

LA VACUNA MVA-COV2-S DESARROLLADA EN EL CNB-CSIC ES ALTAMENTE INMUNOGENICA Y COMPLETAMENTE EFICAZ FRENTE AL SARS-COV-2/COVID-19: FUTURO Y OPORTUNIDADES

THE MVA-COV2-S VACCINE DEVELOPED AT THE CNB-CSIC IS HIGHLY IMMUNOGENIC AND COMPLETELY EFFECTIVE AGAINST SARS-COV-2/COVID-19: FUTURE AND OPPORTUNITIES

Juan García-Arriaza² y Mariano Esteban^{1,2}

¹Académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia

²Laboratorio de Poxvirus y Vacunas. Departamento de Biología Molecular y Celular. Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC). Madrid

corresponding author: jfgarcia@cnb.csic.es; mesteban@cnb.csic.es

ARTÍCULO DE REVISIÓN

RESUMEN

La aparición de un nuevo virus emergente a finales del año 2019, identificado posteriormente como SARS-CoV-2, que rápidamente se propagó a la población humana causando la pandemia COVID-19 (con más de 639 millones de personas infectadas y más de 6.6 millones de fallecimientos a fecha de noviembre de 2022), supuso un gran reto para la ciencia y el sistema sanitario mundial con graves consecuencias en la salud y la economía global. En un tiempo récord se produjeron vacunas de distinta naturaleza que demostraron su seguridad y eficacia en ensayos clínicos y cuya administración a la población ha sido clave para frenar la pandemia, evitando contagios, hospitalizaciones y fallecimientos. Nuestro laboratorio en el CNB-CSIC ha participado muy activamente en esta carrera generando un candidato vacunal basado en el poxvirus denominado virus vaccinia modificado de Ankara (MVA) que demostró en ensayos preclínicos en tres modelos animales (ratón, hámster y macaco) su alta seguridad, robusta inmunogenicidad y completa eficacia frente al virus SARS-CoV-2. En este artículo se describen los pasos que se siguieron desde el laboratorio para culminar con el desarrollo industrial de un candidato vacunal muy prometedor capaz de inducir respuestas inmunitarias potentes y proteger completamente frente a la infección por el coronavirus SARS-CoV-2. La siguiente fase son los ensayos clínicos en humanos. También discutimos sobre otras vacunas, futuro y oportunidades a medio-largo plazo.

ABSTRACT

The appearance of a new emerging virus at the end of 2019, later identified as SARS-CoV-2, which rapidly spread to the human population causing the COVID-19 pandemic (with more than 639 million people infected and more than 6.6 million deaths by November 2022), was a great challenge for science, with serious consequences for the human health system and global economy. In record time, different types of vaccines were produced that demonstrated their safety and efficacy in clinical trials and whose administration to the population has been essential for curbing the pandemic, avoiding infections, hospitalizations and deaths. Our laboratory at the CNB-CSIC has been very active in this race, generating a vaccine candidate based on the poxvirus vector termed modified vaccinia virus Ankara (MVA), which demonstrated in three animal models (mouse, hamster and rhesus macaque) its high safety, robust immunogenicity and full efficacy against SARS-CoV-2 infection. This article describes the steps that we follow it up from the beginning of the pandemic to culminate in the industrial development of a very promising vaccine candidate. The next phase is clinical trials in humans. We also discuss about other vaccines, future and opportunities in the medium-long term.

Palabras Clave:

MVA
SARS-CoV-2/COVID-19
vacuna
inmunogenicidad
eficacia
modelos animales

Keywords:

MVA
SARS-CoV-2/COVID-19
vaccine
immunogenicity
efficacy
animal models



1. INTRODUCCIÓN

Cuando la sociedad estaba recuperándose de la crisis económica de 2008, aparece a finales del año 2019 un nuevo virus que iba a producir una de las mayores catástrofes en salud y economía a escala mundial. Un pequeño virus, previamente desconocido, fue transmitiéndose rápidamente entre las personas hasta expandirse por todo el planeta, originando una pandemia de dimensiones asombrosas que a 24 de noviembre de 2022 ha causado más de 639 millones de infectados y 6,62 millones de muertes (sólo en España ha habido 13,5 millones de infectados y 115.000 muertos). Todo empezó en la ciudad china de Wuhan, cuando a mediados de diciembre de 2019 se detectaron casos clínicos de personas que sufrían una enfermedad respiratoria severa, con fiebre alta y neumonía. El 31 de diciembre de 2019 las autoridades sanitarias chinas hicieron pública dicha situación, y debido a la gran capacidad de contagio de dicha enfermedad, se tomaron fuertes medidas para evitar la transmisión, como el aislamiento de los pacientes, un seguimiento exhaustivo de nuevos casos y contactos directos, el cierre del mercado de mariscos foco de la infección y el confinamiento de la población. Mientras tanto, en un tiempo récord, el 12 de enero de 2020, científicos chinos identificaron y publicaron la secuencia genómica del agente infeccioso causante de dicha enfermedad: un nuevo virus, perteneciente a la familia de los coronavirus, al que se denominó coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2)(1,2). A la enfermedad que causa se la nombró como COVID-19 (*CO*rona*V*irus *D*isease 2019, por sus iniciales en inglés).

2. DISEÑO DE LA VACUNA MVA-COV2-S

Desde el laboratorio de Poxvirus y Vacunas del CNB-CSIC, que dirige desde el año 1992 el Profesor Mariano Esteban, seguíamos con interés las noticias desde China sobre esta nueva enfermedad, que ya intuíamos que pudiera causar una potencial epidemia. El 13 de enero de 2020, al día siguiente de ser publicada la secuencia del SARS-CoV-2(1,2), decidimos ir adelante en la generación de una vacuna frente al nuevo virus. Ello fue debido a la experiencia de más de 30 años que teníamos con la plataforma de poxvirus como base para la generación de candidatos vacunales frente a múltiples enfermedades infecciosas humanas. Así, previamente habíamos desarrollado candidatos vacunales basados en poxvirus, especialmente utilizando como vector viral el virus vaccinia modificado de Ankara (MVA), frente a distintos patógenos como los virus VIH-1, hepatitis C, chikungunya, zika, y ébola, demostrando en ensayos preclínicos en modelos animales una robusta inmunogenicidad (producción de anticuerpos neutralizantes y activación de células T CD4⁺ y CD8⁺) y una alta eficacia del 80-100% (con los candidatos

vacunales frente a ébola, chikungunya y zika)(3-6). Además, habíamos desarrollado vacunas basadas en MVA frente al VIH-1, subtipos B y C, que se evaluaron en diferentes ensayos clínicos de fase I, tanto profilácticos como terapéuticos, con buenos resultados de seguridad e inmunogenicidad (7-12).

Esta experiencia previa en vectores MVA como candidatos vacunales frente a enfermedades infecciosas humanas nos permitió iniciar de forma rápida la generación de una vacuna frente al SARS-CoV-2. De esta forma, para el diseño de una vacuna frente a la COVID-19 necesitábamos dos componentes principales: 1) el vector viral que utilizaríamos como vehículo, y 2) el antígeno del SARS-CoV-2 a elegir para tratar de inducir buenas respuestas inmunitarias que fueran protectoras.

1) Vector viral: el poxvirus MVA. Respecto al vector viral a utilizar, debido a nuestra experiencia previa, no teníamos ninguna duda: el poxvirus denominado virus vaccinia modificado de Ankara (MVA). Los poxvirus son una familia de virus que infectan varias especies animales, poseen un genoma de ADN bicatenario de 130-375 kpb, una cápside ovalada en forma de ladrillo de un tamaño de 300-400 nm x 250-290 nm, una envoltura viral, y presentan una replicación citoplasmática. El miembro más famoso de esta familia es el virus de la viruela, causante de la enfermedad más letal (con más del 30% de mortalidad) que ha padecido la humanidad a lo largo de su historia. La viruela es, además, la única enfermedad humana erradicada de nuestro planeta, desde 1980, y lo fue gracias a una exhaustiva campaña mundial de vacunación promovida y coordinada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) e iniciada en la década de los años 60 del siglo XX. Entre las vacunas más efectivas empleadas destacaron aquellas basadas en el virus vaccinia (VACV). Estas vacunas fueron posteriormente mejoradas y se desarrollaron nuevas vacunas, entre las que destaca el MVA, generado a partir de una cepa del VACV tras más de 570 pases seriados en células de pollo (13). Este proceso dio lugar a la pérdida de alrededor del 10 % del genoma del MVA, incluyendo genes de rango de hospedador, por lo que el MVA está altamente atenuado y no es capaz de replicarse en células humanas. Ello permitió que la cepa MVA se utilizara como vacuna frente a la viruela en Alemania durante la campaña de erradicación de la viruela, donde 120.000 personas fueron vacunadas, no observándose efectos adversos. Posteriormente, a partir de la década de 1990, se empezaron a generar virus MVA recombinantes expresando antígenos de diferentes patógenos y, desde ese momento, se han desarrollado numerosos candidatos vacunales basados en MVA frente a un gran número de enfermedades, los cuales han mostrado resultados prometedores de inmunogenicidad y eficacia en ensayos preclínicos en animales y en ensayos clínicos en seres humanos (14,15).



