

REVISIÓN

Biología aplicada al diagnóstico y tratamiento de la COVID-19

Biotechnology applied to the diagnosis and treatment of COVID 19

Carlucci, Adriana Mónica¹⁻²; Cabarcos Restovich, Delfina³; Fabro, Juan Pedro³; Ficco, Martina³; Flesia, Belén³; Ingolotti, Sol Pierina³; Negro, Agustina³; Bustos, Florencia³; Stabile, Gina Belén³; Sterin Prync, Aída Edith^{*4}

¹Departamento Farmacia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Departamento Farmacia, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁴Departamento Bioquímica Aplicada, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Sterin Prync, Aída Edith. Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Potosí 4234 (C1199ACL). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar

Resumen Introducción: el virus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), que produce una patología llamada COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*), presenta cuadros diversos, desde los completamente asintomáticos hasta neumonías fatales. Debido, además, a su alta tasa de transmisión ha provocado una pandemia de consecuencias históricas. Objetivo: analizar los aportes derivados de la Biología que resultaron en productos terapéuticos, diversas estrategias/técnicas disponibles actualmente para el diagnóstico y vacunas profilácticas destinadas a esta patología. Materiales y Métodos: se realizó una búsqueda en MEDLINE/Pubmed y otros buscadores, usando como palabras clave: COVID 19, SARS-CoV-2, coronavirus, *vaccines*, *biopharmaceuticals*, *biotherapies*, microbiota, y *biomarkers*. Resultados: en el trabajo se presentan y describen el desarrollo de tests diagnósticos, biofármacos, bioterapias con células madre distintas tecnologías y plataformas vacunales para COVID 19. Conclusiones: La biología bioquímico-farmacéutica tiene una activa e importante participación en la Covid-19, a través de desarrollos que pueden prevenir, diagnosticar, tratar síntomas y disminuir la mortalidad de los pacientes.

Palabras clave: COVID 19, SARS-CoV-2, coronavirus, vacunas, biofármacos, bioterapias, microbiota, biomarcadores.

Abstract Introduction: The SARS-CoV-2 virus (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), which produces a pathology called COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*), can cause from completely asymptomatic cases to fatal pneumonia. Also, due to its high rate of transmission, it has caused a pandemic with historic consequences. Objective: To analyze the contributions derived from Biotechnology that have resulted in various therapeutic products and strategies/techniques available today for diagnosis and prophylactic vaccines for this pathology. Materials and Methods: A search was made in MEDLINE/PubMed and other search engines, using as keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, coronavirus, vaccines, biopharmaceuticals, biotherapies, microbiota, and biomarkers. Results: The work presents and describes the development of diagnostic tests, biopharmaceuticals, stem cell biotherapies, and different vaccine technologies/platforms for COVID-19. Conclusions: Biochemical-pharmaceutical biotechnology has an active and important participation in COVID-19, through developments that can prevent, diagnose, and treat symptoms and reduce patient mortality.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, coronavirus, vaccines, biopharmaceuticals, biotherapies, microbiota, biomarkers.

Introducción

El virus SARS-CoV-2 [*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*] produce una patología llamada COVID-19 [*Coronavirus Disease 2019*] cuyo espectro de presentación va desde pacientes completamente asintomáticos hasta otros con neumonías severas o fatales, lo que ha resultado en una pandemia con más de 5 millones¹ de fallecidos, a nivel mundial, hasta el momento.

El objetivo de este trabajo es analizar las distintas estrategias y técnicas disponibles para el diagnóstico, tratamiento e inmunización de esta patología que surgen de los aportes hechos por la Biotecnología.

Morfología, replicación y patogénesis del SARS-CoV-2

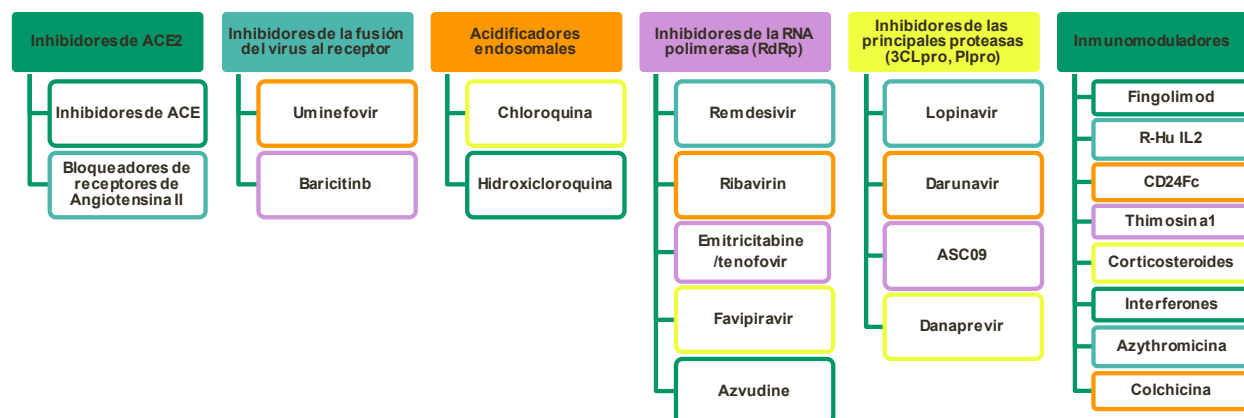
El SARS-CoV-2 tiene una similitud con los genomas del SARS-CoV, MERS-CoV y coronavirus de murciélago RaTG13 de aproximadamente 80 %, 50 % y 96 %, respectivamente.² El análisis con microscopía electrónica reveló su morfología

específica con un tamaño de partículas entre 60 y 140 nm. La estructura del virión consta de una nucleocápside, en la que se encuentra el genoma viral, un ARN monocatenario que codifica 27 proteínas y una envoltura externa³ con cuatro proteínas estructurales: la glicoproteína [S], la de envoltura pequeña [E], la de la matriz [M] y la de la nucleocápside [N]. En el SARS-CoV-2, el gen S posee <75 % de similitud de secuencia de nucleótidos, comparado con todos los coronavirus descriptos anteriormente. Las otras tres proteínas estructurales están más conservadas².

