

Desarrollo de la vacuna peruana contra el COVID-19 y perspectivas en la inmunización pasiva

Dr. Mirko Zimic Peralta ¹

Buenas noches con todos. Me siento muy honrado por estar aquí presente con ustedes. Agradezco la invitación al comité organizador, y procederé a presentar esta charla que resume los avances que hemos logrado hasta el momento en cuanto al desarrollo de una potencial vacuna para el COVID, así como también un potencial tratamiento en base a anticuerpos de gallina como un tratamiento de inmunización pasiva.

El Dr. Lanata ha explicado, bastante bien y con mucho detalle, la estructura del virus, la importancia de la proteína *spike* o la espiga que estamos viendo representada por estos elementos que estoy marcando, en cuyo extremo más distal encontramos una proteína clave o, mejor dicho, un subdominio clave que es el subdominio de unión al receptor, que es -como menciona el Dr. Lanata- la llave o la mano que hace contacto con el receptor ACE2 para iniciar la infección. Está claro, y dando cuenta de ello, que casi todos los esfuerzos por desarrollar vacunas apuntan a neutralizar este elemento del virus, la proteína *spike*. Y siguiendo esos pasos en el mes de febrero, en sus inicios cuando todavía no se había declarado la pandemia, las conversaciones que teníamos con el Dr. Manolo Fernández, CEO de FARVET, nos llevaban a pensar “¿y por qué no probamos lo que venimos haciendo en

vacunas aviares y porcinas para ver si es que podríamos tener una vacuna equivalente para este SARS-cov-2?”. Y así comenzó la historia a inicios de febrero de este año. Se empezaron a hacer los análisis bioinformáticos y se convino en desarrollar 5 antígenos vacunales que serían presentados de diferentes maneras, pero estos constituirían la parte antigénica viral para generar la respuesta inmune. Uno de ellos era la proteína S1, S2; es decir, esta parte de aquí incluyendo la RBD, otro la S1 sola, luego la S1, trimerizada porque en la forma natural es un trímero; luego, solamente dominio RBD y, después, un subdominio RBD dimerizado. Estos 5 antígenos fueron los candidatos para ser presentados como vacuna y fueron vehiculizados, como lo voy a mostrar en el siguiente *slide*, en 3 métodos de presentación.

Pero antes quería comentar y complementar lo que dijo el Dr. Lanata, que esta es la proteína S. Aquí vemos el dominio S1 en plomo y, en azul, el subdominio RBD. Hasta el momento hay más de 60 mil genomas secuenciados públicos, han crecido exponencialmente. Y lo que estamos viendo es que esta proteína *spike* ya tiene mutaciones en gran número. Las mayores mutaciones están acumulándose en el extremo S1 y S2, pero el dominio RBD está en azul, si bien tiene algunas mutaciones en la zona más distante o más cercana al

¹Magister en Bioquímica por la Universidad Peruana Cayetano Heredia; magister en Bioestadística; PhD en Control y Prevención de enfermedades por la Universidad de John Hopkins; es jefe del laboratorio de Bioinformática, Biología Molecular y Desarrollos Tecnológicos en la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia; profesor principal en el Departamento de Ciencias celulares y moleculares en dicha universidad; jefe del Grupo de Investigación Bioinformático del laboratorio FARVET.

dominio S1. Estamos observando que esta interfase que estoy marcando, que está justo en contacto con el receptor ACE2 representado en verde, sigue permaneciendo muy conservada, casi absolutamente conservada. Esto es un indicio importante, porque nos está diciendo que la selección natural de las mutantes, que espontáneamente están apareciendo, no fijan a mutantes en estas regiones en la población, y muy probablemente mutaciones en esta región en la interfase de contacto comprometen muy fuertemente la interacción con el dominio ACE2. De esa manera se reduce la capacidad de transmisión y/o se reduciría la virulencia o la patogenicidad; probablemente eso da como resultado que esos mutantes tal vez se encuentren en personas asintomáticas en las que no tenemos la oportunidad de identificar este aislado viral.

Entonces, pensar en la proteína RBD sola es interesante, desde el punto de vista estratégico, para tener una vacuna más universal y que tenga mayor vigencia en el tiempo. Si nosotros pensamos en introducir el antígeno S1 en plomo como un candidato vacunal, la acumulación de mutaciones va a generar lo que se llama el fenómeno de "resistencia inmunológica". Vale decir que los anticuerpos inducidos por una vacuna, consistente en un antígeno específico, podrían perder capacidad de neutralizar a antígenos mutantes que van apareciendo en el tiempo; asimismo, una vacuna basada en un antígeno determinado podría dejar de tener vigencia o dejar de ser efectiva en una población determinada.

No hay que olvidar que, cuando este virus ingresó a cada país, rápidamente se cerraron las fronteras al inicio del año. El virus ha evolucionado prácticamente dentro de cada país siguiendo una ruta específica. De modo que en estos momentos no sería sorprendente encontrar que, aislados de un país u otro o de una región u otra, se empiecen a mostrar cada vez mayores diferencias, lo cual hace pensar que sugerir la personalización de un antígeno vacunal para una determinada región geográfica o una sociedad en particular sea una cuestión absolutamente válida. Se puede elegir el candidato vacunal optimizado para una población en particular; sin embargo, si pensamos en escoger solamente el dominio RBD en azul, y gracias a lo que estamos viendo que esta región de contacto es absolutamente conservada hasta el momento, resulta claro pensar que la elección de este antígeno en particular como un elemento vacunal tiene ventajas importantes.

Entonces teníamos esos antígenos y la idea era cómo vehiculizarlos para probar una vacuna, y en este tiempo, en FARVET, hemos empezado a trabajar en 3 formas de vehiculización. Una de ellas, la más clásica, es tener la proteína pura, mezclarla con un adyuvante y tenerla suministrada como una dosis de una inyección intramuscular. Ya hemos producido estas proteínas que hemos visto en cultivos de células Sf9 por medio del método del baculovirus, lo que le confiere una glicosilación no idéntica pero similar a la humana. Se ha demostrado en estudios previos que proteínas vacunales producidas en células Sf9 de insecto protegen a muchos animales y mamíferos en particular.

