

## Análisis de inmunogenicidad y perfil de seguridad de vacunas contra el SARS-CoV-2 en ensayos clínicos de fase I/II

ALFONSO MORAGA VÉLIZ<sup>1</sup>, DIEGO ARENAS LEYTON<sup>2</sup>,  
ROCÍO MANTEROLA MAULÉN<sup>3</sup>, ALEJANDRO ÁLVAREZ MILANÉS<sup>3</sup>

### Immunogenicity and safety profile analysis of SARS-CoV-2 vaccines in phase I/II clinical trials

#### Abstract

*The development of an effective vaccine against SARS-CoV-2 has turned into a global priority in order to stop the advance of this ongoing COVID-19 pandemic. To date there are 25 candidate vaccines currently in a clinical trial stage, 3 of which have been subjected to phase I/II preliminary reports (ChAdOx1 nCoV-19, BNT162b1 and mRNA-1273). These vaccines have demonstrated to elicit robust cellular and humoral immune responses when compared to convalescent patients serum samples and have shown an acceptable safety profile with no reported severe side effects. Here we discuss the reported evidence regarding these vaccines.*

**Keywords:** Coronavirus disease 2019, vaccine, immune response, immunogenicity, safety profile.

#### Introducción

El desarrollo de una vacuna efectiva contra el SARS-CoV-2, que permita frenar el avance de la pandemia de COVID-19, se ha convertido sin duda en una prioridad global<sup>1, 2</sup>. La capacidad de los virus para propagarse y generar una pandemia se ve disminuida mediante el establecimiento de inmunidad comunitaria o “de rebaño”, y una pregunta clave es si la protección contra el SARS-CoV-2 se producirá por la implementación de una vacuna global eficaz o por olas repetidas de infección durante los próximos años hasta que un 60% a 70% de la población mundial desarrolle inmunidad<sup>3</sup>. En relación a las epidemias previas por otros coronavirus, no existen vacunas de referencia aprobadas para SARS-CoV-1 o MERS-CoV, lo que se debe principalmente a razones económicas<sup>4</sup>, generando una gran limitación en nuestras opciones para prevenir o tratar las infecciones por coronavirus<sup>5</sup>. Una vacuna contra el virus SARS-CoV-2 sería de vital importancia en

**1. Inmunólogo. Servicio de Medicina, Hospital Regional de Talca, Chile. Docente, Facultad de Medicina Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.**

**2. Interno de Medicina. Facultad de Medicina, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.**

**3. Alumno(a) de Medicina. Facultad de Medicina, Universidad Católica del Maule, Talca, Chile.**

#### Correspondencia

Dr. Alfonso Moraga Véliz

E-mail: a.moragatalca@gmail.com

prevenir la infección, enfermedad y muerte por COVID-19 en la población global, priorizando la inmunización en población de alto riesgo, como trabajadores de la salud y adultos mayores<sup>6</sup>. A la fecha existen a nivel mundial 25 vacunas candidatas que se encuentran en etapa de ensayo clínico según la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>7, 5</sup> de las cuales se encuentran en fase III. Sólo 3 de las 5 vacunas en fase III han sido objeto de reportes preliminares de fase I/II (ChAdOx1 nCoV-19, BNT162b1 y mRNA-1273), las cuales han demostrado generar una respuesta inmune tanto humoral como celular potente comparada con los hallazgos en el suero de pacientes convalescentes, además de un perfil de seguridad aceptable, sin efectos adversos severos reportados por los investigadores<sup>6, 8, 9</sup>, y serán el objetivo de esta revisión.

#### Vacunas candidatas

La vacuna ChAdOx1 nCoV-19 (en adelante ChA-

dOx1), desarrollada por la Universidad de Oxford en conjunto con el laboratorio británico-sueco AstraZeneca®, es una de las 5 vacunas candidatas (ver Tabla 1) que iniciarán durante las próximas semanas ensayos clínicos de fase III, y consiste principalmente en un vector adenoviral simio con replicación deficiente denominado ChAdOx1, que contiene la estructura completa de la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2, spike6. En estudios preclínicos realizados en macacos rhesus, la administración de una dosis única de la vacuna ChAdOx1 logró inducir respuestas inmunes tanto humorales como celulares, junto con conferir protección contra infecciones respiratorias del tracto inferior luego de ser expuestos a altas dosis del virus SARS-CoV-2<sup>10</sup>.