El ciclo de infección se inicia cuando el virus se interna en la célula huésped a través de la fusión de la proteína viral S y la enzima convertidora de angiotensina 2 [ACE2 por sus siglas en inglés] del huésped.^{4,2} Luego, en el citoplasma, desencadena su ARN, guía para la síntesis proteica y consecuente formación de viriones liberados en vesículas que infectan otras células.^{5,3,6}

Tabla I. Características de los principales métodos diagnósticos.

Prueba	Tipo de muestra	Componente biológico detectado	Metodología	Sensibilidad			Especificidad	Tiempo para resultados	Características	
Amplificación cuantitativa de material genético	Tracto respiratorio superior e inferior	Material genético	RT-PCR	> 95%			> 96%	4-6 h	No presenta reacción cruzada con virus respiratorios comunes Bajo LoD	
Detección de serología de IgG o IgM	Plasma, suero o sangre completa	Anticuerpos	Quimio luminiscencia	IgG	Día 8-14 66.5% (57.9 a 74.2)	Día 15-21 88.2% (83.5 a 91.8)	Día 22-35 80.3% (72.4 a 86.4)	IgG: 99.1% (98.3% a 99.6%)	2-8 h	Negativo en los primeros días de la enfermedad
			ELISA	IgM	58.4% (45.5 a 70.3)	75.4% (64.3 to 83.8)	68.1% (55.0 a 78.9)	IgM: 98.7% (97.4% a 99.3%)		
			Inmunocromatografía	IgG/IgM	72.2% (63.5 a 79.5)	91.4% (87.0 a 94.4)	96.0% (90.6 a 98.3)	IgG/IgM: 98.7% (97.2% a 99.4%)		
NAAT (nucleica acid amplification test) en el punto de atención	Nasofaríngea, orofaríngea, lavado bronqueo alveolar	Material genético	Diagnóstico molecular rápido (Isotérmicas o LAMP)	95.2 [95% IC: 86.7-98.3] [68% a 100%]			98.9 [IC 95%: 97.3 a 99.5] [92% a 100%]	15-30 min	Resultados rápidos y precisos	
Detección de antígeno en el punto de atención	Nasofaríngea, orofaríngea, lavado bronqueoalveolar	Antígeno	Inmunoensayo de flujo lateral	56.2 % [95% IC: 29.5-79.8] [0% a 94%]			99.5 [IC 95%: 98.1-99.9] [90% a 100%]	< 1 h	Resultados rápidos S muy variada ^{43,44,45}	

Figura 1. Fármacos tradicionales aprobados para otras patologías y testeados para COVID-19.

Ciclo de transmisión del SARS-CoV y SARS-CoV-2

El origen del virus parece ser zoonótico; se propone que proviene del murciélago y podría haber tenido un hospedero intermediario que llevó a su introducción en la población humana. La persona infectada lo transmite por el aire a través de la aerosolización de la saliva, que es inhalada por otra persona, o a través de las membranas mucosas⁷; también habría evidencia de transmisión por vía fecal-oral⁸. El uso de los elementos de protección personal adecuados^{9,10} en el ámbito sanitario, evita el contacto con la aerosolización de alta carga viral.

Respuesta inmunológica del huésped

La ACE2, receptora de la proteína S, se expresa en muchas células del organismo, como las epiteliales de los alvéolos pulmonares, donde se encuentran las células dendríticas responsables de la presentación antigénica.¹¹ Durante la infección del SARS-CoV 2, se genera la producción de IgG e IgE mayoritariamente, así como el incremento de la expresión de citoquinas IP-10 y MP1 y la disminución de citoquinas antivirales como INF- α , β , γ , TNF- α y IL-6.¹²

La severidad de la COVID-19 se debe a la reacción inmunológica del huésped, en relación directa con la tormenta de citoquinas proinflamatorias promovida; esto causa el síndrome de *distress* respiratorio agudo, que puede provocar disfunción orgánica y muerte.¹³ Se ha observado también que su patogenicidad se debe a la capacidad de evadir la respuesta en la inmunidad innata del huésped mediante la inhibición de la inducción de interferones (IFN) y de su señalización.¹⁴⁻¹⁷

Materiales y métodos

Se realizó una revisión exhaustiva de la literatura dedicada a productos biofarmacéuticos, bioterapias y biomarcadores, aprobados o en instancias clínicas, destinados a la COVID 19. Las palabras clave fueron: COVID 19, SARS-CoV-2, coronavirus, *vaccines*, *biopharmaceuticals*, *biotherapies*, *microbiota*, y *biomarkers*; en las bases de datos *MEDLINE/Pubmed*, *Scielo* (ScientificElectronic Library Online), *Lilacs*

BVS y *Google Scholar*.

Solo se incluyeron artículos en idioma inglés o español publicados entre 2019-2021 y se excluyeron los que trataban sobre fármacos convencionales no aprobados o no recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) o el Centro de Control de Enfermedades y prevención de USA (CDC por sus siglas en inglés) para COVID 19. Luego, se describieron los hallazgos de los artículos seleccionados de forma cualitativa.