2) Antígeno del SARS-CoV-2: la proteína de la espícula (S). El siguiente paso era decidir qué antígeno del SARS-CoV-2 insertar dentro del MVA, para activar una respuesta inmunitaria capaz de proteger frente a la infección. Para ello era fundamental entender la estructura de los coronavirus. El SARS-CoV-2 es uno de los siete coronavirus que infectan al ser humano, siendo, junto al SARS-CoV-1 y al coronavirus causante del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), los únicos coronavirus altamente patogénicos para el ser humano. El SARS-CoV-2, al igual que los otros coronavirus, es un virus con morfología esférica, de 80-160 nm de diámetro, y con una envuelta de bicapa lipídica donde se insertan tres proteínas estructurales: la proteína de la espícula (S), que se proyecta desde la membrana del virus y es la responsable de la unión del virus al receptor, siendo además la principal diana de los anticuerpos neutralizantes; la proteína de membrana (M), implicada en la morfogénesis viral; y la proteína de la envuelta (E), implicada en la morfogénesis viral y que, además, es un factor de virulencia. Dentro del virión se encuentra el genoma viral: una única cadena de ARN monocatenario de polaridad positiva, de aproximadamente 30 kb, a la cual se le une la proteína de la nucleocápsida (N). Estudios previos con vacunas frente al SARS-CoV-1 y al MERS habían demostrado que el antígeno más inmunogénico y eficaz era la proteína S(16). Por ello decidimos que el antígeno del SARS-CoV-2 a insertar en el MVA fuera el gen que codifica la proteína S, incluyendo su gen completo con los dominios S1 (que contiene el dominio de unión al receptor celular –RBD–, que es la principal diana de anticuerpos neutralizantes), S2 (dominio de fusión) y el dominio transmembrana.

A continuación, el primer paso fue diseñar y generar un plásmido vector de transferencia que contuviera el gen S del SARS-CoV-2 (denominado pCyA-S), necesario para posteriormente insertar dicho gen en el genoma del MVA mediante un proceso de recombinación homóloga en cultivos celulares. El plásmido pCyA-S contiene la secuencia completa del gen S del aislado de Wuhan del SARS-CoV-2 (el único secuenciado en ese momento), regiones flanqueantes del gen de la timidina quinasa (TK) del MVA para permitir la inserción del gen S en dicho *locus* del genoma del MVA, y un gen marcador de selección (LacZ). Tras realizar el diseño por ordenador, se envió a la empresa GeneArt (Thermo Fisher Scientific), la cual sintetizó el gen S y lo clonó en nuestro vector pCyA. A mediados de febrero de 2020 recibimos el plásmido, momento en el que empezamos una carrera contrarreloj para generar una vacuna frente a la COVID-19 en el menor tiempo posible.

3. GENERACIÓN DE LA VACUNA MVA-COV2-S

La generación de una vacuna frente a la COVID-19, basada en el vector MVA expresando la proteína S del SARS-CoV-2, y a la que denominamos MVA-CoV2-S, se realizó en cultivos celulares. Células permisivas para el MVA (células DF-1 de pollo) se infectaron con el virus parental MVA-WT y posteriormente se transfectaron con el plásmido pCyA-S, para que tuvieran lugar procesos de recombinación homóloga entre las secuencias del gen TK del virus MVA flanqueando el gen S presentes en el plásmido y el propio gen TK del genoma viral. La progenie viral resultante se recogió y se inició entonces la selección de clones recombinantes que hubieran incorporado el gen S, mediante plaques sucesivos en cultivos celulares. Inicialmente, se seleccionaron durante tres pases seriados aquellas placas virales de color azul que expresaban el marcador β -galactosidasa, el cual se había insertado en el genoma del MVA, junto con el gen S, por dicho proceso de recombinación homóloga. Posteriormente, se realizaron tres nuevos pases seriados y se seleccionaron aquellas placas virales que, tras un nuevo evento de recombinación homóloga, habían eliminado el gen marcador (placa sin color) y solo expresaban la proteína S.

En pleno proceso de generación de la vacuna MVA-CoV2-S, el SARS-CoV-2 se estaba expandiendo de forma exponencial por todo el planeta, llegando a Europa entre finales de febrero y primeros de marzo de 2020, detectándose un gran número de casos de COVID-19 y un significativo porcentaje de fallecimientos. El 11 de marzo de 2020 la OMS declaró a la COVID-19 como una pandemia mundial, y el 14 de marzo se decretó el estado de alarma en España para evitar la expansión del virus, con medidas de urgencia como el confinamiento de la población, restricciones en la circulación y distanciamiento social. Sin embargo, gracias a un salvoconducto, se pudo seguir trabajando en el laboratorio, avanzando firmemente en la generación de la vacuna. Entre finales de marzo y primeros de abril de 2020 se seleccionó una última placa de virus MVA recombinante que expresaba la proteína S y había perdido el gen marcador. Dicha placa viral fue amplificada en cultivos de células DF-1, obteniéndose un *stock* viral maestro del candidato vacunal MVA-CoV2-S que se caracterizó en detalle. Estos experimentos *in vitro* en cultivos celulares, realizados entre abril y mayo de 2020, demostraron que el MVA-CoV2-S expresaba una proteína S completa de unos 180 kDa de peso molecular, formando oligómeros (trímeros), glicosilada y localizada en la membrana de las células infectadas. Además, la vacuna demostró ser altamente estable con todos los clones aislados expresando correctamente la proteína S. La generación de nuestro candidato vacunal se había completado con éxito en el mes de abril del 2020, siendo la vacuna más avanzada en España, estando a la par de otras vacunas que se estaban



desarrollando utilizando vectores virales, como la generada por la Universidad de Oxford/Astrazeneca, que utiliza un adenovirus como vector. En un espacio muy corto de tiempo se estaban elaborando numerosas vacunas frente al SARS-CoV-2 a lo largo del mundo, utilizando distintas estrategias basadas en ácidos nucleicos (ADN y ARNm), proteínas recombinantes, vectores virales, replicones, virus SARS-CoV-2 inactivados o atenuados. Entre todas estas aproximaciones vacunales estaba nuestro candidato vacunal MVA-CoV2-S, que una vez generado de forma satisfactoria fue patentado en 2020 y la patente extendida en 2021.

4. LA VACUNA MVA-COV2-S ES ALTAMENTE INMUNOGENICA Y PROTEGE FRENTE A LA INFECCIÓN POR SARS-COV-2 EN RATONES

La siguiente etapa implicaba demostrar la inmunogenicidad (capacidad para activar el sistema inmunitario) y eficacia (capacidad para proteger frente a la infección por el SARS-CoV-2) del candidato vacunal MVA-CoV2-S en diferentes modelos experimentales animales, como ratones, hámsteres y macacos; requisitos de las agencias reguladoras para poder probar la vacuna en ensayos clínicos con personas. Los primeros experimentos de inmunogenicidad del MVA-CoV2-S se realizaron en ratones C57BL/6 durante mayo-junio de 2020 en el CNB-CSIC. Grupos de ratones se inmunizaron intramuscularmente con dos dosis de MVA-CoV2-S, espaciadas dos semanas entre sí; y también se probó la combinación de un ADN expresando la proteína S seguida de una segunda dosis con MVA-CoV2-S. Los ratones fueron sacrificados 10 días después de la última dosis, momento en el que se produce un pico de la respuesta inmunitaria (denominada adaptativa), y se analizó la producción de anticuerpos en suero y la activación de células T en esplenocitos. Los resultados fueron espectaculares y muy prometedores. El MVA-CoV2-S, utilizado en diferentes regímenes de inmunización (ADN/MVA y MVA/MVA), activaba de forma muy potente los dos brazos del sistema inmunitario: la producción de anticuerpos y la activación de células T. Por un lado, se indujeron altos niveles de anticuerpos IgG frente a las proteínas S y RBD del SARS-CoV-2, que eran mayoritariamente del isotipo IgG2c, en vez de IgG1, indicativo de una respuesta de tipo Th1. Además, los anticuerpos inducidos eran altamente neutralizantes y evitaban la entrada del SARS-CoV-2 en las células. Por otro lado, se produjo una robusta respuesta inmunitaria celular específica frente al antígeno S, con activación de células T CD4⁺ y CD8⁺, células T CD4⁺ foliculares cooperadoras, células T CD4⁺ reguladoras, células T CD8⁺ residentes de memoria y células T efectoras de memoria. Esta respuesta celular se caracterizaba por la producción de citoquinas de tipo Th1, como IFN- γ , TNF- α , e IL-2 y la ausencia de citoquinas de tipo Th2, como IL-4, IL-10 e IL-17. Estos resultados fueron publicados en enero de 2021