Otra de las vacunas que ha mostrado resultados prometedores es la BNT162b1, desarrollada por Pfizer® en alianza con BioNTech® y Fosun Pharma®, una vacuna a base mRNA con modificacio-

nes nucleosídicas formulada en una nanopartícula lipídica, que codifica el dominio de unión al receptor (RBD por sus siglas en inglés) de la glicoproteína spike del SARS-CoV-28.

La tercera vacuna candidata incluida en esta revisión corresponde a la mRNA-1273, desarrollada por el laboratorio Moderna® en conjunto con el Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas de Estados Unidos (NIAID), la cual codifica una glicoproteína spike estructuralmente estabilizada (S-2P) y fue formulada mediante la misma plataforma que la vacuna BNT162b19. La tecnología de mRNA provee flexibilidad en el diseño de vacunas y en la expresión de antígenos víricos que simulan la estructura y expresión antigénica de una infección natural, por lo que son consideradas seguras y bien toleradas en ensayos clínicos, además de permitir la producción de manera expedita de una gran cantidad de dosis contra un nuevo patógeno<sup>8</sup>.

Desarrollador de la vacuna	Nombre de la vacuna	Tipo de vacuna candidata	Número de dosis	Ensayo clínico de fase III
Universidad de Oxford/AstraZeneca	ChAdOx1 nCoV-19	ChAdOx1-S (vector adenoviral no replicante)	1 o 2	ISRCTN89951424
BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer	BNT162b1	mRNA encapsulado en nanopartículas lipídicas	1 o 2	NCT04368728
Moderna/NIAID	mRNA-1273	mRNA encapsulado en nanopartículas lipídicas	2	NCT04470427
Sinovac	CoronaVac	Virus inactivado	2	NCT04456595
Sinopharm/Instituto de Productos Biológicos de Beijing	BBIBP-CorV	Virus inactivado	2	ChiCTR2000034780

Tabla 1. Vacunas candidatas contra el SARS-CoV-2 en fase III de ensayos clínicos. Adaptada de la OMS<sup>7</sup>.

## Inmunogenicidad

Con respecto a la generación de inmunidad humoral, la vacuna ChAdOx1 generó un peak de anticuerpos específicos en contra de la proteína spike del SARS-CoV-2 en el día 28 desde su administración con una media de 157 UI/mL en el título de anticuerpos, el que se mantuvo elevado hasta el día 56 (media de 119 UI/mL) en aquellos individuos que solo

recibieron una dosis de la vacuna y se incrementó a una media de 639 UI/mL al día 56 en aquellos participantes que recibieron la dosis de refuerzo el día 286. Estos resultados son consistentes con observaciones previas en relación a estudios preclínicos de la vacuna ChAdOx1-MERS, que logró inducir potentes respuestas inmunes tanto humorales como celulares en ratas y camellos<sup>11,12</sup>.

Referente a la vacuna BNT162b1 los títulos

de anticuerpos de tipo IgG de unión al RBD medidos al día 21 desde la primera dosis alcanzaron una concentración media geométrica (GMC) de 534-1778 UI/mL, y tras 7 días desde la segunda dosis (tanto para la formulación con dosis de 10 µg y de 30 µg) la GMC se incrementó hasta 4813-27872 UI/mL. En el caso de los individuos que recibieron la dosis de 100 µg de esta vacuna, no sufrieron incrementos en la concentración de sus títulos de anticuerpos más allá del día 21 desde la primera dosis (5880-16166 UI/mL). Cabe destacar que como método de comparación del nivel de anticuerpos contra el RBD se utilizaron 38 muestras de pacientes convalecientes con infección por SARS-CoV-2 confirmada por PCR, recolectadas al menos 14 días luego del resultado positivo del examen, que mostraron una concentración media de 602 UI/mL<sup>8</sup>.

En relación a la vacuna mRNA-1273 se observó de igual manera una relación dosis dependiente en la magnitud de la respuesta de anticuerpos específicos en contra de la proteína S-2P, observándose luego de administración de la primera dosis de la vacuna (en ambas formulaciones de 100 µg y 250 µg) títulos de anticuerpos similares a los encontrados en el suero de los pacientes convalecientes, utilizados como método de comparación de la inmunidad humoral en este estudio. En el grupo que recibió la dosis de refuerzo de la vacuna mRNA-1273 en formulación de 25 µg, se observaron al día 57 desde la primera inmunización, títulos medios geométricos (GMT) de anticuerpos medidos por ELISA de 299751, 782719 en el grupo de 100 µg y 1536669 en el grupo de 250 µg, cuyos valores excedían ampliamente lo objetivado en el suero de los pacientes convalecientes (GMT = 142140)<sup>9</sup>. Esta nueva plataforma de vacunas a base de mRNA envuelto en nanopartículas lipídicas provee un mecanismo efectivo de endocitosis, protegiendo al material genético de la degradación enzimática intracelular y gatillando respuestas inmunes potentes tanto humorales

como de células T citotóxicas, además constituye una vía expedita para el desarrollo masivo de vacunas en el corto plazo que permitan el control de patógenos emergentes<sup>13,14</sup>.

En relación a la capacidad neutralizante de los anticuerpos generados por las diversas vacunas estudiadas, observamos que en el caso de la vacuna ChAdOx1, este parámetro fue evaluado mediante la prueba de neutralización por reducción de placas (PRNT50)<sup>6</sup>, que determina a qué grado es posible realizar una dilución del suero de los pacientes y aun así observar una reducción en la formación de placas en un 50%, neutralizando así la infectividad y proliferación viral<sup>15</sup>. Mediante esta prueba se observó que un 100% de los participantes lograron títulos neutralizantes de anticuerpos, con una media de 218 al día 28 desde la primera inmunización, lo que fue corroborado por ensayos adicionales realizados por los investigadores<sup>6</sup>.

Para la vacuna BNT162b1 en todas sus dosis se observó un incremento leve en los GMT de anticuerpos neutralizantes al día 21 desde la primera dosis, en cambio en aquellos participantes que recibieron una segunda dosis de ambas formulaciones tanto de 10 µg y 30 µg, se observó al día 7 luego de la segunda vacuna un importante incremento en los GMT de estos anticuerpos, alcanzando valores entre 168-267, comparado con los 94 hallados en el suero de pacientes convalecientes<sup>8</sup>.

En el caso de la vacuna mRNA-1273 se detectó al día 43, mediante la prueba PRNT80, actividad neutralizante capaz de reducir en un 80% o más la infectividad del virus SARS-CoV-2 en el 100% de los participantes, con respuestas medias geométricas de PRNT80 de 339.7 en el grupo de 25 µg y de 654.3 en el grupo de 100 µg, siendo generalmente superiores a las respuestas promedio detectadas en el suero de los individuos convalecientes en este ensayo<sup>9</sup>.

Tanto para la vacuna ChAdOx1 como para la mRNA-1273, se evaluó la generación de una

respuesta inmune de tipo celular en base a la producción de células T citotóxicas específicas en contra del SARS-CoV-26,9. Esta respuesta inmune mediada por linfocitos T es esencial en la inmunidad adaptativa frente a las infecciones virales16, proporcionando información importante para comprender la antigenicidad y la inmunogenicidad del SARS-CoV-217,18.

La evidencia actual sugiere que no todos los pacientes desarrollan respuestas inmunitarias humorales protectoras, y que los pacientes asintomáticos o los individuos con enfermedad leve suelen desarrollar respuestas robustas de células T19,20. Generalmente las personas infectadas producen una respuesta conjunta de anticuerpos y células T de magnitud similar, la que se ve potenciada en enfermedades más prolongadas y severas. Sin embargo, en la infección por SARS-CoV-2 también se ha observado que las respuestas de células T y células B pueden darse de forma desacoplada, ya sea porque una infección leve generó inmunidad de células T sin la presencia de anticuerpos detectables o porque la respuesta de anticuerpos fue transitoria y disminuyó de forma precoz, mientras la respuesta de células T de memoria seguía siendo robusta. De esto se desprende, que algunas personas que carecían de una respuesta humoral mostraban una inmunidad potente y específica de células T20,21.

Se sabe que las vacunas vectorizadas por adenovirus inducen una fuerte inmunidad celular. La vacuna ChAdOx1, genera marcados aumentos en las respuestas de células T efectoras específicas contra la proteína spike del SARS-CoV-2 desde el día 7, alcanzando su punto máximo en el día 14 (mediana de 856 células formadoras de spots por millón de células mononucleares de sangre periférica, medidas a través del ensayo ELISpot), y se mantuvieron hasta el día 56, como es de esperar con vectores adenovirales. Sin embargo, no se observó un aumento en las respuestas celular-

res después de la segunda dosis de ChAdOx1, lo cual concuerda con hallazgos previos de vacunas que utilizaban vectores virales administradas como parte de un régimen homólogo de refuerzo6.

Referente a la vacuna mRNA-1273, la respuesta de células T contra la proteína spike se evaluó mediante un ensayo de tinción de citoquinas intracelulares, realizado en muestras recolectadas en los días 1, 29 y 43. Los resultados se analizaron solo para las muestras de 25 µg y 100 µg. Estas dosis, generaron respuestas de células T CD4+ que al ser estimuladas por grupos de péptidos específicos de la proteína spike, se inclinan principalmente hacia la expresión de citoquinas Th1 (TNF-α > IL-2 > IFN-γ), con expresión mínima de citoquinas Th2 (IL-4 e IL-13). Tras la segunda dosis del grupo de 100 µg, la respuesta de células T CD8+ específicas contra la proteína S-2P del SARS-CoV-2 se detectó en bajos niveles9.

## Perfil de seguridad

La vacuna ChAdOx1 mostró un perfil de seguridad aceptable y un aumento en la respuesta de anticuerpos con la dosis de refuerzo (4). Las reacciones locales y sistémicas más comunes fueron dolor en el sitio de inyección, sensación febril, escalofríos, mialgias, cefalea y malestar general (p<0,05) y muchas se redujeron con el uso de paracetamol profiláctico, no registrándose eventos adversos graves6,12. Estos hallazgos preliminares muestran que la vacuna ChAdOx1 administrada como dosis única es segura y tolerada. La mayoría de los eventos adversos informados fueron de gravedad leve o moderada, y todos fueron autolimitados6.

La vacuna mRNA-1273, que codifica la proteína de prefusión estabilizada del SARS-CoV-2, logró inducir respuestas inmunitarias neutralizantes en todos los participantes22. La aparición de eventos adversos ocurrió en más

de la mitad de los participantes, incluyendo fatiga, escalofríos, cefalea, mialgia y dolor en el sitio de inyección<sup>9</sup>.

Los eventos adversos locales, en su mayoría, fueron leves o moderados, teniendo una mayor frecuencia de aparición, el dolor en el sitio de inyección. Después de la primera vacunación, el 33% del grupo de pacientes que recibieron la dosis de 25 µg, así como el 67% del grupo de 100 µg y un 53% del grupo de 250 µg, informaron eventos adversos sistémicos, siendo todos de gravedad leve o moderada. Los eventos secundarios sistémicos fueron más comunes después de la segunda dosis y un 21% de ellos informaron uno o más eventos graves. No se identificaron problemas de seguridad que limitaran el ensayo. Estos efectos adversos son muy comunes, y se han reportado con frecuencia también en otras inmunizaciones como es el caso de la influenza, una vacuna a base de un virus inactivado, mundialmente utilizada<sup>23</sup>. Futuras investigaciones en animales y el análisis continuo de células T obtenidas de muestras clínicas continuarán definiendo el perfil de seguridad de la vacuna mRNA-12739.

Respecto a la vacuna BNT162b1, sus datos de seguridad mostraron que, tras la inyección intramuscular, solo se observaron reacciones locales y eventos sistémicos de leves a moderados, siendo la gravedad dependiente de la dosis<sup>24</sup>. Los eventos adversos fueron registrados durante los siete primeros días posteriores a la administración de la primera y segunda dosis. El dolor en el sitio de inyección fue la reacción local más frecuente, notificada después de la primera dosis en un 58,3% del grupo de 10 µg; y en un 100% de los grupos de 30 µg y 100 µg. Después de la segunda dosis, el 83,3% de los que recibieron la dosis de 10 µg y el 100% de los receptores de la dosis de 30 µg, notificaron este mismo síntoma. Todas las reacciones locales fueron de gravedad leve o moderada<sup>8</sup>. El buen perfil de seguridad de esta vacuna es consistente con lo hallado en el análisis

de una vacuna contra la rabia desarrollada también a partir de tecnología de mRNA<sup>25</sup>. Los eventos sistémicos se incrementaron con una relación dosis dependiente y se informaron en un mayor número de pacientes después de la segunda dosis de 10 µg y 30 µg. Los eventos notificados más comunes en los 7 días posteriores a cada dosis fueron fatiga leve/moderada y cefalea. Además, se informaron escalofríos, fiebre ( $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ ), mialgias y artralgia en algunos de los participantes. La mayoría de las reacciones locales y sistémicas, alcanzaron su punto máximo el segundo día posterior a la vacunación, resolviéndose al séptimo día<sup>8</sup>.

## Conclusiones

El COVID-19, ha generado sin duda un complejo escenario a nivel mundial tanto en aspectos sanitarios, sociales y económicos. Durante los últimos meses se han concentrado múltiples esfuerzos de sociedades científicas para contar con una vacuna eficaz en el corto plazo. El desarrollo de vacunas generalmente se mide en décadas, por lo que tener acceso a una vacuna aprobada disponible para distribución a gran escala a fines de 2020 o durante 2021 sería un hecho sin precedentes. Sin embargo, el avance científico actual y la presencia de nuevas plataformas biotecnológicas, pudiesen facilitar la producción de una vacuna en tiempo récord.

Las vacunas candidatas evaluadas en ensayos clínicos de fase I/II demostraron ser eficaces y seguras, y si esta tendencia se mantiene en los estudios de fase III, se requerirán inversiones importantes y bien dirigidas, tanto para su producción como para la logística a nivel global, necesaria para inmunizar a la población objetivo. Existen además diversas otras vacunas en desarrollo que se encuentran en fase de ensayo clínico y preclínico con resultados prometedores, que no fueron consideradas en esta revisión, pero pudiesen significar

una alternativa terapéutica en un futuro próximo. Nuestro conocimiento actual acerca de los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la infección por el virus SARS-CoV-2 es limitado, y se requieren futuras investigaciones que nos permitan desarrollar medidas terapéuticas efectivas para frenar el avance de la pandemia.

## Referencias

1. Lee N, McGeer A. The starting line for COVID-19 vaccine development. *The Lancet* 2020;395:1815–6. doi:10.1016/s0140-6736(20)31239-3.
2. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing COVID-19 Vaccines at Pandemic Speed. *New England Journal of Medicine* 2020;382:1969–73. doi:10.1056/nejmp2005630.
3. Graham BS. Rapid COVID-19 vaccine development. *Science* 2020;368:945–6. doi:10.1126/science.abb8923.
4. Caddy S. Developing a vaccine for COVID-19. *Bmj* 2020:m1790. doi:10.1136/bmj.m1790.
5. Wilde AHD, Snijder EJ, Kikkert M, Hemert MJV. Host Factors in Coronavirus Replication. Roles of Host Gene and Non-Coding RNA Expression in Virus Infection *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2017;1–42. doi:10.1007/82\_2017\_25.
6. Folegatti, P., Ewer, K., Aley, P., Angus, B., Becker, S., Belij-Rammerstorfer, S., et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *The Lancet* 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)31604-4.
7. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-COVID-19-candidate-vaccines> (accessed July 29, 2020).
8. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart SP, et al. Phase 1/2 Study to Describe the Safety and Immunogenicity of a COVID-19 RNA Vaccine Candidate (BNT162b1) in Adults 18 to 55 Years of Age: Interim Report 2020. doi:10.1101/2020.06.30.20142570.
9. Jackson LA, Anderson EJ, Rouphael NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report. *New England Journal of Medicine* 2020. doi:10.1056/nejmoa2022483.
10. Doremalen NV, Lambe T, Spencer A, Belij-Rammerstorfer S, Purushotham JN, Port JR, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccination prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques 2020. doi:10.1101/2020.05.13.093195.
11. Alharbi NK, Qasim I, Almasoud A, Aljami HA, Alenazi MW, Alhafufi A, et al. Humoral Immunogenicity and Efficacy of a Single Dose of ChAdOx1 MERS Vaccine Candidate in Dromedary Camels. *Scientific Reports* 2019;9. doi:10.1038/s41598-019-52730-4.
12. Alharbi NK, Padron-Regalado E, Thompson CP, Kupke A, Wells D, Sloan MA, et al. ChAdOx1 and MVA based vaccine candidates against MERS-CoV elicit neutralising antibodies and cellular immune responses in mice. *Vaccine* 2017;35:3780–8. doi:10.1016/j.vaccine.2017.05.032.
13. Reichmuth AM, Oberli MA, Jaklenec A, Langer R, Blankschtein D. mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles. *Therapeutic Delivery* 2016;7:319–34. doi:10.4155/tde-2016-0006.
14. Maruggi G, Zhang C, Li J, Ulmer JB, Yu D. mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. *Molecular Therapy* 2019;27:757–72. doi:10.1016/j.ymthe.2019.01.020.
15. Timiryasova TM, Bonaparte MI, Luo P, Zedar R, Hu BT, Hildreth SW. Optimization and Validation of a Plaque Reduction Neutralization Test for the Detection of Neutralizing Antibodies to Four Serotypes of Dengue Virus Used in Support of Dengue Vaccine De-

- velopment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2013;88:962–70. doi:10.4269/ajtmh.12-0461.
16. Pastian-Soto G. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *International Journal of Odontostomatology* 2020;14:331–7. doi:10.4067/s0718-381x2020000300331.
17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell* 2020;181. doi:10.1016/j.cell.2020.05.015.
18. He Y, Zhu Q, Liu S, Zhou Y, Yang B, Li J, et al. Identification of a critical neutralization determinant of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus: importance for designing SARS vaccines. *Virology* 2005;334:74–82. doi:10.1016/j.virol.2005.01.034.
19. Dagotto G, Yu J, Barouch DH. Approaches and Challenges in SARS-CoV-2 Vaccine Development. *Cell Host & Microbe* 2020. doi:10.1016/j.chom.2020.08.002.
20. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin J-B, Olsson A, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell* 2020. doi:10.1016/j.cell.2020.08.017.
21. Altmann DM, Boyton RJ. SARS-CoV-2 T cell immunity: Specificity, function, durability, and role in protection. *Science Immunology* 2020;5. doi:10.1126/sciimmunol.abd6160.
22. Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, et al. Evaluation of the mRNA-1273 Vaccine against SARS-CoV-2 in Nonhuman Primates. *New England Journal of Medicine* 2020. doi:10.1056/NEJMoa2024671.
23. Trombetta CM, Giancchetti E, Montomoli E. Influenza vaccines: Evaluation of the safety profile. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 2018;14:657–70. doi:10.1080/21645515.2017.1423153.
24. Geest BD, Ye T, Zhong Z, García-Sastre A, Schotsaert M. Current status of COVID-19 (pre)clinical vaccine development. *Angewandte Chemie International Edition* 2020. doi:10.1002/anie.202008319.
25. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, Mehr KT, Backert L, Finak G, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *The Lancet* 2017;390:1511–20. doi:10.1016/s0140-6736(17)31665-3.