Test y biomarcadores diagnósticos

Los parámetros para considerar durante el diseño de la prueba son: detección directa o indirecta, tiempo de respuesta, factibilidad de preparación por lotes, infraestructura necesaria para realizar la prueba, especificidad, sensibilidad y reproducibilidad.¹⁸ La CDC (como otras instituciones sanitarias) fue cambiando los criterios de prueba a implementar, acorde con la evolución de las prioridades sanitarias.¹⁹

El desafío de aumentar la capacidad de diagnóstico, en el que la biotecnología hizo sus aportes utilizando tecnologías novedosas para desarrollar ensayos rápidos, simples, de bajo costo y portátiles, fue abordado interdisciplinariamente.^{20,21}

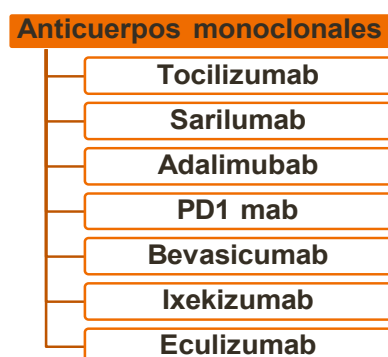
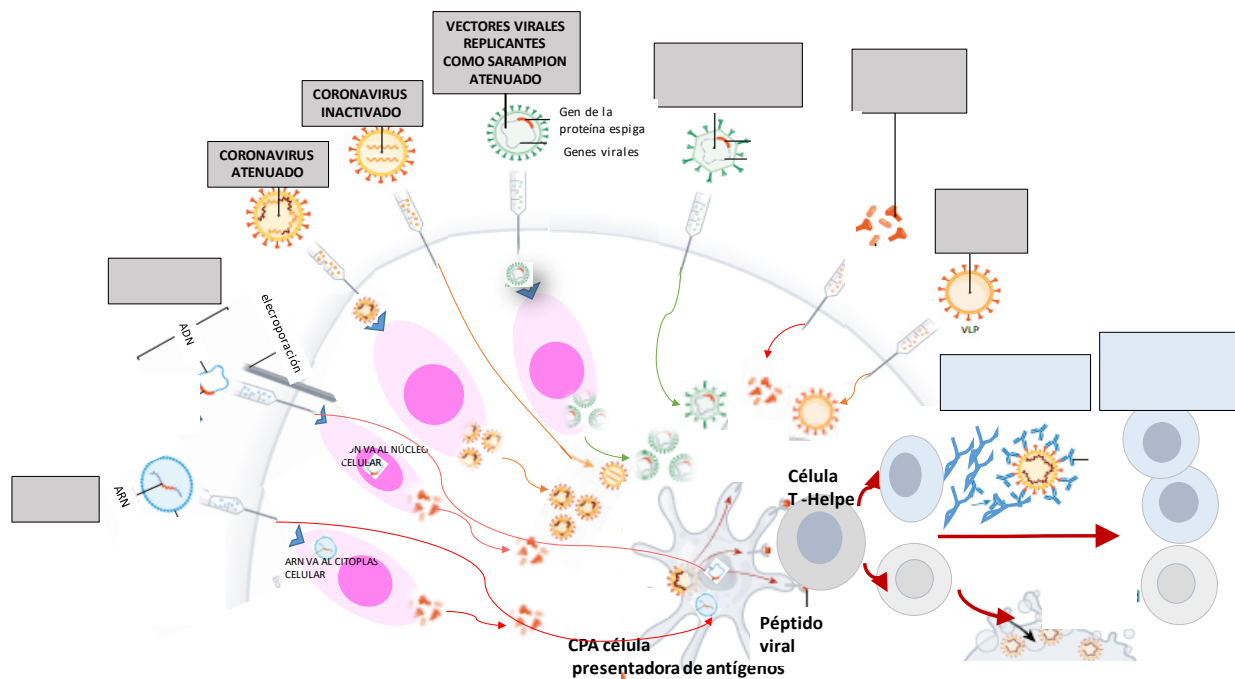
Figura 2. Biofármacos inmunomoduladores aprobados para otras patologías y testeados para COVID-19.

Figura 3. Mecanismo de acción de las diferentes plataformas vacunales para COVID-19.⁷⁹

El método de referencia para la detección directa de material viral, y el elegido para el diagnóstico de infección, es la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR por sus siglas en inglés) debido a su alta especificidad y sensibilidad analítica. Sin embargo, debido a que esta técnica requiere extracción del material genético y equipos de alta complejidad, han surgido alternativas más económicas y versátiles, a costa de un menor desempeño analítico²¹. De esta manera, los métodos en punto de atención (*point of care*, POC en inglés) acercan soluciones rápidas y precisas para evitar los contactos estrechos y acortar los tiempos de hospitalización.²² A continuación, se describen las principales características de estos métodos y luego se resumen en la tabla I.

