

Vacunas experimentales contra el Zika

Elsa T. Pimienta-Rodríguez, Rafael Fando-Calzada

Grupo de Biología Molecular, Dirección de Enfermedades Infecciosas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ave. 25 esquina 158. Cubanacán. Playa. La Habana. Cuba.
elsa.pimienta@cnic.edu.cu

Recibido: 5 de abril de 2016.

Aceptado: 15 de agosto de 2016.

La enfermedad causada por el virus del Zika (ZIKV) es transmitida por la picadura del mosquito hembra *Aedes aegyptii* y *albopictus*, infestados con el ZIKV. Este virus se identificó por primera vez en 1947 en el *Zika Forest Research Institute* en Uganda, cuando se estudiaban monos Macaco Rhesus con sospecha de fiebre amarilla. La presencia del virus en humanos, considerado en un principio huésped ocasional, se constató a través de estudios serológicos en 1952¹ y no fue hasta 1968 cuando se aisló el virus a partir de un paciente en Nigeria.² En el año 2007 se registró el primer gran brote en las islas Yap, Estado Federativo de Micronesia, estimándose que afectó a 73 % de la población mayor de tres años, con casi 185 casos confirmados sin describir complicaciones.³ Posteriormente se detectó un brote de mayor magnitud en la Polinesia Francesa desde octubre del 2013 hasta abril del 2014, con más de 32 000 casos leves.⁴ El virus alcanzó el continente Americano a comienzos de 2015 cuando se reportan los primeros casos en el norte de Brasil (Natal), aunque se describieron casos en el norte de Brasil sugerentes de Zika desde octubre del 2014.⁵ El análisis filogenético mostró un virus de linaje asiático, muy similar al de la Polinesia Francesa.⁶ De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), hasta el 22 de junio de 2016, 61 países y territorios habían notificado transmisión vectorial (por mosquitos) continuada.⁷

Es Brasil quien lanza la alerta de probable asociación del virus Zika con infección congénita y grave daño neurológico en el feto y la consecuente microcefalia. En octubre de 2015, el Ministerio de Salud de Brasil informó acerca de un incremento inusual de casos de microcefalia en el estado de Pernambuco, nordeste del país. En promedio, en este estado se registraban históricamente 10 casos de microcefalia por año. Sin embargo, desde inicios del año hasta noviembre de 2015 se detectaron 141 casos de microcefalia en 44 de los 185 municipios del estado de Pernambuco. Una situación similar también se registró en los estados de Paraíba y Río Grande del Norte. En este último se registraron 35 casos de microcefalia de agosto a noviembre de 2015. El estado de Piauí también informó un incremento inusual. Ante esta situación, el Ministerio de Salud de Brasil declaró una emergencia nacional de salud pública.⁸

La OMS declaró el 1ro de febrero de 2016 al brote por virus Zika como una emergencia sanitaria por su relación con el daño neurológico grave en fetos, producto de la infección congénita.⁹ La información disponible hasta el 2016 confirma esta causalidad. En enero de 2016 se describieron 35 casos de niños con microcefalia de madres que habían estado en zona de transmisión de Zika en Brasil. Este estudio mostró que aproximadamente el 70 % de los pacientes tenía perímetro craneano $-3DS$ y todos tenían alguna alteración neurológica en el estudio imagenológico.¹⁰ Posteriormente, en abril de 2016, un estudio retrospectivo de la Polinesia Francesa demostró mayor riesgo de microcefalia en fetos cuyas madres adquirieron la infección en el primer trimestre del embarazo.¹¹ En ese mismo mes, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades CDC de Estados Unidos, confirmó que el ZIKV es una causa de microcefalia y otros problemas neurológicos serios.¹² Desde el punto de vista de la biología del ZIKV, Tang y cols. (2016) establecieron que el ZIKV infecta células progenitoras neuronales corticales embrionarias humanas (HPC), lo cual promueve la atenuación de su crecimiento.¹³

Durante el brote de infección por el ZIKV en la Polinesia Francesa también se observó el fenómeno concomitante de un aumento inusual de casos de síndrome de Guillain-Barré.¹¹ Hasta el mes de Junio de 2016, ¹¹ países y territorios de la región de las Américas notificaron aumento de casos de Síndrome de Guillain-Barré (SGB) y otros cuatros países y territorios (Guadalupe, Haití, Panamá y Puerto Rico) registraron casos de SGB asociados a la infección por el virus

del Zika, sin registrar aumento de casos de SGB.¹⁴ La asociación causal entre el ZIKV y el SGB es probable, pero debe aún demostrarse, así como su incidencia y los factores de riesgo.

En este escenario, el desarrollo de una vacuna contra el virus del Zika constituye la medida más eficaz para prevenir la infección, considerando la no existencia de medicamentos antivirales específicos efectivos contra los flavivirus, unido a la dificultad y complejidad para controlar las poblaciones de vectores como mosquitos y garrapatas.¹⁵

El presente comentario especializado informa el Estado del Arte relacionado con la epidemiología del ZIKV, describe la organización genómica del virus, su ciclo de vida y las principales estrategias seguidas para el desarrollo de candidatos vacunales contra el ZIKV, considerando la importancia sanitaria en la región de América Latina y el Caribe, específicamente en Cuba donde se ha informado transmisión local del virus del Zika.

