaria tardó años en llegar debido al poco interés por parte de los desarrolladores por hacer una vacuna que no se consumiría en países desarrollados (lo cual restringiría gran parte de su mercado). Simultáneamente, la escasez en países desarrollados se debe a cuestiones multifactoriales como una mayor demanda a la esperada, la falta de interés por parte de los fabricantes (que gastan grandes cantidades de dinero en inversión de una vacuna sin tener la certeza de que realmente habrá un retorno de inversión), además de reguladores y autoridades de salud sin agilidad para facilitar que las vacunas puedan ser accesibles; tal es el caso de EE.UU, en donde se ha observado desde el año 2000 una escasez de vacunas contra 9 enfermedades primordiales a combatir. Se sabe que aunque la escasez puede resolverse podría tardar años en solucionarse según el rezago de cada país, todo dependerá de que las vacunas cumplan las reglamentaciones federales necesarias, el incentivo de la voluntad económica por parte de los fabricantes (o la entrada de inversiones sostenidas y suficientes), la gestión de producción, inventarios, procesos reguladores, calendarios vacunales, fuentes de comunicación que faciliten el suministro de los productos terminados, entre otros. Por otro lado, también podrían seguirse como ejemplo los países en donde se ha podido evitar la escasez de vacunas, como Reino Unido, el cual diversifica el número de proveedores, anticipa los productos vacunales hasta con un año de anticipación, posee reservas estratégicas de dichos recursos para mantenerlos siempre en flujo adecuado, negocia la capacidad de cambio de pedidos, etc.

Todos estos problemas en el pasado con las vacunas preocupan a los líderes mundiales, ya que se sabe que si no se logra la inmunización de la mayoría de la población mundial (lo cual implica que la vacuna pueda seguir siendo accesible en unos años), la pandemia no acabará o la enfermedad pudiera quedarse de forma persistente en ciertas estaciones del año o en lugares críticos; es por ello que algunos líderes como la Organización Mundial de la Salud, la Fundación Bill y Melinda Gates, el presidente de la Comisión de la Unión Africana, el Presidente del G20, los jefes de estado, presidentes de varios países de la Unión Europea, África y Medio Oriente, entre otros; se han reunido para discutir sobre los compromisos de asegurar que los tratamientos y las vacunas puedan estar disponibles en todos los rincones del mundo, argumentando que los resultados del trabajo internacional por acabar la pandemia no pueden verse reflejados solo en un puñado de países, ya que las consecuencias sociales y económicas de esta pandemia son devastadoras especialmente para los países en vías de desarrollo, por esta razón se han comprometido en trabajar en dirección al acceso global de vacunas en cuanto éstas puedan estar al alcance de un mayor número de personas. Sin duda la reunión de estas organizaciones está marcada por un trabajo veloz y nunca antes visto en otras colaboraciones históricas, pero solo el tiempo dirá si realmente ha funcionado (Hinman *et al.*, 2006; World Health Organization, 2020a).

Finalmente otro de los proyectos para impulsar la aceleración de las vacunas que resulta importante destacar es la Operation Warp Speed, la cual es un proyecto del gobierno federal de los EE. UU. para acelerar algunas vacunas que consideran como bastante prometedoras, el gobierno de este país ha otorgado casi \$11 mil millones a siete diferentes compañías fabricantes de vacunas y este fondo económico tiene como objetivo administrar 300 millones de dosis de vacunas para enero del 2021, de la misma manera está acompañado con un apoyo gubernamental dispuesto a alinear los protocolos para la demostración de seguridad y eficacia de las vacunas que sean seleccionadas en el proyecto, esto agiliza las aprobaciones por parte de la FDA, ya que tradicionalmente sucede que las biofarmacéuticas elaboran sus propios protocolos y después son analizadas para su aprobación o rechazo, pero con este proyecto son las compañías y las instancias gubernamentales que aprueban al mismo tiempo los protocolos. Dentro de las compañías fabricantes de vacunas que se encuentran dentro de Operation Warp Speed destacan Moderna, AstraZeneca/Universidad de Oxford y Pfizer Inc./BioNTech (Department of Health and Human Services, 2020; Hesman, 2020; The New York Times, 2020).

9. Proyectos de vacunas candidatas en México contra el SARS-CoV-2

Grupos de investigación mexicanos también se encuentran desarrollando cuatro proyectos de vacunas candidatas, se trata de iniciativas privadas y públicas que se encuentran en etapas tempranas aún, por lo que solo se mencionarán brevemente algunas características generales de éstas; también participan en la convocatoria lanzada por la Coalición para las Innovaciones en Preparación de Pandemias (CEPI) para obtener financiamiento, aunque de no obtenerlo el canciller del país, Marcelo Ebrard aseguró que el gobierno federal financiará estas iniciativas. Entre las vacunas mexicanas en desarrollo se encuentra la que desarrolla el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBt), la cual se trata de una vacuna que usa un vector viral como plataforma, dicho vector ha sido usado previamente para la generación de vacunas contra otros virus (Zika y el dengue), el Instituto de Biotecnología ya ha informado que su proyecto se encuentra en Fase preclínica y espera que su vacuna inicie las pruebas clínicas a inicios del 2021, también ha anunciado que si todo sale bien tardará aproximadamente año y medio en estar lista. Laura Alicia Palomares Aguilera, investigadora del IBt ha destacado que aunque otros países tengan sus propias vacunas con mucho más tiempo de anticipación, México necesita una vacuna propia (Cruz, 2020; Sánchez, 2020).

Por su parte, la empresa Avimex (encargada de salud veterinaria), se encuentra también en la elaboración de una vacuna candidata en la que también colaboran el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav); se trata de una vacuna que usa como plataforma un vector viral de la Enfermedad de Newcastle, el cual tiene familiaridad entre la empresa Avimex desde hace casi 15 años, Constantino López Macías un investigador del IMSS que colabora en este proyecto ha dicho que la vacuna comenzará pronto su etapa clínica y que una vez aprobada, Avimex tiene la capacidad de producir 20 millones de dosis de la vacuna al mes (Miranda, 2020).

Otro proyecto de vacuna candidata se encuentra desarrollándose por la Universidad Autónoma de Baja California y el Tecnológico de Monterrey, se trata de una vacuna de ADN, para la cual necesitan un financiamiento de 110 millones de dólares, esta asociación está también respaldada por empresas como ContiVir, por su parte Pavel Marichal Gallardo (ingeniero biotecnólogo que forma parte de este proyecto) aseguró que en julio del presente año produjeron su vacuna candidata ya que no obtuvieron los materiales adecuados para su realización con más anticipación; dijo además que la tecnología con la que elaboran su vacuna candidata es mucho más eficiente que las existentes, lo cual permitirá escalar el producto en un tiempo más corto del que llevaría normalmente. La última vacuna candidata mexicana es

desarrollada por la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), se trata de un producto hecho de proteínas (específicamente péptidos), la UAQ declara que esta vacuna aún se encuentra en etapa preclínica pero podría estar lista a finales del 2021 y solicita 49 millones de dólares como parte de su financiamiento (Corona, 2020; Cruz, 2020).

De manera paralela a este esfuerzo mexicano por el desarrollo de una vacuna que pueda prevenir el COVID-19 también se sabe que México participará en los ensayos de Fase III de otras vacunas candidatas para el estudio de seguridad y eficacia, debido a que otras naciones desarrolladoras de vacunas candidatas han mostrado su interés por realizar estos análisis en territorio mexicano y hasta el momento son siete las vacunas candidatas (de las empresas Janssen –EE.UU.–, Centro Nacional de Investigación de Epidemiología y Microbiología Gamaleya –Rusia–; Cansino –China–; Novavax –EE.UU.–, Curevac –Alemania.–, Sanofi-Pasteur –Francia.– y ReiThera –Italia–) que se encuentran en proceso de revisión ante las dos autoridades reguladoras competentes, la Secretaría de Salud y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris) para obtener una aprobación para la realización de esta fase en México. De ser aprobadas, es probable que estas vacunas empiecen sus ensayos en el mes de octubre del presente año (a excepción de la vacuna de Sanofi-Pasteur que empezaría en enero del próximo año y ReiThera que aún no tiene una fecha tentativa) (Cruz, 2020; El Financiero; 2020).

Con respecto a otras vacunas que estarán disponibles en el mercado a nivel mundial, se ha confirmado que México ha logrado un acuerdo en el que se compromete a desarrollar mediante el laboratorio Liomont y en trabajo conjunto con la empresa argentina mAbxience la producción de la vacuna desarrollada por la Universidad de Oxford y AstraZeneca, dicha producción sería para toda Latinoamérica a excepción de Brasil (quien llevará a cabo la producción de su vacuna de manera independiente), mAbxience se encargaría de la elaboración del principio activo, mientras que Liomont del envasado y terminación del producto, esta colaboración está sujeta a los resultados clínicos de la Universidad de Oxford y AstraZeneca y fue pactada por el empresario mexicano Carlos Slim, el cual proporcionará el financiamiento y tiene la intención de producir de 150 a 250 millones de vacunas el primer semestre del 2021; de esta manera autoridades mexicanas han mostrado la intención de generar un acceso gratuito de esta vacuna en el país aunque para otros países se estima que podría costar entre 3 y 4 dólares (BBC News Mundo, 2020b; Poy, 2020).

Poco después de que se anunciara la asociación Argentina-México, se informó que México había adquirido 32 millones de dosis de la vacuna Sputnik-V elaborada en

Rusia que aunque aún no ha culminado los ensayos clínicos de Fase III, se haría entrega de las dosis en el mes de noviembre del presente año; la cantidad de vacunas indica que aproximadamente una cuarta parte de la población mexicana podrá ser inmunizada con la Sputnik-V y así lo confirma Russian Direct Investment Fund (RDIF), esta gran adquisición de vacunas rusas no debe confundirse con la participación de México en la Fase III para la evaluación de *Sputnik-V*, la cual se planea un mes antes de la llegada de 32 millones de vacunas a México; esta noticia ha causado revuelo en la comunidad científica, la cual se encuentra escéptica ante la falta de resultados clínicos por partes de los fabricantes de *Sputnik-V* (Forbes México, 2020b; Frías, 2020).

Existen otros esfuerzos adicionales por parte de la Secretaría de Relaciones Exteriores que tienen con fin asegurar que México pueda tener acceso temprano a una vacuna en cuanto éstas se encuentren disponibles, prueba de ello es que el gobierno mexicano se ha sumado a iniciativas internacionales comprometidas con el acceso global de vacunas, una de ellas es la iniciativa COVAX Facility liderada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual se ha comprometido en coordinar la distribución de vacunas de manera equitativa para evitar la especulación comercial de cualquier vacuna que sea aprobada para su venta en los próximos meses, la iniciativa COVAX tiene planeado ayudar a México con la distribución de dosis vacunales necesarias para inmunizar al 20% de la población en todo el país en cuanto existan vacunas disponibles (de las cuales será el gobierno mexicano el que elija las que mejor se ajusten a las necesidades de seguridad y eficacia para su población); de esta manera México ha optado por esta iniciativa internacional como parte de los esfuerzos para completar y asegurar la vacunación en todo su territorio nacional, resalta también la importancia de convertir estas vacunas en bienes comunes y de fácil acceso económico para toda su población y exhorta a la comunidad de su país a seguir con las medidas sanitarias actuales y no confiarse en que una vacuna resolverá todos los problemas ocasionados por la pandemia (Infobae, 2020; Secretaría de Relaciones Exteriores, 2020).