Otros marcadores no específicos

Es interesante destacar que, si bien se intentó utilizar biomarcadores diagnósticos como la albúmina, Proteína C reactiva o LDH (lactato deshidrogenasa), alterados en la mayoría de los pacientes, estos no son específicos ni permiten predecir el curso de la enfermedad. Por otro lado, los métodos radiográficos, principalmente la tomografía computada, han mostrado alta sensibilidad en gran número de pacientes con sospecha clínica, aunque podrían confundirse con cuadros de otros virus respiratorios.²¹

RT-PCR

El método de referencia es RT-PCR a partir de muestras respiratorias de las vías superiores (hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo) e inferiores (esputo, lavado bronqueoalveolar o aspirado traqueal). Los hisopos deben colocarse en el

medio de transporte universal inmediatamente después de la recolección de la muestra para preservar el ácido nucleico viral. Utilizar muestras provenientes de vías inferiores presenta una mayor carga viral, pero la toma de muestra genera aerosoles, que representan un riesgo para el operador.²³⁻²⁵ Si bien las principales ventajas de este método son su elevada especificidad y sensibilidad, puede haber falsos negativos debido a fallas en la toma de la muestra, la alta variabilidad en la carga viral, los días que hayan pasado de la infección o nuevas mutaciones en el genoma viral.^{24,25} Los pasos involucrados son:

- extracción del ARN de la muestra
- generación de las copias de ADN complementario (cADN) con una enzima ADN polimerasa ARN dependiente
- amplificación de las copias en una serie de ciclos basados en la unión de cebadores específicos y extensión con ADN polimerasas
- detección del producto de amplificación con sondas específicas marcadas con fluorescencia en la que un resultado cualitativo indica presencia o no del virus.

Hay múltiples versiones de esta técnica que varían en los kits de extracción utilizados, los cebadores, las secuencias que detectan y las condiciones que se deben configurar en el termociclador. Las secuencias conservadas que usualmente se testean son RdRP (ARN polimerasa ARN dependiente), que se encuentra en la región ORF1ab (*open reading frame 1ab*), el gen E y el gen N. Las primeras dos permiten una mayor sensibilidad analítica.²⁶

La variante más utilizada, que fue desarrollada por el mismo CDC, contiene 3 pares de sonda-cebador, que permiten la detección simultánea de RNAsa P humana y 2 regio-

nes de la nucleocápside viral [genes N1 y N2]. El primer gen es un control de calidad que asegura la correcta extracción de ARN de la muestra, mientras que los otros 2 confirman la presencia de Sars-CoV-2.^{26,27}

Otra variante propuesta por la OMS detecta el gen RdRP como control y el gen E como específico de Sars-CoV-2²⁷; ambos presentan alta sensibilidad analítica y especificidad, con mínima reactividad cruzada con otras cepas circulantes de coronavirus. En Argentina, a la fecha de escritura de este artículo, hay 237 reactivos de uso *in vitro* para COVID-19 que se encuentran autorizados por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, ANMAT, [agencia regulatoria argentina] en el marco de la emergencia sanitaria.²⁸ El método de RT-PCR también se utiliza para documentar la eliminación del virus en un paciente previamente diagnosticado.^{29,30}

Amplificación isotérmica

Estas técnicas se realizan a una sola temperatura y no necesitan equipo de laboratorio especializado para proporcionar sensibilidades analíticas similares a la PCR³¹; incluyen la amplificación de la polimerasa recombinada, la amplificación dependiente de helicasa y la amplificación isotérmica mediada por bucle [LAMP].

LAMP es una técnica que muestra una mayor sensibilidad y especificidad debido a que permite una amplificación exponencial, porque utiliza 6 secuencias diana diferentes, identificadas simultáneamente por cebadores distintos, separados en la misma reacción³², que son rápidos además de económicos.³³

El estudio de la efectividad de estas técnicas para detectar ARN de coronavirus en muestras de pacientes³⁴⁻³⁶ demostró que un número de 1 a 10 copias de la plantilla de ARN viral por reacción era suficiente para una detección exitosa.³⁷⁻³⁹ Por esto, se pueden realizar en campo y en los centros o puntos de atención.³⁶

Easy loop amplification (ELA)

ELA [amplificación en bucle simple] combina la amplificación isotérmica con la inmunocromatografía en tiras reactivas. Fue especialmente diseñada para amplificar una región del genoma del SARS-Cov2 presente en todas las variantes del virus en circulación; es una tecnología desarrollada integralmente en Argentina que consiste en una amplificación isotérmica en bucle simple y se realiza a temperatura constante de 60° por 1 hora, en un simple baño termostático, sin necesidad de termocicladores.

El primer paso es la amplificación en bucle simple (ELA); el segundo es la detección inmunocromatográfica mediante las tiras reactivas. Si en la reacción ELA hubo amplificación de material genético del virus, este migrará por la membrana y aparecerán, en de no más de 10 minutos, dos líneas púrpuras-rojas que indican como resultado: COVID-19 POSITIVO; si aparece solo una línea, indica resultado negativo.⁴⁰

Inmunoensayos

Esta metodología es utilizada para métodos directos e indirectos: la determinación de antígenos virales del SARS-CoV-2, por ejemplo, es un método directo, mientras que la detección de anticuerpos IgG o IgM mediante inmunoensayos es indirecto.

Tabla II. Seguimiento y resumen de las vacunas COVID-19. Datos traducidos, obtenidos de la página web de la OMS⁸⁵ disponible desde la URL: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

Plataforma vacunal		Vacunas candidatas (no. and %)	
Sigla (nombre en inglés)	Nombre de la plataforma en castellano y en inglés	Cantidad de vacunas candidatos por plataforma	% de vacunas candidatas por plataforma
PS	Subunidad Proteica [Protein subunit]	49	33 %
VVnr	Vector viral no replicativoa [Viral Vector non-replicating]	21	14 %
DNA	ADN [DNA]	16	11 %
IV	Virus Inactivado [Inactivated Virus]	21	14 %
RNA	RNA [RNA]	28	19 %
VVr	Vector Viral Replicativo [Viral Vector replicating]	4	3 %
VLP	Partículas Similares a Virus [Virus Like Particle]	6	4 %
VVr + APC	Vector Viral Replicativo + Células Presentadoras de Antígeno [VVr + Antigen Presenting Cell]	2	1 %
LAV	Virus Vivo Atenuado [Live Attenuated Virus]	2	1 %
VVnr + APC	Vector Viral No Replicativo + Células Presentadoras de Antígeno [VVnr + Antigen Presenting Cell]	1	1 %
BacAg-SpV	Vector de expresión de antígeno bacteriano-espora [Bacterial antigen-spore expression vector]	1	1 %
Total		151	