y demostraban que el MVA-CoV2-S promueve potentes respuestas inmunitarias humorales y celulares frente al SARS-CoV-2 (17). Además, en estudios posteriores demostramos que la vacunación de ratones C57BL/6 con dos dosis de MVA-CoV2-S es capaz de inducir una respuesta inmunitaria duradera de memoria, al menos 6 meses después de la última inmunización, con activación de células T CD4⁺ y CD8⁺ específicas frente al SARS-CoV-2, así como altos títulos de anticuerpos IgG frente a las proteínas S y RBD del SARS-CoV-2, que además eran capaces de neutralizar de forma potente al SARS-CoV-2 (18). Todos estos resultados de inmunogenicidad sugerían que el candidato vacunal MVA-CoV2-S podría conferir protección frente a la infección por el SARS-CoV-2.

Por lo tanto, el siguiente paso fue evaluar si efectivamente el MVA-CoV2-S protegía frente a la infección por el SARS-CoV-2. Para realizar estos experimentos de eficacia se necesitaba un tipo especial de ratones transgénicos, denominados K18-hACE2, que expresan el receptor ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*) humano del SARS-CoV-2 y son susceptibles a la infección por el virus. Dichos ratones solo los comercializaba la compañía Jackson, desde Estados Unidos y, a pesar de solicitarlos en marzo, no nos llegaron hasta agosto de 2020, debido a la gran demanda de este modelo animal que era crucial para demostrar la eficacia de las numerosas vacunas que se estaban desarrollando en esa época. Los experimentos de eficacia los realizamos en el Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA, Valdeolmos, Madrid), perteneciente al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) (y ahora englobado dentro del CSIC), un centro de alta seguridad con categoría NCB-3 que permitía el manejo del SARS-CoV-2 y su inoculación en animales.

Durante agosto-septiembre de 2020, varios grupos de ratones K18-hACE2 fueron inmunizados intramuscularmente con una o dos dosis de MVA-CoV2-S, espaciadas un mes, o con los correspondientes controles. Cinco semanas después, los ratones fueron infectados con el SARS-CoV-2 por vía intranasal y, en los días posteriores, evaluamos una serie de parámetros que determinarían si la vacuna era eficaz y protegía frente a la infección. Los resultados fueron espectaculares y muy prometedores, con un 100 % de protección frente a la morbilidad y mortalidad causada por el SARS-CoV-2 (17,18). Mientras que los ratones no vacunados perdieron peso aceleradamente tras la infección y fallecieron seis días después, los ratones vacunados con dos dosis de MVA-CoV2-S no perdieron peso tras la infección y sobrevivieron. Una dosis de MVA-CoV2-S también era efectiva, y aunque los ratones perdían peso durante los cuatro primeros días tras la infección, lo recuperaron y sobrevivieron. El análisis posterior de las muestras obtenidas mostró que MVA-CoV2-S controlaba la replicación del SARS-CoV-2 en pulmones, reducía la patología pulmonar y los niveles de citoquinas proinflamatorias,



así como que inducía altos niveles de anticuerpos IgG frente a las proteínas S y RBD, y anticuerpos neutralizantes que se correlacionaban con protección (18). De forma adicional, los ratones vacunados con una o dos dosis de MVA-CoV2-S también estaban protegidos frente a una reinfección con SARS-CoV-2 (18).

Estos resultados demostraban que MVA-CoV2-S confiere una protección completa frente a la infección por el SARS-CoV-2 en ratones, siendo la pauta de dos dosis mucho más efectiva.

5. LA VACUNA MVA-COV2-S ES ALTAMENTE INMUNOGENICA Y PROTEGE FRENTE A LA INFECCIÓN POR SARS-COV-2 EN HÁMSTERES

El siguiente paso era confirmar la robusta inmunogenicidad y eficacia de la vacuna MVA-CoV2-S en un nuevo modelo animal, en este caso el hámster, puesto que son necesarios estudios en dos modelos animales diferentes para poder obtener la autorización por parte de las agencias reguladoras para realizar un ensayo clínico de fase I/II con la vacuna. Los hámsteres son susceptibles a la infección por el SARS-CoV-2 y es posible evaluar en ellos la capacidad protectora de las vacunas. Como no teníamos experiencia en hámsteres, iniciamos una colaboración con el grupo del Dr. Kai Dallmeier (Universidad Católica de Lovaina, Bélgica), que habían probado de forma satisfactoria en este roedor una vacuna frente al SARS-CoV-2 basada en el virus de la fiebre amarilla (19). Los resultados que obtuvimos fueron, de nuevo, espectaculares y confirmaban la alta inmunogenicidad y eficacia de MVA-CoV2-S. Tanto una como dos dosis de MVA-CoV2-S, administradas por vía sistémica, protegían a los hámsteres de la infección por SARS-CoV-2, con resultados muy similares a los obtenidos previamente en ratones transgénicos, con altos niveles de anticuerpos IgG frente a las proteínas S y RBD y anticuerpos neutralizantes, así como control de la replicación del SARS-CoV-2 en pulmones y una reducción significativa de la patología pulmonar (20).

6. LA VACUNA MVA-COV2-S ES ALTAMENTE INMUNOGENICA Y PROTEGE FRENTE A LA INFECCIÓN POR SARS-COV-2 EN MACACOS

Los datos de inmunogenicidad y eficacia obtenidos con el candidato vacunal MVA-CoV2-S en ratones y hámsteres eran suficientes para poder ser presentados a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) y obtener su aprobación para la realización de un ensayo clínico inicial de fase I/II en voluntarios sanos, donde se evaluaría la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna. Además, con la intención de acelerar el proceso preclínico en animales y poder conseguir autorización para un futuro

ensayo clínico de fase III, al mismo tiempo que la empresa Biofabri generaba los lotes clínicos de la vacuna, iniciamos estudios de seguridad, inmunogenicidad y eficacia de MVA-CoV2-S en macacos.

Los macacos son susceptibles a la infección por el SARS-CoV-2 y estudios en este modelo animal son necesarios para poder evaluar las vacunas en ensayos clínicos de fase III, donde se confirma la seguridad, inmunogenicidad y eficacia.

En España no hay infraestructuras ni personal entrenado en estudios de vacunas en primates no humanos, lo que representaba un gran hándicap para poder realizar nuestro estudio. Tras muchas negativas por parte de expertos en diversos centros del mundo, finalmente llegamos a un acuerdo con el prestigioso Centro de Investigación Biomédica de Primates (BPRC, Países Bajos) para realizar un estudio de seguridad, inmunogenicidad y eficacia de MVA-CoV2-S en macacos, en colaboración con los Dres. Petra Mooij y Gerrit Koopman. El estudio se inició en marzo de 2021, con seis macacos rhesus vacunados con dos dosis intramusculares de MVA-CoV2-S, espaciadas un mes, y otros seis macacos inoculados con el virus control MVA-WT. Un mes después de la última inmunización, los monos fueron infectados con el SARS-CoV-2 y se evaluó la inmunogenicidad inducida y la capacidad de protección. Los resultados obtenidos, al igual que los generados en ratones y hámsteres, confirmaron el espectacular perfil de inmunogenicidad y eficacia inducido por el candidato vacunal MVA-CoV2-S (21). Por un lado, se produjeron altos niveles de anticuerpos IgG frente a las proteínas S y RBD del SARS-CoV-2 y anticuerpos neutralizantes, y por otro lado se activaron células T específicas frente al SARS-CoV-2. De forma importante, la vacuna fue completamente efectiva, reduciendo la carga viral en vías respiratorias bajas (pulmones) y en vías respiratorias altas (garganta y cavidad nasal), así como la patología pulmonar. De gran relevancia fue la potente inhibición de la tormenta de citoquinas proinflamatorias en sangre y lavados broncoalveolares inducida por la vacuna. Dicha tormenta de citoquinas es típica de la infección por el SARS-CoV-2 y es causa principal del fallecimiento de personas con COVID-19.