EPIDEMIOLOGIA

El virus Zika se detectó por primera vez en monos Macaco Rhesus con sospecha de fiebre amarilla en Uganda en 1947. Un año más tarde, fue aislado de mosquitos *Aedes* de la misma región. Desde su descubrimiento numerosos estudios epidemiológicos, serológicos y entomológicos han confirmado la circulación del virus en varios países africanos (Nigeria, Sierra Leona, Costa de Marfil, Camerún y Senegal) y asiáticos (Paquistán, Indonesia, Filipinas, Malasia, Camboya y Tailandia).¹⁶ En 2007, una epidemia estalló en Micronesia (Islas Yap en el Océano Pacífico), causando 5 000 infecciones.³ En 2013 y 2014, se reportaron 55.000 casos de Zika en la Polinesia Francesa.⁴ La epidemia se extendió luego a otras islas en el Pacífico, entre ellas, Nueva Caledonia, las Islas Cook y la Isla de Pascua.¹⁷

En el noroeste de Brasil se detectó el ZIKV por primera vez en mayo de 2015 y se extendió rápidamente a otras regiones del país.¹⁸ Brasil ha declarado que se han registrado entre 440 000 y 1 300 000 casos sospechosos de Zika.¹⁷ Un estudio de cohortes publicado recientemente en Brasil muestra un aumento del riesgo de microcefalia y otras anomalías congénitas asociadas con una infección por el ZIKV durante el embarazo. Este estudio aporta más información para sustentar la posible relación causal entre la infección por el virus y la microcefalia y otras anomalías congénitas.^{19,20}

Un estudio de control de caso del Síndrome Guillain-Barré en la Polinesia Francesa entre octubre de 2013 y abril de 2014, durante la epidemia de Zika, informó 42 casos diagnosticados; lo que contrasta con el número de casos en los años anteriores (5, 10, 3 y 3 en 2009, 2010, 2011 y 2012, respectivamente). Ninguno de los 42 casos fue fatal y el 98 % presentó anticuerpos anti-Zika.²¹ Paralelamente, ocho países de la región de las Américas han anunciado recientemente un aumento en la incidencia del Síndrome de Guillain-Barré: Brasil, El Salvador, Panamá, Venezuela, Colombia, Puerto Rico, Surinam y Martinica.²²

La situación anteriormente descrita, unida al riesgo que el ZIKV se extienda a las regiones en las que el mosquito del género *Aedes* ya está presente y donde la población no está infectada con Zika, es realmente alarmante. En el clima tropical, el vector se desarrolla generalmente en mayo y está activo y es capaz de transmitir el virus entre los meses de mayo y noviembre.¹⁷

CICLO DE VIDA VIRAL

El ZIKV es un miembro del serocomplejo Spondweni del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Su biología molecular se entiende mejor en el contexto de su ciclo de vida, el cual es similar al de otros flavivirus conocidos. Las proteínas E están involucradas en la unión del virus a los receptores, localizados en la membrana del hospedero. Posteriormente, el virus, a través de un mecanismo de endocitosis, se internaliza al interior de la célula huésped y se fusionan las membranas del virus a la membrana del endosoma del hospedero. El ARN viral es liberado al citoplasma y se traduce el ARNs en los ribosomas, localizados en la superficie del retículo endoplasmático. La poliproteína resultante es cortada en varias proteínas estructurales y no estructurales (C, prM, E y proteínas NS). La transcripción y la replicación del ADN resulta en la formación del ARNm y de nuevos genomas de ARNs(+). Tras el ensamblaje viral en el retículo endoplasmático, los viriones adquieren una membrana derivada del hospedero, enriquecida en proteínas virales, para formar su envoltura externa y se transportan al aparato de Golgi a través de la maquinaria ESCRT del hospedero (complejo de clasificación endosomal requerido para el transporte, por sus siglas en inglés, *endosomal sorting complexes required for transport*). La proteína prM se escinde en Golgi, y el virión se vuelve maduro. Finalmente, el virus maduro sale de la célula por exocitosis.²³

GENOMA DEL VIRUS DEL ZIKA

El genoma del ZIKV consiste en una molécula de ARN de simple cadena, de sentido positivo de 10 794 kb de longitud con dos regiones no codificantes flanqueantes (5' y 3' NCR) y un solo marco abierto de lectura, que codifica para una poliproteína de 3419 residuos de aminoácidos, 5'-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2BNS3-NS4A-NS4B-NS5-3', que se escinde en la cápsida (C), precursor de membrana (prM), *envelope* (E) y siete proteínas no estructurales (NS), de las cuales las más conservadas son NS1, NS3 y NS5. Las proteínas NS2A, NS2B, NS4A y NS4B son pequeñas e hidrofóbicas.²⁴

Una característica distintiva del genoma de ARN de los flavivirus es su preferencia por las bases purinas (G + A) sobre las pirimidínicas (U + C), que aumenta en los dominios no pareados (simple cadena) del genoma viral. Esta peculiaridad también se ha descrito en el genoma del ZIKV, sobre el cual van Hemert y Berkhout (2016)

recientemente informaron una diferencia no significativa entre los genomas de la cepa prototipo Uganda, aislada en 1947, y los genomas de las recientemente aisladas en América. De forma semejante a los flavivirus, los codones utilizados para la traducción de las proteínas del ZIKV son también inusuales. Análisis bioinformáticos sugieren que dicha preferencia en la composición nucleotídica del ZIKV es la que dicta, en gran medida, el uso de codones específico viral.²⁵