to.⁴¹ Algunos de estos métodos sirven como *screening* gracias a la rapidez y disponibilidad, pero necesitan confirmación por RT-PCR debido al período de ventana.⁴² Estos tests pueden ser útiles para el diagnóstico masivo en poco tiempo y en lugares remotos, porque no necesitan maquinaria específica ni personal entrenado.²¹ En su mayor parte, fueron autorizados por las agencias regulatorias para uso provisorio en situación de emergencia sanitaria. Otros como la detección de IgG o IGM pueden tener valor para el seguimiento de pacientes, para evaluar la respuesta de generación de anticuerpos en respuesta a las vacunas, para evaluar el plasma de donantes convalecientes, etc.

Es importante que en el transcurso de la pandemia se hayan desarrollado métodos en distintos formatos para ser utilizados diferencialmente como los tests para ser usados en el punto de atención (*point of care POC, por sus siglas en inglés*) o como el testeo de laboratorios analíticos para procesar muestras individuales o grupales.

Tratamiento y desarrollos terapéuticos

Fármacos tradicionales

Antivirales e inmunomoduladores

Este tipo de fármacos no son el objeto de este trabajo por lo que se comentan y resumen brevemente, a continuación y en la figura 1. Remdesivir fue el primero aprobado por FDA, sin recomendación de la OMS^{46,47}; inhibe la RdRp del virus impidiendo su replicación.⁴⁸ Existen otros antivirales en fase de prueba que tienen el mismo blanco terapéutico, como ciertos análogos de nucleósidos (p.ej. Ribavirin), que mostraron inhibición *in vitro*; otros como lopinavir y ritonavir actúan por inhibición sobre las principales proteasas.⁴⁸

La dexametasona se utiliza para controlar la respuesta inflamatoria exacerbada provocada por el virus.⁴⁹ Muchos de estos tratamientos se administran en el marco ético de un ensayo clínico aprobado o monitoreado por la MEURI (*Monitored Emergency Use of Unregistered Interventions*).⁵⁰ Las guías de tratamiento desarrolladas por paneles de expertos sirven como soporte frente a estas situaciones⁵¹ (Figura 1).

Biofármacos

Anticuerpos monoclonales como inmunomoduladores

Los anticuerpos monoclonales son una alternativa prometedora, principalmente, el bamlanivimab⁵²; también se han probado otros ya aprobados para otras patologías, que podrían actuar como inmunomoduladores (Figura 2).

Plasma de pacientes recuperados que contienen anticuerpos neutralizantes

La inmunización pasiva por neutralización se pensó como tratamiento provisorio⁵³; dura semanas/meses y es inmediata.^{54,55} La experiencia con SARS y MERS indicaba efectividad, usada como profilaxis temprana.⁵⁶

En Argentina, se realizaron dos ensayos clínicos multicéntricos, uno sin diferencias significativas⁵⁷, mientras que el otro⁵⁸ demostró reducir la progresión de Covid-19 en adultos mayores infectados levemente.

Sueros hiperinmunes de caballos

Los anticuerpos policlonales equinos permiten una producción sencilla, rápida y con gran escalabilidad, una ventaja en pandemia.⁵⁹

El suero equino hiperinmune NT₈₀₅ 2560 producido por Xiaoyang et al mostró una capacidad de neutralizar la infección del virus 50 veces mayor que la demostrada por el plasma de convaleciente.^{59,60} Un suero hiperinmune de caballo desarrollado por investigadores argentinos⁵⁹ fue aprobado en diciembre del 2020 por la agencia regulatoria argentina, ANMAT, para uso en emergencia para casos moderados y graves de COVID-19.

Bioterapias

Terapia basada en células madre m

Las células madre mesenquimales (CMM) son células madre adultas multipotentes, que pueden autorrenovarse dividiéndose y diferenciarse en múltiples tipos de tejidos, por lo que resultan interesantes para la medicina regenerativa.⁶¹ Existen cada vez más investigaciones clínicas de terapias basadas en CMM o que utilizan, también, derivados que estas liberan⁶² como mediadores solubles (citocinas antiinflamatorias)⁶³, péptidos antimicrobianos⁶⁴, factores de crecimiento angiogénicos y vesículas extracelulares.⁶⁵ También modulan subpoblaciones celulares y son capaces de disminuir la actividad de células efectoras (Linfocitos T citotóxico, NK y macrófagos).⁶⁵

El uso de CMM en la COVID 19 resultó prometedor, porque mostró una importante reversión de los síntomas graves entre los 2 y 4 días después de su infusión intravenosa, con aumento de linfocitos, un cambio hacia el fenotipo regulador en células dendríticas y T CD4+, y disminución de células inmunitarias secretoras de citoquinas hiperactivas, entre otros efectos, sin ninguna consecuencia adversa.⁶⁶⁻⁶⁸ Este tipo de terapia aún se encuentra en la fase inicial de desarrollo y se necesitan más investigaciones de fase I.⁶⁸

Microbiota intestinal

Los microorganismos que residen en nuestro cuerpo se mantienen en equilibrio (simbiosis); la ruptura de dicho equilibrio (disbiosis) se asocia con enfermedad y se caracteriza por la alteración de la diversidad y las proporciones relativas de las especies de la microbiota.⁶⁹