7. LA VACUNA MVA-COV2-S INDUCE ANTICUERPOS QUE NEUTRALIZAN LAS DISTINTAS VARIANTES DEL SARS-COV-2

Al ser el SARS-CoV-2 un virus ARN y contener un material genético de unos 30.000 nucleótidos era de esperar que a medida que el virus se extendiera entre la población por todos los continentes, se produjeran mutaciones en su genoma y que éstas afectaran al virus bien positivamente, haciéndole más transmisible, o negativamente, con menor virulencia. La secuencia hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019 se considera como la primera en infectar a los humanos y se la reconoce como la secuencia cero. Sin embargo,



pronto y por secuenciación de genomas virales se empezó a describir la presencia de variantes del SARS-CoV-2, en un principio conteniendo pocas mutaciones, con preferencia en la proteína S, y a medida que pasaba el tiempo estos virus fueron evolucionando y dominando entre la población. Las diferentes variantes del SARS-CoV-2 se clasificaron con nombres del alfabeto griego, según el aumento de la transmisibilidad, virulencia y disminución de la eficacia frente a otros tratamientos. A aquellas variantes con mayor peligrosidad se las denominó variantes de preocupación (VOC), e incluyen por orden de aparición las variantes alfa (linaje B.1.1.7), beta (linaje B.1.351), gamma (linaje P.1), delta (linaje B.1.617.2) y ómicron (linaje B.1.1.529). Recientemente han aparecido nuevos linajes de ómicron, como BA.4 y BA.5, que predominan actualmente en el mundo, con gran número de mutaciones y más resistentes a la acción de las vacunas.

Teniendo en cuenta la presencia de diferentes variantes del SARS-CoV-2, fue por lo tanto esencial demostrar que la vacuna MVA-CoV2-S era capaz de inducir anticuerpos que neutralizaran las distintas variantes de preocupación. De esta forma, en sueros procedentes de ratones, hámsteres y macacos que habían sido previamente vacunados con MVA-CoV2-S, se determinó su capacidad de unirse a la proteína S, así como de neutralizar a las distintas variantes de preocupación. Los resultados obtenidos fueron muy relevantes y demuestran que los sueros de ratones (18), hámsteres (20) y macacos (21) vacunados con MVA-CoV2-S eran capaces de neutralizar todas las variantes de preocupación (alfa, beta, gamma, delta y ómicron), aunque el grado de neutralización variaba, siendo las variantes beta y ómicron las más resistentes, particularmente ómicron. No obstante, en todos los casos se producían anticuerpos de unión a la proteína S y anticuerpos neutralizantes, lo que avalaba la potencia inmunogénica de la vacuna MVA-CoV2-S (18, 20-21).

8. LA VACUNACIÓN CON MVA-COV2-S PROTEGE FRENTE A LA INFECCIÓN POR SARS-COV-2 EN EL CEREBRO DE RATONES TRANSGÉNICOS

Una de las manifestaciones clínicas más preocupantes en las personas que han sido infectadas por el SARS-CoV-2 es el llamado efecto "long COVID" o COVID persistente, con una variedad de síntomas nuevos, recurrentes o continuos, mucho tiempo después de la recuperación, pudiendo durar meses o años. Esto puede deberse a que las personas que tuvieron COVID-19 podrían tener daños en el cerebro, o en otros órganos o tejidos como el corazón, los riñones o la piel, así como inflamación y problemas en el sistema inmunitario. Para determinar la capacidad del SARS-CoV-2 para infectar el cerebro, establecimos una colaboración con el grupo del Dr. Juan José Toledo Aral y el Dr. José López Barneo del Instituto

de Biomedicina de Sevilla (IBIS). Utilizando ratones transgénicos K18-hACE2, susceptibles a la infección por el SARS-CoV-2, nos preguntamos si el virus era capaz de alcanzar el cerebro, qué ruta utilizada para infectar el cerebro, las zonas cerebrales que podrían estar afectadas y si la vacunación con MVA-CoV2-S podría proteger frente a la infección cerebral y al daño tisular. Así pues, se inmunizaron ratones con una o dos dosis de la vacuna MVA-CoV2-S, posteriormente se les inoculó por vía intranasal el SARS-CoV-2 y a diferentes días post-infección se sacrificaron animales y los cerebros fueron procesados histológicamente para analizar la presencia del virus y determinar los daños producidos. Los resultados obtenidos, mostraron que los ratones no vacunados e infectados con SARS-CoV-2 tenían zonas del cerebro, particularmente el córtex y el hipotálamo, infectadas con el virus, ocurriendo la replicación del virus principalmente en las neuronas y produciéndose alteraciones patológicas importantes, como pérdida neuronal, signos incipientes de activación glial y daño vascular. Además, se determinó que la ruta de entrada en el cerebro utilizada por el virus fue la hemato-encefálica. Contrariamente, y de forma muy relevante, los cerebros de los ratones que fueron vacunados con una o dos dosis de MVA-CoV2-S estaban totalmente protegidos, con ausencia de infección en todas las áreas del cerebro y su daño asociado (22). Esta protección se mantuvo incluso después de la reinfección por SARS-CoV-2. El hecho de que una o dos dosis de la vacuna MVA-CoV2-S confirieran total protección del cerebro frente a la infección por SARS-CoV-2, sugiere que el COVID persistente podría ser controlado por la vacunación con MVA-CoV2-S.

9. GENERACIÓN DE UNA VACUNA OPTIMIZADA MVA-COV2-S(3P), EXPRESANDO UNA PROTEÍNA S ESTABILIZADA EN PREFUSIÓN, QUE ES MÁS INMUNOGENICA Y EFICAZ QUE MVA-COV2-S

Todos los resultados obtenidos en estos tres modelos animales (ratón, hámster y macaco) confirmaban que la vacuna MVA-CoV2-S, que expresa una proteína S nativa sin estabilizar, es segura, muy inmunogénica y altamente eficaz. Sin embargo, con el fin de tratar de aumentar la inmunogenicidad y eficacia de dicha vacuna, a la vez que mantuviera una mayor amplitud de respuesta inmune frente a las distintas variantes del SARS-CoV-2, generamos un nuevo candidato vacunal basado en MVA expresando una proteína S optimizada, a la que se le había mutado el dominio de furina para prevenir el corte proteolítico entre S1 y S2 y se le introdujeron tres sustituciones de aminoácidos a prolina, con el fin de estabilizar la proteína S en prefusión. Este nuevo candidato vacunal optimizado fue denominado MVA-CoV2-S(3P) (23). Infecciones en cultivos celulares mostraron que MVA-CoV2-S(3P) producía mayores niveles



de la proteína S en el citoplasma y en la membrana celular que la proteína S nativa producida por MVA-CoV2-S. Posteriormente, el estudio de la inmunogenicidad en ratones C57BL/6 y ratones transgénicos K18-hACE2 mostró que una sola dosis de MVA-CoV2-S(3P) indujo mayores niveles de anticuerpos IgG y anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 parental y diferentes variantes de preocupación que MVA-CoV2-S(23). De forma relevante, una sola dosis de MVA-CoV2-S(3P), administrada por vía intramuscular, fue mucho más eficaz que MVA-CoV2-S, protegiendo a todos los ratones K18-hACE2 de la morbilidad y mortalidad causadas por la infección por SARS-CoV-2, reduciendo la carga viral, las lesiones histopatológicas y los niveles de citoquinas pro-inflamatorias en los pulmones (23). Estos resultados demostraron que la expresión por parte del vector MVA de una nueva proteína S del SARS-CoV-2 estabilizada en pre-fusión mejoró la inmunogenicidad y la eficacia contra el SARS-CoV-2 y sus variantes en ratones, en comparación con MVA-CoV2-S, respaldando la entrada en ensayos clínicos de la nueva vacuna optimizada MVA-CoV2-S(3P).

10. LAS VACUNAS MVA-COV2-S Y MVA-COV2-S(3P) SON INMUNOGÉNICAS Y EFICACES DESPUÉS DE SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA INTRANASAL, SIENDO MVA-COV2-S(3P) EL CANDIDATO VACUNAL MÁS INMUNOGÉNICO Y EFICAZ

La característica de la infección por SARS-CoV-2 es que ésta se produce a través de las vías respiratorias. Las vacunas actuales contra la COVID-19 se administran por ruta intramuscular, pero esta vía de administración no ha conseguido prevenir la infección por SARS-CoV-2 en las vías respiratorias superiores, ni la transmisión entre personas, principalmente debido a la ausencia de una respuesta inmunitaria de mucosas. Los datos preclínicos con las vacunas MVA-CoV2-S o MVA-CoV2-S(3P) fueron obtenidos después de su administración por ruta intramuscular, la misma ruta utilizada por todas las vacunas actuales frente al coronavirus SARS-CoV-2. Dado que en estas condiciones sistémicas se activan fundamentalmente los anticuerpos IgG, mientras que en la infección del virus por vía respiratoria se induce en las mucosas anticuerpos IgA que bloquean la entrada del virus, era necesario demostrar que las vacunas MVA-CoV2-S y MVA-CoV2-S(3P) eran inmunogénicas y protectoras frente a la infección por el coronavirus SARS-CoV-2 cuando son administradas por la ruta intranasal. Para ello, evaluamos en ratones la inmunogenicidad y eficacia tras la administración por vía intranasal de una sola dosis de MVA-CoV2-S o MVA-CoV2-S(3P) (24). Los resultados de inmunogenicidad en ratones C57BL/6 mostraron que MVA-CoV2-S y MVA-CoV2-S(3P) indujeron anticuerpos IgG e IgA específicos de la proteína S, en suero y en lavados broncoalveolares, respectivamente, y anticuerpos neutralizantes contra

el SARS-CoV-2 parental, así como frente a diferentes variantes de preocupación (VoC), siendo MVA-CoV2-S(3P) el candidato vacunal más inmunogénico(24). Además, también se indujeron respuestas inmunitarias locales (en pulmones y ganglios linfáticos broncoalveolares) o sistémicas (en bazo) de células T CD4+ y CD8+ específicas frente al SARS-CoV-2, que son de tipo Th1 y altamente polifuncionales (24). De forma relevante, el estudio de la eficacia en ratones transgénicos K18-hACE2 mostró que una sola dosis por vía intranasal de MVA-CoV2-S y MVA-CoV2-S(3P) protegió a todos los ratones de la morbilidad y mortalidad causadas por la infección por SARS-CoV-2, siendo MVA-CoV2-S(3P) el candidato vacunal más eficaz. El análisis de las muestras obtenidas, mostró la ausencia de virus infeccioso en los pulmones y lavados nasales de los ratones vacunados, lo que sugiere que la vacunación habría producido una inmunidad esterilizante, objetivo final de todas las vacunas. Este control de la replicación del virus, se correlacionó con los altos títulos de IgG específicas de S y de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 parental y diferentes variantes de preocupación, inducidos por la vacunación. Además, en los ratones vacunados, principalmente en aquellos con MVA-CoV2-S(3P), apenas hubo lesiones histopatológicas pulmonares y los niveles de citoquinas proinflamatorias en pulmones y lavados nasales fue muy bajo (24). Todos estos resultados demuestran que una sola inoculación por vía intranasal de las vacunas MVA-CoV2-S y MVA-CoV2-S(3P) indujo potentes respuestas inmunitarias celulares y humorales, ya sea locales o sistémicas, y protegió al 100% de los ratones de la morbilidad y mortalidad causada por la infección por SARS-CoV-2.

11. PRODUCCIÓN INDUSTRIAL DE LOTES CLÍNICOS DE LAS VACUNAS MVA-COV2-S Y MVA-COV2-S(3P)

Antes de realizar un ensayo clínico con una vacuna es necesario producir dicha vacuna mediante unas buenas prácticas de fabricación (GMP), donde se controla la calidad del producto producido y que permite generar millones de dosis. Este proceso fundamental no lo podíamos realizar en el laboratorio, por lo que necesitábamos colaborar con una empresa que fuera capaz de producir los lotes clínicos de las vacunas producidas. La búsqueda de dicha empresa la iniciamos en abril de 2020 y fue ardua, compleja y llena de obstáculos. Inicialmente nos contactó una empresa alemana para producir ellos la vacuna, pero se consideró por parte del CSIC y el Ministerio de Ciencia e Innovación que la mejor opción era realizar la producción de la vacuna en una empresa española. La perseverancia tuvo sus frutos y en mayo-junio de 2020 llegamos a un acuerdo con la empresa Biofabri (O Porriño, Pontevedra), perteneciente al grupo Zendal, que es un referente mundial en la producción de vacunas veterinarias frente a enfermedades animales.



De esta forma, en junio de 2020 le transferimos a Biofabri el candidato vacunal MVA-CoV2-S generado en el laboratorio y la empresa se puso manos a la obra para desarrollar el plan de producción de los lotes clínicos de dicha vacuna. Dicho proceso fue lento y requirió de mucho esfuerzo e inversión, pues la empresa tuvo que empezar literalmente desde cero, siguiendo las pautas que nuestro laboratorio del CNB-CSIC aportaba de conocimientos (*know-how*) sobre crecimiento y manipulación del MVA, generando bancos maestros de células donde crecer el virus recombinante, y bancos maestros de la vacuna que había que caracterizar en detalle para demostrar que cumplían con todos los requisitos de calidad requeridos por la AEMPS. El proceso de generación de los lotes clínicos GMP se fue alargando, hasta que finalmente se obtuvieron durante la primavera de 2021.

Durante ese intervalo de tiempo, íbamos avanzando en los estudios con el candidato vacunal MVA-CoV2-S en ratones, hámsteres y macacos descritos previamente; y, por otro lado, íbamos generando y caracterizando la nueva vacuna optimizada MVA-CoV2-S(3P), descrita con anterioridad. Los espectaculares resultados obtenidos con MVA-CoV2-S(3P) en ratones, también confirmados en hámsteres, donde demostramos que una sola dosis de dicha vacuna es más inmunogénica y eficaz que MVA-CoV2-S, nos hicieron tomar la decisión de que esta nueva vacuna optimizada fuera la elegida para que entrara en ensayos clínicos. De esta forma, enviamos el nuevo candidato vacunal MVA-CoV2-S(3P) a Biofabri en la primavera de 2021, y esta vez en poco tiempo, gracias a todo el trabajo de puesta a punto desarrollado durante el año anterior, conseguimos tener listos los lotes clínicos GMP de dicha vacuna en julio de 2021.

12. ENSAYO CLÍNICO DE LA VACUNA MVA-COV2-S(3P)

Una vez completada toda la fase preclínica en tres modelos animales, estábamos en condiciones de poder presentar los resultados a las agencias reguladoras para la aprobación e inicio de los ensayos clínicos, habida cuenta de que para las fases I/II solo se necesitaban los resultados de seguridad, inmunogenicidad y eficacia en dos modelos animales distintos (como ratón y hámster) y para la fase III se necesitaba el modelo de macaco, más cercano al humano. Conjuntamente con el CSIC, Biofabri y la CRO Optimapharm, se preparó un dossier completo con toda la información requerida por parte de la AEMPS, que incluyó los datos preclínicos de la vacuna MVA-CoV2-S y de su forma optimizada MVA-CoV2-S(3P), así como los controles de calidad de los lotes GMP producidos. Dicha información se envió en julio de 2021 a la AEMPS, que tras su evaluación nos requirió una serie de aclaraciones, las cuales fueron reenviadas a finales de septiembre del mismo año. Sin embargo, conforme pa-

saba el tiempo, la mayoría de las personas en España ya estaban vacunadas con la pauta completa y era cada vez más complicado buscar personas no vacunadas para realizar un ensayo clínico con nuestra vacuna, por lo que se consideró que la mejor opción era utilizar la vacuna MVA-CoV2-S(3P) como dosis de recuerdo en personas ya inmunizadas con las vacunas de ARNm. Por ello, retiramos la solicitud de ensayo clínico inicialmente propuesta en la AEMPS, se incorporaron más datos en los dossieres informativos y se envió a la Agencia Europea del Medicamento (EMA) un informe para solicitar su consejo, el cual hemos recibido recientemente, y avala la realización de dicho ensayo clínico utilizando MVA-CoV2-S(3P) como dosis de refuerzo. Por otro lado, otros organismos como la OMS y empresas internacionales han mostrado interés en nuestra vacuna, cuyas negociaciones continúan.

El ensayo clínico de fase I propuesto consiste en evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de la vacuna optimizada MVA-CoV2-S(3P) en 45 personas sanas que previamente han sido vacunadas con tres dosis de la vacuna de ARNm. A 15 voluntarios se les administrará una dosis de la vacuna con 10^7 PFU/dosis, otros 15 recibirán una dosis mayor de 10^8 PFU/dosis, y como control otros 15 individuos recibirán una dosis de la vacuna de ARNm. Si los resultados de seguridad e inmunogenicidad (anticuerpos totales y neutralizantes) obtenidos son prometedores, es decir ausencia de efectos adversos y demostrada superioridad inmunogénica frente a personas vacunadas con ARNm, se realizaría a continuación un ensayo de fase II en un mayor número de personas, donde evaluaremos, de nuevo, la seguridad y la inmunogenicidad, y si sigue demostrando superioridad sobre la vacuna de ARNm, pasará a la fase clínica III con mayor número de voluntarios. Estos pasos serán fundamentales para poder administrar la vacuna a la población como dosis de recuerdo en un futuro próximo.

13. DESARROLLO DE OTRAS VACUNAS Y SITUACIÓN ACTUAL

El desarrollo de vacunas frente a la COVID-19 ha sido uno de los grandes desafíos científicos y tecnológicos a nivel global para poder controlar la infección por el coronavirus SARS-CoV-2, que se transmitía a grandes velocidades entre la población desde principios del año 2020. Tan pronto como se conoció la secuencia completa del genoma del SARS-CoV-2, todos aquellos grupos con experiencia en vacunas iniciamos una carrera maratoniana para conseguir vacunas eficaces. Fruto de este esfuerzo fue la obtención de varios candidatos vacunales que rápidamente entraron en fases preclínicas y clínicas, con lo que a finales del año 2020 ya se habían producido varias vacunas basadas en vectores de adenovirus, ácidos nucleicos (ADN y ARNm), proteínas y virus inactivado, lo que permitió, una vez demostrada su alta eficacia, que se iniciara el proceso de vacunación



en varios países, que fue acelerando e incrementando la cobertura vacunal en la población. En Europa las primeras vacunas aprobadas por la EMA fueron dos vacunas que utilizaban ARNm (Moderna y Pfizer/BioNTech) y otras dos vacunas que utilizaban adenovirus como vector (Astrazeneca y Janssen), todas expresando la proteína S del virus. Se produjeron miles de millones de dosis, lo que permitió que en países como España se alcanzara más del 90% de vacunación frente al SARS-CoV-2 a finales del año 2021. No obstante, la vacunación no se ha producido de forma homogénea entre todos los países, con continentes como el africano con gran parte de la población no vacunada, lo que ha acrecentado la desigualdad entre los países ricos y los pobres. Sin embargo, los logros importantes a resaltar en el tercer trimestre del 2022 son los siguientes: que la vacunación ha sido masiva, que se han obtenido altos porcentajes de eficacia entre el 70-95%, que se ha conseguido parar la extensión y controlar la pandemia, y que se han podido salvar en el mundo millones de vidas. Se trata de uno de los logros más importantes en salud global, sólo comparable con la campaña de vacunación de la viruela, una de las más letales enfermedades infecciosas humanas que gracias a la vacunación masiva se consiguió erradicar de nuestro planeta.

A pesar del programa masivo de vacunación que ha evitado que la infección por SARS-CoV-2 progresara hacia COVID-19 y causara más muertes, el virus aún permanece en circulación, por lo que las autoridades sanitarias recomiendan la administración periódica de dosis de recuerdo de la vacuna, encontrándonos actualmente con la cuarta dosis, administrada inicialmente en las personas mayores de 80 años, pero que se extenderá progresivamente a otros rangos de edad. Es predecible que el virus se mantenga entre las personas produciendo periódicamente episodios similares a la gripe de corta duración, unos tres-cuatro días. No obstante, debemos de mantener la alerta con seguimientos epidemiológicos sobre la aparición de variantes que irán surgiendo entre la población vacunada y no vacunada, y asegurar su sensibilidad o resistencia a la vacunación. Nuevas vacunas duales dirigidas frente a distintas variantes, como la dual de Wuhan y ómicron, empezarán a administrarse en el otoño del 2022 entre la población más vulnerable. Esta pandemia, aunque controlable con las vacunas actuales, nos puede seguir produciendo sorpresas, por lo que la vigilancia y seguimiento es primordial. Nuevas vacunas con mayor espectro de acción que las actuales, sobre todo en durabilidad, al igual que la combinación de las mismas y desarrollo de aquellas con capacidad esterilizante en las vías respiratorias, son esenciales para el futuro. La vacuna MVA-CoV2-S(3P) que hemos generado en el CNB-CSIC representa una buena opción para ser utilizada en combinación con otras vacunas, ampliando la eficacia y duración de las respuestas inmunológicas

frente al SARS-CoV-2/COVID-19. De forma adicional, también hemos generado otro candidato vacunal, MVA-CoV2-S(3P)-ómicron, para uso combinado con otras vacunas. La vacunación a nivel global nos ayudará a mantener al coronavirus SARS-CoV-2 bajo control y como virus residual.

14. RELEVANCIA, DESAFÍO Y OPORTUNIDADES A MEDIO-LARGO PLAZO

El hecho de que durante más de dos años la pandemia causada por el coronavirus SARS-CoV-2 haya paralizado el sistema socio-económico de los países causando altos porcentajes de mortalidad en la población y grandes pérdidas económicas, nos ha demostrado la debilidad de nuestro sistema de protección frente a agentes infecciosos. Creíamos que podríamos actuar con rapidez frente a enfermedades emergentes, lo que no ha sido así frente al SARS-CoV-2. Ello ha alertado a los gobiernos y a sus sistemas sanitarios y de vigilancia a planificar con antelación, lo que requiere de políticas adecuadas para evitar que situaciones como las ocurridas durante la pandemia COVID-19 vuelvan a producirse. Pero la pregunta es si realmente se están tomando las medidas adecuadas o rápidamente nos olvidaremos de lo ocurrido y esperaremos a que vengan otros a solucionar el problema de otra pandemia en el futuro. Esto es algo que la sociedad demanda, exigiendo que se tomen las medidas de vigilancia epidemiológica y de contención adecuadas para que tragedias como la vivida, con el virus aún circulando entre nosotros, no se repitan.

Gracias a la ciencia se pudo identificar con rapidez el virus causante de una nueva enfermedad aparecida en la ciudad China de Wuhan, a finales del año 2019, publicándose a mediados de enero de 2020 la secuencia del nuevo coronavirus, bautizado como SARS-CoV-2. Estudios recientes sugieren que el virus pudo provenir del perro mapache o mapache japonés. Los científicos que trabajábamos en el desarrollo de vacunas disponíamos de los conocimientos y experiencia necesarios para poder desarrollar candidatos vacunales con rapidez. Fruto de ello es que en apenas dos meses, gracias a colaboraciones público-privadas, ya se disponían de diferentes candidatos vacunales basados en distintas tecnologías. En pocos meses se pudieron realizar los ensayos preclínicos y clínicos con dichos candidatos vacunales que condujeron a la aprobación de diferentes vacunas, que estuvieron disponibles así para iniciar la vacunación masiva de la población en diciembre de 2020. Sin embargo, pronto surgieron los problemas de obtención de suficientes dosis para administrar a las personas, lo que puso en evidencia que países como España no dispusiéramos de las infraestructuras necesarias ni empresas con capacidad de producción de vacunas de uso



humano. En nuestro país se ha realizado un gran esfuerzo, pero la pregunta es si se van a mantener los grupos científicos y las infraestructuras necesarias para seguir vigilantes, teniendo la capacidad de poder actuar con rapidez y producir las vacunas necesarias. España dispone de excelentes científicos, pero posee un déficit notable en puestos de trabajo y es necesaria la consolidación de los científicos que llevan años arrastrando contratos precarios.

La salud de los ciudadanos corresponde a las autoridades sanitarias y a los máximos representantes políticos a los que elige la ciudadanía por procedimientos democráticos. Es precisamente el Congreso de los Diputados y los Ministerios de Sanidad, Ciencia e Innovación y Defensa quienes deben de actuar con diligencia frente situaciones que afectan a toda la ciudadanía como epidemias y pandemias, procediendo a utilizar los mecanismos disponibles para la mejora de la salud. La pandemia COVID-19, con los errores y aciertos, ha puesto de manifiesto nuestra debilidad y fortaleza. Aprendamos pues de esta tragedia causada por un agente infeccioso para que no vuelva a ocurrir. La pandemia COVID-19, a la que todos estamos expuestos y muchos hemos padecido, ha abierto muchos frentes político-sociales sobre debilidades y fortalezas que se han visto reflejadas en intensos debates públicos sobre nuestro sistema sanitario y modo de actuación del Gobierno y Comunidades Autónomas. La sociedad exige que lo aprendido no caiga en saco roto, sino más bien nos sirva para fortalecernos como país. Pero realmente, ¿no va a ocurrir que la sociedad y los políticos quieran olvidarse de lo ocurrido y cerrar los ojos?. Actuemos pues con políticas firmes que auguren un futuro más seguro en cuanto a actuaciones frente a patógenos y otros agentes biológicos.

El mayor desafío es evitar que los patógenos causen mortalidad en las personas y buscar los remedios para evitarlo. Afortunadamente, las vacunas son el remedio más eficaz de control frente los agentes infecciosos. Recordemos que la viruela ha causado una de las mayores tragedias humanas en vidas y que gracias a un programa de vacunación masivo orquestado por la OMS se erradicó dicha enfermedad en el año 1980. Así pues, debemos de prepararnos para desarrollar vacunas y terapias capaces de controlar aquellos agentes mortales infecciosos para la especie humana que puedan surgir en un futuro. Entre la lista de agentes infecciosos más peligrosos reseñados por la OMS que pueden causar epidemias están: fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, Ebola, Marburgo, Nipah, SARS-CoV-1, MERS, Fiebre Lassa y Fiebre del Valle del Rift, y la siempre temida gripe. El control de los patógenos emergentes y reemergentes requiere de la voluntad del gobierno de la nación para poder contar de forma estable con una estructura sólida entre científicos, sanitarios y tejido productivo empresarial, que puedan actuar con rapidez y reducir tragedias como la ocurrida con la pan-

demia de SARS-CoV-2/COVID-19. Futuras epidemias y pandemias llegarán y será fundamental disponer de dichas estructuras científico-sanitarias-empresariales que nos permitan intervenir con rapidez y eficacia.

Agradecimientos

El trabajo realizado ha sido financiado por distintos proyectos de investigación otorgados por diferentes instituciones: Fondo COVID-19 COV20/00151 [Ministerio de Sanidad, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)], Fondo Supera COVID-19 (Crue Universidades-Banco Santander), proyectos intramurales especiales del CSIC (202120E079 y 2020E84), proyecto PID2020-114481RB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN)/Agencia Española de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033, proyecto CF01-00008 de la Fundación La Caixa, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC) cofinanciado con fondos FEDER, así como donaciones de Ferrovial y MAPFRE. Por otro lado, esta investigación ha sido también financiada por la Comisión Europea-NextGenerationEU, a través de la Plataforma de Salud Global del CSIC (PTI Salud Global). También agradecemos el apoyo económico de la Agencia Estatal de Investigación AEI/10.13039/501100011033, a través del Programa de Centros de Excelencia en I + D + i "Severo Ochoa" (SEV-2017-0712).

Agradecimiento al personal del laboratorio de Poxvirus y Vacunas del CNB-CSIC por su implicación en el desarrollo de vacunas frente al SARS-CoV-2, y muy especialmente a la Dra. Patricia Pérez Ramírez, así como a David Astorgano y Guillermo Albericio. También nuestro agradecimiento a la Vicepresidencia de Investigación Científica y Técnica (VICYT) del CSIC (Dres. Jesús Marco, Ana Castro y Ana Sanz) y a la empresa Biofabri (Dres. Esteban Rodríguez y Eugenia Puentes) por el excelente asesoramiento y apoyo continuo para el buen hacer del proyecto y su desarrollo clínico. Por otro lado, agradecemos a los Dres. Kai Dallmeier (Universidad de Lovaina, Bélgica), Petra Mooij y Gerrit Koopman (BPRC, Países Bajos) por su importante colaboración con los experimentos en hámsteres y macacos, respectivamente. Nuestro agradecimiento se hace extensivo también a distintos servicios del CNB (histología, animalario, unidad bioinformática, citometría de flujo, entre otros), así como al Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA)-CSIC (Valdeolmos, Madrid, Spain) por facilitar una zona NCB-3 para los experimentos de eficacia de la vacuna en ratones.

Este artículo representa una extensión actualizada sobre el desarrollo de la vacuna MVA-CoV2-S y su comportamiento en tres modelos animales, descrito previamente en parte en 2020 (Esteban, M. & García-Arriaza, J. Hacia la vacuna española contra el SARS-CoV-2, causante de la pandemia COVID-19. Anales de la Real Aca-



demia Nacional de Medicina de España. Vol. 137, N° 02, páginas 234-238, 2020. DOI: 10.32440/ar.2020.137.02.rev18) y 2021 (García-Arriaza, J. Desarrollo de una vacuna española frente a la COVID-19 basada en el poxvirus MVA: Del laboratorio a la clínica". Revista Virología de la Sociedad Española de Virología, Vol. 24, N° 1/2021).

15. REFERENCIAS

- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao GF, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22;395(10224):565-574.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-733.
- García-Arriaza J, Cepeda V, Hallengård D, Sorzano CÓ, Kümmerer BM, Liljestrom P, Esteban M. A novel poxvirus-based vaccine, MVA-CHIKV, is highly immunogenic and protects mice against chikungunya infection. *J Virol*. 2014 Mar;88(6):3527-47.
- Roques P, Ljungberg K, Kümmerer BM, Gosse L, Dereuddre-Bosquet N, Tchitchek N, Hallengård D, García-Arriaza J, Meinke A, Esteban M, Merits A, Le Grand R, Liljestrom P. Attenuated and vectored vaccines protect nonhuman primates against Chikungunya virus. *JCI Insight*. 2017 Mar 23;2(6):e83527.
- Pérez P, Q Marín M, Lázaro-Frías A, Jiménez de Oya N, Blázquez AB, Escribano-Romero E, S Sorzano CÓ, Ortego J, Saiz JC, Esteban M, Martín-Acebes MA, García-Arriaza J. A Vaccine Based on a Modified Vaccinia Virus Ankara Vector Expressing Zika Virus Structural Proteins Controls Zika Virus Replication in Mice. *Sci Rep*. 2018 Nov 26;8(1):17385.
- Lázaro-Frías A, Gómez-Medina S, Sánchez-Sampedro L, Ljungberg K, Ustav M, Liljestrom P, Muñoz-Fontela C, Esteban M, García-Arriaza J. Distinct Immunogenicity and Efficacy of Poxvirus-Based Vaccine Candidates against Ebola Virus Expressing GP and VP40 Proteins. *J Virol*. 2018 May 14;92(11):e00363-18.
- Gómez CE, Nájera JL, Perdiguer B, García-Arriaza J, Sorzano CO, Jiménez V, González-Sanz R, Jiménez JL, Muñoz-Fernández MA, López Bernaldo de Quirós JC, Guardo AC, García F, Gatell JM, Plana M, Esteban M. The HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B administered as a single immunogen in humans triggers robust, polyfunctional, and selective effector memory T cell responses to HIV-1 antigens. *J Virol*. 2011 Nov;85(21):11468-78.
- García F, Bernaldo de Quirós JC, Gómez CE, Perdiguer B, Nájera JL, Jiménez V, García-Arriaza J, Guardo AC, Pérez I, Díaz-Brito V, Conde MS, González N, Alvarez A, Alcami J, Jiménez JL, Pich J, Arnaiz JA, Maleno MJ, León A, Muñoz-Fernández MA, Liljestrom P, Weber J, Pantaleo G, Gatell JM, Plana M, Esteban M. Safety and immunogenicity of a modified pox vector-based HIV/AIDS vaccine candidate expressing Env, Gag, Pol and Nef proteins of HIV-1 subtype B (MVA-B) in healthy HIV-1-uninfected volunteers: A phase I clinical trial (RISVAC02). *Vaccine*. 2011 Oct 26;29(46):8309-16.
- Mothe B, Climent N, Plana M, Rosàs M, Jiménez JL, Muñoz-Fernández MÁ, Puertas MC, Carrillo J, Gonzalez N, León A, Pich J, Arnaiz JA, Gatell JM, Clotet B, Blanco J, Alcami J, Martínez-Picado J, Alvarez-Fernández C, Sánchez-Palomino S, Guardo AC, Peña J, Benito JM, Rallón N, Gómez CE, Perdiguer B, García-Arriaza J, Esteban M, López Bernaldo de Quirós JC, Brander C, García F; RISVAC-03 Study Group. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia Ankara-based HIV-1 vaccine (MVA-B) in HIV-1-infected patients alone or in combination with a drug to reactivate latent HIV-1. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(6):1833-42.
- Gómez CE, Perdiguer B, García-Arriaza J, Cepeda V, Sánchez-Sorzano CÓ, Mothe B, Jiménez JL, Muñoz-Fernández MÁ, Gatell JM, López Bernaldo de Quirós JC, Brander C, García F, Esteban M. A Phase I Randomized Therapeutic MVA-B Vaccination Improves the Magnitude and Quality of the T Cell Immune Responses in HIV-1-Infected Subjects on HAART. *PLoS One*. 2015 Nov 6;10(11):e0141456.
- Guardo AC, Gómez CE, Díaz-Brito V, Pich J, Arnaiz JA, Perdiguer B, García-Arriaza J, González N, Sorzano COS, Jiménez L, Jiménez JL, Muñoz-Fernández MÁ, Gatell JM, Alcami J, Esteban M, López Bernaldo de Quirós JC, García F, Plana M; RISVAC02boost study. Safety and vaccine-induced HIV-1 immune responses in healthy volunteers following a late MVA-B boost 4 years after the last immunization. *PLoS One*. 2017 Oct 24;12(10):e0186602.
- Joseph S, Quinn K, Greenwood A, Cope AV, McKay PF, Hayes PJ, Kopycinski JT, Gilmour J, Miller AN, Geldmacher C, Nadai Y, Ahmed MI, Montefiori DC, Dally L, Bouliotis G, Lewis DJ, Tatoud R, Wagner R, Esteban M, Shattock RJ, McCormack S, Weber J. A Comparative Phase I Study of Combination, Homologous Subtype-C DNA, MVA, and Env gp140 Protein/Adjuvant HIV Vaccines in Two Immunization Regimes. *Front Immunol*. 2017 Feb 22;8:149.
- Mayr A, Stickl H, Muller HK, Danner K, Singer H. The smallpox vaccination strain MVA: marker, genetic structure, experience gained with the parenteral vaccination and behavior in organisms with a debilitated defence mechanism. *Zentralbl Bakteriol B* 1978 167:375-390.
- Gómez CE, Perdiguer B, García-Arriaza J, Esteban M. Clinical applications of attenuated MVA poxvirus strain. *Expert Rev Vaccines*. 2013 Dec;12(12):1395-416.



15. Volz A, Sutter G. Modified Vaccinia Virus Ankara: History, Value in Basic Research, and Current Perspectives for Vaccine Development. *Adv Virus Res.* 2017;97:187-243.
16. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016 Aug;14(8):523-34.
17. García-Arriaza J, Garaigorta U, Pérez P, Lázaro-Frías A, Zamora C, Gastaminza P, Del Fresno C, Casasnovas JM, Sorzano CÔS, Sancho D, Esteban M. COVID-19 vaccine candidates based on modified vaccinia virus Ankara expressing the SARS-CoV-2 spike induce robust T- and B-cell immune responses and full efficacy in mice. *J Virol.* 2021 Jan 7;95(7):e02260-20.
18. Lázaro-Frías A, Pérez P, Zamora C, Sánchez-Cordón PJ, Guzmán M, Luczkowiak J, Delgado R, Casasnovas JM, Esteban M, García-Arriaza J. Full efficacy and long-term immunogenicity induced by the SARS-CoV-2 vaccine candidate MVA-CoV2-S in mice. *NPJ Vaccines.* 2022 Feb 9;7(1):17.
19. Sanchez-Felipe L, Vercrussey T, Sharma S, Ma J, Lemmens V, Van Looveren D, Arkalagud Javarappa MP, Boudewijns R, Malengier-Devlies B, Liesenborghs L, Kaptein SJF, De Keyzer C, Bervoets L, Debaveye S, Rasulova M, Seldeslachts L, Li LH, Jansen S, Yakass MB, Verstrepn BE, Böszörményi KP, Kiemenyi-Kayere G, van Driel N, Quaye O, Zhang X, Ter Horst S, Mishra N, Deboutte W, Matthijssens J, Coelmont L, Vandermeulen C, Heylen E, Vergote V, Schols D, Wang Z, Bogers W, Kuiken T, Verschoor E, Cawthorne C, Van Laere K, Opdenakker G, Vande Velde G, Weynand B, Teuwen DE, Matthys P, Neyts J, Jan Thibaut H, Dallmeier K. A single-dose live-attenuated YF17D-vectored SARS-CoV-2 vaccine candidate. *Nature.* 2021 Feb;590(7845):320-325.
20. Boudewijns R, Pérez P, Lázaro-Frías A, Van Looveren D, Vercrussey T, Thibaut HJ, Weynand B, Coelmont L, Neyts J, Astorgano D, Montenegro D, Puentes E, Rodríguez E, Dallmeier K, Esteban M, García-Arriaza J. MVA-CoV2-S Vaccine Candidate Neutralizes Distinct Variants of Concern and Protects Against SARS-CoV-2 Infection in Hamsters. *Front Immunol.* 2022 Mar 16;13:845969.
21. Mooij P, García-Arriaza J, Pérez P, Lázaro-Frías A, Verstrepn BE, Böszörményi KP, Mortier D, Fagrouch Z, Kiemenyi-Kayere G, Niphuis H, Acar RF, Meijer L, Stammes MA, Kondova I, Verschoor EJ, Geurts-vanKessel CH, de Bruin E, Sikkema RS, Luczkowiak J, Delgado R, Montenegro D, Puentes E, Rodríguez E, Bogers WJM, Koopman G, Esteban M. Poxvirus MVA Expressing SARS-CoV-2 S Protein Induces Robust Immunity and Protects Rhesus Macaques From SARS-CoV-2. *Front Immunol.* 2022 Mar 16;13:845887.
22. Villadiego J, García-Arriaza J, Ramírez-Lorca R, García-Swinburn R, Cabello-Rivera D, Rosales-Nieves AE, Álvarez-Vergara MI, Cala-Fernández F, García-Roldán E, López-Ogáyar JL, Zamora C, Astorgano D, Albericio G, Pérez P, Muñoz-Cabello AM, Pascual A, Esteban M, López-Barneo J, Toledo-Aral JJ. Full protection from SARS-CoV-2 brain infection and damage in susceptible transgenic mice conferred by MVA-CoV2-S vaccine candidate. *Nature Neuroscience.* 2022 accepted.
23. Pérez P, Lázaro-Frías A, Zamora C, Sánchez-Cordón PJ, Astorgano D, Luczkowiak J, Delgado R, Casasnovas JM, Esteban M, García-Arriaza J. A Single Dose of an MVA Vaccine Expressing a Prefusion-Stabilized SARS-CoV-2 Spike Protein Neutralizes Variants of Concern and Protects Mice From a Lethal SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* 2022 Jan 27;12:824728.
24. Pérez P, Astorgano D, Albericio G, Flores S, Sánchez-Cordón PJ, Luczkowiak J, Delgado R, Casasnovas JM, Esteban M, García-Arriaza J. Intranasal administration of a single dose of MVA-based vaccine candidates against COVID-19 induced local and systemic immune responses and protects mice from a lethal SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol.* 2022 Sep 12;13:995235.

Si desea citar nuestro artículo:

La vacuna MVA-CoV2-S desarrollada en el CNB-CSIC es altamente inmunogénica y completamente eficaz frente al SARS-CoV-2/COVID-19: futuro y oportunidades

Juan García-Arriaza y Mariano Esteban

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nºextra (2022) · pp. 415-426

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.05.08>