El número de sitios potenciales de glicosilación N en las proteínas prM, E y NS1 en el ZIKV fue 1-1-3, en ese orden. El patrón de 12 residuos de cisteína encontrados en todos los flavivirus transmitidos por mosquitos, en los genes NS1 y E son también conservados. Los seis residuos de cisteína en prM se agrupan en el dominio pr, como en la mayoría de los otros flavivirus.²⁴

La proteína E (~53 kDa) es la principal proteína de superficie y está implicada en diversos aspectos del ciclo viral, la mediación de la unión y de fusión de la membrana. Por estas razones ha sido una de las principales proteínas seleccionada para el desarrollo de candidatos vacunales. La proteína NS5 (~103 kDa) es la proteína viral más grande cuya porción C-terminal tiene actividad ARN-polimerasa dependiente de ARN (RdRP) y el extremo amino está implicado en la formación del ARN 5' caperuza debido a la actividad transferasa de metilo.²⁶

Desde el punto de vista filogenético, se han descrito dos linajes ZIKV: africano y asiático. El linaje africano está compuesto por las ramas occidental y oriental. Algunos autores describen tres linajes diferentes: africano occidental, africano oriental y asiático, y consideran que el asiático está en expansión.²⁷ Este último linaje surgió en el Pacífico²⁸ y en América del Sur.^{6,29}

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA LOS FLAVIVIRUS

Dentro de los virus pertenecientes a la familia de los flavivirus, solo existen vacunas comercialmente disponibles contra el de la fiebre amarilla, la encefalitis japonesa y la encefalitis transmitida por garrapatas. Estas vacunas son generalmente caras y se necesita su mejora en términos de seguridad, eficacia y costo de manufactura.¹⁵

La ventaja fundamental de un posible programa de vacunación Zika es que se dispone del conocimiento de enfermedades similares transmitidas por el mosquito y ocasionadas por virus de la familia flavivirus como: el dengue, el virus del Nilo Occidental, y Chikungunya. En este contexto, y considerando que el ZIKV se propaga de manera similar a otros flavivirus conocidos, se pueden utilizar sus plataformas para el desarrollo de vacunas y en ese intervalo, los investigadores pueden dedicarse a esclarecer aspectos básicos del ZIKV y sus efectos en el cuerpo humano.³⁰

Dentro de las estrategias vacunales más utilizadas para combatir las infecciones producidas por los flavivirus destacan las siguientes:

- 1) Vacunas de virus inactivados. Método desarrollado por Jonas Salk, quien creó la primera vacuna contra la poliomielitis en el año 1950.^{31,32} El concepto básico sigue vigente en la actualidad. Se obtienen los virus (patógenos), y luego se inactivan. El proceso de inactivación, por lo general, implica calor o reactivos químicos, y se debe tener cuidado de no destruir los inmunógenos de naturaleza proteica que promueven la respuesta inmune protectora. Este es el método más simple y seguro de todos los procedimientos disponibles, debido a que los virus inactivados no pueden causar infección. Se disponen de varias vacunas virales comerciales inactivadas como la influenza, rabia o poliovirus. Sin embargo, una de las principales desventajas de este método es que tiende a producir el nivel más débil de respuesta inmune y es más probable que esta pierda efectividad con el tiempo, y requiera dosis de refuerzo.^{15,33}
- 2) Vacunas de subunidades. Al identificar los genes que codifican para las proteínas antigénicas, se aísla el gen y mediante técnicas de ingeniería genética se obtienen las proteínas recombinantes capaces de inducir la respuesta inmune. Un caso particular de estas vacunas lo constituyen las vacunas de "Partículas Semejantes a Virus", que inducen la respuesta inmune similar a como lo haría el agente infeccioso completo. Esta estrategia se fundamenta en que las cápsidas virales recombinantes se logran ensamblar sin incluir el ácido nucleico. Estas vacunas ofrecen un excelente perfil de seguridad, y pueden utilizarse junto con otras vacunas de subunidades. Entre sus principales desventajas se encuentran: la baja respuesta inmunológica provocada en comparación con los virus activos atenuados, requiere la coadministración de adyuvantes y, a menudo, múltiples dosis. Como representantes de este tipo destacan las vacunas comerciales contra el Antígeno de Superficie del Virus de la Hepatitis B y la Vacuna recombinante contra la influenza.^{33,34}
- 3) Vacunas de virus atenuados. Contienen una versión de virus activos que pierden la capacidad de replicarse en células humanas y no pueden causar la enfermedad. Las vacunas contra el sarampión, las paperas y la varicela se crearon con este método. Dado que la vacuna viva atenuada es lo más parecido a una infección natural, estas provocan respuestas celulares y de anticuerpos fuertes y a menudo ofrecen inmunidad de por vida con solo una o dos dosis. A pesar de las ventajas, existen algunas desventajas; entre ellas destaca que son más inestables, más difíciles de producir y más reactógenas. Además, se debe tener en cuenta el potencial del virus para revertirse a una forma capaz de provocar la enfermedad.³⁵ En sucesivas replicaciones, un virus de ARN atenuado puede acumular mutaciones en su secuencia que le devuelvan su carácter patógeno, produciendo la enfermedad que se deseaba prevenir. Los virus de ARN poseen una frecuencia de mutaciones estimada en 0,1 a 10 mutaciones por genoma replicado. Un caso paradigmático es el de la vacuna Sabin contra la poliomielitis (OPV). La inestabilidad genética de esta vacuna dio lugar a un

nuevo grupo de virus conocidos como poliovirus circulantes derivados de la vacuna, que presentan propiedades similares a las del poliovirus salvaje, incluyendo neurovirulencia y responsables de una nueva enfermedad denominada parálisis poliomiélica asociada a la vacuna oral.³⁶ Por otra parte, no todas las personas pueden recibir de forma segura las vacunas vivas atenuadas. Aquellas personas que tengan sistemas inmunitarios debilitados o trastornos inmunológicos o que hayan recibido tratamiento de quimioterapia o tenga el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), no pueden recibir vacunas vivas.³³