ACE2 es un regulador negativo del sistema renina-angiotensina (RAS); también colabora en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, pero es, al mismo tiempo, la puerta de entrada del SARS-CoV-2 al organismo y, cuando ocurre la infección, su actividad disminuida promueve disbiosis con impacto sobre los tejidos que regula, incluido el inmunológico. Esta relación ha dado lugar a diferentes opciones terapéuticas en estudio, basadas en ACE2 para tratar COVID 19.⁷⁰

Por otro lado, un estudio clínico⁷¹ con pacientes con SARS-CoV-2 demostró la alteración de su microbioma, comparándolos con pacientes sanos y con neumonía; también permitió identificar especies y casos de disbiosis prolongadas asociadas a la severidad de la enfermedad; así, la modulación del

microbioma intestinal podría ser usada como otro potencial blanco terapéutico.⁷²

Vacunas

Plataformas vacunales

Debido al constante aumento de casos y la falta de tratamientos efectivos para la COVID-19, la necesidad de contar con vacunas se volvió una urgencia. Se ha trabajado en todo el mundo fuertemente en su desarrollo, para lograr que sean efectivas y seguras, a través de diferentes estrategias. Muchas vacunas se encuentran en etapas clínicas. En abril de 2021, siete ya se encontraban en fase clínica III. Los resultados preliminares permitieron su aprobación en emergencia, por lo que están siendo producidas y aplicadas masivamente.⁷³ La tabla II resume las principales tecnologías utilizadas.

Vacunas de vectores virales no replicativos

Los vectores virales no replicativos consisten en virus a los que se les delecionan partes de su genoma para impedir su replicación y se les insertan los genes de la proteína contra la que se desea generar inmunidad.⁷⁴ Dentro de la célula, los genes contenidos en la partícula viral se expresan, pero no se lleva a cabo el ensamblaje de nuevos virus, por lo que, en el laboratorio, es necesario reproducir estos virus en cultivos celulares que sí expresen los elementos necesarios para la replicación. Su formulación es en forma de inyectable y se administran por vía intramuscular o subcutánea.⁷⁵

Vacunas de subunidades proteicas

Las vacunas de subunidades proteicas consisten en péptidos o proteínas antigénicas obtenidas por técnicas de DNA recombinante.^{76,77} Las principales ventajas que presentan son: seguridad durante el proceso de producción y para los pacientes; flexibilidad en su diseño, que permite control en cuanto al tipo de respuesta inmune que se desea estimular, y estabilidad para su almacenamiento, ya que pueden ser liofilizadas.^{78,79} En comparación con otros métodos más tradicionales, tienen una menor inmunogenicidad debido a su tamaño y la pérdida de otros sitios antigénicos presentes en el organismo completo.⁷⁴ Esto se compensa con el agregado de adyuvantes (*alum*, emulsiones, PAMPs⁸⁰ y sistemas de *delivery* específicos que permitan un mejor reconocimiento del antígeno como partículas similares a virus [VLPs], entre otras).^{72,73,76,77} Incluso aumentar el número de dosis que se administran, permite obtener una respuesta mayor y sostenida en el tiempo.⁸¹

Vacunas inactivadas

Se producen utilizando bacterias o virus infecciosos en grandes cantidades, que luego serán inactivados mediante mecanismos físicos, químicos o radiación. Estos procesos terminan con la capacidad de replicación de los patógenos, que pierden así su capacidad de infección, transformándose en más estables y seguros. La conservación de su estructura externa intacta los hace capaces de generar inmunidad. Estimulan una respuesta inmune mucho más débil que las vacunas

vivas y requieren varias dosis para una inmunidad eficaz.^{81,82} Necesitan estabilización de la estructura, el suministro separado del solvente y el transporte en cadena de frío, lo que complica el proceso de producción y conduce a un aumento de su costo.⁸³ Las formas farmacéuticas son líquidas y liofilizadas y su administración es intramuscular.⁸⁴

Vacunas RNA-DNA

La persona vacunada actúa como "biorreactor", porque expresa una proteína de coronavirus que provocará una respuesta inmunitaria. El ácido nucleico (ADN o ARN) es administrado a través de un sistema de liberación, que ingresa a las células a través de distintas vías, para luego producir copias de la proteína viral. La mayoría de estas vacunas codifican para la proteína espiga del virus (o *spike*), pero también hay desarrollos que han elegido otras subunidades proteicas del SARS-CoV-2 como blanco inmunogénico.⁷⁹ En la página de la OMS, se puede observar la evolución clínica de todas las vacunas basadas en ácido nucleico.⁸⁵

La infección por SARS-CoV-2 es muy compleja y cada día se sigue aprendiendo sobre su modo de transmisión, sintomatología, consecuencias y el impacto de las muchas mutaciones que se fueron generando. La pandemia creada por el virus ha sido un desafío mundial en muchos sentidos: desde lo social, económico hasta el aspecto médico y científico.

Este artículo es un resumen desde la mirada de los aportes que la biotecnología ha hecho en áreas cruciales como el diagnóstico, el tratamiento y la prevención de la COVID 19. Son muchas las áreas emergentes que se suman y convergen para poder dar respuestas a tan compleja situación. Es una historia que se sigue escribiendo cada día.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Susana Llesuy y al Dr. Miguel Ángel De Cristóforo, por su apoyo y colaboración en la corrección de este artículo. La revisión fue realizada en la asignatura Biotecnología y Biotecnología Farmacéutica del último año de las carreras de Bioquímica y Farmacia del Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de interés alguno.