Otra asociación internacional mexicana que sin duda ayudará al abastecimiento de una vacuna de manera sostenida a través del tiempo es la que tiene con el Fondo Rotatorio de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el cual es un mecanismo de combinación de recursos de los estados miembros que facilita la compra de insumos médicos como vacunas y medicamentos eficaces, de calidad a gran escala y precios accesibles; la pertenencia a la OPS de países latinoamericanos ha ayudado por más de 40 años a garantizar el abastecimiento continuo en insumos médicos, esta combinación de recursos entre distintas naciones facilita la economía a escala, que permite comprar mucho a menor precio,

esto ha permitido a países de América Latina y el Caribe tener un programa de vacunación exitoso para la erradicación y control de enfermedades, además forma parte de una de las asociaciones más exitosas con respecto a salud con liderazgo regional (Organización Panamericana de la Salud, 2020a; Organización Panamericana de la Salud, 2020b).

10. Consideraciones finales cuando las vacunas contra el SARS-CoV-2 sean aprobadas por los organismos reguladores.

La pronta necesidad por obtener una vacuna contra el SARS-CoV-2 se encuentra en un momento histórico en donde se posee una amplia comprensión de las ciencias (sobre todo de la genómica y biología estructural) que apoyan la rápida producción de vacunas emergentes, además la experiencia de realizar vacunas candidatas para otros coronavirus también dejó lecciones valiosas que apoyaron el desarrollo de esta nueva vacuna contra el SARS-CoV-2; pese a esto el desarrollo de cualquier vacuna es un proceso largo, costoso, de alto desgaste y con altas posibilidades de realizar pausas para el análisis de datos debido a las altas tasas de fallos, en el que aun habiendo cientos de candidatos lleva años distribuir una vacuna adecuada que cumpla con los requisitos necesarios para ser segura y eficaz, además los proyectos de desarrollo de vacunas en situaciones de emergencia se consideran menos rentables y más arriesgados (en comparación con las vacunas tradicionales), lo cual ha hecho que no todas las compañías farmacéuticas multinacionales participen con su propia vacuna candidata. Con todo esto, serán solo algunas vacunas candidatas contra el SARS-CoV-2 las que sean aprobadas para ser distribuidas a la población y esto traerá consigo sus propios retos adicionales como la participación de las autoridades reguladoras (quienes deberán mostrar un compromiso ético con la población), la alta demanda a satisfacer de miles de millones de dosis y los costos en inversión que esto trae consigo, la organización para la distribución, la entrega de vacunas a gran escala o incluso el resurgimiento de un estado de emergencia en el que resurja un brote de la enfermedad aun cuando ya se haya alcanzado la vacunación masiva (Chen *et al.*, 2020; Lurie *et al.*, 2020).

A lo largo de este capítulo se abordarán algunas cuestiones relevantes a considerar cuando las primeras vacunas candidatas contra COVID-19 puedan ser aprobadas por las entidades regulatorias y necesiten ser distribuidas a la población mundial, como la opinión de científicos sobre si el SARS-CoV-2 podría mutar hacia un estado más patogénico, las cuestiones a considerar cuando las primeras vacunas estén listas pero sean insuficientes para cubrir a toda la población y lo que sucedería si

grandes sectores poblacionales no desean recibir la vacuna debido a la creciente desconfianza hacia la industria de vacunas.

10.1 Posibles mutaciones del SARS-CoV-2 hacia un estado patogénico diferente.

Otra consideración que no debe perderse de vista cuando las primeras vacunas aprobadas salgan al mercado, son las acciones a realizar si se observa que a largo plazo el SARS-CoV-2 muta hacia un estado patogénico diferente, en el caso de que las mutaciones en el virus sean tales que modifiquen su tropismo, alteren su función viral, interacción con anticuerpos neutralizantes, adaptación del virus a nuevos hospedadores o aumenten su patogenicidad, podrían afectar el desarrollo, aplicación de medicamentos antivirales, kits de prueba de serodiagnóstico y la vacunación que en un principio fuesen exitosos; por ejemplo el virus de la influenza tiene la capacidad de acumular gradualmente mutaciones que le permiten desarrollar resistencia a los anticuerpos en todas las poblaciones, por lo que es necesario realizar una vacuna nueva cada temporada, estas mutaciones se desarrollan mientras esté presente la influenza estacional, es decir, entre más largas sean las temporadas de influenza, mayores cambios tendrá su virus. Esto contrasta con el SARS-CoV-2, ya que éste último persiste sin temporalidad estacional, lo que le permitiría la acumulación de mutaciones inmunológicamente relevantes en lo que las vacunas siguen en desarrollo. No obstante la posibilidad de que SARS-CoV-2 adquiriera mutaciones que favorezcan su patogenicidad no es el único camino que la evolución del virus podría seguir, es más común que los virus pierdan virulencia y adquieran características desventajosas para su supervivencia viral conforme interaccionan con sus hospedadores a lo largo de mucho tiempo y es que ocurren errores considerables en su replicación o su genoma llega a un límite en el número de sitios mutables.

Aunque los virus de ARN (incluido el SARS-CoV-2), tienen altas tasas de mutación que pueden correlacionarse significativamente con una mayor virulencia y capacidad de evolución de los virus. Las mutaciones del coronavirus que tienen una preocupación clínica y de salud pública son las que podrían ocurrir en la proteína S, ya que son determinantes para la evolución, transmisión y virulencia del SARS-CoV-2, incluso la variante más prevalente en todo el mundo en estos momentos es D614G y ha surgido por mutaciones en esta proteína; adicionalmente se han realizado estudios que indican que aislamientos de SARS-CoV-2 muestran efectos citopáticos (CPE) y cargas virales variables en células Vero-E6 en función de las mutaciones en la proteína S, por lo que detectar y comprender mutaciones en la proteína S (en específico las mutaciones más comunes, los polimorfismos de un solo nucleótido) en una tarea global que proporciona un panorama sobre el cambio constante del virus.

Un fenómeno generalizado de los virus es que a mayor transmisibilidad, pierden virulencia y se cree que SARS-CoV-2 ha pasado por este fenómeno debido a que el COVID-19 en su etapa inicial en la ciudad de Wuhan (con la cepa Wuhan-1 de SARS-CoV-2) fue más severo con un 32% de casos graves y un 11% de letalidad, sin embargo cuando el virus logró expandirse por el resto de China COVID-19 mostró menos agresividad en casos graves y letalidad, pese a esto SARS-CoV-2 posee una gran diversidad genética y no se descarta la existencia de al menos una cepa que sea más infecciosa que la cepa Wuhan-1. Aún no se tiene suficiente evidencia que indique que este coronavirus pueda mutar hacia un estado más patogénico en el que las vacunas en desarrollo resulten deficientes, sin embargo se recomienda una vigilancia molecular continua del SARS-CoV-2 mediante herramientas bioinformáticas para identificar con antelación nuevas mutantes y su impacto en el desarrollo de fármacos, vacunas y pruebas serológicas, porque los anticuerpos neutralizantes generados por una vacuna en un individuo que tiene una carga viral lo suficientemente diferente podría desencadenar procesos inmunopatogénicos no deseados, debido a que los anticuerpos contra SARS-CoV-2 con diferentes epítomos no logran neutralizar de forma cruzada todas las cepas de SARS-CoV-2, si en algún punto se comprueba que las vacunas en el mercado son ineficientes se necesitarán grandes inversiones de capital para la elaboración de nuevas vacunas, pero por ahora solo es una posibilidad que nadie desea (Abdullahi *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020b; Korber *et al.*, 2020; Weber *et al.*, 2020).

10.2 La vacuna se administrará de forma escalonada y hay grupos prioritarios.

Existe una cuestión importante cuando las primeras vacunas estén lista para ser administradas a miles de millones de personas en el mundo y es sobre quién debería recibirla primero, sin duda vacunar a toda la población a nivel mundial es una tarea titánica que puede llevar incluso años sobre todo porque la vacuna será escasa al principio, priorizar qué grupos poblacionales deben ser prioritarios es difícil porque aunque muchas personas están de acuerdo que el primer sector vacunado deben ser los trabajadores de la salud (aunque también se plantea, quién es un trabajador de la salud con mayor riesgo ¿los vigilantes del hospital, los que trabajan en el área administrativa, enfermeras o los médicos?), después de ellos cualquier grupo poblacional podría argumentar las razones por las cuales debería de ir antes que otro; múltiples expertos han sacado a relucir el tema, por ejemplo un comité del Centers for Disease Control and Prevention (CDC) en EE.UU. ha señalado que pese a que las mujeres embarazadas son normalmente las últimas en ser vacunadas (debido al riesgo de daño del feto) quizá en esta ocasión deberían ser consideradas primero porque tienen una alta probabilidad de adquirir un COVID-19 más agresivo, sin embargo para que esto sea posible, deben existir pruebas

suficientes que comprueben que la vacuna es inocua para el feto y las mujeres. Otros grupos poblacionales que probablemente deban considerarse entre los primeros en recibir una vacuna son la población adulta mayor de 65 años (debido a la agresividad del virus para ellos), la seguridad nacional y todo aquél que realice una labor esencial o de riesgo, las personas con comorbilidades (con enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes o enfermedades respiratorias).

Otra cuestión controversial sobre la prioridad de vacunación llega cuando se aborda si la vacuna debe ser administrada primero a ciertos grupos raciales o étnicos y es que se tiene registro de que las comunidades negras, latinas y nativas americanas han sido las más afectadas por la pandemia, en este mismo sentido se ha planteado si los sectores más pobres también deben ser priorizados, ya que se argumenta que tienen menos acceso a atención médica, viven en condiciones de hacinamiento y en caso de enfermar no pueden dejar de trabajar porque viven con el salario que ganan por día; sin duda la vacunación será en forma escalonada y los gobiernos tendrán una gran responsabilidad al decidir los sectores poblacionales prioritarios considerando todos los aspectos convenientes, la finalidad es que una vez que exista una vacuna disponible se administre de forma estratégica para que la pandemia se aminore lo antes posible (Cohen, 2020a).

10.3 Preocupación por el creciente movimiento antivacunas.

Diversos grupos de investigación han expresado su preocupación debido a que consideran que la urgencia en desarrollar una vacuna puede llevar a los organismos reguladores federales a aprobar una vacuna que no sea lo suficientemente segura o eficaz (como por ejemplo aprobar una vacuna evaluada solamente por su capacidad para generar anticuerpos sin considerar otros aspectos importantes de la inmunidad como las células T, ya que lo más importante de una vacuna candidata además de la seguridad es su capacidad de proteger contra la enfermedad, no la generación de anticuerpos por sí sola), si una vacuna es aprobada y resulta tener problemas de seguridad o eficacia defraudará la confianza del público que se encuentra esperando de que las vacunas pongan fin a la pandemia, lo cual también podría convencer a grandes cantidades de personas para no vacunarse (engrosando así las filas del creciente movimiento antivacunas) y llegando a entorpecer la vacunación masiva y por ende la inmunidad colectiva necesaria para que la pandemia acabe (Hesman, 2020).

El movimiento antivacunas no es nuevo, de hecho el rechazo por la aplicación de las vacunas nació desde que la primera vacuna fue registrada en 1796 ante la Royal

Society en Londres, en donde para lograr la inmunización necesaria para acabar con la viruela tuvo que imponerse la vacuna como obligatoria primero en Reino Unido y luego en toda Europa; este fenómeno social que se opone a las vacunas siempre ha estado acompañado de indecisión, incertidumbre o desgana por vacunarse y está caracterizado por ciertos contextos sociales en donde influyen las áreas geográficas, las ideas políticas, el nivel de confianza en otros tratamientos médicos e incluso por momentos históricos, como el que hubo en 1998 cuando se publicó en la prestigiosa revista médica británica *The Lancet*, un artículo que relacionaba la posibilidad de padecer autismo con la administración de la vacuna contra la rubéola, paperas y sarampión, esto ocasionó que la tasa de vacunación disminuyera un 9% en Reino Unido, sin embargo al final la revista se retractó por la publicación ya que descubrió que los autores tenían conflictos de interés; pese al desenlace de este suceso, la idea de que las vacunas provocan autismo es una idea que aún sigue arraigada y es usada recurrentemente por el movimiento antivacunas (Ortiz *et al.*, 2020; Rosselli *et al.*, 2016).

A los pocos días del primer caso confirmado de COVID-19 en el continente americano en el mes de enero, los activistas antivacunas difundían ya información que insinuaba que este coronavirus era una estafa, de la cual los gobiernos y farmacéuticas saldrían beneficiados y la preocupación por autoridades médicas ante este tema se ha vuelto constante y una cuestión a considerar seriamente; así lo reflejan recientes encuestas en EE.UU, en donde aproximadamente una cuarta parte de los encuestados afirmaron que "definitivamente" o "probablemente no" se aplicarían una vacuna contra el coronavirus en cuanto ésta se encuentre disponible; actualmente este aspecto también se considera parte de la crisis de salud en EE.UU. Otro estudio realizado por científicos de datos en The George Washington University, realizó un análisis de 1 300 perfiles públicos de Facebook (con unos 100 millones de seguidores en total) y concluyó que las páginas antivacunas (clasificadas de esta manera por su contenido) tienen menos seguidores en comparación con las páginas pro-vacunas, pero cada vez son más numerosas y tienen un crecimiento más rápido, este análisis también demostró que las páginas antivacunas tienen mayor recepción en páginas consideradas como de "opinión indecisa con respecto al tema de las vacunas" además de tener una conexión global, lo que indica que si la tendencia sigue así, en unos 10 años las posturas antivacunas dominarán la opinión pública al menos en Facebook (sin duda la red social más popular desde hace años), esta tendencia podría resultar peligrosa para la salud pública en unos años, donde la vacunación contra el SARS-CoV-2 podría ser crítica para mantener la salud mundial. Voces críticas contra este tipo de estudios provienen del Massachusetts Institute of Technology y argumentan que las predicciones de estos estudios no son confiables debido a que se hacen extrapolaciones con datos limitados; en el caso particular de este estudio de

Facebook, comentan que una interacción en una red social no determina la ideología de una persona con respecto a la vacunación y que eso tampoco implica que los porcentajes de vacunación tengan cambios significativos (Cornwall, 2020; Hesman, 2020; Wadman, 2020).

Sin embargo el internet y las redes sociales cada día toman más relevancia y se encuentran omnipresentes en muchos contextos urbanos que albergan miles de millones de personas, por lo que actualmente son considerados como los medios de información y comunicación más usados en todo el mundo, esto hace que actualmente sea común rastrear las percepciones de las personas en tiempo real sobre cualquier tema por internet; por lo que los estudios que monitorean los datos que muestran la percepción sobre las vacunas quizá constituyan una de las mejores herramientas para saber las percepciones de la vacunación en un lugar dado y en un momento específico. Muestra de ello son los datos proporcionados por el Istituto Nazionale di Statistica (ISTAT) en Italia, los cuales indican que el 80% de los padres italianos utilizan internet para informarse con respecto a las vacunas y que el 50% lo hace mediante una red social y no páginas de profesionales sanitarios o sitios web verificados, otro estudio indica que el 52% de las personas que usan redes sociales consideran que la información que se encuentra allí sobre las vacunas es confiable.

Todo parece indicar que la información brindada por los profesionales sanitarios sigue siendo la principal fuente de información con respecto a las vacunas; sin embargo, existe una preocupación creciente sobre el cambio de esta tendencia, ya que internet ha crecido lo suficiente como para convertirse en un foco de información poco fiable que genere desinformación y creencias erróneas, por ahora se sabe que las búsquedas en la web con respecto a las vacunas han aumentado (sobre todo cuando inician las campañas de vacunación), por lo que este acceso ilimitado a la información relacionada con la salud en los países occidentales podría estar influyendo en que el movimiento antivacunas crezca (Ortiz *et al.*, 2020; Rosselli *et al.*, 2016).

La razón por la cual las páginas antivacunas tienen un impacto mayor se relaciona con que no solo abordan el tema de la vacunación, si no múltiples temas de salud y seguridad, estos tópicos causan preocupación en la gente por lo que conectan de una manera emocional con las posturas antivacunas y hace que cada vez más personas duden o rechacen vacunarse o vacunar a sus hijos, esto puede representar en el futuro un problema de salud grave, ya que se considera que si la cobertura de vacunación cae por debajo del 95%, los beneficios de la inmunidad colectiva desaparecen y la salud de las personas podría verse afectada seriamente por enfermedades que ya se creían erradicadas, un estudio realizado por la American Academy of Pediatrics revela que el 74% de los pediatras en EE.UU. se

ha enfrentado a padres que rechazan o retrasan la aplicación de vacunas para sus hijos, otras encuestas también indican que el 13% de los padres con hijos de 6 meses a 6 años preferirían un programa de vacunación alternativo, 53% ha rechazado para sus hijos al menos una vacuna y el 17% rechaza todas las vacunas.

Los opositores a la vacunación basan sus argumentos en la falta de confianza de la información que dan profesionales de la salud o las fuentes gubernamentales sobre las vacunas, de la misma manera argumentan que la medicina es una institución corrupta y constantemente hacen referencia a conspiraciones entre hospitales, compañías farmacéuticas y gobiernos, por lo que es común que desconfíen de otros productos farmacéuticos además de las vacunas, cuestionan la administración de vacunas en edades muy tempranas y la falta de individualización de éstas, los posibles efectos adversos, además que explican que no es necesario vacunarse debido a la baja incidencia de ciertas enfermedades (pasando por alto que la baja incidencia se debe a las campañas de vacunación periódicas), también aseguran que estas alianzas corruptas están interesadas en fabricar medicamentos y vacunas ineficaces y poco seguras con la única intención de ganar dinero sin importarles la salud de las personas, sin embargo no parecen tener pruebas de la información que difunden.

El discurso de los grupos antivacunas usa recurrentemente historias personales que puedan conectar emocionalmente con las personas, aprovechando que las historias emotivas suelen expandirse con mayor velocidad y además usan palabras estratégicas (tal como –mercurio–) para alarmar y generar desconfianza en sus lectores, también aconsejan siempre métodos de salud alternativos realizados mediante supuestos productos naturales, prueba de ello son el alto contenido de noticias falsas que han circulado por las redes sociales durante la pandemia donde aseguran conocer el origen del virus o tener la cura, unas de las noticias más populares sobre esto en América Latina ha sido la combinación de clorito de sodio con ácido cítrico como tratamiento preventivo contra la enfermedad, o la teorías de conspiración que aseguran que las vacunas administradas para combatir la pandemia tendrán un microchip con el fin de controlar a todas las personas a las que les sea administrada (Ortiz *et al.*, 2020; Hesman, 2020; Vrdelja et al., 2018).

Expertos en comunicación de la salud advierten que es momento de comenzar a trabajar para que las personas acepten las vacunas, porque la desinformación por parte de activistas antivacunas ha aumentado drásticamente con la pandemia y para combatirlo son necesarios proyectos que tengan como fin generar confianza en las personas, sobre todo en aquellas que se han encontrado más expuestas al coronavirus y al mismo tiempo están más recelosas hacia la nueva vacuna, es de resaltar que estas personas forman parte de comunidades negras y latinas en EE.UU, en encuestas recientes se documentó que el 40% de la comunidad negra

en EE.UU. dijo no querer recibir una vacuna y el 32% todavía se encuentra indecisa, mientras que el 23% de la comunidad latina tampoco quiere recibirla y el 37% no tiene seguridad en querer hacerlo; eventos como lo que ocurrió con médicos en Francia recientemente (en donde declaraban que las vacunas contra el SARS-CoV-2 debían ser probadas en África a manera de experimentación) acentúan más la preocupación de las comunidades negras acerca de las vacunas, estas comunidades son conscientes del racismo médico por otros acontecimientos históricos en donde se ha hecho experimentación médica en personas negras, tal es el caso de Estudio federal Tuskegee el cual no trató adecuadamente a la población negra con sífilis.

Uno de los esfuerzos para aumentar la confianza en las vacunas viene de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) como parte de un esfuerzo federal de EE.UU. que consiste en organizar campañas que ofrezcan un acercamiento con la gente mediante la lectura de cuentos, charlas, entre otras actividades; sin duda este tendrá que ser un trabajo constante y duradero antes de ver los resultados reflejados en la tasa de vacunación y no deberá dejarse aun cuando la pandemia del SARS-CoV-2 haya terminado, ya que antes de ésta las agencias de salud pública en todos los países ya habían problematizado esta cuestión y luchaban por contrarrestar el crecimiento movimiento antivacunas, las ideas antivacunación incluso han llegado a ser nombradas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las 10 principales amenazas contra la salud en el 2019. Recomendaciones por parte de los expertos de City University of New York y LSHTM han sugerido que para llegar a más público deben usarse estrategias emocionales parecidas a las que usa el movimiento antivacunas, como la utilización de videos de YouTube sobre narraciones de sobrevivientes de la enfermedad, sin embargo no todos los esfuerzos deben de concentrarse en el mundo digital, ya que las herramientas fuera de éste ámbito son también importantes y podrían consistir (por ejemplo) en colocar los lugares de vacunación cerca de centros de trabajo, estudio o comercio (Cornwall, 2020).

Como se ha podido observar a lo largo de este capítulo, cualquier vacuna contra el coronavirus enfrenta desafíos no solo en la eficiencia y seguridad, sino también en generar la suficiente confianza en las personas para que accedan voluntariamente a obtener una vacuna, obtener como mínimo el 70% de inmunización de la población será crucial para acabar con la pandemia, un factor que puede jugar a favor de la vacunación contra el SARS-CoV-2 es que probablemente en algún momento existan varias opciones de vacunación como posibles alternativas a elegir, por lo que los expertos en salud tendrán un gran compromiso en divulgar y aconsejar a la población sobre cuál es la mejor vacuna según sus condiciones de edad, sexo, comorbilidades, etc. Para lograr que la inmunización de enfermedades

para las cuales ya existe vacunación siga siendo una realidad se deberán hacer alianzas entre trabajadores de la salud, comunidad científica y gobierno, para que actúen de manera coordinada, lanzando campañas de información y sensibilización sobre la vacunación que puedan combatir el alarmismo y los mitos que existen en torno a ésta (Cornwall, 2020; Hesman, 2020; Rosselli *et al.*, 2016).

11. Nuevas propuestas para enfrentar amenazas infecciosas globales, consideraciones que deja el COVID-19.

Las enfermedades zoonóticas han causado pandemias humanas desde hace miles de años, normalmente suelen extenderse en los territorios en varias oleadas y existe una probabilidad de que terminen convirtiéndose en enfermedades endémicas o estacionales, tal es el caso de la gripe española, la cual a partir de 1918 se convirtió en una influenza estacional (después de 5 años de haber estado en contacto con la población), de la misma manera existe la posibilidad de que los coronavirus que actualmente causan resfriado común sean consecuencia de pandemias anteriores. El dramático panorama de las crisis sociales, económicas y de salud que la humanidad ha enfrentado en los últimos años con la aparición del SARS-CoV-2 junto con otras amenazas infecciosas globales emergentes provocadas virus como el ébola, zika o peste porcina africana reflejan la urgente necesidad de reflexionar sobre la salud humana en donde de adoptarse medidas adecuadas, se logrará prevenir y afrontar a la humanidad de futuras probables enfermedades infecciosas, algunos de esos retos actuales y reflexiones sobre cómo se tiene que actuar para evitar o aminorar el impacto de futuras emergencias globales son:

- **Reconocer el origen de virus zoonóticos y mitigar prácticas que favorecen su aparición:** En los últimos enfermedades 40 años la población mundial se ha enfrentado a numerosas enfermedades zoonóticas como el sida, lyme, ecefalopatía espongiforme bovina, encefalitis producida por el virus Nipah, zika, fiebre del Nilo Occidental y desde luego neumonías causadas por tres coronavirus con relevancia clínica, los factores que contribuyen a la aparición de enfermedades zoonóticas emergentes son la rápida expansión humana hacia territorios que antes no habían sido tocados (lo cual expone a la humanidad con nuevos patógenos), la producción intensiva de animales para consumo humano, el cambio climático que obliga a especies de animales al desplazamiento (especialmente los insectos).

- **El trabajo que estreche colaboraciones internacionales será muy importante en temas de salud pública:** estos lazos se han visto necesarios para entender los procesos de inmunopatogénesis y mecanismos de protección de enfermedades infecciosas, mientras se realizan los ensayos de las vacunas candidatas. Las ventajas de una comunidad científica internacional que tenga una comunicación efectiva se traducen en la aceleración del tiempo que lleva producir una vacuna y la reducción de costes, la secuencia viral del SARS-CoV-2 se realizó en tres días, mientras que las pruebas de inmunogenicidad estaban listas en tan solo 38 días, por lo que los pronósticos para empezar ensayos clínicos de algunas vacunas candidatas avanzadas en marzo eran altos, esto solo fue posible a la unión de varios grupos de trabajo y porque se tenía información sobre otros coronavirus previamente, se sabe que de no haber hecho esta colaboración internacional estos estudios hubiesen tardado años en lugar de meses. Estas relaciones internacionales también serán indispensables para una vigilancia mundial de patógenos potenciales a convertirse en una amenaza global, esta red internacional debe operar con una visión clara en donde impere la confianza, complementariedad y el beneficio de todas las partes.
- **Mayor interacción entre el campo médico humano y el veterinario ayudará a comprender mejor sobre enfermedades infecciosas en animales con la capacidad de propagarse en humanos:** en la medida en que se controlen las enfermedades infecciosas en animales se controlará también el riesgo que enfermedades zoonóticas que puedan llegar a ser una amenaza para la salud humana y la seguridad alimentaria; un caso que ejemplifica el impacto de ésta última fue lo que pasó en el 2018 con la peste porcina que se propagó por toda Asia, ese serotipo era altamente infeccioso y causó una gran mortalidad entre los cerdos debido a que no existía una vacuna disponible, esto ocasionó que la producción china de cerdo (la cual cubre la mitad de la producción mundial) se redujera a la mitad en casi 2 años, lo cual ocasionó escasez del producto alimentario con un aumento de su costo. Es claro que una manera de actuar oportunamente ante este tipo de sucesos implica servicios veterinarios altamente competentes que puedan supervisar el movimiento de animales transfronterizos; de manera adicional potenciar la sinergia entre el campo médico y veterinario favorece la investigación para el desarrollo de vacunas, por ejemplo una investigación conjunta en estos dos campos podría reducir en años el tiempo necesario para seleccionar un modelo animal adecuado según el tipo de enfermedad.

- **Enfoques reguladores y una estructura de gobierno que pueda facilitar acceso a las vacunas de enfermedades infecciosas en las regiones más pobres del mundo:** las regiones más desfavorecidas del mundo tienen el riesgo de no obtener una cobertura de vacunación adecuada, cada año mueren aproximadamente 3 millones de personas por enfermedades de las cuales ya existe vacuna y en los países pobres se sabe que de las 10 principales causas de muerte, 6 se deben a enfermedades para las que ya existe vacuna; en estas zonas pueden empezar brotes epidémicos y extenderse con mayor facilidad.
- **Creación de modelos matemáticos que puedas prevenir y acompañar eventos pandémicos.** Apoyarse de modelados matemáticos que consideren parámetros del patógeno siempre será una herramienta valiosa cuando se trata de calcular el número de infectados en una región, dichos modelos deberán ser la base de políticas para el control temprano de una enfermedad (restricciones de viaje, cierre de centros educativos, rastreo de contactos, entre otros), todas las medidas que se adopten tempranamente marcarán la trayectoria que seguirá la curva de contagios, la idea es que medidas como la distancia social o el uso de equipo de protección sirven para aplanar la curva y sirvan como fase inicial para frenar la propagación; otra forma de amortiguar el impacto de una epidemia podría ser la medicación antiviral temprana, la cual deberá siempre ser discutida por las autoridades científicas y médicas encargadas.
- **Desarrollo de infraestructuras y estrategias adecuadas para la producción, distribución de vacunas y aplicación de vacunas:** La pandemia ocasionada por SARS-CoV-2 ha dejado en evidencia la necesidad de desarrollar vacunas efectivas, seguras y económicas, sin embargo existen características altamente deseables en los productos vacunales que la inmunización en masa de la población como una vacuna de alta estabilidad que no requiera tantos requerimientos técnicos o un modo de administración amigable (de tal manera que puedan estar disponibles en zonas donde existen muchos obstáculos de distribución); de la misma manera es necesario infraestructuras capaces de fabricar vacunas a gran escala con altos estándares de calidad y tener estrategias primarias de vacunación para contener las amenazas pandémicas lo más pronto posible antes de tener la suficiente cantidad de vacunas para todas las personas como la vacunación en racimo /en donde se vacunan primero centros educativos / trabajo) o vacunación en anillos geográficos, las cuales han demostrado ser métodos efectivos para detener las cadenas de contagios en enfermedades infecciosas.

- **Autoridades regulatorias competentes:** El papel de las estancias reguladoras es clave en una situación de emergencia pandémica, por un lado existe la necesidad de acelerar la aprobación de vacunas de manera rápida sin embargo debe tomarse con cautela, debido que aprobar un candidato que no demuestra ser seguro o efectivo podría resultar contraproducente y abatir la confianza en el público, en este sentido se ha pedido a comunidades de expertos como The International Accounting Standards Board (IASB) que dediquen tiempo y esfuerzos para agilizar la aprobación de vacunas contra enfermedades infecciosas emergentes que aún no obtienen la licencia y que sus procesos regulatorios han quedado estancados.
- **Incentivar una economía de la salud:** Una economía que priorice la salud de los habitantes no podrá basada en el modelo de “retorno de la inversión” en donde solo se consideran parámetros económicos para la resolución de temas de salud pública, pese a que la vacunación es por mucho la invocación en materia de salud más importante de toda la historia de la humanidad y salva aproximadamente 6 millones de vidas cada año, países con recursos económicos como los países que pertenecen a la Unión Europea ni siquiera invierten el 0.5% de su Producto Interno Bruto (PIB) en su vacunación; sin duda lograr una conciencia de los beneficios socioeconómicos con impacto en la reducción de pobreza, productividad, incremento del PIB, etc que trae consigo la vacunación e investigación de patógenos es otro retro que debe ser superado (Holm, 2020).

Conclusiones.

Es importante destacar que la elaboración de cualquier vacuna inicia con la identificación de un antígeno capaz de generar una respuesta inmune robusta en el organismo, para el desarrollo de una vacuna contra el SARS-CoV-2 esto no hubiese sido posible sin los avances científicos en biología estructural y genómica con los que se cuenta actualmente; paralelamente la fabricación de vacunas es un proceso complejo, de alto desgaste y con altas tasas de fallos que no solo está mediado por la plataforma de vacunación empleada o el patógeno de interés, sino también por las autoridades regulatorias y los financiamientos, los cuales juegan un papel fundamental en el avance y rapidez de cualquier vacuna candidata.

Esta revisión permite entender la complejidad y variedad de los resultados de seguridad e inmunogenicidad monitoreados a través de los ensayos clínicos de las vacunas contra el SARS-CoV-2, aunque por ahora las fases clínicas sean

tempranas y no se pueda evaluar cabalmente la eficacia de las vacunas en desarrollo. Es importante que cuando se evalúe la inmunogenicidad se considere la inmunidad humoral (medición de anticuerpos) y la inmunidad celular (respuestas de las células T), además estas últimas serán las que indiquen la asociación entre citocinas presentes en subtipos de células T y el agravamiento de la enfermedad (fenómenos ADE y VAERD).

La información obtenida indica que sólo las investigaciones que se hagan con el paso del tiempo serán las que aclaren más información sobre este novedoso coronavirus, como el correlato de protección, las mejores vacunas para ciertas subpoblaciones o la evolución entre virus-hospedero. La humanidad está viviendo un momento histórico, aun cuando las primeras vacunas contra el SARS-CoV-2 funcionen adecuadamente desde un inicio, faltará que la vacunación masiva contra este coronavirus se lleve a cabo de manera sostenida a lo largo de los años (no sólo para nuevas generaciones, sino también porque se considera que la duración de la protección de las vacunas durará sólo unos meses); la desinformación y el miedo ha hecho que las personas estén en contra de la vacunación masiva, consolidando un creciente movimiento anti ciencia y particularmente antivacunas, en ese sentido las ciencias tendrán la oportunidad de aportar información de calidad que resulte beneficiosa para la salud pública.

El SARS-CoV-2 es un virus que llegó para cambiar y reconsiderar muchos aspectos de la vida humana, es un hecho que seguir destruyendo e invadiendo los ecosistemas naturales aumenta las probabilidades de exponer a la población mundial a otros virus con potencialidad pandémica y el no reconocer el origen natural de SARS-CoV-2 se encuentra entre los primeros obstáculos para un cambio de paradigma que considere a los individuos como agentes de cambio en la relación humano-ecosistema. Sin duda esta será una experiencia en la que se podrá constatar lo que la industria farmacéutica puede ofrecerle al mundo pero sobre todo lo que la especie humana puede ofrecer y aprender sobre esta pandemia.

Bibliografía

- Abdullahi, I. N., Emeribe, A. U., Ajayi, O. A., Oderinde, B. S., Amadu, D. O., & Osuji, A. I. (2020). Implications of SARS-CoV-2 genetic diversity and mutations on pathogenicity of the COVID-19 and biomedical interventions. *Journal of Taibah University Medical Sciences* 15(4), 258–264. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2020.06.005>
- Agmon, N., Kivity, S., Szyper-Kravitz, M. Shoenfeld, Y. (2009) Transverse myelitis and vaccines: a multi-analysis. *SAGE Journals* 18(13), 1198-1204. <https://doi.org/10.1177/0961203309345730>
- Ahmed, E. H., & Alnour, T. M. S. (2020). Genetic variations among SARS-CoV-2 strains isolated in China. *Gene Reports*, 21, 100925. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100925>
- Al, A. (2020) Pfizer, BioNTech 'quietly' usher a 5th COVID-19 jab into the clinic: analyst. *FIERCE Biotech*. Recuperado el 28 de Septiembre del 2020, de <https://www.fiercebiotech.com/biotech/pfizer-biontech-quietly-usher-a-5th-covid-19-jab-into-clinic-analyst>
- Amanat, F., Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Cell Press: Immunity*. 52(4), 583–589. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.007>
- Batista, A., Lastre, M., Pérez, O. (2014). Adyuvantes inmunológicos. Determinantes en el balance eficacia-toxicidad de las vacunas contemporáneas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 32(2), 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.11.012>
- BBC News Mundo. (2020a). Vacuna del coronavirus: la Universidad de Oxford y AstraZeneca reanudarán los ensayos clínicos interrumpidos por una reacción adversa. Recuperado el 5 de Octubre del 2020, de <https://www.bbc.com/mundo/noticias-america-latina-53761315>
- BBC News Mundo. (2020b). AstraZeneca y la vacuna contra la covid-19: México y Argentina anuncian que producirán y distribuirán para América Latina la vacuna de Oxford. Recuperado el 23 de Septiembre del 2020, de <https://www.bbc.com/mundo/noticias-america-latina-53761315>
- Boodman, E. (2020). Researchers rush to test coronavirus vaccine in people without knowing how well it works in animals. *STAT*. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <https://www.statnews.com/2020/03/11/researchers-rush-to-start-moderna-coronavirus-vaccine-trial-without-usual-animal-testing/>
- Bloomberg News. (2020). Sinopharm Says Second Covid Vaccine Found to Be Safe. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <https://www.bloomberg.com/news/articles/2020-06-28/sinopharm-says-2nd-covid-vaccine-found-to-be-safe-in-testing>
- Callaway, E. (2020a). The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature*, 580(7805), 576–577. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01221-y>

- Callaway, E. (2020b). Coronavirus vaccines leap through safety trials but which will work is anybody's guess. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02174-y>
- Calvo, S. (2013) Cultivo de células en 3D: la nueva dimensión de los cultivos celulares. Universidad de Salamanca. Recuperado el 6 de Agosto del 2020 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4462495>
- Centers for Disease Control and Prevention (2019). Administer the Vaccine(s). Recuperado el 19 de Agosto del 2020 de <https://www.cdc.gov/vaccines/hcp/admin/administer-vaccines.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). How Influenza (Flu) Vaccines Are Made. Recuperado el 19 de Agosto del 2020 de <https://www.cdc.gov/flu/prevent/how-fluvaccine-made.htm>
- China Bio. (2020). Se llevó a cabo la ceremonia de desenmascaramiento de la nueva fase I / II de la vacuna inactivada corona del Instituto de Productos Biológicos de Beijing del Grupo Sinopharm. Recuperado el 28 de Septiembre del 2020, de <https://n9.cl/39u3>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020a). A randomized, double-blind, placebo parallel-controlled phase I/II clinical trial for inactivated Novel Coronavirus Pneumonia vaccine (Vero cells) Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=52227>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020b). A Phase III clinical trial for inactivated novel coronavirus pneumonia (COVID-19) vaccine (Vero cells). Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=56651>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020c). Phase I / II Clinical Trial of the Inactivated Novel Coronavirus (2019-CoV) Vaccine (Vero Cells). Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <http://www.chictr.org.cn/showproj.aspx?proj=53003>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020d). A single-center, open and dose-escalation phase I clinical trial for recombinant novel coronavirus vaccine (adenoviral vector) in healthy adults aged between 18 and 60 years. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=51154>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020e). A randomized, double-blinded, placebo-controlled phase II clinical trial for Recombinant Novel Coronavirus (2019-nCoV) Vaccine (Adenovirus Vector) in healthy adults aged above 18 years. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=52006>
- Chinese Clinical Trial Registry. (2020f). A Phase I clinical trial of novel coronavirus pneumonia (COVID-19) mRNA Vaccine (BNT162b1) in China. Recuperado el 23 de Julio del 2020 de <http://www.chictr.org.cn/showprojen.aspx?proj=56834>
- Chen, W., Strych, U., Hotez, P., Bottazzi, M. (2020). The SARS-CoV-2 Vaccine Pipeline: an Overview. *Current Tropical Medicine Reports*. Vol. 7,2. 61–64. <https://doi.org/10.1007/s40475-020-00201-6>

- Clinical Trials Registry India. (2020). A Phase 2/3, Observer-Blind, Randomized, Controlled Study to Determine the Safety and Immunogenicity of Covishield (COVID-19 Vaccine) in Healthy Indian Adults. Recuperado el 4 de Octubre del 2020 de <http://ctri.nic.in/Clinicaltrials/showallp.php?mid1=46186&EncHid=&userName=covid-19%20vaccine>
- Cohen, J. (2020a). The line is forming for a COVID-19 vaccine. Who should be at the front? *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.abd5770>
- Cohen, J. (2020b). Speed coronavirus vaccine testing by deliberately infecting volunteers? Not so fast, some scientists warn. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.abc0006>
- Collins, F., Stoffels, P. (2020). Accelerating COVID-19 Therapeutic Interventions and Vaccines (ACTIV): An Unprecedented Partnership for Unprecedented Times. *Journal of the American Medical Association* (Vol. 323, Issue 24, pp. 2455–2457). <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8920>
- Corbett, K. S., Edwards, D. K., Leist, S. R., Abiona, O. M., Boyoglu-Barnum, S., Gillespie, R. A., Himansu, S., Schäfer, A., Ziwawo, C. T., DiPiazza, A. T., Dinnon, K. H., Elbashir, S. M., Shaw, C. A., Woods, A., Fritch, E. J., Martinez, D. R., Bock, K. W., Minai, M., Nagata, B. M., Hutchinson, G. B., Wu, K., Henry, C., Bahl, K., Garcia-Dominguez, D., Ma, L. Z., Renzi, I., Kong, W.-P., Schmidt, S. D., Wang, L., Zhang, Y., Phung, E., Chang, L. A., Loomis, R. J., Altaras, N. E., Narayanan, E., Metkar, M., Presnyak, V., Liu, C., Louder, M. K., Shi, W., Leung, K., Yang, E. S., West, A., Gully, K. L., Stevens, L. J., Wang, N., Wrapp, D., Doria-Rose, N. A., Stewart-Jones, G., Bennett, H., Alvarado, G. S., Nason, M. C., Ruckwardt, T. J., McLellan, J. S., Denison, M. R., Chappell, J. D., Moore, I. N., Morabito, K.M., Mascola, J. R., Baric, R. S., Carfi, A., Graham, B. S. (2020). SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature*, 586(7830), 567–571. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2622-0>
- Cornwall, W. (2020). Officials gird for a war on vaccine misinformation. *Science*, 369(6499), 14–15. <https://doi.org/10.1126/science.369.6499.14>
- Corona, L. (2020). El mexicano que avanza para lograr una vacuna vs COVID-19 | Tecnológico de Monterrey. Tecnológico de Monterrey. Recuperado el 22 de Septiembre del 2020, de <https://tec.mx/es/noticias/nacional/salud/el-mexicano-que-avanza-para-lograr-una-vacuna-vs-covid-19>
- Cruz, A. (2020) Desarrolla México 4 proyectos de vacuna anti-Covid. *La Jornada*. Recuperado el 22 de Septiembre del 2020, de <https://www.jornada.com.mx/ultimas/politica/2020/06/30/desarrolla-mexico-4-proyectos-de-vacuna-anti-covid-410.html>
- Department of Health and Human Services. (2020). Fact Sheet: Explaining Operation Warp Speed. Recuperado el 15 de Septiembre del 2020, de <https://www.hhs.gov/about/news/2020/06/16/fact-sheet-explaining-operation->

warp-speed.html

- Doremalen, N., Lambe, T., Spencer, A., Belij, S., Purushotham, J., Port, J., Avanzato, V., Bushmaker, T., Flaxman, A., Ulaszewska, M., Feldmann, F., Allen, R., Sharpe, H., Schulz, J., Holbrook, M., Okumura, A., Meade, K., Pérez, L., Bissett, C., Gilbride, C., Williamson, B., Rosenke, R., Long, D., Ishwarbhai, A., Kailath, R., Rose, L., Morris, S., Powers, C., Lovaglio, J., Hanley, P., Scott, D., Saturday, G., Wit, E., Gilbert, S., Munster, V. (2020). ChAdOx1 nCoV-19 vaccination prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature*. 586, 578–582. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2608-y>
- El Español. (2020). CanSino, que trabaja en la vacuna de la Covid, sube un 87,4% en su debut en el Nasdaq chino. Recuperado el 13 de Octubre del 2020, de https://www.elespanol.com/invertia/mercados/20200813/cansino-trabaja-vacuna-covid-debut-nasdaq-chino/512699438_0.html
- El Financiero. (2020). Hay 7 vacunas contra COVID-19 de distintos países que quieren realizar estudios de Fase 3 en México: Ebrard. Recuperado el 23 de Septiembre del 2020, de <https://www.elfinanciero.com.mx/salud/hay-7-vacunas-covid-de-distintos-paises-que-quieren-realizar-estudios-fase-3-en-mexico-ebrard>
- EU Clinical Trials Register. (2020a). A phase I/II study to determine efficacy, safety and immunogenicity of the candidate Coronavirus Disease (COVID-19) vaccine ChAdOx1 nCoV-19 in UK healthy adult volunteers. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2020-001072-15/GB>
- EU Clinical Trials Register. (2020b). A phase 2/3 study to determine the efficacy, safety and immunogenicity of the candidate Coronavirus Disease (COVID-19) vaccine ChAdOx1 nCoV-19. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2020-001228-32/GB>
- EU Clinical Trials Register. (2020c). Clinical trials for BNT162-01. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=BNT162-01>
- Euronews. (2020). Putin afirma que Rusia ya tiene la vacuna contra la COVID-19 y que su hija la ha probado. Recuperado el 18 de Octubre del 2020, de <https://es.euronews.com/2020/08/11/putin-afirma-que-rusia-ya-tiene-la-vacuna-contra-la-covid-19-y-que-su-hija-la-ha-probado>
- Excélsior. (2020). Autoriza China primera patente de vacuna de CanSino Biologics. Recuperado el 13 de Octubre del 2020, de <https://www.excelsior.com.mx/global/autoriza-china-primera-patente-de-vacuna-de-cansino-biologics/1400319>
- Feuerstein, A. (2020a) Sinovac says early data show its Covid-19 vaccine generated immune responses. STAT. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <https://www.statnews.com/2020/06/14/sinovac-early-data-covid19-vaccine->

generated-immune-responses/

- Feuerstein, A. (2020b). Covid-19 vaccine trial participant had serious neurological symptoms, but could be discharged today, AstraZeneca CEO says. STAT. Recuperado el 5 de Octubre del 2020, de <https://www.statnews.com/2020/09/09/astrazeneca-covid19-vaccine-trial-hold-patient-report/>
- Fischetti, M., Christiansen, J. (2020). Coronavirus Vaccine Is 90 Percent Effective in Large Trial, Pfizer Says. *Scientific American*. Recuperado el 9 de Noviembre del 2020 de <https://n9.cl/kn2pe>
- Forbes México. (2020a) Vacuna china CoronaVac es segura; resultado fue más débil en ancianos. Recuperado el 16 de Septiembre del 2020, de <https://www.forbes.com.mx/mundo-vacuna-china-coronavac-luce-segura-resultado-debil-ancianos/>
- Forbes México. (2020b). México albergará ensayos de fase 3 de vacuna rusa en octubre: Ebrard. Recuperado el 23 de Septiembre del 2020, de <https://www.forbes.com.mx/noticias-mexico-albergara-ensayos-fase-3-vacuna-rusa-en-octubre-ebrard/>
- Folegatti, P. M., Ewer, K. J., Aley, P. K., Angus, B., Becker, S., Belij-Rammerstorfer, S., Bellamy, D., Bibi, S., Bittaye, M., Clutterbuck, E. A., Dold, C., Faust, S. N., Finn, A., Flaxman, A. L., Hallis, B., Heath, P., Jenkin, D., Lazarus, R., Makinson, R., Minassian, A. M., Pollock, K. M., Ramasamy, M., Robinson, H., Snape, M., Tarrant, R., Voysey, M., Green, C., Douglas, A. D., Hill, A., Lambe, T., Gilbert, S. C., Pollard, A. J. (2020). 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. *The Lancet*, 0(0). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31604-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31604-4)
- François, D., Alain, S., Ploy, M. (2007). New routes of administration: epidermal, transcutaneous mucosal ways of vaccination. *Medecine Sciences : M/S*, 23(4). <https://doi.org/10.1051/MEDSCI/2007234379>
- Frías, G. (2020). México recibirá 32 millones de dosis de la vacuna Sputnik-V contra el coronavirus. CNN. (n.d.). Retrieved September 23, 2020, from <https://cnnespanol.cnn.com/video/mexico-vacuna-sputnik-rusia-coronavirus-salud/>
- Gallais, F., Velay, A., Wendling, M.-J., Nazon, C., Partisani, M., Sibilia, J., Candon, S., Fafi-Kremer, S. (2020). Intrafamilial Exposure to SARS-CoV-2 Induces Cellular Immune Response without Seroconversion. *MedRxiv*, 2020.06.21.20132449. <https://doi.org/10.1101/2020.06.21.20132449>
- Gao, Q., Bao, L., Mao, H., Wang, L., Xu, K., Yang, M., Li, Y., Zhu, L., Wang, N., Lv, Z., Gao, H., Ge, X., Kan, B., Hu, Y., Liu, J., Cai, F., Jiang, D., Yin, Y., Qin, C., Li, J., Gong, X., Lou, X., Shi, W., Wu, D., Zhang, H., Zhu, L., Deng, W., Li, Y., Lu, J., Li, C., Wang, X., Yin, W., Zhang., Qin, C. (2020). Development of an

- inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 369(6499), 77-81. <https://doi.org/10.1126/science.abc1932>
- Gomez, P. L., Robinson, J. M. (2018). Vaccine Manufacturing. In *Plotkin's Vaccines*. pp. 51-60.e1. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-35761-6.00005-5>
- González, F., Picazo, J. (2015). El desarrollo de nuevas vacunas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(8), 557–568. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.06.013>
- Graham, S. B. (2020). Rapid COVID-19 vaccine development. *Science*. 368(6494), 945-946. DOI: 10.1126/science.abb8923
- Grifoni, A., Weiskopf, D., Ramirez, S., Mateus, J., Dan, J., Moderbacher, C., Rawlings, S., Sutherland, A., Premkumar, L., Jadi, R., Marrama, D., de Silva, A., Frazier, A., Carlin, A. F., Greenbaum, J. A., Peters, B., Krammer, F., Smith, D., Crotty, S., Sette, A. (2020). Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*, 181(7), 1489-1501.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.015>
- Haseltine, W. (2020a). William A. Haseltine PhD A Life Dedicated To Improving Human Health At Every Scale. Recuperado el 23 de Julio del 2020 de <https://www.williamhaseltine.com/>
- Haseltine, W. (2020b). Did The Oxford Covid Vaccine Work In Monkeys? Not Really. *Forbes*. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.forbes.com/sites/williamhaseltine/2020/05/16/did-the-oxford-covid-vaccine-work-in-monkeys-not-really/#5bffd503c712>
- Hesman, T. A. (2020). COVID-19 vaccine may come soon. Will the blistering pace backfire? *Science News*. Recuperado el 16 de Julio del 2020, de <https://www.sciencenews.org/article/coronavirus-covid-19-vaccine-clinical-trials-speed-safety>
- Hinman, A. R., Orenstein, W. A., Santoli, J. M., Rodewald, L. E., & Cochi, S. L. (2006). Vaccine Shortages: History, Impact, and Prospects for the Future. *Annual Review of Public Health*, 27(1), 235–259. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.27.021405.102248>
- Holm, A. (2020). New paths for sustainable solutions to tackle global and emerging infectious threats. *Biologicals*, 65, 42–45. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2020.04.003>
- Indonesia Registry Center. (2020). A phase III, Observer-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study of the Efficacy, Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 Inactivated Vaccine in Healthy Adults Aged 18-59 Years in Indonesia. Recuperado el 17 de Septiembre del 2020, de https://www.ina-registry.org/index.php?act=registry_trial_detail&code_trial=16202009080721WXFM0YX
- Infobae. (2020). Vacuna coronavirus: México está en la iniciativa COVAX para

adquirir la cura. Recuperado el 22 de Julio del 2020, de <https://www.infobae.com/america/mexico/2020/07/18/vacuna-coronavirus-mexico-esta-en-la-iniciativa-covax-de-para-adquirir-la-cura/>

International Standard Randomised Controlled Trial Number. (2020). A phase III randomized controlled trial to determine safety, efficacy, and immunogenicity of the non-replicating ChAdOx1 nCoV-19 vaccine. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <http://www.isrctn.com/ISRCTN89951424>

Institute for Vaccine Safety. (2020). Do Vaccines Cause Transverse Myelitis? Recuperado el 5 de Octubre de <https://www.vaccinesafety.edu/vs-tm.htm>

Jackson, L. A., Anderson, E. J., Roupael, N. G., Roberts, P. C., Makhene, M., Coler, R. N., McCullough, M. P., Chappell, J. D., Denison, M. R., Stevens, L. J., Pruijssers, A. J., McDermott, A., Flach, B., Doria-Rose, N. A., Corbett, K. S., Morabito, K. M., O'Dell, S., Schmidt, S. D., Swanson, P. A., Padilla, B.S., Mascola, J.R., Kathleen M., Neuzil, K.M., Bennett, H., Sun, W., Peters, E., Makowski, M., Albert, J., Cross, K., Buchanan, B.S., Pikaart-Tautges, R., Ledgerwood, J. E., Graham, B. S., Beigel, J. H. (2020). An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*, NEJMoa2022483. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2022483>

Khare, R., Y. Chen, C., A. Weaver, E., & A. Barry, M. (2011). Advances and Future Challenges in Adenoviral Vector Pharmacology and Targeting. *Current Gene Therapy*, 11(4), 241–258. <https://doi.org/10.2174/156652311796150363>

Korber, B., Fischer, W. M., Gnanakaran, S., Yoon, H., Theiler, J., Abfalterer, W., Hengartner, N., Giorgi, E. E., Bhattacharya, T., Foley, B., Hastie, K. M., Parker, M. D., Partridge, D. G., Evans, C. M., Freeman, T. M., Silva, T. I., McDanal, C., Perez L. G., Tang, H., Moon, A. W., Whelan, S. P., LaBranche, C. C., Saphire, E. O., Montefiori, D. C. (2020). Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*, 182(4), 812-827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>

Kreston, R. (2013). The Public Health Legacy of the 1976 Swine Flu Outbreak. *Discover Magazine*. Recuperado el 5 de Octubre del 2020 de <https://www.discovermagazine.com/health/the-public-health-legacy-of-the-1976-swine-flu-outbreak>

La Mattina, J. (2020). Will Moderna Match Competitors' Covid-19 Vaccine Prices? *Forbes*. Recuperado el 23 de Julio del 2020 de <https://www.forbes.com/sites/johnlamattina/2020/07/22/will-moderna-match-competitors-covid-19-vaccine-prices/#35b207b05e01>

Letto, G. (2020). SARS – CoV-2: Reasons of epidemiology of severe ill disease cases and therapeutic approach using trivalent vaccine (tetanus, diphtheria and Bordetella pertussis). *Medical Hypotheses*, 141, 109779. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109779>

Li, X., Giorgi, E. E., Marichannegowda, M. H., Foley, B., Xiao, C., Kong, X.-P., Chen,

- Y., Gnanakaran, S., Korber, B., & Gao, F. (2020a). Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection. *Science Advances*, 6(27), eabb9153. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb9153>
- Li, Q., Wu, J., Nie, J., Zhang, L., Hao, H., Liu, S., Zhao, C., Zhang, Q., Liu, H., Nie, L., Qin, H., Wang, M., Lu, Q., Li, X., Sun, Q., Liu, J., Zhang, L., Li, X., Huang, W., & Wang, Y. (2020b). The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell*, 0(0). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>
- Liu, R., Goh, B. (2020a). China's Sinovac gains land and loans to speed up work on coronavirus vaccine. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de <https://www.reuters.com/article/health-coronavirus-china-sinovac-biotech/chinas-sinovac-gains-land-and-loans-to-speed-up-work-on-coronavirus-vaccine-idUSL5N2CB0C9>
- Liu, R., Munroe, T. (2020b). China's CNBG to donate 200,000 coronavirus vaccine doses to medics in Wuhan. Recuperado el 28 de Septiembre del 2020, de <https://www.reuters.com/article/healthcoronavirus-vaccine-cnbg/chinas-cnbg-to-donate-200000-coronavirus-vaccine-doses-to-medics-in-wuhan-idUKL3N2GL1AL>
- Logunov, D. Y., Dolzhikova, I. V., Zubkova, O. V., Tukhvatullin, A. I., Shcheblyakov, D. V., Dzharullaeva, A. S., Grousova, D. M., Erokhova, A. S., Kovyrshina, A. V., Botikov, A. G., Izhaeva, F. M., Popova, O., Ozharovskaya, T. A., Esmagambetov, I. B., Favorskaya, I. A., Zrelkin, D. I., Voronina, D. V., Shcherbinin, D. N., Semikhin, A. S., Simakova, Y. V., Tokarskaya, E. A., Lubenets, N. L., Egorova, D. A., Shmarov, M. M., Nikitenko, N. A., Morozova, L. F., Smolyarchuk, E. A., Kryukov, E. V., Babira, V. F., Borisevich, S. V. Naroditsky, B. S., Gintsburg, A. L. (2020). 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. *The Lancet*, 396(10255), 887–897. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3)
- Lowe, D. (2020a) Coronavirus Vaccine Prospects. *Science Translational Medicine*. Recuperado el 13 de Julio del 2020, de <https://blogs.sciencemag.org/pipeline/archives/2020/04/15/coronavirus-vaccine-prospects>
- Lowe, D. (2020b). A Close Look at the Frontrunning Coronavirus Vaccines As of May 1 (updated). *Science Translational Medicine*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.13.036293V1>
- Lurie, N., Saville, M., Hatchett, R., Halton, J. (2020). Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. *New England Journal of Medicine*, 382(21), 1969–1973. <https://doi.org/10.1056/NEJMp2005630>
- Madjid, M., Safavi, P., Solomon, S., Vardeny, O. (2020). Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System: A Review. *Cardiology*. American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.1286>

- Martínez, C., Médica, A., Eider, M.-C., Álvaro, M., Ocampo. M. (2018). *Revista Médica de Risaralda*; 24(2): 139-142, <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v24n2/0122-0667-rmri-24-02-139.pdf>
- Millán, A. (2020). Coronavirus “No es una creación de laboratorio”: cómo un grupo de científicos logró demostrar el origen natural del virus que causa covid-19. *BBC News Mundo*. Recuperado el 14 de Agosto del 2020 de <https://www.bbc.com/mundo/noticias-52140543>
- Miranda, F. (2020). Alistan pruebas de vacuna mexicana contra covid-19 en humanos. *Milenio*. Recuperado el 24 de Septiembre del 2020, de <https://www.milenio.com/ciencia-y-salud/vacuna-coronavirus-mexico-avimex-logra-avance>
- Mulligan, M. J. (2020). An Inactivated Virus Candidate Vaccine to Prevent COVID-19. *Journal of the American Medical Association*. 324, 10, 943–945 <https://doi.org/10.1001/jama.2020.15539>
- Mulligan, M., Lyke, K., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Neuzil, K., Raabe, V., Bailey, R., Swanson, K. A., Li, P., Koury, K., Kalina, W., Cooper, D., Fontes-Garfias, C., Shi, P.-Y., Türeci, Özlem, Tompkins, K. R., Walsh, E. E., Frenck R., Falsey, A. R., Dormitzer, P. R, Gruber, W. C., Sahin, U., Jansen, K. U. (2020). Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2639-4>
- Murphy, K. (2020). Australian government does deal to secure potential Oxford University Covid vaccine. *The Guardian*. Recuperado el 5 de Octubre de <https://www.theguardian.com/australia-news/2020/aug/18/australian-government-does-deal-to-secure-potential-oxford-university-covid-vaccine-for-free>
- National Institutes of Health. (2020). NIH to launch public-private partnership to speed COVID-19 vaccine and treatment options. Recuperado el 9 de Septiembre del 2020 <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-launch-public-private-partnership-speed-covid-19-vaccine-treatment-options>
- National Library of Medicine. (2020a). Safety and Immunogenicity Study of Inactivated Vaccine for Prophylaxis of SARS CoV-2 Infection (COVID-19). *Clinical Trials*. Recuperado el 16 de Septiembre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04352608?term=Sinovac&cntry=CN&draw=2>
- National Library of Medicine. (2020b). Safety and Immunogenicity Study of Inactivated Vaccine for Prevention of SARS-CoV-2 Infection(COVID-19). *Clinical Trials*. Recuperado el 22 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04383574?term=covid-19&cond=vaccine&cntry=CN&draw=2>
- National Library of Medicine. (2020c). Clinical Trial of Efficacy and Safety of Sinovac’s Adsorbed COVID-19 (Inactivated). *Vaccine in Healthcare*

Professionals. Clinical Trials. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04456595?term=vaccine&cond=covid-19&draw=2&rank=1>

National Library of Medicine. (2020d). Randomized, Double Blind, Placebo Parallel-controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy, Immunogenicity and Safety of the Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine (Vero Cell) in Argentine Healthy Population Aged Between 18 and 85 Years. Clinical Trials. Recuperado el 30 de Septiembre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04560881?term=vaccine&cond=covid-19&draw=2&rank=3>

National Library of Medicine. (2020e). A Phase I/II Study to Determine Efficacy, Safety and Immunogenicity of the Candidate Coronavirus Disease (COVID-19) Vaccine ChAdOx1 nCoV-19 in UK Healthy Adult Volunteers. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04324606>

National Library of Medicine. (2020f). Phase III Double-blind, Placebo-controlled Study of AZD1222 for the Prevention of COVID-19 in Adults Recuperado el 4 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04516746?term=astrazeneca&cond=covid-19&draw=2>

National Library of Medicine. (2020g). A Phase III Open-label Study in Adults to Determine the Safety and Immunogenicity of AZD1222, a Non-replicating ChAdOx1 Vector Vaccine, for the Prevention of COVID-19. Recuperado el 4 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04540393?term=vaccine&cond=covid-19&draw=3>

National Library of Medicine. (2020h). A Global Multicenter, Randomized, Double-blind, Placebo -Controlled, Adaptive Designed Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy, Safety and Immunogenicity of Ad5-nCoV in Adults 18 Years of Age and Older. Recuperado el 5 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04526990?term=vaccine&cond=covid-19&draw=6>

National Library of Medicine. (2020i). Multicenter, Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Parallel Group Study Evaluating Efficacy, Reactogenicity and Safety of Recombinant Vaccine Ad5-nCoV Against Novel Coronavirus Infection in Adult Volunteers. Recuperado el 5 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04540419?term=vaccine&cond=covid-19&draw=6>

National Library of Medicine. (2020j). An Open Study of the Safety, Tolerability and Immunogenicity of the Drug "Gam-COVID-Vac" a Solution for Intramuscular Injection With the Participation of Healthy Volunteers. Recuperado el 19 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04436471?term=vaccine&cond=covid-19&draw=6>

19&draw=4+

National Library of Medicine. (2020k). An Open Study of the Safety, Tolerability and Immunogenicity of the Drug "Gam-COVID-Vac Lyo" Lyophilizate for the Preparation of a Solution for Intramuscular Injection With the Participation of Healthy Volunteers. Recuperado el 19 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04437875?term=vaccine&cond=covid-19&draw=4>

National Library of Medicine. (2020l). Randomized Double-blind Placebo-controlled Multi-center Clinical Trial in Parallel Assignment of Efficacy, Safety, and Immunogenicity of Gam-COVID-Vac Combined Vector Vaccine in SARS-CoV-2 Infection Prophylactic Treatment. Recuperado el 19 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04530396?term=vaccine&cond=covid-19&draw=3>

National Library of Medicine. (2020m). Clinical Trial of Efficacy, Safety and Immunogenicity of Combined Vector Vaccine Gam-COVID-Vac in SARS-CoV-2 Infection Prophylactic Treatment in Republic of Belarus. Recuperado el 19 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04564716?term=vaccine&cond=covid-19&draw=3>

National Library of Medicine. (2020n). Phase I, Open-Label, Dose-Ranging Study of the Safety and Immunogenicity of 2019-nCoV Vaccine (mRNA-1273) in Healthy Adults. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04283461>

National Library of Medicine. (2020ñ). A Phase 2a, Randomized, Observer-Blind, Placebo Controlled, Dose-Confirmation Study to Evaluate the Safety, Reactogenicity, and Immunogenicity of mRNA-1273 SARS-COV-2 Vaccine in Adults Aged 18 Years and Older. Recuperado el 13 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04405076?term=moderna&cond=covid-19&draw=2>

National Library of Medicine. (2020o). A Phase 3, Randomized, Stratified, Observer-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy, Safety, and Immunogenicity of mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine in Adults Aged 18 Years and Older. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04470427?term=vaccine&cond=covid-19&draw=5>

National Library of Medicine. (2020p). A Multi-site, Phase I/II, 2-Part, Dose-Escalation Trial Investigating the Safety and Immunogenicity of a Prophylactic SARS-CoV-2 RNA Vaccine (BNT162b3) Against COVID-19 Using Different Dosing Regimens in Healthy Adults. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04537949?term=vaccine&cond=covid-19&draw=4>

National Library of Medicine. (2020q). A Phase 1/2/3, Placebo-Controlled,

- Randomized, Observer-Blind, Dose-Finding Study to Evaluate the Safety, Tolerability, Immunogenicity, and Efficacy of SARS-CoV-2 RNA Vaccine Candidates Against COVID-19 in Healthy Individuals. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04368728?term=vaccine&cond=covid-19&draw=3>
- National Library of Medicine. (2020r). A Multi-site, Phase I/II, 2-Part, Dose-Escalation Trial Investigating the Safety and Immunogenicity of Four Prophylactic SARS-CoV-2 RNA Vaccines Against COVID-2019 Using Different Dosing Regimens in Healthy Adults. Recuperado el 28 de Octubre del 2020, de <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04380701>
- Organización Mundial de la Salud.(2020a). Vacunas. Recuperado el 21 de Julio del 2020, de <https://www.who.int/topics/vaccines/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2020b). WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard Recuperado el 5 de Agosto del 2020 de https://covid19.who.int/?gclid=EAlaIqobChMI2ly1ztaE6wIVisDACH1PewqFEAAYASAAEglG1fD_BwE
- Organización Mundial de la Salud. (2020c). Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Recuperado el 22 de Julio del 2020, de <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
- Organización Panamericana de la Salud., Repositorio Institucional para Intercambio de Información. (2020). Preguntas frecuentes sobre las vacunas candidatas contra la COVID-19 y mecanismos de acceso. Recuperado el 28 de Septiembre del 2020, de https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52628/OPSFPLIMCOVID-19200018_spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- Organización Panamericana de la Salud. (2020a). Fondo Rotatorio de la OPS. Recuperado el 22 de Septiembre del 2020, de <https://www.paho.org/es/recursos/fondo-rotatorio-ops>
- Organización Panamericana de la Salud. (2020b). México firma declaración de intención para su adhesión a los fondos de la OPS para la compra de medicamentos y vacunas. Recuperado el 21 de Julio del 2020, de https://www.paho.org/mex/index.php?option=com_content&view=article&id=1429:mexico-firma-declaracion-de-intencion-para-su-adhesion-a-los-fondos-de-la-ops-para-la-compra-de-medicamentos-y-vacunas&Itemid=499
- Ortiz, E., Velando, A., Pradas, L., Vargas, K., Gómez, J. L., Cañadas, G., Albendín, L. (2020). Analysis of the Anti-Vaccine Movement in Social Networks: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(15), 5394. <https://doi.org/10.3390/ijerph17155394>
- Padron, E. (2020). Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus

- Strains. In *Infectious Diseases and Therapy*. Vol. 9, Issue 2, pp. 255–274. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00300-x>
- Pall Corporation. (2020). Vaccine Production. Recuperado el 18 de Agosto del 2020 de <https://www.pall.com/en/biotech/vaccine-production.html>
- Pan African Clinical Trial Registry (PACTR). (2020). COVID-19 vaccine (ChAdOx1 nCoV-19) trial in South African Adults with and without HIV-infection. *South African Medical Research Council*. Recuperado el 23 de Julio del 2020 de <https://pactr.samrc.ac.za/TrialDisplay.aspx?TrialID=12166>
- Pfizer. (2020). Pfizer and BioNTech Granted FDA Fast Track Designation for Two Investigational mRNA-based Vaccine Candidates Against SARS-CoV-2. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-granted-fda-fast-track-designation-two>
- Phillips, N., Cyranoski, D. & Mallapaty, S. (2020) A leading coronavirus vaccine trial is on hold: scientists react. *Nature*. doi:10.1038/d41586-020-02594-w
- Plotkin, S. (2014). History of vaccination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 111, Issue 34, 12283–12287 N <https://doi.org/10.1073/pnas.1400472111>
- Pollán, M., Pérez, B., Pastor, R., Oteo, J., Hernán, M. A., Pérez, M., Sanmartín, J., Fernández, A., Cruz, I., Fernández de Larrea, N., Molina, M., Rodríguez, F., Martín, M., Merino, P., León, J., Muñoz, J., Blanco, F., Yotti, R. (2020). Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31483-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5)
- Poy, L. (2020). México recibirá 2 mil dosis de la vacuna rusa para ensayos. La Jornada. Recuperado el 23 de Septiembre del 2020, de <https://www.jornada.com.mx/ultimas/politica/2020/08/21/mexico-recibira-2-mil-dosis-de-la-vacuna-rusa-para-ensayos-1249.html>
- Ravichandran, S., Coyle, E., Klenow, L., Tang, J., Grubbs, G., Liu, S., Wang, T., Golding, H., Khurana, S. (2020). Antibody signature induced by SARS-CoV-2 spike protein immunogens in rabbits. *Science Translational Medicine*, 12(550), eabc3539. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc3539>
- Reuters. (2020a). Moderna eyes third quarter for first doses of potential COVID-19 vaccine with Catalent deal. Recuperado el 24 de Julio del 2020, de https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-moderna-catalent-idUSKBN23W1SI?taid=5ef4f7c41da48f00010f751b&utm_campaign=trueAnthem%3A+Trending+Content&utm_medium=trueAnthem&utm_source=twitter
- Reuters. (2020b). La vacuna rusa contra la COVID-19 es efectiva en más de un 90%, dice el Ministerio de Salud de Rusia. *Reuters*. Recuperado el 9 de Noviembre del 2020 <https://www.reuters.com/article/salud-coronavirus-rusia-vacuna-idESKBN27P2B0>

- Rosselli, R., Martini, M., Bragazzi, N. (2016). The old and the new: Vaccine hesitancy in the era of the Web 2.0. Challenges and opportunities. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 57(1), E47–E50. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2016.57.1.572>
- Sánchez, A. (2020). La UNAM evalúa su vacuna en animales; en 2021, en humanos. *La Jornada*. Recuperado el 22 de Septiembre del 2020, de <https://www.jornada.com.mx/2020/05/29/politica/002n3pol>
- Sahin, U., Muik, A., Derhovanessian, E., Vogler, I., Kranz, L. M., Baum, A., Pascal, K., Quandt, J., Maurus, D., Brachtendorf, S., Lörks, V., Sikorski, J., Hilker, R., Becker, D., Eller, A.-K., Grützner, J., Rosenbaum, C., Kühnle, M.-C., Luxemburger, U., Kemmer A. B., Langer, D., Bexon, M., Bolte, S., Kariko, K., Palanche, T., Fischer, B., Schultz, A., Shi, P.Y., Fontes C. G., Perez, J. L., Swanson, K. A., Loschko, J., Scully, I. L., Cutler, M., Kalina, W., Kyratsous, C. A., Cooper, D., Dormitzer, P. R., Jansen, K. U., Türeci, Ö. (2020). COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2814-7>
- Sencer, D., Millar, D. (2006). Reflections on the 1976 Swine Flu Vaccination Program. *Emerging Infectious Diseases*. 12(1), 29-33. <https://dx.doi.org/10.3201/eid1201.051007>.
- Secretaría de Relaciones Exteriores. (2020). México participará en COVAX Facility para la obtención de vacunas contra COVID-19. Embajada de México. Recuperado el 25 de Septiembre del 2020, de <https://embamex.sre.gob.mx/vaticano/index.php/visitas-oficiales/18-comunicados-de-la-sre/499-mexico-participara-en-covax-facility-para-la-obtencion-de-vacunas-contra-covid-19>
- Shapiro, E. (2020). Pfizer CEO Albert Bourla Raises Expectations That the Pharmaceutical Giant Can Deliver a COVID-19 Vaccine by Fall. *TIME*. Recuperado el 7 de Agosto del 2020, de <https://time.com/5864690/pfizer-vaccine-coronavirus/>
- Singh, K., Mehta, S. (2016). The clinical development process for a novel preventive vaccine: An overview. *Journal of Postgraduate Medicine*. Vol. 62,1, 4–11. <https://doi.org/10.4103/0022-3859.173187>
- Tannock, G., Kim, H., Xue, L. (2020). Why are vaccines against many human viral diseases still unavailable; an historic perspective? *Journal of Medical Virology*, 92(2), 129–138. <https://doi.org/10.1002/jmv.25593>
- Taylor, N. (2020). Sinopharm shares phase 2 data on inactivated COVID-19 vaccine. *FIERCE Biotech*. Recuperado el 28 de Septiembre del 2020, de <https://www.fiercebiotech.com/biotech/sinopharm-shares-phase-2-data-inactivated-covid-19-vaccine>
- The White House. (2020). Executive Order on Modernizing Influenza Vaccines in the United States to Promote National Security and Public Health. Recuperado el 4

de Agosto del 2020, de <https://www.whitehouse.gov/presidential-actions/executive-order-modernizing-influenza-vaccines-united-states-promote-national-security-public-health/>

Toche, P. (2012). Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(4), 446–457. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(12\)70335-8](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(12)70335-8)

Thanh, T., Andreadakis, Z., Kumar, A., Gómez Román, R., Tollefsen, S., Saville, M., Mayhew, S. (2020). The COVID-19 vaccine development landscape. *Nature reviews. Drug discovery*. Vol. 19, Issue 5, pp. 305–306. <https://doi.org/10.1038/d41573-020-00073-5>

The College of Physicians of Philadelphia. (2018) Vaccine Development, Testing, and Regulation. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.historyofvaccines.org/es/contenido/articulos/desarrollo-pruebas-y-reglamentos-para-las-vacunas>

The New York Times. (2020). Inside Operation Warp Speed. Recuperado el 15 de Septiembre del 2020, de <https://www.nytimes.com/2020/08/17/podcasts/the-daily/trump-coronavirus-vaccine-covid.html>

Usdin, S. (2020). Preclinical data suggest Oxford vaccine could reduce COVID-19 symptoms, won't provide herd immunity. *BioCentury*. Recuperado el 23 de Julio del 2020, de <https://www.biocentury.com/article/305211>

Valiuddin, H., Skwirsk, B., Paz-Arabo, P. (2020) Acute transverse myelitis associated with SARS-CoV-2: A Case-Report. *Brain, Behavior, and Immunity - Health*, 5, 100091. [10.1016/j.bbih.2020.100091](https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100091)

Vrdelja, M., Kraigher, A., Verčič, D., Kropivnik, S. (2018). The growing vaccine hesitancy: Exploring the influence of the internet. *European Journal of Public Health*, 28(5), 934–939. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cky114>

Wadman, M. (2020). Vaccine opponents are gaining in Facebook 'battle for hearts and minds,' new map shows. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.abc7822>

Wang, H., Zhang, Y., Huang, B., Deng, W., Quan, Y., Wang, W., Xu, W., Zhao, Y., Li, N., Zhang, J., Liang, H., Bao, L., Xu, Y., Ding, L., Zhou, W., Gao, H., Liu, J., Niu, P., Zhao, L., Zhen, W., Fu, H., Yu, S., Zhang, Z., Xu, G., Li, C., Lou, Z., Xu, M., Qin, C., Wu, G., Gao, G., Tan, W., Yang, X. (2020). Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CoV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cell*, 182(3), 713-721.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.008>

Weber, S., Ramirez, C., & Doerfler, W. (2020). Signal hotspot mutations in SARS-CoV-2 genomes evolve as the virus spreads and actively replicates in different parts of the world. *Virus Research*, 289, 198170. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198170>

World Health Organization. (2020a). Global leaders unite to ensure everyone everywhere can access new vaccines, tests and treatments for COVID-19.

Recuperado el 22 de Julio del 2020, de <https://www.who.int/news-room/detail/24-04-2020-global-leaders-unite-to-ensure-everyone-everywhere-can-access-new-vaccines-tests-and-treatments-for-covid-19>

- Wu, Y., Chen, C., Chan, Y. (2020). The outbreak of COVID-19. *Journal of the Chinese Medical Association*, 83(3), 217–220. <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000270>
- Wrapp, D., Wang, N., Kizzmekia S., Goldsmith, J., Ching, Hsieh., Abiona, O., Graham, B., McLellan, J. (2020) Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. Recuperado el 22 de Julio del 2020 de <https://science.sciencemag.org/content/367/6483/1260>
- Wyatt Technology (2020). Solutions for vaccine characterization and development. Recuperado el 18 de Agosto del 2020 de https://www.wyatt.com/solutions-vaccine-characterization.html?utm_source=cen&utm_medium=digital-ad&utm_campaign=newsletter-7-2020
- Xia, S., Duan, K., Zhang, Y., Zhao, D., Zhang, H., Xie, Z., Li, X., Peng, C., Zhang, Y., Zhang, W., Yang, Y., Chen, W., Gao, X., You, W., Wang, X., Wang, Z., Shi, Z., Wang, Y., Yang, X., Zhang, L., Huang, L., Wang, Q., Lu, J., Yang, Y., Guo, J., Zhou, W., Wan, X., Wu, C., Wang, W., Huang, S., Du, J., Meng, Z., Pan, A., Yuan, Z., Shen, S., Guo, W., Yang, X. (2020). Effect of an Inactivated Vaccine against SARS-CoV-2 on Safety and Immunogenicity Outcomes: Interim Analysis of 2 Randomized Clinical Trials. *Journal of the American Medical Association*, 324(10), 951–960. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.15543>
- Yoshikazu, Y., Kiyono, H. (2009). Mucosal vaccines: novel advances in technology and delivery. *Expert Review of Vaccines*. 8(8). 1083-97. <https://doi.org/10.1586/erv.09.61>
- Yong, S., Su, P., Yang, Y. (2020). Molecular Targets for the Testing of COVID-19. *Biotechnology Journal*, 15(6), 2000152. <https://doi.org/10.1002/biot.202000152>
- Zhang, C., Zhou, D. (2016). Adenoviral vector-based strategies against infectious disease and cancer. In *Human Vaccines and Immunotherapeutics* (Vol. 12, Issue 8, pp. 2064–2074). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1165908>
- Zhang, Y., Zeng, G., Pan, H., Li, C., Kan, B., Hu, Y., Mao, H., Xin, Q., Chu, K., Han, W., Chen, Z., Tang, R., Yin, W., Chen, X., Gong, X., Qin, C., Hu, Y., Liu, X., Cui, g., Jiang, C., Zhang, H., Li, J., Yang, M., Lian, X., Song, Yan., Lu, J., Wang, X., Xu, M., Gao, Q., Zhu, F. (2020). 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*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.31.20161216>
- Zhu, F.-C., Li, Y.-H., Guan, X.-H., Hou, L.-H., Wang, W.-J., Li, J.-X., Wu, S.-P., Wang, B.-S., Wang, Z., Wang, L., Jia, S.-Y., Jiang, H.-D., Wang, L., Jiang, T., Hu, Y., Gou, J.-B., Xu, S.-B., Xu, J.-J., Wang, X.-W., Wang, W., Chen, W.

(2020a). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*, 395 (10240), 1845-1854, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)

Zhu, F., Guan, X., Li, Y., Huang, J., Jiang, T., Hou, L., Li, J., Yang, B., Wang, L., Wang, W., Wu, S., Wang, Z., Wu, X., Xu, J., Zhang, Z., Jia, S., Wang, B., Hu, Y., Liu, J., Chen, W. (2020b). Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*, 0(0). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31605-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31605-6)