- 4) Vacunas de virus recombinantes quiméricos. Se definen como virus recombinantes que pueden contener partes de dos genomas víricos estrechamente relacionados. Así, por ejemplo, un virus quimérico puede contener genes estructurales de un serotipo vírico y genes no estructurales de otro serotipo del mismo virus. Por otra parte, un virus quimérico puede contener parte del genoma de distintos miembros de la misma familia. En principio, los virus quiméricos presentan las características biológicas de ambos virus parentales. Una de las principales ventajas de este enfoque es que una sola dosis de virus proporciona el repertorio completo de los antígenos que se parecen mucho a los virus patógenos, los cuales pueden inducir una respuesta inmunitaria protectora contra múltiples virus patógenos del mismo o distintos serotipos del virus patógeno.^{15,37}
- 5) Vacunas de ADN viral desnudo. Sólo contienen los fragmentos de ADN y este instruye a las células donde es introducido para producir moléculas del antígeno necesarias para estimular el sistema inmune. Este tipo de vacuna no podría transmitir la enfermedad porque no contiene el agente biológico, sino solo copias de algunos de sus genes. Por otra parte, son relativamente fáciles y económicas de producir. Sin embargo, su desarrollo ha sido lento debido al temor de que induzca inflamación crónica, autoinmunidad o que se integre al cromosoma de la célula, entre otras manifestaciones no deseadas.¹⁵

DESARROLLO DE CANDIDATOS VACUNALES CONTRA EL ZIKA

En la actualidad alrededor de 15 compañías farmacéuticas e institutos de investigación se encuentran trabajando en el desarrollo de vacunas contra el ZIKV, según la OMS, estimulados por la creciente preocupación pública sobre este virus que está expandiéndose por el continente americano y que ha sido relacionado con el nacimiento de niños con microcefalia, cuyas consecuencias pueden ser grave daño cerebral o, incluso, la muerte.³⁸ Marie-Paule Kieny, Directora Adjunta de la OMS declaró el 12 de Febrero de 2016: “Dos vacunas potenciales están en fase de desarrollo más avanzado: una vacuna de ADN del Instituto Nacional para la Salud de Estados Unidos y un producto inactivado de la compañía biotecnológica india Bharat Biotech”.³⁰

Candidatos vacunales, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas del Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas, (NIAID), EE.UU.

- Candidato vacunal de ADN

El Instituto NIAID desarrolló una vacuna contra el Virus del Nilo Occidental varios años atrás. El Dr. Anthony Fauci, Director del NIAID, declaró que no encontraron una compañía farmacéutica interesada en su producción, pero considera que en el caso del ZIKV la historia es diferente.³⁹

El Dr. Fauci, en Bethesda, Maryland, declaró que su instituto tiene una "ventaja", con una tecnología diferente, que se utiliza para una vacuna experimental contra el Virus del Nilo Occidental (WNV).⁴⁰ Su Ensayo Clínico más reciente, el denominado VRC 303 (NCT00300417), Fase I, utilizó como producto al VRC-WNV DNA020-00-VP, el cual está compuesto por un plásmido de ADN circular que codifica para la proteína transmembrana precursora prM y la proteína E del WNV. Este plásmido tiene la particularidad que utiliza al promotor CMV/R, el cual ha dirigido el aumento de la expresión de genes transducidos asociado a una mayor inmunogenicidad, posterior a la inmunización del ADN. Una vez que el ADN se inyecta en el músculo, este tiene la información genética necesaria para que el organismo produzca pequeñas cantidades de las proteínas E y prM del WNV, las cuales se considera que formen Partículas Semejantes a Virus con estructura icosaédrica adecuada para inducir eficientemente una respuesta relevante específica de anticuerpos.^{40,41}

El candidato vacunal de ADN contra el ZIKV de NIAID es uno de los dos candidatos líderes, que en marzo de 2016 anunció la OMS. Es su candidato más avanzado y está cursando evaluaciones preclínicas, con planes de entrar en un Ensayo Clínico Fase I en el último cuatrimestre del 2016.⁴²

- Candidato vacunal de virus quimérico, similar a TV003/TV005 (virus del Dengue).

El Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de NIAID está también trabajando en la obtención de una vacuna viva altamente inmunogénica contra el ZIKV, con una estrategia vacunal similar a la utilizada para el virus del Dengue.⁴³ Mediante la tecnología del ADN recombinante desarrollaron estrategias de atenuación: deleciones en la región no traducida 3' y quimerización del gen estructural. El prototipo de candidato vacunal monovalente fue rDEN4Δ30, que codifica para todas las proteínas estructurales y no estructurales de un DENV-4 salvaje, pero se atenúa por una deleción de 30 nucleótidos en el extremo 3'UTR. Además, crearon otros candidatos vacunales quiméricos mediante la sustitución de los genes prM y E de cada serotipo en la vacuna candidata rDEN4Δ30. Un total de cinco mezclas diferentes tetravalentes de formulaciones (TV001-TV005) se han evaluado en estudios clínicos.⁴⁴

De acuerdo a lo anunciado el 28 de abril de 2016 por la red GloPID-R (*Global Research Collaboration for Infectious Disease Preparedness*), el Instituto NIAID está colaborando con el Instituto Butantan, São Paulo, Brasil, en el

desarrollo de una vacuna viva atenuada de cinco valencias contra el Dengue y el ZIKV (Zika + 4 serotipos del Dengue).⁴² Ellos proponen utilizar las mismas delecciones, en los mismos sitios, que los utilizados para desarrollar el candidato contra el virus del Dengue.^{40,43} Actualmente tienen planes de realizar una serie de estudios de Fase I para el último cuatrimestre del 2016 y primero del 2017.⁴² Esta estrategia puede ser promisoría, considerando el descubrimiento realizado por investigadores del Instituto Pasteur de París, el Centro Nacional para la Investigación Científica (CNRS) francés y el Imperial College de Londres. Barba-Spaeth y cols. (2016) seleccionaron dos anticuerpos EDE capaces de neutralizar al virus del dengue y descubrieron que uno de ellos era particularmente eficaz para neutralizar el virus del Zika, incluso de manera más eficaz que contra el dengue. Mediante estudios cristalográficos descubrieron que el sitio de fijación del anticuerpo al ZIKV es el mismo que para el dengue.⁴⁵ El Instituto NIAID también tiene otras estrategias de desarrollo de candidatos vacunales contra el ZIKV, dentro de las que sobresale un candidato del virión completo inactivado. Este producto vacunal está siendo desarrollado en colaboración con BARDA (Autoridad de Investigación y Desarrollo Biomédico de Avanzada, por sus siglas en inglés, *Biomedical Advanced Research and Development Authority*) y el DOD (Departamento de Defensa de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés, *United States Department of Defense*).⁴²

Candidatos vacunales, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil

El Instituto Butantan de São Paulo, Brasil, licenció el candidato vacunal contra el virus del Dengue desarrollado por el Instituto NIAID y actualmente lo está evaluando en un Ensayo Clínico Fase III de eficacia.^{40,43} Sin embargo, en la investigación sobre el ZIKV, su prioridad es una vacuna inactivada, pues consideran que es la estrategia más rápida para obtener una vacuna adecuada para las mujeres embarazadas. Este instituto está trabajando en el desarrollo de una vacuna inactivada por vía química y tiene establecidas las condiciones de crecimiento del virus a escala piloto bajo condiciones de Buenas Prácticas de Laboratorio. En colaboración con la Universidad de São Paulo (USP), han establecido las condiciones experimentales para medir la actividad de neutralización del virus y continúan trabajando para establecer modelos *in vivo* (ratón) para medir la inmunidad protectora inducida por la vacuna inactivada. Butantan y USP están actualmente colaborando con el Instituto Pasteur de Francia para establecer modelos de reto *in vivo* contra el ZIKV (ratón).⁴²

Butantan tiene una ventaja clave: disponen de una planta de producción a escala industrial, a diferencia de casi todos los demás institutos sin fines de lucro en el mundo que trabajan en el desarrollo de vacunas. En el 2015, el instituto brasileño produjo aproximadamente 40 millones de dosis de la vacuna contra la gripe, por lo que podrían ser capaces de suministrar suficiente vacuna contra el ZIKV para Brasil, sin necesidad de la ayuda de las grandes compañías farmacéuticas.^{40,43}

Candidatos vacunales, Bharat Biotech, India

Bharat Biotech tiene el otro candidato vacunal líder, que, de acuerdo a la OMS, es una vacuna tradicional.³⁰ Krishna Ella, portavoz de la compañía farmacéutica anunció el 3 de febrero de 2016 que tiene en desarrollo dos candidatos vacunales contra el ZIKV. El portavoz de la empresa declaró: “Creemos que tenemos una ventaja pionera en el desarrollo de ZIKAVAC y somos probablemente los primeros del mundo en registrar una patente global para candidatos de vacunas del Zika”. La farmacéutica Bharat Biotech, que inició el proyecto hace un año, trabaja de forma simultánea en una versión inactivada y en una vacuna recombinante con antígenos de superficie del virus.⁴⁶ Ambos candidatos están siendo evaluados en un modelo animal y tienen planes de entrar en un Ensayo Clínico Fase I antes de finalizar el 2016.⁴² Sin embargo, en el sitio web de la compañía (<http://www.bharatbiotech.com/rd/rd-pipeline/?lang=es>) todavía no se declaran productos Zika en fase preclínica.

Candidatos vacunales, Sanofi Pasteur, Francia

La empresa francesa Sanofi Pasteur anunció el 2 de febrero de 2016 la aprobación de un proyecto de investigación-desarrollo (I+D) enfocado a la prevención de la infección y enfermedad por el ZIKV. Esta compañía es líder en el campo de las vacunas desarrolladas para combatir los virus de la misma familia del ZIKV y tiene licencia de vacunas contra la fiebre amarilla, la encefalitis japonesa y más recientemente, contra el Dengue. Su proyecto de I+D contra el ZIKV inicialmente se fundamentó en la exploración de la plataforma tecnológica desarrollada para la obtención de la vacuna Dengvaxia®.⁴⁷ Esta vacuna es la primera desarrollada contra el virus del dengue, la cual fue registrada por Sanofi Pasteur en Brasil, México, y Filipinas a finales de 2015. Consiste en una vacuna recombinante tetravalente viva atenuada denominada CYD. Es una quimera de una cepa vacunal del virus de la fiebre amarilla, en la cual los genes estructurales prM y E fueron intercambiados con las secuencias del virus del dengue DENV-1, -2, -3 ó -4.⁴⁸

Además de explorar su propia tecnología, Sanofi también se ha abierto a la colaboración con otras instituciones en aras de explorar otras vías de obtención de un candidato vacunal con el cual empezar la evaluación clínica lo antes posible. El pasado 6 de Julio de 2016, Sanofi Pasteur anunció un Acuerdo de Cooperación en I+D con el WRAIR (Instituto de Investigaciones de Walter Reed, por sus siglas en inglés, *Walter Reed Army Institute of Research*) para el co-desarrollo de un candidato vacunal Zika. De acuerdo a los términos del acuerdo, WTAIR le transferirá su tecnología de vacuna de virus inactivados y purificados de Zika a Sanofi, abriéndose la puerta a una colaboración más amplia con el gobierno norteamericano. Por la parte de Sanofi, el acuerdo incluye la producción de material clínico,

de acuerdo a las Buenas Prácticas de Manufactura para apoyar la evaluación de Ensayos Clínicos Fase II, la optimización de procesos de recobrado para incrementar los rendimientos de producción y la caracterización del producto vacunal. Sanofi también deberá desarrollar una estrategia de investigación clínica y regulatoria.⁴⁹

Candidato vacunal de ADN, Inovio Pharmaceuticals INO, Plymouth Meeting, Pennsylvania, EE. UU & GeneOne Life Science Inc., Corea del Sur

Las compañías Inovio Pharmaceuticals INO y GeneOne Life Science Inc. han desarrollado una vacuna experimental de ADN contra el ZIKV (GLS-5700). En el desarrollo de este candidato también colaboran los grupos de trabajo del National Microbiology Laboratory, Winnipeg, Canadá, y de la Universidad de Pennsylvania, EE.UU. Este producto vacunal fue generado sintéticamente utilizando la tecnología de vacunas SynCon, propietaria de Inovio.⁴⁰ GLS-5700 contiene un plasmidio que codifica para las proteínas E y prM del ZIKV. En estudios preclínicos, este candidato vacunal indujo respuestas robustas de anticuerpos y células T en ratones y monos, demostrando su potencial para prevenir la infección por el ZIKV.⁵⁰ El pasado 20 de Junio, Inovio Pharmaceuticals INO y GeneOne Life Science Inc. recibieron la aprobación de este candidato por la FDA (Agencia para la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos, por sus siglas en inglés U S *Food and Drug Administration*) para iniciar un Ensayo Clínico Fase I (NCT02809443). Contra todos los pronósticos, este estudio ha sido el primero en recibir la aprobación de una entidad reguladora. El mismo fue diseñado para evaluar un amplio rango de dosis de GLS-5700 en 40 sujetos sanos. Su finalidad es evaluar la seguridad, tolerancia e inmunogenicidad del candidato vacunal,⁵¹ que deberá ser administrado intradérmicamente mediante el dispositivo CELLECTRA[®] para la entrega de ADN. Este sistema de entrega de ADN también es propietario de Inovio.⁵⁰

CONSIDERACIONES FINALES

El desarrollo de una vacuna contra el ZIKV enfrenta un reto significativo: que el medicamento no dañe a las mujeres embarazadas ni al feto, la población más vulnerable. Para varias compañías farmacéuticas e institutos científicos, la estrategia ha estado centrada en desarrollar una vacuna inactivada. Al no incluir el agente viral que se utilizó para crearla, este tipo de vacuna es más estable y segura que las vacunas vivas, por lo que varios expertos consideran que un candidato inactivado tiene más oportunidades de alcanzar una aprobación regulatoria.

El desarrollo de una vacuna contra el ZIKV enfrenta otra serie de desafíos. Uno de los principales es el establecimiento de un modelo animal que permita la comparación de candidatos vacunales.⁴⁰ Es también importante conocer si la inmunidad natural o inducida por la vacuna frente a otros virus relacionados –particularmente la fiebre amarilla- pudiera ofrecer una medida de "protección cruzada", lo cual pudiera confundir los esfuerzos para evaluar las vacunas Zika. Otra interrogante se deriva de conocer si la infección conduciría a una protección a largo plazo. Todavía falta información importante, no sólo sobre la investigación-vacuna específica, sino también acerca de la interacción ZIKV-huésped, la respuesta inmune al ZIKV, y la epidemiología de la infección Zika y sus complicaciones. Por lo tanto, se espera que la investigación básica y en salud pública contribuya de manera significativa al desarrollo de vacunas contra el Zika.

La mayoría de los candidatos vacunales contra el ZIKV se encuentran cursando estudios preclínicos, un estadio temprano. Al presente, estimar el tiempo que pueda tardar la aprobación regulatoria de una vacuna contra el ZIKV puede ser incierto, pero debe demorar varios años. Si con los candidatos Zika se demorasen menos de lo habitual (usualmente hasta 12 años) significaría que los resultados habrán sido relevantes y que las autoridades reguladoras también habrán contribuido a acelerar su aprobación sanitaria. Solo la unión de esfuerzos de la comunidad científica, empresarial y reguladora, encaminados a enfrentar la amenaza sanitaria por la propagación del ZIKV, podrá contribuir a evitar que nazcan bebés con microcefalia, los cuales sufren de una incapacidad congénita, y tienen malas perspectivas de vida, especialmente en regiones del mundo con atención médica deficiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Dick GW. Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1952;46(5):521-34.
2. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *The Journal of Hygiene*. 1979;83(2):213-9.
3. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(8):1232-9.
4. Enfissi A, Codrington J, Roosblad J, Kazanji M, Rousset D. Zika virus genome from the Americas. *Lancet*. 2016;387(10015):227-8.
5. OMS. Alerta Epidemiológica Síndrome neurológico, anomalías congénitas e infección por virus Zika. Implicaciones para la salud pública en las Américas. 1 de diciembre de 2015. [Consultado 16 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwi b7YrEjf3KAhVBox4KHRKNAekQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fhq%2Findex.php>

- %3Foption%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_view%26gid%3D32404%26Itemid%3D270%26lang%3Den&usg=AFQjCNHDWdgyLpsASASTI2OWqUXhLiSAA&bvm=bv.114195076,d.dmo.
6. Zanutta C, de Melo VC, Mosimann AL, Dos Santos GI, Dos Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2015;110(4):569-72.
 7. OMS. Alerta Epidemiológica, Informe sobre la situación del virus de ZIKA, microcefalia, Síndrome de Guillain-Barré. 23 de junio de 2016. [Consultado 5 de julio de 2016]. Disponible en: apps.who.int/iris/bitstream/10665/246147/1/zikasitrep-23Jun2016-spa.pdf?ua=1.
 8. OMS. Alerta Epidemiológica: Incremento de microcefalia en el nordeste de Brasil. 17 de noviembre de 2015. [Consultado 16 de febrero de 2016.]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwieirrRIP3KAhVqkIMKHT9C5oQFggdMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fhq%2Findex.php%3Foption%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_view%26Itemid%3D270%26gid%3D32286%26lang%3Des&usg=AFQjCNECCXVJ63SXcC-3BqLopnBtkk6TUA.
 9. OMS. Declaración de la OMS sobre la primera reunión del Comité de Emergencia del Reglamento Sanitario Internacional sobre el virus del Zika y el aumento de los trastornos neurológicos y las malformaciones congénitas. 1 de febrero de 2016. [Consultado 15 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://who.int/mediacentre/news/statements/2016/1st-emergency-committee-zika/es/>.
 10. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2016;65(3):59-62.
 11. Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Eyrolle-Guignot D, et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013-15: a retrospective study. *Lancet*. 2016;387(10033):2125-32.
 12. Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR. Zika Virus and Birth Defects--Reviewing the Evidence for Causality. *The New England journal of medicine*. 2016;374(20):1981-7.
 13. Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Qian X, Li Y, et al. Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth. *Cell stem cell*. 2016;18(5):587-90.
 14. OPS. Zika - Actualización Epidemiológica. 30 de junio de 2016. [Consultado 5 de julio de 2016]. Disponible en: www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=35265&lang=es.
 15. Pugachev KV, Guirakhoo F, Trent DW, Monath TP. Traditional and novel approaches to flavivirus vaccines. *International journal for parasitology*. 2003;33(5-6):567-82.
 16. Hayes EB. Zika virus outside Africa. *Emerging infectious diseases*. 2009;15(9):1347-50.
 17. Pasteur I. Zika. 2016 [Consultado 17 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://www.pasteur.fr/en/institut-pasteur/press/fact-sheets/zika>.
 18. Hennessey M, Fischer M, Staples JE. Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2016;65(3):55-8.
 19. Broutet N, Krauer F, Riesen M, Khalakdina A, Almirón M, Aldighieri S, et al. Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. *The New England journal of medicine*. 2016;374(16):1506-1509.
 20. Brasil P, Pereira JP, Jr., Raja Gabaglia C, Damasceno L, Wakimoto M, Ribeiro Nogueira RM, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro - Preliminary Report. *The New England journal of medicine*. 2016.
 21. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastere S, Roche C, Vanhomwegen J, et al. Guillain-Barre Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet*. 2016;387:1531-39.
 22. OMS. Informe sobre la situación del virus de Zika. 2016 [Consultado 22 de marzo de 2016]. Disponible en: <http://who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/4-march-2016/es/>.
 23. Lindenbach BD, Rice CM. Molecular biology of flaviviruses. *Advances in virus research*. 2003;59:23-61.
 24. Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Archives of virology*. 2007;152(4):687-96.
 25. van Hemert F, Berkhout B. Nucleotide composition of the Zika virus RNA genome and its codon usage. *Virology journal*. 2016;13(1):95.
 26. Faye O, Freire CC, Iamarino A, de Oliveira JV, Diallo M, Zanotto PM, et al. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20(th) century. *PLoS neglected tropical diseases*. 2014;8(1):e2636.
 27. Haddow AD, Schuh AJ, Yasuda CY, Kasper MR, Heang V, Huy R, et al. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. *PLoS neglected tropical diseases*. 2012;6(2):e1477.
 28. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, et al. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. *Emerging infectious diseases*. 2014;20(6):1085-6.
 29. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging infectious diseases*. 2015;21(10):1885-6.

30. OMS. Zika and potential complications. 2016 [Consultado 17 de febrero de 2016]. Disponible en: apps.who.int/iris/bitstream/10665/204371/1/zikasitrep_12Feb2016_eng.pdf?ua=1.
31. Salk J, Younger J, Ward E. Use of Color Change of Phenol Red as the indicator in titrating Poliomyelitis Virus or its Antibody in a Tissue-Culture System. *American Journal of Hygiene*. 1954;60(2):214-30.
32. Salk J, Salk D. Control of influenza and poliomyelitis with killed virus vaccines. *Science*. 1977;195(4281):834-47.
33. Rodrigues AF, Soares HR, Guerreiro MR, Alves PM, Coroadinha AS. Viral vaccines and their manufacturing cell substrates: New trends and designs in modern vaccinology. *Biotechnology journal*. 2015;10(9):1329-44.
34. Vellanki RN, Komaravelli N, Tatineni R, Mangamoori LN. Expression of hepatitis B surface antigen in *Saccharomyces cerevisiae* utilizing glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter of *Pichia pastoris*. *Biotechnology letters*. 2007;29(2):313-8.
35. Ginty A, Contreras G, Ohlbaum A. Influencia del estado inmunitario del recién nacido sobre la efectividad de la vacuna atenuada contra la poliomielitis. *Rev chil pediatr*. 1959;30(6):214-22.
36. OMS. Introducción de la vacuna inactivada contra la poliomielitis (IPV). 2014; [Consultado 11 de julio de 2016]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiqJyk0OHNAhUE2B4KHW2GAxgQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.immunize.org%2Fvis%2Fpopv-00.pdf&usg=AFQjCNHimuFzqkKv40Ib-XXaYqnZZmR6dQ&bvm=bv.126130881,d.eWE>.
37. Murrell S, Wu SC, Butler M. Review of dengue virus and the development of a vaccine. *Biotechnology advances*. 2011;29(2):239-47.
38. OMS. Participación de la OMS en la investigación y desarrollo en relación con el virus de Zika. 2016 [Consultado 16 de febrero de 2016.]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/es/>.
39. Health NIO. Zika vaccine and diagnostics: A statement from NIH's Dr Anthony Fauci. 2016 [Consultado 17 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://outbreaknewstoday.com/zika-vaccine-and-diagnostics-a-statement-from-nihs-dr-anthony-fauci-59922/>.
40. Cohen J. The race for a Zika vaccine is on. *Science*. 2016;351(6273):543-4.
41. Ledgerwood JE, Pierson TC, Hubka SA, Desai N, Rucker S, Gordon IJ, et al. A West Nile virus DNA vaccine utilizing a modified promoter induces neutralizing antibody in younger and older healthy adults in a phase I clinical trial. *The Journal of infectious diseases*. 2011;203(10):1396-404.
42. GloPID-R. Ongoing and upcoming research on the Zika virus. 28 April 2016. 2016 [Consultado 8 de julio de 2016]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjUrJLQgOTNAhUBrB4KHVHqB2IQFggvMAI&url=http%3A%2F%2Fwww.glopid-r.org%2Fwp-content%2Fuploads%2F2016%2F05%2Ffindings-of-zika-research-working-groups-on-vaccines-aetiology-and-diagnostics.pdf&usg=AFQjCNEKVN5mqX9O0jKvYm1OMSMxUwbA8Q>.
43. Dyer O. Zika vaccine could be in production by year's end, says maker. *BMJ*. 2016;352: i630.
44. Whitehead SS. Development of TV003/TV005, a single dose, highly immunogenic live attenuated dengue vaccine; what makes this vaccine different from the Sanofi-Pasteur CYD vaccine? *Expert review of vaccines*. 2015:1-9.
45. Barba-Spaeth G, Dejnirattisai W, Rouvinski A, Vaney MC, Medits I, Sharma A, et al. Structural basis of potent Zika-dengue virus antibody cross-neutralization. *Nature*. 2016. 1.
46. Biotech B. ZIKAVAC, la posible vacuna contra el zika que se está probando en animales. 2016 [Consultado 14 de febrero de 2016.]. Disponible en: http://www.abc.es/sociedad/abci-zikavac-posible-vacuna-contrazika-esta-probando-animales-201602031744_noticia.html.
47. Pasteur S. Sanofi Pasteur to leverage its strong vaccine legacy in hunt for Zika vaccine. 2016 [Consultado 18 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiYiu6i94HLAhUouoMKHch2CHIQQFgg2MAQ&url=http%3A%2F%2Fwww.sanofi.co.uk%2F1%2Fgb%2Fen%2Fdownload.jsp%3Ffile%3D6C5B49D4-580F-418A-BAF5-E17E08699657.pdf&usg=AFQjCNHsvnkmr69kqVwVlRkLWwnG1VGZpA>.
48. Fink K, Shi PY. Live attenuated vaccine: the first clinically approved dengue vaccine? *Expert review of vaccines*. 2014;13(2):185-8.
49. Pasteur S. Sanofi Pasteur Signs Research Agreement for Zika Vaccine. 2016 [Consultado 8 de julio de 2016]. Disponible en: <http://sanofipasteur.com/en/articles/Sanofi-Pasteur-Signs-Research-Agreement-for-Zika-Vaccine.aspx>.
50. Inovio. Inovio Pharmaceutical's DNA Vaccine for Zika Virus Induces Robust Immune Responses in Preclinical Study. 2016 [Consultado 11 de julio de 2016]. Disponible en: <http://ir.inovio.com/news/news-releases/news-releases-details/2016/Inovio-Pharmaceuticals-DNA-Vaccine-for-Zika-Virus-Induces-Robust-Immune-Responses-in-Preclinical-Study/default.aspx>.

51. FDA. Study of GLS-5700 in Healthy Volunteers. 2016. [Consultado 11 de julio d2 2016]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02809443?term=inovio+zika&rank=1>.