Referencias bibliográficas

1. BBC News Mundo. Coronavirus: los gráficos que muestran el número de infectados y muertos en el mundo por covid-19.
2. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li YC, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*. 2020; 14:3822-35.
3. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020;10(2):102-108.
4. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Tan KS, Wang DY, Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res*. 2020 7 article N° 11.
5. Saxena SK. *Medical Virology: from Pathogenesis to Disease*. Control Series Editor. Springer Nature Suiza, 2021. Disponible en: <http://www.springer>

- com/series/16573
6. Tian S, Hu W, Niu L, Liu H, Xu H, Xiao SY. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2020; 15(5):700-704.
 7. CDC. Enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) - Contagio. 2020.
 8. Gu J, Han B, Wang J. COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal–Oral Transmission. Vol. 158, *Gastroenterology*. 2020;158:1518-9.
 9. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581: 465-9.
 10. Yadav T, Saxena SK. Transmission Cycle of SARS-CoV and SARS-CoV-2. *Medical Virology: From Pathogenesis to Disease Control*. 2020. p. 33-42.
 11. Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Córdoba. Ejercicio profesional Bioquímico en el marco del aislamiento social preventivo y obligatorio.
 12. Kumar S, Nyodu R, Maurya VK, Saxena SK. Host Immune Response and Immunobiology of Human SARS-CoV-2 Infection. *Medical Virology: Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)* p. 43–53.
 13. Yao X, Ye F, Zhang M, Cui C, Huang B, Niu P, et al. In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):732-9.
 14. Konno Y, Kimura I, Uriu K, Fukushi M, Irie T, Koyanagi Y, et al. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is further increased by a naturally occurring elongation variant. *BioRxiv* 2020.
 15. Kikkert M. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *J Innate Immun*. 2020;12(1):4-20.
 16. Zheng Y, Zhuang M-W, Han L, Zhang J, Nan M-L, Gao C, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Membrane (M) Protein Inhibits Type I and III Interferon Production by Targeting RIG-I/MDA-5 Signaling *BioRxiv* 2020.
 17. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19(2):181-93.
 18. Mathuria JP, Yadav R, Rajkumar. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *J Infect Public Health*. 2020;13(7):901-5.
 19. Centers for Disease Control and Prevention. Evaluating and Testing Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 2020.
 20. Sheridan C. Fast, portable tests come online to curb coronavirus pandemic. *Nat Biotechnol*. 2020;38:515-8.
 21. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. *Ann Intern Med*. 2020;172(11):726-34.
 22. Abduljalil JM. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2: available approaches and limitations. *New Microbes New Infect*. 2020;36:100713.
 23. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review *for* Enhanced Reader. *JAMA*. 2020;324(8):782-93.
 24. Pascarella G, Strumia A, Piliago C, Bruno F, Del Buono R, Costa F, et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J Intern Med* 2020;288(2):192-206.
 25. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*. 2020;14(4):3822-35.
 26. Centers for Disease Control and Prevention. Research. Use Only Real-Time RT-PCR Protocol for Identification of 2019-nCoV.
 27. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000045.
 28. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Reactivos Covid-19.
 29. European Centre for Disease Prevention and Control. Novel coronavirus (SARS-CoV-2).
 30. Centers for Disease Control and Prevention. Discontinuation of Transmission-Based Precautions and Disposition of Patients with COVID-19 in Healthcare Settings.
 31. Craw P, Balachandran W. Isothermal Nucleic Acid Amplification Technologies for Point-of-Care Diagnostics: A Critical Review. *Lab Chip* 2012;12:2469-86.
 32. Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*. 2000;28(12):e63.
 33. Shen M, Zhou Y, Ye J, AL-maskri AAA, Kang Y, Zeng S, et al. Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for coronavirus. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020;10:97-101.
 34. Poon LL, Leung CS, Tashiro M, Chan KH, Wong BW, Yuen KY, et al: Rapid detection of the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin Chem*. 2004;50:1050-52.
 35. Pyrc K, Milewska A, Potempa J. Development of loop-mediated isothermal amplification assay for detection of human coronavirus-NL63. *J Virol Methods*. 2011; 175:133-36.
 36. Mori Y, Nagamine K, Tomita N, Notomi T. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;289:150-54.
 37. Shirato K, Yano T, Senba S, Akachi S, Kobayashi T, Nishinaka T, et al. Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Virol J*. 2014;11:139.
 38. Hong TC, Mai QL, Cuong DV, Parida M, Minekawa H, Notomi T, et al. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Clin Microbiol*. 2004; 42:1956-61.
 39. Njiru ZX. Loop-mediated isothermal amplification technology: towards point of care diagnostics. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(6):e1572.
 40. ELACHEMSTRIP COVID-19.
 41. Kumar R, Nagpal S, Kaushik S, Mendiratta S. COVID-19 diagnostic approaches: different roads to the same destination. *Virusdisease*. 2020; 31:97-105.
 42. Oliveira BA, Oliveira LC de, Sabino EC, Okay TS. SARS-CoV-2 and the COVID-19 disease: a mini review on diagnostic methods. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2020; 62:1-8.
 43. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point of care antigen and molecular based tests for diagnosis of SARS CoV 2 infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;8(8):CD013705.
 44. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS CoV 2. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020; 6(6):CD013652.
 45. Afzal A. Molecular diagnostic technologies for COVID-19: Limitations and challenges. *J Advert Res*. 2020;26:149-59.
 46. World Health organization, WHO recommends against the use of remdesivir in COVID-19 patients.
 47. U.S. Food & Drug Administration. La FDA aprueba el primer tratamiento para el COVID-19. 2020.
 48. Uzunova K, Filipova E, Pavlova V, Vekov T. Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother*. 2020;131:110668.
 49. National Institute of Health, USA. Covid treatment guidelines Corticosteroids 2020 [Nov 29].
 50. Pan American Health organization. Institutional repository for information sharing. Recommendations for Heating, Ventilation, and Air Conditioning in Healthcare Facilities, October 2020.
 51. National Institute of Health, Covid-19 treatment guidelines. Information on COVID-19 Treatment, Prevention and Research
 52. Chen P, Nirula A, Heller B, Gottlieb RL, Boscia J, Morris J, et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020
 53. Casadevall A, Pirofski L-A. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest*. 2020;130(4):1545-8.
 54. Manual de normas y procedimientos PAI, Honduras. Conceptos y principios generales de inmunización.
 55. Klassen S. Evidence favouring the efficacy of convalescent plasma for COVID-19 therapy.
 56. Ko J-H, Seok H, Cho SY, Ha YE, Baek JY, Kim SH, et al. Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infec-