La otra variante de vacuna, la cual en estos momentos creemos que podría ser la más importante por diferentes razones, y en particular el tema de costo-efectividad, es la vehiculización del antígeno en una salmonella. Esta es una salmonella enteriditis doblemente mutada, no patógena. Se ha eliminado el gen que codifica la formación de los lipopolisacáridos. Se ha inducido una selección *in vitro* para transformar la membrana de lisa a rugosa, de modo que sea doblemente apatógena y, además, se le ha incorporado, tanto a nivel de un plásmido como a nivel de una inserción de un gen en el cromosoma, el gen que codifica al dominio RBD, el cual es mostrado en la superficie de esta salmonella. Esta vacuna de salmonella, tal cual se presenta, no es absolutamente novedosa; se ha usado, o se usa mucho, en veterinaria. FARVET ha usado esta vacuna en los últimos 4 años inmunizando más de 500 mil cerdos para el circovirus porcino con evidencias importantes de seguridad, de inmunogenicidad y de eficacia en estos niveles. Además, hay que recordar que la salmonella tiene el flagelo compuesto por proteínas de flagelina, las que son reconocidas por ser potentes inmunoestimuladores. La salmonella está reconocida también por inducir una respuesta TH1 y una baja respuesta TH2, lo cual -como explicó el Dr. Lanata- es importante para reducir el riesgo de la exacerbación de la respuesta inflamatoria.

El último elemento, o la tercera variante de vacuna que estamos viendo, es el virus de New Castle. Es un virus aviar, que ha sido genéticamente modificado para expresar en su superficie las proteínas de los 5 antígenos que hemos visto hace un momento. Hemos encontrado que, en los estudios con animales, la proteína RBD ha

mostrado mejor capacidad de inducir los anticuerpos en un menor tiempo y con una mayor capacidad de neutralización de la proteína viral. Debo confesar que la proteína trimérica S1 nunca se logró expresar. Fue una falla muy grande en el diseño probablemente, pero fue probada y simplemente no funcionó.

Estas 3 vacunas, con la proteína RBD, las hemos venido evaluando en estos meses en ratones, conejos, gallinas, alpacas y en monos aotus. Los resultados fueron los que expondré a continuación.

La vacuna de la proteína recombinante RBD fue probada con 3 adyuvantes en 2 dosis en ratones, y hemos visto cómo en 30 días empezaron a alcanzar niveles de anticuerpos. Estos anticuerpos -acá lo vemos con pruebas de *kits standard* humanos, aquí vemos IgG a los 30 días, lo hemos visto mediante técnicas de citometría de flujo- pueden inhibir a la proteína viral RBD, es decir, neutralizan la proteína viral RBD. Si hacemos un ensayo, vemos cómo la proteína RDB interactúa con el receptor ACE2 en un cultivo celular Vero E6. La presencia de este suero inhibe la capacidad de la proteína RDB recombinante de unirse a la célula Vero, de modo que tiene un efecto de neutralización de la proteína viral. Además, hemos visto una inmunidad celular importante a nivel de linfocitos TCD4 por interferón gama. En otras palabras, estamos viendo anticuerpos y estamos viendo respuesta celular. La vacuna de salmonella ha mostrado similares resultados en ratones. Hemos visto incremento de anticuerpos, capacidad de reconocimiento de las proteínas virales. Tenemos una capacidad de inhibición de la interacción de la proteína viral RBD con el receptor ACE2 en un cultivo celular. Podemos también apreciar que hay una interesante respuesta celular del linfocito CD4 con interferón gama.

Gracias al apoyo del INS, donde hay que reconocer y aplaudir que han logrado aislar el virus y cultivarlo, por lo que tiene la capacidad de realizar el ensayo de 0 neutralización del virus; gracias a un convenio que tenemos entre FARVET y el INS, se ha podido demostrar que el suero de los ratones inmunizados con salmonella y el suero de alpacas inmunizadas con la proteína recombinante -pueden ver acá hasta la dilución 1 en 80- neutralizan de modo bastante fuerte, y lo mismo el suero de las alpacas inmunizadas. (Esta fila que estoy marcando la voy a reservar para más adelante). Vemos una muy potente capacidad de

seroneutralización del virus inclusive a concentraciones a diluciones de 1 en 640. Esto corresponde al suero de un cerdo que recibió el tratamiento de inmunización pasiva con los anticuerpos purificados del huevo de gallinas vacunadas. Las pruebas que hicimos en monos aotos nos han demostrado que estos animales tienen la capacidad, 21 días después de la inmunización, de aglutinar a la salmonella modificada que muestra la proteína RBD y no tiene la capacidad de aglutinar a la salmonella que no exponen al antígeno RBD.

Es decir, esta es la salmonella vacunal, y podemos ver cómo ya hay anticuerpos contra RBD en suficiente potencia para ejercer esta aglutinación. Lo interesante también de esta vacuna de salmonella es que es una vacuna oral. La salmonella ingresa oralmente, llega al intestino y en el intestino se va a replicar por 5 días; es secretada en las heces y, a los 5 días, ya no encontramos evidencia de salmonella en las heces. En otras palabras, la forma como actúa es replicándose en el intestino, mostrando el antígeno a nivel de la mucosa intestinal y, a partir de ese punto, induce la respuesta humoral y celular que nosotros estamos viendo. En estos animales, en los monos inmunizados con salmonella, vimos en un ensayo de citometría de flujo la capacidad de neutralizar a la proteína viral RBD, lo cual se correlaciona con la capacidad de seroneutralización del virus completo.

En resumen, lo que estamos viendo es que, en monos, tanto la vacuna recombinante, que se puede administrar a manera de una inyección intramuscular, como la vacuna oral de salmonella, nos han dado evidencia de seguridad, nos permiten encontrar anticuerpos tempranamente contra la proteína RBD. Y estamos viendo que, en el caso de la salmonella, estos animales dejan de excretar la salmonella en sus heces a los 5 días después de la vacunación. Las ventajas de la vacuna de la salmonella son varias que podríamos destacar, lo cual nos daría un espacio interesante dado que, en el mundo, solamente la vacuna peruana de salmonella es la única en su tipo.

Hay otras vacunas bacterianas basadas en *E. coli*. Estamos viendo entonces que esta vacuna es segura, tiene un antecedente de haber sido probada en más de medio millón de cerdos para controlar el circovirus porcino, despierta una respuesta humoral IgM, IgG; despierta una respuesta celular, puede neutralizar a la proteína in vitro RBD, puede seroneutralizar al virus

SARS-cov-2 *in vitro*. Su producción es sumamente sencilla y rápida, al punto que se pueden producir, con la actual infraestructura que tiene la empresa FARVET, 30 millones de dosis cada 15 días, a un costo que oscila entre 5 y 10 soles por dosis, podríamos decir 5 soles por dosis. Al ser de vía oral no requiere que su aplicación tenga un ejército enorme de técnicos, enfermeras para inmunizar o agujas. Se despachan en pequeños *sachets* plásticos que pueden distribuirse y aplicarse simplemente por promotores comunitarios. De modo que tiene ventajas importantes, es estable y, si en algún momento fuese necesario, podemos restituir el gen o tener una nueva variante con un nuevo gen que codifique un antígeno RBD más actual, que sea más prevalente en la población peruana. Esta vacuna de salmonella no es, como les comenté al comienzo, algo muy novedoso. Existen vacunas para tifoidea de salmonella oral viva. Son 4 dosis que se pueden tomar. Hay muchos antecedentes sobre estas vacunas y sobre la salmonella usada como vector para tratar de inmunizar contra diferentes enfermedades.

En este momento ¿qué nos falta? Cerrar el último experimento, que es el “DESAFÍO” en un modelo animal. En este momento en el mundo ya no podemos conseguir monos macacos Rhesus, ya no están en venta, estuvieron y bastante costosos, entre 10 mil y 15 mil dólares por animal. Lamentablemente el modelo del mono aotós suramericano no está validado y nos tomaría mucho tiempo, esfuerzo y dinero hacerlo. Pero en el mundo, en este momento, la mayoría de los grupos rezagados en el desarrollo de vacunas está utilizando el modelo del hámster dorado sirio. Ya hay varias publicaciones sobre su validación, precisamente para COVID-19, SARS-cov-2. Entonces, estamos en esto. En el Perú no hay un ambiente de bioseguridad BSL 3 para hacer un ensayo en animales, y eso nos lleva a la necesidad de construirlo para poder hacer el estudio.

En este momento, con el apoyo del INS, el convenio entre el INS y FARVET y con un apoyo del CONCYTEC -que nos apoyó tanto en el desarrollo de la vacuna con un proyecto concursable, como en la construcción de este contenedor- estamos construyendo literalmente un *container*, como estos de transporte de carga marítima, el que estamos transformando para volverlo un ambiente BSL3 con sistemas de inyección de aire y presión negativa. La idea es inmunizar los animales. Esto se realizará a fines de esta semana. El *container*

está en proceso de construcción, luego será llevado a Chorrillos, al local del INS, en donde se quedará para el futuro y allí el INS participará en el “DESAFÍO” de los animales inoculándoles una dosis del virus correspondiente a la que un humano tiene cuando se contagia. Luego haremos un monitoreo de estos animales para ver cómo varía la carga viral en el sistema respiratorio, cuál es la variación de peso y temperatura corporal, signos clínicos. Al final, en una necropsia, se evaluará el nivel de daño del tejido pulmonar en esos animales. Por supuesto, nuestra esperanza es que el grupo vacunado muestre una sintomatología mucho más leve que el grupo de animales control.

Si logramos tener éxito en esta etapa y demostramos que verdaderamente los animales vacunados reducen la sintomatología o quedan protegidos, en el mejor de los casos de manera absoluta contra el virus, el siguiente reto será ir a poder realizar los ensayos clínicos Fase I, Fase II y Fase III. Y aquí tenemos grandes retos nuevamente, como es la producción de las dosis, lo que tiene que hacerse en un laboratorio con certificación GMP. Si quisiéramos producir 6 mil dosis de la vacuna de salmonella, podríamos tercerizar una empresa extranjera con certificación GMP, lo que costaría aproximadamente 150,000 dólares por ese número de dosis. Pero estamos viendo la posibilidad de trabajar con una empresa local de desarrollo biotecnológico. Esta está terminando de construir una sala blanca en unas 3 semanas. Podríamos colaborar con ellos para instalar dentro de esta sala blanca el equipamiento requerido para producir las dosis de la vacuna de salmonella, unas 5 mil o 6 mil dosis, para poder realizar estas III fases, y el costo se reduciría en forma drástica aproximadamente a 30 000 soles.

Aquí no termina el problema porque, si bien podemos lograr producir las dosis, lo que viene después es el gran reto, y estas cifras son una subestimación extrema. El Dr. Lanata comentó los cientos de millones de dólares que toma realizar un estudio para producir una vacuna. Nuestro trabajo, muy modesto por supuesto y tratando de reducir costos porque no hay los fondos necesarios aún, requerirá, por ejemplo, para la fase I, 40 participantes como mínimo a razón de 4 000 dólares por participante; la fase II, unos 500 a razón de 3 000 dólares por participante; y, la fase III, a razón de 2 000 dólares por participante. O sea, costaría, entre 2 000 y 10 000 participantes, alrededor de unos 20 a 22 millones de

dólares aproximadamente. Es lo que se requeriría, solamente para cubrir los costos de los ensayos clínicos. Hasta el reto del “DESAFIO” ya todo ha sido cubierto, en gran parte por la empresa FARVET con apoyo importante de CONCYTEC, a la cual agradecemos públicamente; pero de allí ir a los ensayos clínicos ya es una cosa muy grande. Esperamos con el apoyo de muchas personas poder tener una contribución del Gobierno, a cambio de lo cual el compromiso de FARVET es producir las dosis que sean necesarias para cubrir las necesidades de la población peruana.

Importante sobre esta vacuna de salmonella es el tener la capacidad de producir 30 millones de dosis cada 15 días, considerando que muy posiblemente se puedan dar 2 o 3 dosis. Nadie sabe cuántas revacunaciones tienen que hacerse en el futuro. Si echamos números y ponemos sobre la mesa el costo de la vacuna de Johnson & Johnson de 60 dólares por dosis multiplicados por 30 millones de peruanos, requeriríamos invertir 1,800 millones de dólares, solamente para poner una dosis de la vacuna de Johnson & Johnson a cada peruano. Esto se reduciría drásticamente a 5 soles por cada dosis para 30 millones de peruanos, 150 millones de soles, o sea, algo menos de 50 millones de dólares frente a los 1 800 millones de dólares.

En fin, esto ha sido la presentación de la vacuna. En estos minutos que me restan, voy a mostrarles los resultados de un segundo proyecto que empezamos a realizar concurrentemente con el mismo grupo de investigación, sobre cómo poder aprovechar los anticuerpos IgY de gallina purificados de los huevos como posibles tratamientos de inmunización pasiva para los casos de COVID. La idea es muy simple: tenemos gallinas, las cuales inmunizamos; luego de algún tiempo, en los huevos –bueno, en la sangre va a estar, pero en los huevos, específicamente en la yema- vamos a poder encontrar los anticuerpos IgY para poder, esa es la hipótesis, utilizarlos de manera terapéutica. Todo empieza con la inoculación de la proteína RBD en las gallinas, hay luego una colecta de huevos de la gallina inoculada, la purificación de anticuerpos, la verificación de la presencia del anticuerpo en las yemas y la administración en animales.

En el año 2005 se empezó a hacer un estudio que no logró culminarse porque la pandemia del SARS de aquel año se autolimitó muy rápidamente, pero esta

idea de usar los anticuerpos de gallina IgY ya tuvo su primera experiencia. Una publicación del año 2005 quedó inconclusa. La idea es muy simple: inocular a las gallinas con la vacuna. Lo hemos hecho tanto para la proteína recombinante como también para la salmonella. Luego se purifica el antígeno IgY con un método muy simple que incluye pasos de congelación, descongelación, agregar ácido acético, vinagre, un poco de cloruro de sodio, hacer luego una decantación y una centrifugación. Todo eso nos deja con anticuerpos IgY purificados en una razonable concentración y pureza para ser testeados. Hemos verificado estos anticuerpos IgY con el patrón de migración de purificación con el estudio de Pauli de 2011, concordando fuertemente lo hecho por nosotros con lo publicado. Lo primero que hicimos, por supuesto, fue ver si estos anticuerpos IgY tenían la capacidad de neutralizar a la proteína viral, tanto a la RBD como a la proteína *spike*, *in vitro*, usando un cultivo de células Vero E6, que tiene al receptor ACE-2 muy abundante en su superficie.

Entonces la idea era, primero, ver que la proteína RBD se une al receptor ACE-2 y demostrar que, si agregamos los anticuerpos purificados de la yema de huevo, estos pueden interferir, neutralizar a la proteína RBD y ya no interactuar con la célula Vero E6. Eso es lo que se hizo, y encontramos una cierta concentración de IgY en sangre de conejos. Para esto lo que hicimos fue tomar sangre de conejos y agregarle externamente el IgY a una concentración conocida, es decir, la sangre la mezclábamos con el IgY purificado, extraíamos el suero y, luego, esto lo usábamos en un ensayo de citometría para ver la capacidad de neutralización. Y llegamos al 67% de bloqueo, un número muy importante; digo que es muy importante porque este es el porcentaje de bloqueo típico que se encuentra en un paciente COVID convaleciente. No hay que olvidarnos de que el paciente COVID convaleciente tiene ya los anticuerpos con capacidad de neutralizar el virus; y el 67% es una cifra importante que podemos alcanzar cuando tenemos 566 microgramos por mililitro de IgY en sangre. El siguiente paso fue administrar el anticuerpo IgY en animales, en conejos, en ratones y en cerdos. Lo hicimos por dos vías de administración, en realidad empezamos por cuatro: oral, intranasal, subcutánea e intravenosa.

Lamentablemente, y como lo sospechábamos, la oral y la intranasal no permiten alcanzar un nivel suficientemente alto de la concentración del IgY

en sangre. Si pretendiésemos ir por esas rutas de administración, necesitaríamos una gran cantidad de IgY para ser suministrada, lo cual lo volvería algo impráctico. En cambio, la vía subcutánea o la intravenosa han mostrado resultados muy interesantes.

Acá vemos el rateo de la respuesta de la capacidad de reconocimiento y de neutralización de la proteína viral por parte del anticuerpo IgY en sangre de conejo, el cual sube hasta las 40 horas y luego se estabiliza; en ratones, algo equivalente, sube y luego hay un decaimiento un poco más rápido de lo que se ve en el conejo; y en el cerdo es algo muy interesante porque encontramos un sostenimiento del nivel sanguíneo del IgY casi hasta las 80 horas. Sin embargo, esto obviamente se alcanza gracias a qué el nivel, el *ratio*, no es tan alto, es un *ratio* de 6 en cerdos. Aquí tenemos un *ratio* de 40 en ratones, y allí un *ratio* sostenido de 15 en conejos. Caso de administrar el anticuerpo IgY por vía intravenosa en ratones y en cerdos, nos da un resultado igualmente interesante: una subida muy rápida en el ratón que, luego, baja y se satura en 10 hasta las 80 horas; en el caso de los cerdos, si inoculamos una concentración 3X o 5X, tenemos nuevamente una curva sostenida. Pensábamos que el sostenimiento de la concentración de IgY en los cerdos por la vía subcutánea podía estar debiéndose a un efecto de depósito en la grasa del animal, pero algo similar, aunque no tan marcadamente sostenido ocurre cuando el anticuerpo IgY se administra por vía intravenosa. Este resultado –o, mejor dicho, la sangre de los animales o el suero de los animales tratados con IgY– lo hemos evaluado con ensayos de inmunodifusión, en la cual ponemos el antígeno y los sueros alrededor. Vemos entonces estas líneas blancas indicando que hay un reconocimiento. Pero lo más interesante, y esto nuevamente gracias a la colaboración con el INS, surge de la capacidad de la neutralización.

Y quiero ir directamente a esta figura, el último *slide* de mi presentación, en la cual estamos viendo que hasta la dilución 1 en 640, el suero de un cerdo que recibió por vía subcutánea el anticuerpo IgY purificado del huevo de la gallina, 8 horas después de haber sido administrado el IgY, tiene una capacidad muy potente de seroneutralización, incluso hasta la dilución 1 en 640. En estos momentos estamos aumentando el tamaño muestral en cerdos. Queremos estudiar con más detalle la farmacocinética y así poder reunir toda la evidencia necesaria para intentar realizar un ensayo clínico en

humanos y evaluar la bondad del uso del anticuerpo IgY en los casos de COVID.

Obviamente nuestra población blanco no necesariamente es la población más severa, pues no hay que olvidar que la severidad está más atribuida al exceso de la inflamación, a la exacerbación de la inflamación y no tanto a la carga viral. Sin embargo, en etapas más tempranas de la enfermedad, en poblaciones de alto riesgo, obesos diabéticos y personas con otras comorbilidades, es muy posible que la enfermedad evolucione hacia estados más avanzados, por lo que posiblemente en estos grupos de mayor riesgo es donde un tratamiento de inmunización pasiva podrá tener un efecto más notable para ser probado. Aun esto no quita la posibilidad de que, en los casos severos, pueda usarse también como una alternativa terapéutica más. Esperamos también tener la capacidad de poder producir estos anticuerpos IgY en las condiciones de las normas GMP (de la siglas en inglés Good Manufacturing Practices). Lo que producimos en el laboratorio FARVET no es GMP, de modo que no podemos hacer las pruebas en humanos. El reto en este momento es, primero, terminar de acumular la información en cerdos. Con todo, y como ven, es evidentemente muy necesario estudiar la farmacocinética, la seguridad y luego buscar producir este anticuerpo IgY en condiciones GMP para poder tratar de hacer un ensayo clínico de la manera debida.

Ha sido todo lo que quería mostrarles. Esta contribución la estamos realizando con bastante empeño. Es este un grupo de muchas personas, chicos jóvenes estudiantes de diferentes universidades trabajando, tanto en Chíncha, en FARVET como en la Cayetano. Es, pues, producto de un esfuerzo de muchas personas como repito. Muchas gracias.

Preguntas del auditorio

Moderador Dr. Agustín Iza Stoll

Yo tendría algunas inquietudes. Todos nos preguntamos ¿cuándo tendremos la vacuna? Alguien dice: cuando tengamos el conocimiento de que sean eficaces, que sean seguras y que tengan inmunogenicidad. Otro grupo de investigadores se pregunta: ¿qué condiciones debe tener una vacuna? Y establecen algunas que voy a leer: que sea efectiva en una o dos dosis, que proteja a todas las edades incluyendo a los mayores de 65 años

que tengan comorbilidad o problemas autoinmunes, que su protección no sea menor a 6 meses. Y este es un dato que me gustaría también que comenten, luego de que obviamente disminuya la transmisión comunitaria y que finalmente se pueda producir a gran escala. Un primer tema es cómo escogemos, o sea, los gobiernos ahora son conscientes de que no existe armamento terapéutico para controlar bien, desde el punto de vista farmacológico, esta enfermedad y que lo único aceptado ahora son corticoides para pacientes graves con falta de oxígeno. Fuera de eso, desafortunadamente no hay ninguna aceptación diferente. Cuando las camas de UCI empiezan a faltar en todas partes, los Gobiernos dicen ¿dónde hay una vacuna para comprarla? Y la compran sin estar seguros de que ya están listas. Y, si la compran y la vacuna no va, simplemente perdieron el dinero porque han comprado algo que no funciona.

Pero luego de eso viene un problema que algunos lo establecen como técnico y como moral o ético. Algo de eso el Dr. Lanata ya ha mencionado. ¿A quién vacunar primero? Y alguien menciona varias alternativas: primero, los trabajadores de la salud, los que tienen comorbilidades, los adultos mayores, las comunidades minoritarias y los que tienen bajos ingresos. Para algunos esa debería ser la priorización. Pero otros dicen ¿quiénes son los que más contagian? Los adultos jóvenes asintomáticos. Entonces, esa población, que no es considerada en la lista anterior, debería tener alguna priorización. Y a este grupo se añade la fuerza laboral productiva y los trabajadores obviamente de salud.

Estos serían *grosso modo* dos grupos, y esto a mí me hacía pensar en el problema moral y ético que tiene un intensivista cuando tiene una cama para un paciente grave y tiene un adulto mayor con comorbilidades y uno joven sin comorbilidades. ¿A quién le doy la cama? Bueno, ya ha habido un comité del Ministerio de Salud que ha presentado sus recomendaciones, pero esto es otro tema, también moral: ¿A qué población escojo? ¿Cómo priorizo? Porque no voy a tener vacunas para todo el mundo, como has mencionado bien; no hay viales para los 5 600 millones de personas que deben recibir la vacuna del COVID, según dice la Organización Mundial de la Salud. Estos son simplemente algunos comentarios, Dr. Lanata. Por favor, realice unos comentarios adicionales sobre esto que hemos conversado.

Dr. Claudio Lanata de Las Casas

Gracias, Agustín. Son preguntas importantísimas. Difícil saber qué va a pasar. Respecto al tiempo, ¿cuándo va a haber una vacuna? Todos los ensayos están potenciados para el número de sujetos, algunos están aumentando su tamaño muestral, inicialmente de 20 han pasado a 30, y por ahí escucho que algunos quieren llegar a 100 000 participantes. Este tamaño muestral está diseñado estadísticamente para detectar el número de casos comprobados, según el protocolo, que serían COVID positivos, confirmado por una prueba molecular. Apenas lleguen a ese número de casos, que estadísticamente podrían contestar una eficacia de 60% más, por ejemplo, apenas tienen ese número, paran, abren el código y determinan si funciona. Y eso está más o menos esperado porque a la larga es la suerte: si te da un brote o si hay varios lugares con vacunas con alta transmisión. Es más. Te adelanto que muchos de los ensayos clínicos que están llegando te alertan que no te van a garantizar que vas a vacunarte hasta un día previo, y esa decisión la toma la empresa mirando la posibilidad del número de casos COVID que tu sitio va a tener. No tiene sentido vacunar en un lugar donde ya no hay transmisión, porque no vas a probar nada. Están buscando lo más rápido posible llegar a ese número de sujetos que van a tener confirmados casos COVID que deben ocurrir. Esto, yo escucho por ahí, a los 2 o 3, no más de 4 meses de iniciado el estudio. Entonces lo van a querer obtener muy rápido y ahí paran; como ya están produciendo la vacuna, ya está listo, paran y van a una frase rápida porque todo esto es en emergencia.

La agencia regulatoria dice “te voy a dar la autorización de emergencia para la introducción de la vacuna y comienzas a distribuirla”. Eso yo siento que va a pasar en algún momento el próximo año, no creo que para enero, pero tampoco creo que va a llegar a julio sin que algo de esto ocurra. Y creo que la intención del Gobierno peruano es usar la primera vacuna que tenga eficacia y que entre al mercado lo más pronto posible. Y va a ser básicamente con este dato de eficacia, no va a haber todavía mucho dato de inmunogenicidad, no va a poder haber habido el tiempo de observación. ¿A quiénes vacunar? Todos los ensayos clínicos que estoy viendo tienen dos grupos para vacunar: el grupo de 18 años a 60 y el grupo de 61 a más; felizmente que hay ese segundo grupo, porque habría sido penoso que no tuviéramos datos del segundo grupo. Entonces, puede

ser que, en el momento que abran el código, sean primero para los de entre 18-50 años, pero continúa el otro grupo sin abrir códigos hasta que ese segundo grupo tenga el número de casos que permita ver la eficacia.

Entonces yo veo un escenario muy capaz. Van a haber dos licencias: inicialmente para un grupo que son los transmisores y, posteriormente, si se confirma su eficacia, para el grupo de alto riesgo. Este plan te deja sin saber qué pasa con los excluidos de los estudios clínicos, que son la enorme patología alta, gente que está en inmunoterapia, con cáncer. Felizmente que, a nivel de obesidad, estamos viendo que el criterio de excluir es la obesidad supermórbida, de los que hay pocos en nuestro país, más para otras poblaciones.

Parece que muchos de los llamados obesos peruanos sí van a poder entrar. Entonces, vamos a tener datos de ellos. Pero no hay datos para niños, no hay datos para lactantes o mujeres gestantes. Creo que vamos a poder tener información; al menos, que se vacunen y ver qué pasa en una fase de introducción a la vacuna. Ahora, si no hay suficientes vacunas para los 33 millones o menos de estos grupos etarios, ¿qué hacer? Una buena pregunta. Ahí hay que balancear. Yo creo que, como va a llegar primero a los jóvenes, va a ser fácil esa primera decisión de que vacunemos a los transmisores. Depende cuántas dosis haya, voy a ver a qué grupo de transmisores voy a vacunar: gente joven en sector salud, policía, profesores de colegio y poblaciones que tienen poco acceso a salud, que podrían tener un impacto rápido negativo. A ellos y, cuando llegue la data de los de mayor edad, ahí obviamente iría a donde están esas poblaciones más juntas en zonas probablemente urbanas.

Dr. Agustín Iza Stoll

Vamos ahora con el Dr. Zimic. Su presentación importante, interesante porque muestra a la comunidad científica los esfuerzos en el Perú para desarrollar una vacuna y las dificultades que se tienen, la falta de fondos para poder desarrollar la vacuna. Una cosa a resaltar en investigación es la colaboración. Como ha remarcado el Dr. Zimic, profesores, estudiantes, universidades, el Ministerio de Salud a través del INS, la empresa privada se juntan para intentar desarrollar una vacuna con todas las dificultades que el Dr. Zimic nos ha mostrado. El auditorio pregunta ¿qué tan rápido

se podría tener esta vacuna en Perú? Los costos que el Dr. Zimic ha presentado son muy bajos en comparación con el resto. La vacuna debería ser, como son otras, de aplicación gratuita para la población en general o por lo menos para la población menos favorecida; sin embargo, siempre hay algunas personas que tienen vacunaciones privadas, pero la masa debería ser asumida por el Estado. La pregunta es ¿cuánto tiempo, suponiendo que se puedan vencer las dificultades económicas? y ¿cuánto tiempo podríamos estar en la fase clínica? Tenemos estudios con hámsters. Sé que es una pregunta difícil, hay expectativas que dicen “ahora tenemos una vacuna barata”. ¿Cuándo la tendremos? Creo que va a demorar un poco más, pero sería bueno, Dr. Zimic, que nos comente al respecto sobre el tema.

Dr. Mirko Zimic Peralta

Gracias. Lo que sí les puedo comentar con certeza es que el estudio del “DESAFÍO” debería estar listo entre 6 y 8 semanas. Esto incluye terminar la construcción del *container* BCR3, tener a los animales inmunizados en un nivel deseado y, luego, hacer el “DESAFÍO” y el seguimiento, levantar los códigos y ver el efecto de la vacuna propiamente. Pasado ese tiempo estamos en la incertidumbre aún, en vista de los dos aspectos más importantes. La producción de la vacuna en un ambiente GMP, ya sea que se tercerice en el extranjero o ya sea que podamos lograr la certificación de este laboratorio privado en Lima, lo que va a tener lugar en dos semanas o tres máximo, según nos comentan: una sala blanca certificada GMP por farmacopea americana, en donde tendríamos la capacidad de llevar la infraestructura requerida para cultivar la salmonella, empacarla y tener las dosis producidas bajo condiciones GMP. En el mejor escenario, si esto se aprueba y lo autorizan para producir como GMP 6 000 dosis, tomaría una semana prácticamente. Luego de lo cual ya tendríamos las dosis listas para iniciar los estudios clínicos, pero para iniciar los estudios clínicos se deben cubrir muchos pasos previos. Debe haber una evaluación crítica externa del ensayo preclínico, por supuesto debe haber una aprobación del Comité de Ética, conseguir todas las condiciones para los ensayos clínicos desde la infraestructura clínica, personal médico, pruebas, pólizas de seguro, etcétera.

Es decir que es todo un trabajo logístico que puede tomar un tiempo considerable, probablemente unos 2 o 3 meses calculo. De modo que, en un escenario muy favorable, sólo habría que sumar 2 meses para terminar

el DESAFÍO, un mes para producir las dosis y 3 meses más. Estamos hablando de poder tener en 6 meses la posibilidad de iniciar ya las fases clínicas.

Dr. Agustín Iza Stoll

Muchas gracias, Dr. Zimic. Dr. Lanata, tal vez tienes algún comentario adicional. Hay algunas preguntas que todos tenemos: efectos secundarios de las vacunas, sobre todo en la fase III; siempre hay problemas en el sitio de la inyección, un poco de dolor, efectos secundarios menores. Pero, cuando se hace investigación en cualquier evento, alguien puede tener una apendicitis y lo operan de apendicitis. Es un efecto adverso, no tiene nada que hacer con la vacuna, pero existe la obligación de declararlo y existe la obligación de investigar. Se ha producido un caso de mielitis transversa; ha habido un Comité externo, además del actual, que ha evaluado y ha dicho que las posibilidades son menores, se puede seguir con el trabajo. Me pareció impecable esa forma de actuar porque tiene que dar tranquilidad a las personas. Cuando se habla de vacunas siempre sale alguien por ahí con una opinión negativa, y lo último que queremos es que la gente empiece a dudar de la vacuna. Su opinión sería importante y, adicionalmente, para completar su respuesta: la única forma de acortar los tiempos ha sido superponer las fases de la investigación. Antes era preclínica, fase I, recién fase II, de ahí fase III; y, luego que el producto sale al mercado, la fase IV para chequear un tiempo después. Pero ahora no, las publicaciones vienen con fase I/II y han aceptado que se puede tener una superposición de fases. Y la última pregunta para escuchar su respuesta es ¿qué se espera con la vacuna? ¿que no me dé la enfermedad o que no me dé la enfermedad grave? O sea, me va a dar algo como una gripe menor y ya no me importa, pero no quiero llegar a necesitar un cuidado intensivo, ¿o realmente no voy a tener enfermedad? Creo que esa es una inquietud general que convendría que nos comente, por favor.

Dr. Claudio Lanata de Las Casas

Gracias. Un comentario sobre los problemas de los asintomáticos. Esto motivó mucha discusión en los medios. Quiero asegurar que, según todos los estudios que he revisado, no existe más que un porcentaje de no más de 10% que realmente son asintomáticos; el grueso tiene algún síntoma que no lo lleva a la emergencia, no lo lleva a buscar ayuda. Ellos pasan desapercibidos, pero tienen síntomas. No es un virus 100% asintomático.

Enfatizo eso porque acabo de leer un artículo ayer con datos nuevos que dicen exactamente lo mismo. Con respecto al tema de la vacunación y la eficacia, empezando con los efectos adversos, hasta ahora -como tú lo has dicho- todo lo que he mirado de todas las vacunas que han publicado sus resultados, en el sitio de inyección se produce inflamación y tiene que darle lo que diríamos “prender la vacuna”. Se recordará que, muchos años atrás, le colocaban inyecciones que tenían lípidos, tenían una sustancia grasa y dolía. Las vacunas tienen esos lípidos y dan esa reacción, y es una reacción al lípido más que a la proteína en sí, que es el RNA mensajero u otros productos de la vacuna. Eso pasa en 24 horas. No he visto que hayan tenido que abandonar el estudio por efectos de la vacuna. Hasta ahora parece que es el principal problema, la reacción inmediata, pero hay que esperar más números. Cuando ya los números llegaran a los miles podría emerger algo. Lo que tú has dicho es muy cierto: mientras haces este estudio con 30 000 - 20 000 personas, vas a echar la culpa de todo lo que les sucede, normalmente, a la vacuna. Y eso puede ser perjudicado por los medios sociales. Ojalá que no ocurra.

Ahora ¿qué va a hacer la vacuna? Ahora estamos teniendo evidencias de aquellos que se infectaron una vez, y ya se está demostrando que han sido expuestos segunda vez al virus. Lo detectas por azar, como el primer caso que miraron en China o en Singapur. Parece que excretas el virus, pero no tienes síntomas. Entonces, yo diría que la inmunidad no va a ser como fue en muchos virus, que evite que te infectes y el virus se replique; o sea, lo que va a ocurrir es que el virus infecta, comienza a replicarse, el cuerpo responde y detiene la enfermedad, no llega a invadir pulmón o sitios alejados y muere la transmisión. Vas a poder, de repente, infectar y transmitir el virus. Eso me parece que va a ser un escenario bastante posible. El tiempo de duración, la eficacia y todas estas discusiones, vamos a ver qué pasa en la práctica, cómo esta data se va a ir generando para poder ver la duración.

Este virus, como dice muy bien el Dr. Zimic, es, como todos los virus, inteligente y está mutando; es un nuevo huésped que ha encontrado, por lo tanto, la inmunidad. Puede ser que varíe. La vacuna, como el Dr. Zimic ha explicado, apuesta a que ese receptor es estable. Si muta ese receptor, ese virus no infecta, porque perdió la llave, pero no infecta a humanos. Ojalá que esto

sea cierto y se mantenga así y no descubra otra llave y encuentre una vía para meterse “de contrabando”. Muchas cosas pueden pasar con los virus, hay que estar mirándolos y aprendiendo. Pero, como dijo usted en la introducción, las vacunas son el elemento más importante que tenemos en salud pública para luchar contra las infecciones, particularmente virales, que seguirán azotando el mundo. Cuando estudié infectología me dije: con antibióticos ya todo se acabó, mi carrera de infectólogo está muerta. Y no es así, porque tenemos siempre retos para resolver, y las vacunas siguen siendo la esencia de la salud pública para proteger a una población, y hay que defenderlas, hay que usarlas, hay que desarrollarlas con buenos criterios, como lo han hecho en este caso los Data and Safety Monitoring Board, cuyos estudios están bien hechos, son seguros. Todo el mundo está en esa línea para que estos productos lleguen lo más rápido y no haya problemas de seguridad con ellos.

Dr. Agustín Iza Stoll

Dr Zimic, va a haber varias preguntas si esta medicina oral necesitaría cadena de frío. Y el otro tema que ha despertado una inquietud es: si se tiene una vacuna y el virus muta, la vacuna va a tener que ser diferente, va a tener que ser una vacuna por población, por país, ¿y qué va a pasar con los viajeros? Porque recordemos que esta pandemia se ha movilizó muy rápido, y en unas horas se desplegó por todo el país, de tal manera que, si tenemos una vacuna con ciertas características para un tipo de virus y no para otros, ¿nos tendremos que vacunar más seguido? ¿Qué explicación nos podría dar usted?

Dr. Mirko Zimic Peralta

Muy buena pregunta. Si nos limitamos solo al ámbito veterinario, por ejemplo, vacunas porcinas, aviáres, etc., está claro que estas son poblaciones cerradas, donde no hay migración y tenemos ciertas infecciones y cepas específicas rondando en una zona que son diferentes de las que rondan en otra. De modo que es muy razonable, y es usual, personalizar u optimizar una vacuna frente a cada antígeno vacunal específico. En el caso de la optimización de las vacunas para poblaciones humanas, el primer criterio que se toma en cuenta no es necesariamente la variación genética de la cepa que está circulando, sino las características genéticas del sistema inmunológico, específicamente la variante del

complejo mayor de histocompatibilidad clase 1, clase 2, las que van a definir qué epítopes son los que van a tener mayor afinidad por estos complejos y que van a ser finalmente presentados a los linfocitos para que estos estimulen. Estos cambian de una etnia a otra y esto es conocido, está publicado: etnia asiática, etnia africana, etnia indígena americana. Tenemos variantes genéticas distintas del complejo mayor de histocompatibilidad, de modo que un antígeno puede ser muy eficiente en un grupo poblacional y no necesariamente en otro. Eso es aceptado y conocido, y es tema de estudio en lo que se conoce como la inmunoinformática y el desarrollo de las vacunas epitópicas. Pero todavía estamos lejos de llegar a una comprensión profunda y completa de ese tema, lo cual nos lleva a la segunda etapa o al segundo nivel de la capacidad de optimización. Esto se hace en base a estudiar la variabilidad genética de las cepas que están infectando una región. Pero, como usted bien dice, la globalización, la rápida migración de las personas de un continente a otro hace que una estrategia tal sea complicada. De repente funciona para un sector de la población que permanece en un sitio, pero en un tiempo posterior va a ingresar el virus con una variante diferente y va a alterar la eficiencia de una vacuna.

En mi opinión, las técnicas actuales para poder rápidamente reconstituir el gen una nueva variante de salmonella –discúlpame que vamos a tocar solamente el tema de la vacuna de salmonella- son tan rápidas que en un par de semanas se puede hacer el cambio y tener ya en producción una nueva salmonella expresando un nuevo antígeno. No digo que esto sea práctico para la gran mayoría de vacunas, pero para una tan rápida de producir como salmonella es posible darle esa cuota, ese plus de optimalidad en base al conocimiento de cuál es la variante genética que está circulando. Si esto no fuese posible, tenemos la oportunidad, y parece que eso es así. El subdominio RBD parece ser el candidato ideal para tener una verdadera vacuna universal, dado que se ve hasta ahora con casi ya 60 000 genomas disponibles; hay la tendencia de una gran conservación en la interfase de contacto con el receptor ACE2, de modo que esa puede ser la estrategia para apuntar a tener una vacuna verdaderamente universal.

Dr. Claudio Lanata de Las Casas

Solo un comentario. En base a lo que se dijo, predigo y no me extrañaría que va a llegar un momento en

que, para viajar, se tenga que estar vacunado y se va a exigir el carnet de vacunación contra COVID para evitar justamente esta propagación. No me va a extrañar que eso ocurra apenas la vacuna ingrese al mercado.

Dr. Agustín Iza Stoll

Es obligación de los Estados y los Gobiernos procurar que la vacunación sea universal para la población, porque quien no se vacuna puede propagar la enfermedad y dañar a otra persona. Hay un problema que las personas tienen que entender. No se limita a que no les interesa que se puedan contagiar, o no les importa, sino que están atacando la salud de otra persona de una manera irresponsable.

Llega a su fin este importante simposio. Quiero agradecer en nombre de la Academia Nacional de Medicina al Dr. Lanata y al Dr. Zimic no solamente por sus presentaciones sino también por sus comentarios. Quiero agradecer también a InfoSalud del MINSa porque, a través de su plataforma y colaboración, hemos realizado este simposio para la comunidad médica y para la comunidad nacional. Muchas gracias. Buenas noches.

Palabras finales del viceministro de Salud Pública

Dr. Luis Suárez Ognio

Solamente para agradecer a la Academia Nacional de Medicina y a los expositores de esta noche por las magníficas conferencias, y para manifestar que el Ministerio de Salud está muy atento al desarrollo de los ensayos clínicos y las investigaciones nacionales. Tengan ambos por seguro que vamos a estar muy cerca. Esta pandemia todavía nos trae muchas sorpresas, como muy bien lo comentó el Dr. Lanata y el Dr. Zimic, todavía muchísimas cosas no sabemos: si va a haber mutaciones importantes del virus, si vamos a tener una segunda ola. Tenemos que prepararnos para escenarios futuros. Es un reto, tanto para la parte de respuesta de tratamiento, como para la prevención, para la vigilancia de la epidemia. Más que nunca los peruanos tenemos que trabajar unidos para poder estar preparados y proteger a nuestro país. Muchas gracias nuevamente a la Academia por este esfuerzo. Sigamos trabajando juntos.