- tion: a single centre experience. *Antivir Ther.* 2018;23:617-22.
57. Simonovich, VA, Burgos Pratz Ld, Scibona P, Beruto MV, Vallone MG, Vázquez C et al. A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia. *New England Journal of Medicine.* 2021;384(7):619-29.
 58. Libster R, Pérez-Marc G, Wappner D, Coviello S, Bianchi A, Braem V, et al. Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults. *New England Journal of Medicine.* 2021;384(7):610-18.
 59. Zylberman V, Sanguinetti S, Pontoriero A, et al. Desarrollo de un suero equino hiperinmune para el tratamiento de COVID-19 en Argentina. *MEDICINA [Buenos Aires]* 2020;80(Supl. III):1-6.
 60. Xiaoyan Pan, Pengfei Zhou, Tiejiong Fan, et al. Immunoglobulin fragment F(ab')₂ against RBD potentially neutralizes SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.* 2020;182:104868.
 61. National institute of health. Covid-19 treatment guidelines Cell-Based Therapy Under Evaluation for the Treatment of COVID-19.
 62. Khoury M, Cuenca J, Cruz FF, Figueroa FE, Rocco PRM, Weiss DJ. Current status of cell-based therapies for respiratory virus infections: applicability to COVID-19. *Eur Respir J.* 2020;55(6).
 63. Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, Kota DJ, Ylostalo J, Larson BL, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell.* 2009;5(1):5463.
 64. Krasnodembskaya A, Song Y, Fang X, Gupta N, Serikov V, Lee J-W, et al. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37. *Stem Cells.* 2010;28(12):2229-38.
 65. Hu S, Park J, Liu A, Lee J, Zhang X, Hao Q, et al. Mesenchymal Stem Cell Microvesicles Restore Protein Permeability Across Primary Cultures of Injured Human Lung Microvascular Endothelial Cells. *Stem Cells Transl Med.* 2018; 7:61-24.
 66. Glenn JD. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy *World Journal of Stem Cells.* 2014;6(5):526-39.
 67. Rajarshi K, Chatterjee A, Ray S. Combating COVID-19 with mesenchymal stem cell therapy. *Biotechnol Rep.* 2020;26:e00467.
 68. Irmak DK, Darıcı H, Karaöz E. Stem Cell Based Therapy Option in COVID-19: Is It Really Promising? *Aging Dis.* 2020;11(5):1174.
 69. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics.* 2012;13:260-70.
 70. Viana SD, Nunes S, Reis F. ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities – Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Research Reviews.* 2020;62:101123.
 71. Ortigão R, Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Libânio D. Gastrointestinal Microbiome – What We Need to Know in Clinical Practice [Internet]. Vol. 27, GE - Portuguese Journal of Gastroenterology. 2020. p. 336–51.
 72. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, Yeoh YK, Li AYL, Zhan H, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology.* 2020;159(3):944-55.e8.
 73. Centers for disease control and prevention, USA. Diferentes vacunas contra el COVID-19. 2020.
 74. Robert-Guroff M. Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development. *Curr Opin Biotechnol.* 2007;18(6):546–56.
 75. Kaur SP, Gupta V. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. *Virus Res.* 2020;288:198114.
 76. Rong L, Kandeil AM, Qiao L, et al. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. 2020. doi:10.3389/fmicb.2020.00298
 77. Khalaj-Hedayati A. Review Article Protective Immunity against SARS Subunit Vaccine Candidates Based on Spike Protein: Lessons for Coronavirus Vaccine Development. 2020. doi:10.1155/2020/7201752
 78. Tsoras AN, Champion JA. Protein and peptide biomaterials for engineered subunit vaccines and immunotherapeutic applications. *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2019;10:337-59
 79. Moyle PM. Biotechnology approaches to produce potent, self-adjuncting antigen-adjunct fusion protein subunit vaccines. *Biotechnol Adv.* 2017;35(3):375-89.
 80. Karch CP, Burkhard P. Vaccine technologies: From whole organisms to rationally designed protein assemblies. *Biochem Pharmacol.* 2016;120:1-14.
 81. Ng WH, Liu X, Mahalingam S. Development of vaccines for SARS-CoV-2. *F1000Res* [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 20]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7431966/>
 82. Sterin Pryn, A. E. Vacunas para SARS-CoV-2, diferentes estrategias de los desarrollos en curso. *Rev. Hosp. Ital. B.Aires* 2020;40(1): 1-12.
 83. Calina D, Docea AO, Petrakis D, Egorov AM, Ishmukhametov AA, Gabibov AG, et al. Towards effective COVID-19 vaccines: Updates, perspectives and challenges [Review]. *Int J Mol Med.* 2020;46(1):3-16.
 84. Ministerio de salud. Recomendaciones nacionales de vacunación argentina 2012. CABA: Ministerio de salud; 2012 [cited 2020 Sep 22].
 85. World health organization. Draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines.