



## Sicurezza, tollerabilità e immunogenicità di un vaccino SARS-CoV-2 inattivato in adulti sani di età compresa tra 18 e 59 anni: uno studio clinico di fase 1/2 randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo

Yanjun Zhang \*, Gang Zeng \*, Hongxing Pan \*, Changgui Li \*, Yaling Hu, Kai Chu, Weixiao Han, Zhen Chen, Rong Tang, Weidong Yin, Xin Chen, Yuansheng Hu, Xiaoyong Liu, Congbing Jiang, Jingxin Li, Minnan Yang, Yan Song, Xiangxi Wang, Qiang Gao †, Fengcai Zhu †

### Sommario

**Sfondo** Con la morbilità e la mortalità senza precedenti associate alla pandemia COVID-19, è urgentemente necessario un vaccino contro COVID-19. Abbiamo studiato CoronaVac (Sinovac Life Sciences, Pechino, Cina), un candidato vaccino inattivato contro COVID-19, contenente la sindrome respiratoria acuta grave inattivata coronavirus 2 (SARS-CoV-2), per la sua sicurezza, tollerabilità e immunogenicità.

**Metodi** In questo studio clinico di fase 1/2 randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, adulti sani di età compresa tra 18 e 59 anni sono stati reclutati dalla comunità nella contea di Suining, nella provincia di Jiangsu, in Cina. Sono stati esclusi gli adulti con esposizione a SARSCoV-2 o anamnesi di infezione, con temperatura ascellare superiore a 37 ° C o una reazione allergica a qualsiasi componente del vaccino. Il vaccino sperimentale per la sperimentazione di fase 1 è stato prodotto utilizzando un processo di cell factory (CellSTACK Cell Culture Chamber 10, Corning, Wujiang, Cina), mentre quelli per la sperimentazione di fase 2 sono stati prodotti attraverso un processo bioreattore (ReadyToProcess WAVE 25, GE, Umea, Svezia). Lo studio di fase 1 è stato condotto in modo incrementale della dose. Allo screening, i partecipanti sono stati inizialmente separati (1: 1), senza randomizzazione specifica, in due coorti del programma di vaccinazione, la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14 e la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28, e all'interno di ciascuna coorte sono stati assegnati i primi 36 partecipanti al blocco 1 (CoronaVac a bassa dose [3 µg per 0,5 mL di diluente di idrossido di alluminio per dose]), altri 36 sono stati assegnati al blocco 2 (Coronavac ad alto dosaggio [6 µg per 0,5 mL di diluente all'idrossido di alluminio per dose]). All'interno di ogni blocco, i partecipanti sono stati assegnati in modo casuale (2: 1), utilizzando la randomizzazione a blocchi con una dimensione del blocco di sei, a due dosi di CoronaVac o due dosi di placebo. Nello studio di fase 2, allo screening, i partecipanti sono stati inizialmente separati (1: 1), senza randomizzazione specifica, nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14 e nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28, e i partecipanti sono stati assegnati in modo casuale (2: 2: 1), utilizzando la randomizzazione a blocchi con una dimensione di cinque blocchi, per ricevere due dosi di CoronaVac a basso dosaggio, CoronaVac ad alto dosaggio o placebo. I partecipanti, i ricercatori e il personale di laboratorio sono stati mascherati all'assegnazione del trattamento. L'endpoint primario di sicurezza erano le reazioni avverse entro 28 giorni dall'iniezione in tutti i partecipanti a cui era stata somministrata almeno una dose del farmaco in studio (popolazione di sicurezza). L'outcome immunogenico primario era rappresentato dai tassi di sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 vivi al giorno 14 dopo l'ultima dose nei giorni 0 e 14 della coorte e al giorno 28 dopo l'ultima dose nei giorni 0 e 28 della coorte nei partecipanti che completato il programma di vaccinazione a due dosi assegnato (popolazione per protocollo). Questo studio è registrato con ClinicalTrials.gov, NCT04352608 ed è chiuso per maturazione.

**Risultati** Tra il 16 e il 25 aprile 2020, 144 partecipanti sono stati arruolati nello studio di fase 1 e tra il 3 e il 5 maggio 2020 600 partecipanti sono stati arruolati nello studio di fase 2. 743 partecipanti hanno ricevuto almeno una dose del prodotto sperimentale (n = 143 per la fase 1 en = 600 per la fase 2; popolazione di sicurezza). Nello studio di fase 1, l'incidenza delle reazioni avverse per la coorte dei giorni 0 e 14 è stata di sette (29%) su 24 partecipanti nel gruppo 3 µg, nove (38%) su 24 nel gruppo 6 µg e due (8%) di 24 nel gruppo placebo e per i giorni 0 e 28 la coorte era tre (13%) di 24 nel gruppo 3 µg, quattro (17%) su 24 nel gruppo 6 µg e tre (13%) di 23 nel gruppo placebo. La sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti il giorno 14 dopo il programma di vaccinazione dei giorni 0 e 14 è stata osservata in 11 (46%) dei 24 partecipanti nel gruppo 3 µg, 12 (50%) su 24 nel gruppo 6 µg e nessuno (0%) su 24 nel gruppo placebo; considerando che al giorno 28 dopo il programma di vaccinazione dei giorni 0 e 28, si è osservata sieroconversione in 20 (83%) di 24 nel gruppo 3 µg, 19 (79%) su 24 nel gruppo 6 µg e uno (4%) di 24 nel gruppo placebo. Nello studio di fase 2, l'incidenza delle reazioni avverse per i giorni 0 e 14 della coorte è stata 40 (33%) di 120 partecipanti nel gruppo 3 µg, 42 (35%) di 120 nel gruppo 6 µg e 13 (22%) di 60 nel gruppo placebo e per i giorni 0 e 28 la coorte era 23 (19%) su 120 nel gruppo 3 µg, 23 (19%) su 120 nel gruppo 6 µg e 11 (18%) di 60 per il gruppo placebo. La sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti è stata osservata per 109 (92%) di 118 partecipanti nel gruppo 3 µg, 117 (98%) di 119 nel gruppo 6 µg e due (3%) su 60 nel gruppo placebo al giorno 14 dopo il programma dei giorni 0 e 14; mentre al giorno 28 dopo lo schema dei giorni 0 e 28, la sieroconversione è stata osservata in 114 (97%) di 117 nel gruppo 3 µg, 118 (100%) di 118 nel gruppo 6 µg e nessuno (0%) di 59 nel gruppo placebo.

Lancet Infect Dis 2020

Publicato in linea  
17 novembre 2020  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30843-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30843-4)

Vedere Online / Commento  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30870-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30870-7)

Per la traduzione cinese dell'abstract vedere in linea per l'appendice 1

\* Primi autori congiunti

† Contributo allo stesso modo

Dipartimento di Microbiologia, Centro provinciale di Zhejiang per Disease Control e Prevenzione, Hangzhou, Cina (Prof Y Zhang PhD); Sinovac Biotech, Pechino, Cina (G Zeng PhD, Ya HuMSc, WHanMSc, WYin, MBA, YuHuMSc); Provinciale di Jiangsu Centro per il controllo e la prevenzione delle malattie, Nanchino, Cina (HPanMSc, KChuMSc, RTang BA, Prof J Li PhD, Prof F ZhuMD); National Institutes for Food and Drug Control, Pechino, Cina

(Prof C Li PhD, ZChenMSc); SuiningCountyCenter per Controllo e prevenzione delle malattie, Suining, provincia di Jiangsu, Cina (XChen BA, X Liu BA, C Jiang BA, Y Song BA); CAS Key Laboratory di infezione e immunità, Laboratorio Nazionale di Macromolecole, Istituto di Biofisica, Accademia Cinese di Scienze, Pechino, Cina (MYang PhD, Prof XWang PhD) e Sinovac Life Sciences, Pechino, Cina (QGaoMSc)

Corrispondenza:  
Dr Qiang Gao, Sinovac Life Sciences, Pechino100085, Cina  
[gaoq@sinovac.com](mailto:gaoq@sinovac.com)

o  
Dr Fengcai Zhu, Jiangsu Centro provinciale per le malattie Controllo e prevenzione, Nanjing 210009, Cina  
[jszfc@vip.sina.com](mailto:jszfc@vip.sina.com)

**Interpretazione** Tenendo conto della sicurezza, dell'immunogenicità e della capacità di produzione, la dose da 3 µg di CoronaVac è la dose suggerita per la valutazione dell'efficacia nei futuri studi di fase 3.

**Finanziamento** Programma chiave nazionale cinese di ricerca e sviluppo e Programma di scienza e tecnologia di Pechino.

**Diritto d'autore** © 2020 Elsevier Ltd. Tutti i diritti riservati.

## Introduzione

La pandemia COVID-19 in corso causata dalla sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2), ha portato a un'elevata morbilità e mortalità in tutto il mondo.<sup>1</sup>

A livello globale, al 28 ottobre 2020, sono stati segnalati 43,3 milioni di casi confermati dai laboratori di infezione da SARS-CoV-2, che hanno provocato 1 · 15 milioni di decessi.<sup>2</sup>

Sebbene il distanziamento fisico, la quarantena e l'isolamento siano stati efficaci nel limitare il numero di persone che vengono infettate durante la pandemia a breve termine, l'assenza di immunità nella popolazione le rende suscettibili a ulteriori ondate di infezione da SARS-CoV-2. Gli operatori sanitari, gli anziani (di età > 60 anni) e quelli con condizioni di salute sottostanti sono particolarmente a rischio.<sup>3,4</sup> La carenza di un trattamento efficace per COVID-19 ha portato a un'azione rapida nello sviluppo di potenziali vaccini contro la malattia.

Dall'inizio dell'epidemia, i ricercatori di tutto il mondo hanno cercato di sviluppare vaccini per COVID-19, con oltre 198 vaccini attualmente in fase di sviluppo preclinico o clinico.<sup>5</sup> Sforzi frenetici verso lo sviluppo di un vaccino hanno portato a diversi vaccini candidati, derivati da più piattaforme e che progrediscono verso la fase di valutazione clinica, inclusi vaccini inattivati, vaccini a virus vivi, vaccini proteici ricombinanti, vaccini vettoriali e vaccini a DNA o RNA.<sup>6-14</sup> Sviluppo di

Diverse piattaforme e strategie vaccinali in parallelo sono essenziali perché poco si sa sulla natura delle risposte immunitarie protettive a COVID-19 e non è chiaro quali strategie vaccinali avranno maggior successo.

CoronaVac (Sinovac Life Sciences, Pechino, Cina) è un candidato vaccino inattivato contro COVID-19 che ha mostrato una buona immunogenicità in topi, ratti e primati non umani con anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 indotti dal vaccino, dieci ceppi rappresentativi di SARS-CoV-2.<sup>15</sup> Inoltre, i risultati hanno indicato che CoronaVac ha fornito una protezione parziale o completa nei macachi dalla polmonite interstiziale grave dopo un challenge con SARS-CoV-2, senza un aumento osservabile dell'infezione anticorpo-dipendente, che supporta la progressione verso studi clinici sull'uomo.<sup>15</sup>

## Metodi

### Progettazione dello studio e partecipanti

In questo studio clinico di fase 1/2 monocentrico, in doppio cieco, randomizzato, controllato con placebo, i partecipanti sono stati reclutati dalla comunità per valutare due regimi a due dosi di CoronaVac. Lo studio è stato condotto presso il Centro provinciale per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC) di Jiangsu nella contea di Suining, provincia di Jiangsu, Cina. Lo studio di fase 1 era uno studio di incremento della dose. Nella fase 1, i partecipanti sono stati reclutati e assegnati in modo sequenziale

### Ricerca nel contesto

#### Prove prima di questo studio

Abbiamo cercato PubMed e il sito web dell'American Medical Association il 13 agosto 2020 per articoli di ricerca pubblicati, senza restrizioni di lingua o data, utilizzando i termini di ricerca di "SARS-CoV-2", "COVID-19", "vaccino" e "test clinico". I risultati della ricerca hanno mostrato che la pandemia COVID-19 ha portato a una corsa senza precedenti per sviluppare un vaccino efficace. Abbiamo identificato i dati preclinici su tre immunizzazioni utilizzando due diverse dosi di CoronaVac (3 µg e 6 µg per dose), un vaccino a virus intero inattivato contro COVID-19 sviluppato da Sinovac Life Sciences (Pechino, Cina), che fornisce protezione parziale o completa nei macachi contro la sfida SARS-CoV-2, senza un aumento osservabile dell'infezione dipendente dagli anticorpi. Pechino, Cina), che ha mostrato che l'incidenza di reazioni avverse è stata del 19,0% entro 28 giorni dopo due dosi di vaccino (5 µg in 0,5 ml di diluente) in uno schema di vaccinazione del giorno 0 e 21 e i tassi di sieroconversione del anticorpo neutralizzante rilevato dal test di neutralizzazione della riduzione della placca era

97 · 6% a 14 giorni dopo un programma di vaccinazione di giorno 0 e 21. Lo studio clinico di CoronaVac può fornire ulteriori prove di sicurezza e immunogeniche per il vaccino inattivato.

#### Valore aggiunto di questo studio

In questo primo studio sull'uomo di CoronaVac, abbiamo utilizzato un disegno di studio di fase 1/2 per valutare la sicurezza di due dosi e due programmi di vaccinazione in uno studio di aumento della dose in una piccola coorte prima di espandere lo studio a una coorte più ampia per esplorare l'immunogenicità del vaccino negli adulti sani. La risposta immunitaria nello studio di fase 2 è stata sostanzialmente più alta rispetto allo studio di fase 1, il che potrebbe essere dovuto alla differenza nel processo di preparazione dei lotti di vaccino utilizzati nelle fasi 1 e 2, risultando in una percentuale maggiore di proteina spike sui virioni SARS-CoV-2 inattivati purificati nel vaccino utilizzato nella fase 2 rispetto a quello utilizzato nella fase 1.

#### Implicazioni di tutte le prove disponibili

I dati di questo studio supportano l'approvazione dell'uso di emergenza di CoronaVac in Cina e tre studi clinici di fase 3 in corso in Brasile, Indonesia e Turchia.

(1: 1), senza randomizzazione specifica, a uno dei due programmi di vaccinazione, con un intervallo di 14 giorni (la coorte di vaccinazione del giorno 0 e 14) o un intervallo di 28 giorni (la coorte di vaccinazione del giorno 0 e 28) tra dosi. All'interno di ciascuna coorte, i primi 36 partecipanti (blocco 1) sono stati assegnati in modo casuale al vaccino a basso dosaggio o al placebo, quindi dopo 7 giorni di follow-up per la sicurezza dopo la prima dose, altri 36 (blocco 2) sono stati assegnati in modo casuale a vaccino ad alte dosi o placebo. La fase 2 è stata iniziata dopo che tutti i partecipanti alla fase 1 hanno terminato un periodo di osservazione di sicurezza di 7 giorni dopo la prima dose. Come nella fase 1, i partecipanti sono stati reclutati e assegnati (1: 1) senza randomizzazione specifica a una delle due coorti del programma di vaccinazione, e quindi assegnati in modo casuale all'interno di ciascuna coorte al vaccino a basso dosaggio, al vaccino ad alto dosaggio o al placebo.

I partecipanti erano idonei se erano sani e di età compresa tra 18 e 59 anni. I criteri di esclusione chiave erano la storia epidemiologica ad alto rischio entro 14 giorni prima dell'arruolamento (p. Es., Storia di viaggio o residenza nella città di Wuhan e nelle aree circostanti o altre comunità con casi clinici; storia dei contatti con qualcuno infettato da SARS-CoV-2); IgG o IgM specifiche per SARS-CoV-2 positive nel siero; test PCR positivo per SARS-CoV-2 da un campione di tampone faringeo o anale; temperatura ascellare superiore a 37,0 ° C; e nota allergia a qualsiasi componente del vaccino. Un elenco completo dei criteri di esclusione è nel protocollo. Il consenso informato scritto è stato ottenuto da ciascun partecipante prima dell'iscrizione. Il protocollo della sperimentazione clinica e il modulo di consenso informato sono stati approvati dal Comitato Etico Jiangsu (JSJK2020-A021-02). Questo studio è stato condotto in conformità con i requisiti di Good Clinical Practice of China e della Conferenza internazionale sull'armonizzazione.

#### Randomizzazione e mascheramento

In entrambe le fasi 1 e 2, non è stata utilizzata alcuna randomizzazione specifica per l'assegnazione dei partecipanti alle coorti del programma di vaccinazione. Nella fase 1, i partecipanti nei blocchi 1 e 2 in ciascuna coorte di programma sono stati assegnati in modo casuale (2: 1) a CoronaVac o al placebo, e nella fase 2, i partecipanti a ciascuna coorte di programma sono stati assegnati in modo casuale (2: 2: 1) a entrambi CoronaVac a basso dosaggio, CoronaVac ad alto dosaggio o placebo. I codici di randomizzazione per ciascuna coorte del programma di vaccinazione sono stati generati individualmente, utilizzando la randomizzazione a blocchi con una dimensione del blocco di sei nella fase 1 e una dimensione del blocco di cinque nella fase 2, utilizzando il software SAS (versione

9.4). Il codice di randomizzazione è stato assegnato a ciascun partecipante in sequenza nell'ordine di iscrizione, quindi i partecipanti hanno ricevuto i prodotti in studio etichettati con lo stesso codice. Il vaccino e il placebo sono identici nell'aspetto. Tutti i partecipanti, i ricercatori e il personale di laboratorio sono stati mascherati all'assegnazione del trattamento.

#### Procedure

La sperimentazione clinica di fase 1 è stata eseguita in modo incrementale della dose. In primo luogo, i partecipanti al blocco 1 hanno ricevuto il minimo

dose di vaccino, e solo dopo un'osservazione di sicurezza riuscita 7 giorni dopo la prima dose lo studio è stato in grado di procedere e ai partecipanti al blocco 2 è stata somministrata la dose elevata di vaccino. I criteri che dovevano essere soddisfatti dall'osservazione sulla sicurezza di 7 giorni erano che non si verificano eventi avversi pericolosi per la vita, non più del 15% dei partecipanti vaccinati riporta eventi avversi gravi e nessun altro problema di sicurezza secondo il parere del comitato di monitoraggio dei dati (DMC) si verificano. Le stesse condizioni dovevano essere soddisfatte 7 giorni dopo la prima dose nel blocco 2 dello studio di fase 1 prima che lo studio potesse passare allo studio di fase 2. CoronaVac è un candidato vaccino inattivato contro COVID-19, creato da cellule renali di scimmia verde africana (cellule Vero) che sono state inoculate con SARSCoV-2 (ceppo CN02). Alla fine del periodo di incubazione, il virus è stato raccolto, inattivato con  $\beta$ -propiolattone, concentrato, purificato e infine assorbito su idrossido di alluminio. Il complesso idrossido di alluminio è stato quindi diluito in cloruro di sodio, soluzione salina tamponata con fosfato e soluzione acquosa prima di essere sterilizzato e filtrato pronto per l'iniezione. Il placebo è solo la soluzione diluente di idrossido di alluminio senza virus. Sia il vaccino che il placebo sono stati preparati in una struttura accreditata dalla Good Manufacturing Practice di Sinovac Life Sciences (Pechino, Cina) che viene periodicamente ispezionata dal comitato dell'amministrazione nazionale cinese dei prodotti medici per verificarne la conformità. Vaccino da 3  $\mu$ g e 6  $\mu$ g in 0,5 mL di diluente di idrossido di alluminio per dose e placebo in siringhe pronte per l'uso sono stati somministrati per via intramuscolare secondo il programma di dosaggio del giorno 0 e del giorno 14, o del giorno 0 e del giorno 28, a seconda della coorte. Queste dosi di vaccino si sono rivelate sufficienti per la protezione contro l'infezione da SARS-CoV-2 nei macachi.<sup>15</sup> La tecnologia di coltivazione mediante il sistema di cell factory (CellSTACK Cell Culture Chamber 10, Corning, Wujiang, Cina) è stata utilizzata nella preparazione del vaccino utilizzato nella sperimentazione di fase 1. Tuttavia, per la sperimentazione di fase 2, abbiamo utilizzato un bioreattore altamente automatizzato (ReadyToProcess WAVE 25, GE, Umea, Svezia) per produrre il vaccino per aumentare la capacità di produzione del vaccino. Dopo aver ottenuto i risultati di immunogenicità dello studio, abbiamo scoperto che il cambiamento nella produzione del vaccino ha ottimizzato la coltura cellulare e ha determinato un contenuto proteico di picco intatto più elevato del lotto di vaccino per lo studio di fase 2, il che era inaspettato. Tuttavia, non eravamo a conoscenza di questa differenza del livello di antigene tra i lotti di vaccino per le prove di fase 1 e 2 quando abbiamo ottenuto l'approvazione etica per le prove.

Per i primi 7 giorni dopo ogni dose, ai partecipanti è stato richiesto di registrare gli eventi avversi al sito di iniezione (p. Es., Dolore, arrossamento, gonfiore) o eventi avversi sistemici (p. Es., Reazione allergica, tosse, febbre) su schede di diario cartacee. Dal giorno 8 al giorno 28 dopo ogni dose (e dal giorno 8 al giorno 14 per la prima dose della coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14), i dati di sicurezza sono stati raccolti mediante segnalazione spontanea dei partecipanti combinata con la visita regolare (avvenuta il giorno 8 e 28 giorni dopo ogni dose e il giorno

Per il protocollo vedere [http://www.jscdc.cn/jkw/kygz/202009/t20200930\\_69600.html](http://www.jscdc.cn/jkw/kygz/202009/t20200930_69600.html)

8 e giorno 14 per la prima dose nella coorte del programma di vaccinazione dei giorni 0 e 14). Gli eventi avversi gravi sono stati raccolti durante la sperimentazione e verranno raccolti fino a 6 mesi dopo l'ultima dose. Gli eventi avversi riportati sono stati classificati in base alle linee guida della China National Medical Products Administration.<sup>16</sup>

#### Il causale

l'associazione tra eventi avversi e vaccinazione è stata determinata dai ricercatori.

Nella sperimentazione di fase 1, i campioni di sangue e di urina sono stati prelevati il giorno 3 dopo ogni dose e testati per indagare su eventuali cambiamenti anormali degli indici ematologici e biochimici. 7 giorni dopo ogni dose, sono stati prelevati campioni di sangue e urina per misurare i fattori infiammatori sierici tra cui IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$  utilizzando il metodo ELISA sandwich in fase solida per esplorare le risposte immunitarie patologiche sottostanti. I campioni di sangue sono stati raccolti ai giorni 0 (basale), 7, 14, 21, 28 e 42 dai partecipanti nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14 e nei giorni 0, 28, 35, 42 e 56 dai partecipanti nei giorni 0 e 28 coorte del programma di vaccinazione, per determinare i livelli di anticorpi neutralizzanti, IgG specifici per il dominio recettore (RBD), IgG S-specifici e IgM. Inoltre, le risposte dei linfociti T sono state determinate tramite rilevamento IFN- $\gamma$  il giorno 14 dopo ogni dose.

Nello studio di fase 2, i campioni di sangue sono stati raccolti il giorno 0, 28 e 56 dai partecipanti nella coorte dei giorni 0 e 14, e il giorno 56 dai partecipanti nella coorte dei giorni 0 e 28, per determinare i livelli di anticorpi neutralizzanti e IgG specifiche per RBD.

Gli anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2 (ceppo virale SARS-CoV-2 / umano / CHN / CN1 / 2020, GenBank numero MT407649.1) sono stati quantificati utilizzando un test dell'effetto micro citopatogeno<sup>17</sup> con una diluizione minima di quattro volte e neutralizzando gli anticorpi contro lo pseudovirus<sup>18</sup>

sono stati quantificati con una diluizione minima di dieci volte. Le IgG e IgM specifiche per S sono state rilevate utilizzando il kit qualitativo di chemiluminescenza (Auto Biotechnology, Zhengzhou, Cina). Questi test di rilevamento degli anticorpi sono stati eseguiti dal National Institute for Food and Drug Control (Pechino, Cina).

Inoltre, i titoli anticorpali per IgG RBD-specifici sono stati quantificati utilizzando il kit ELISA interno di Sinovac, con una diluizione minima di 160 volte. La risposta delle cellule T è stata determinata con il metodo ELISpot utilizzando un kit commerciale (Human IFN  $\gamma$  ELISpotPRO [3420-2AST-10, AID]; Mabtech, Stoccolma, Svezia). Ulteriori informazioni su tutti i metodi si trovano nell'appendice 2 (pp 1–3). Inoltre, in un'analisi post-hoc, abbiamo testato campioni di siero di 117 pazienti convalescenti che avevano precedentemente raccolto COVID-19 negli ospedali per neutralizzare gli anticorpi contro la SARS-CoV-2 vivente utilizzando lo stesso metodo utilizzato per la rilevazione degli anticorpi neutralizzanti il siero vivere la SARS-CoV-2 negli studi di fase 1 e 2, per confrontare l'immunità umorale indotta dal vaccino e indotta dall'infezione. Il consenso informato scritto è stato ottenuto da tutti questi pazienti convalescenti.

## Risultati

L'endpoint primario di sicurezza era qualsiasi reazione avversa entro 28 giorni dopo ciascuna dose del farmaco in studio. Gli endpoint secondari di sicurezza erano qualsiasi variazione anormale nelle misurazioni di laboratorio al giorno 3 e nei fattori infiammatori sierici 7 giorni dopo ciascuna dose del farmaco in studio. Gli endpoint secondari di sicurezza sono stati prespecificati solo nello studio di fase 1. L'endpoint immunogenico primario era la sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti contro la SARS-CoV-2 viva al giorno 14 dopo l'ultima dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14, o al giorno 28 dopo l'ultima dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28. Gli endpoint immunogenici secondari erano i titoli medi geometrici (GMT) degli anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 vivi, IgG RBD-specifici, IgG S-specifici e IgM. Gli endpoint esplorativi erano le risposte delle cellule T e, post hoc, le GMT degli anticorpi neutralizzanti contro lo pseudovirus. La sieroconversione degli anticorpi è stata definita come un cambiamento da sieronegativo al basale a sieropositivo o un aumento di quattro volte del titolo se il partecipante era sieropositivo al basale. Il cutoff positivo degli anticorpi neutralizzanti contro il SARS-CoV-2 vivo era 1/8, gli anticorpi neutralizzanti contro lo pseudovirus era 1/30 e l'IgG specifico per RBD era 1/160. Per quanto riguarda la risposta dei linfociti T misurata da ELISpot, i risultati sono stati espressi come numero di cellule che formano punti (SFC) per 100.000 cellule. Altri endpoint secondari sono elencati nell'appendice 2 (p 4), inclusi i risultati a 6 mesi che non sono ancora disponibili, che saranno riportati altrove.

## analisi statistica

Abbiamo valutato gli endpoint di sicurezza nella popolazione di sicurezza, che includeva tutti i partecipanti che hanno ricevuto almeno una dose del farmaco in studio. Abbiamo valutato gli endpoint immunogenici nella popolazione per protocollo, che includeva tutti i partecipanti che hanno completato il programma di vaccinazione a due dosi assegnato e con i risultati degli anticorpi disponibili.

Non abbiamo determinato la dimensione del campione sulla base di un calcolo statistico del potere, ma abbiamo seguito i requisiti della National Medical Products Administration in Cina, ovvero il reclutamento di almeno 20-30 partecipanti nella fase 1 e 500 partecipanti nella fase 2.

Abbiamo utilizzato il test di Pearson  $\chi^2$  o il test esatto di Fisher per l'analisi dei risultati categoriali. Abbiamo calcolato il 95% degli IC per tutti i risultati categoriali utilizzando il metodo Clopper-Pearson. Abbiamo calcolato i GMT e i corrispondenti IC al 95% sulla base della distribuzione normale standard del titolo anticorpale trasformato in log. Abbiamo utilizzato il metodo ANOVA per confrontare il titolo dell'anticorpo trasformato in registro. Quando il confronto tra tutti e tre i gruppi ha mostrato differenze significative, abbiamo quindi effettuato confronti a coppie. Il test delle ipotesi è stato bilaterale e abbiamo considerato significativi i valori di p inferiori a 0,05.

Prima dell'inizio dello studio è stato istituito un comitato indipendente per il monitoraggio dei dati composto da uno statistico indipendente, un medico e un epidemiologo. I dati di sicurezza sono stati valutati e

riesaminato dal comitato per garantire che i criteri di sospensione della parte di aumento della dose della fase 1 non fossero soddisfatti e consentire l'ulteriore procedere della sperimentazione clinica. Abbiamo utilizzato SAS (versione 9.3) per tutte le analisi. Questo studio è registrato con ClinicalTrials.gov, NCT04352608.

**Ruolo della fonte di finanziamento**

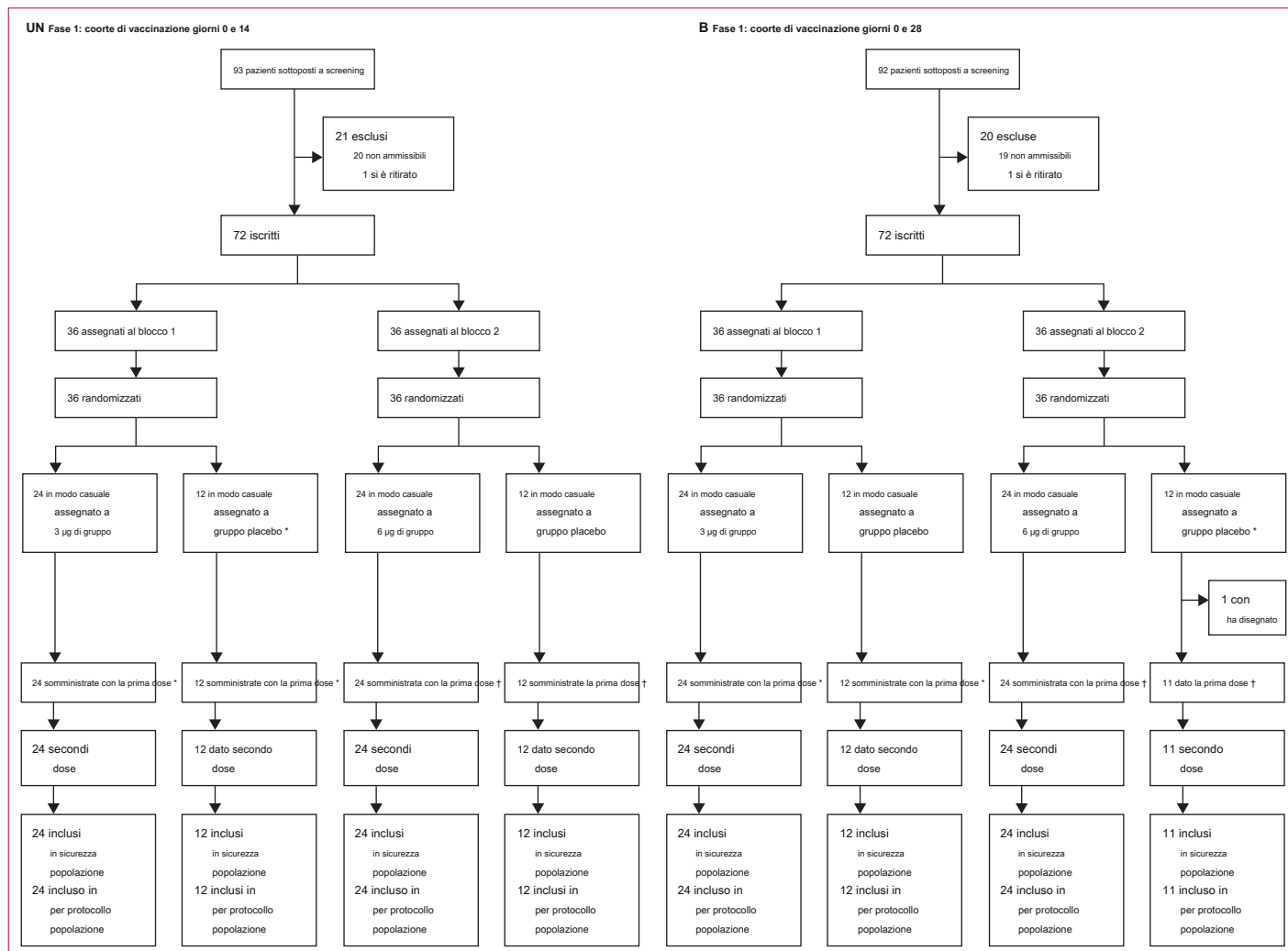
Il finanziatore dello studio non ha avuto alcun ruolo nella progettazione dello studio, nella raccolta dei dati, nell'analisi dei dati, nell'interpretazione dei dati o nella scrittura del rapporto. Tutti gli autori hanno pieno accesso a tutti i dati dello studio e gli autori corrispondenti avevano la responsabilità finale della decisione di presentare per la pubblicazione.

**Risultati**

Tra il 16 e il 25 aprile 2020, 185 individui sono stati sottoposti a screening e 144 partecipanti sono stati arruolati nello studio di fase 1 e tra il 3 e il 5 maggio 2020,

662 persone sono state sottoposte a screening e 600 partecipanti sono stati arruolati nello studio di fase 2. 743 partecipanti hanno ricevuto almeno una dose del prodotto in studio (143 per la fase 1 e 600 per la fase 2) e sono stati inclusi nella popolazione di sicurezza (figura 1). 143 partecipanti alla fase 1 e 591 partecipanti alla fase 2 erano eleggibili per la valutazione immunogenica (popolazione per protocollo; figura 1). Le caratteristiche demografiche di base dei partecipanti alla popolazione di sicurezza al momento dell'arruolamento erano simili tra i gruppi di trattamento in termini di sesso, nazionalità ed età media (tabella 1).

Nello studio di fase 1, l'incidenza complessiva delle reazioni avverse è stata di sette (29%) su 24 partecipanti nel gruppo 3 µg, nove (38%) su 24 nel gruppo 6 µg e due (8%) su 24 nel gruppo placebo nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14; e tre (13%) su 24 nel gruppo 3 µg, quattro (17%) su 24 nel gruppo 6 µg e tre (13%) su 23 nel gruppo placebo nei giorni 0 e 28 della vaccinazione



(La figura 1 continua nella pagina successiva)

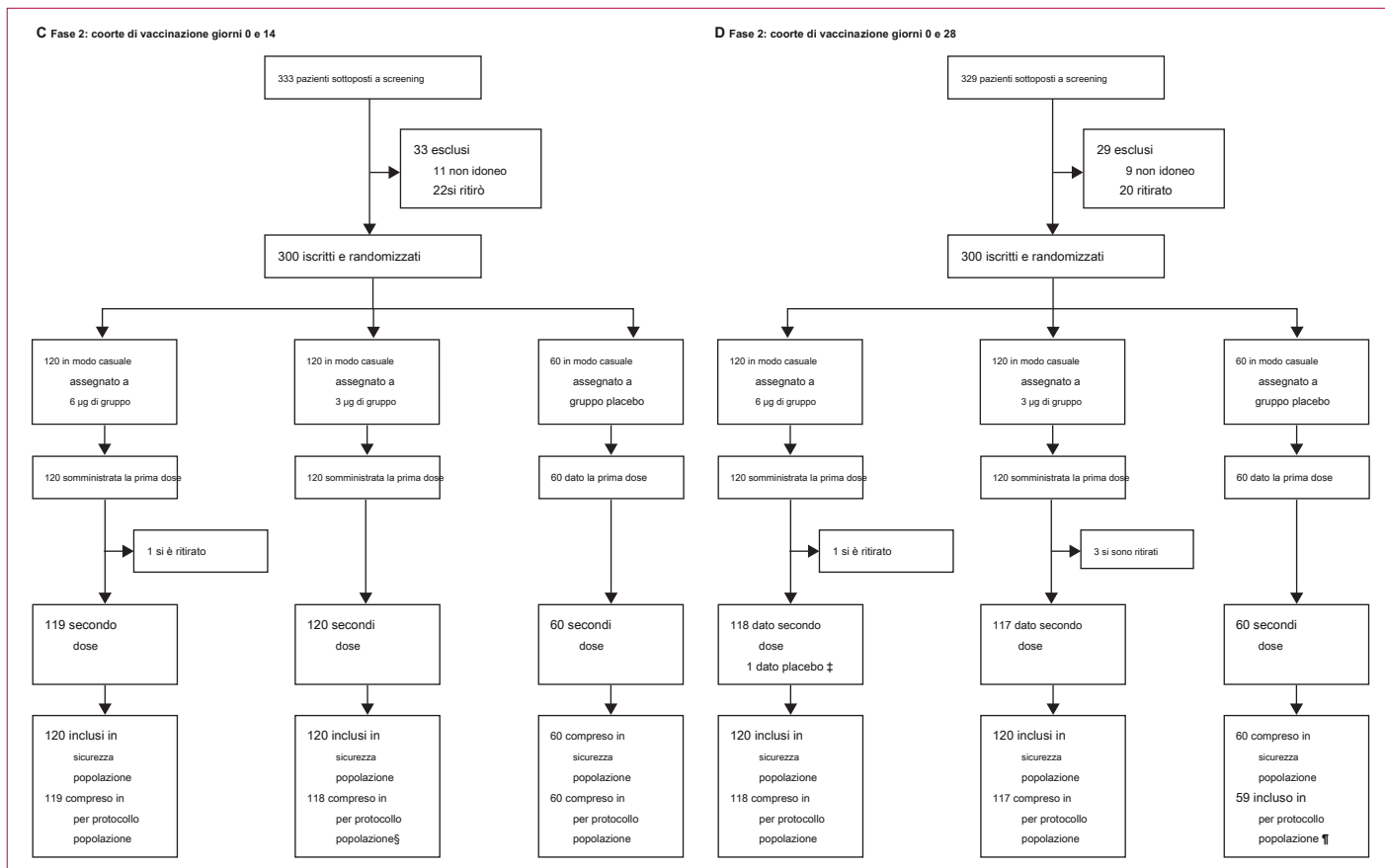


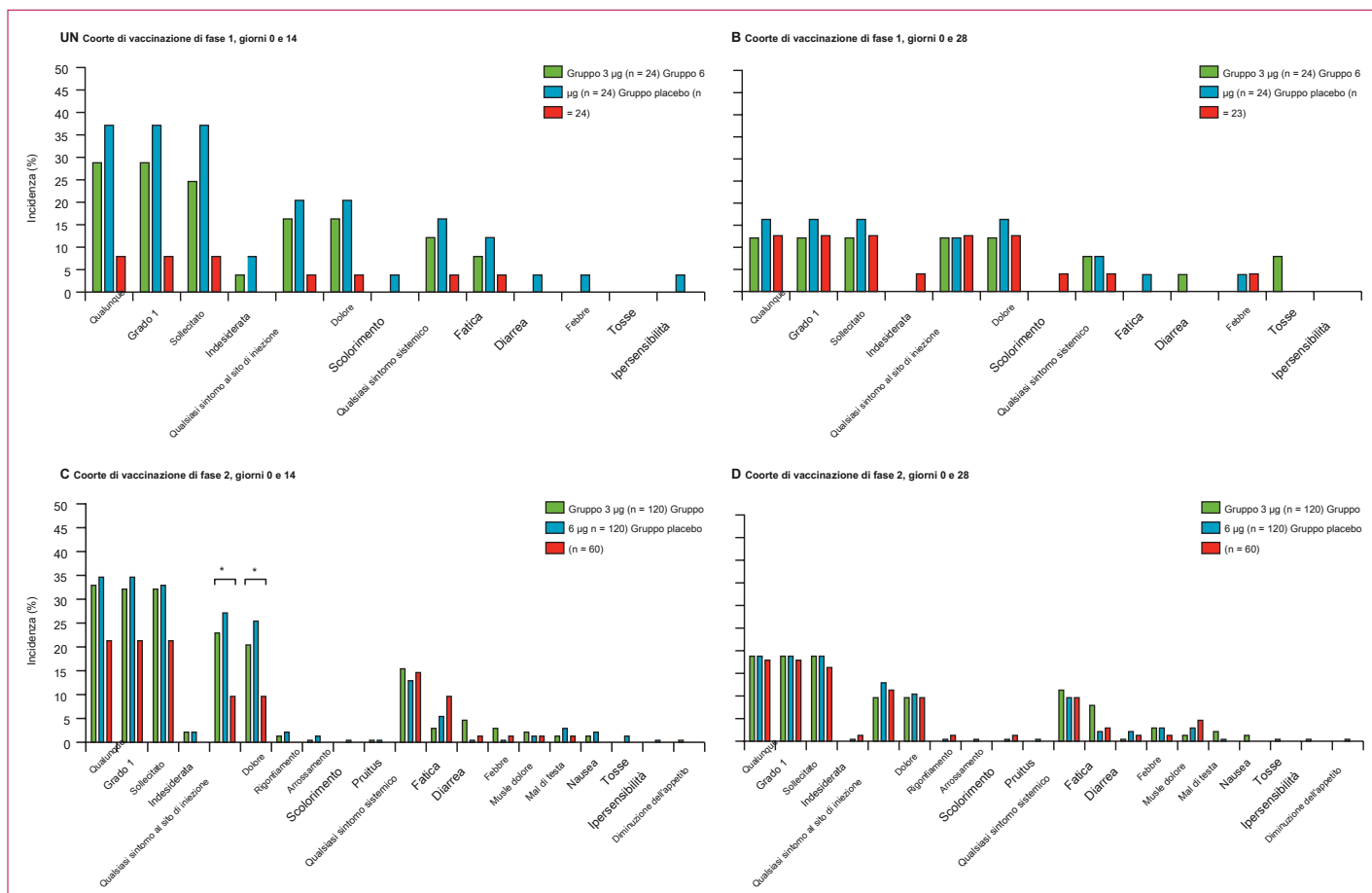
Figura 1: Profilo dello studio

\* 7 giorni dopo la prima dose, è stata effettuata l'osservazione della sicurezza e sono stati soddisfatti i criteri di sicurezza, come determinato dal comitato di monitoraggio dei dati, i partecipanti al blocco 2 hanno ricevuto la loro prima dose di vaccino. † 7 giorni dopo la prima dose del farmaco in studio nel blocco 2, se i criteri di sicurezza sono stati soddisfatti come determinato dal comitato di monitoraggio dei dati, i partecipanti arruolati nella fase 2 hanno iniziato il trattamento in studio. ‡ Un partecipante nel gruppo da 6 µg ha ricevuto erroneamente un placebo invece del vaccino alla seconda dose; pertanto, questo partecipante è stato incluso nel set di dati del gruppo da 6 µg nella valutazione complessiva della sicurezza ma non nell'analisi di immunogenicità. §Due partecipanti non avevano risultati anticorpali disponibili e quindi non sono stati inclusi nell'analisi di immunogenicità. ¶ Un partecipante non aveva risultati disponibili sugli anticorpi e non è stato incluso nell'analisi di immunogenicità.

	3 µg di gruppo	6 µg gruppo	Placebo gruppo	Complessivamente
<b>Coorti di vaccinazione nei giorni 0 e 14, raggruppate</b>				
Partecipanti	144	144	84	372
Sesso				
Femmina	77 (53%)	86 (60%)	44 (52%)	207 (56%)
Maschio	67 (47%)	58 (40%)	40 (48%)	165 (44%)
Nazionalità Han	144 (100%)	144 (100%)	84 (100%)	372 (100%)
Età, anni	42 · 4 (10 · 2)	42,8 (9,0)	42 · 4 (8 · 8)	42 · 6 (9 · 4)
<b>Coorti di vaccinazione nei giorni 0 e 28, raggruppate</b>				
Partecipanti	144	144	83	371
Sesso				
Femmina	75 (52%)	70 (49%)	45 (54%)	190 (51%)
Maschio	69 (48%)	74 (51%)	38 (46%)	181 (49%)
Nazionalità Han	144 (100%)	144 (100%)	83 (100%)	371 (100%)
Età, anni	41,8 (9,4)	41 · 2 (10 · 2)	44 · 1 (9 · 1)	42 · 1 (9 · 7)
I dati sono n, n (%) o media (SD).				

**Tabella 1: Caratteristiche demografiche di base per la popolazione di sicurezza, fasi 1 e 2 combinate**

coorte, senza differenze significative osservate tra i tre gruppi per entrambi i programmi di vaccinazione (figura 2; appendice 2 pagg. 5-6). Il sintomo più comune è stato il dolore al sito di iniezione, segnalato da quattro (17%) partecipanti nel gruppo 3 µg, cinque (21%) nel gruppo 6 µg e uno (4%) nel gruppo placebo nei giorni 0 e 14 coorte di vaccinazione e tre (13%) nel gruppo 3 µg, tre (13%) nel gruppo 6 µg e tre (13%) nel gruppo placebo nei giorni 0 e 28 della coorte di vaccinazione. La maggior parte delle reazioni avverse è stata di gravità lieve (grado 1) e i partecipanti si sono ripresi entro 48 ore. Solo un caso di ipersensibilità acuta con manifestazione di orticaria 48 ore dopo la prima dose del farmaco in studio è stato segnalato nel gruppo 6 µg (uno [4%] su 24) nei giorni 0 e 14 della coorte di vaccinazione, che è stato classificato come grave e considerato possibilmente correlato alla vaccinazione. Il partecipante ha ricevuto clorfenamina e desametasone e si è ripreso entro 3 giorni e non è stata osservata alcuna reazione simile dopo la seconda dose di vaccino. Non sono stati osservati eventi avversi gravi correlati al vaccino entro 28 giorni dalla vaccinazione (figura 2; appendice 2pp 4-5).



**Figura 2:** Incidenza delle reazioni avverse segnalate entro 28 giorni dalla seconda dose del farmaco in studio, nei giorni 0 e 14 della coorte di vaccinazione di fase 1 (A) e di fase 2 (C) e nei giorni 0 e 28 della coorte di vaccinazione nella fase 1 (B) e fase 2 (D)

Le reazioni avverse si riferiscono agli eventi avversi correlati alla vaccinazione. I sintomi rari al sito di iniezione riportati solo nei giorni 0 e 14 della coorte di vaccinazione non sono mostrati nella figura e sono elencati nell'appendice 2 insieme a tutte le reazioni avverse dopo la prima e la seconda dose (pp 4-13). \* Il valore p di confronto tra tre gruppi è significativo per l'incidenza di qualsiasi sintomo al sito di iniezione (p = 0,02) e dolore al sito di iniezione (p = 0,04).

Inoltre, dieci (7%) dei 143 partecipanti alla fase 1 hanno avuto un aumento clinicamente significativo degli indicatori di laboratorio al giorno 3 dopo la vaccinazione (appendice 2, pagg. 15-16), ma nessuno è stato considerato correlato alla vaccinazione. Non sono stati rilevati aumenti significativi dei fattori infiammatori nel siero al giorno 7 dopo ogni dose (appendice 2 pp 17-18).

Al basale, nessuno dei partecipanti allo studio di fase 1 aveva anticorpi neutralizzanti rilevabili contro la SARS-CoV-2 viva. I tassi di sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti erano 11 (46%) su 24 partecipanti nel gruppo 3 µg (GMT 5 · 6 [95% CI 3 · 6–8 · 7]) contro 12 (50%) su 24 partecipanti nel 6 gruppo µg (7 · 7 [5 · 2–11 · 5]) rispetto a nessuno dei 24 partecipanti al gruppo placebo (2 · 0 [2 · 0–2 · 0]) 14 giorni dopo la seconda dose e sei (25%) partecipanti nel gruppo da 3 µg (5 · 4 [3 · 6–8 · 1]) contro 20 (83%) nel gruppo da 6 µg (15 · 2 [11 · 2–20 · 7]) contro nessuno in il gruppo placebo (2 · 0 [2 · 0–2 · 0]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14; e 19 (79%) di 24 partecipanti nel gruppo 3 µg (16 · 0 [10 · 4–24 · 7]) contro 20 (83%) di 24 in

Gruppo da 6 µg (25 · 9 [14 · 6–46 · 1]) contro nessuno dei 23 nel gruppo placebo (2 · 0 [2 · 0–2 · 0]) 14 giorni dopo la seconda dose e 20 (83%) nel gruppo 3 µg (19,0 [13,2–27,4]) contro 19 (79%) nel gruppo 6 µg (29 · 6 [17,9–48,9]) contro uno (4%) nel gruppo placebo (2 · 2 [1 · 8–2 · 8]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28 (tabella 2, figura 3; appendice 2 p 19). delle IgG specifiche per RBD erano 20 (83%) su 24 partecipanti nel gruppo 3 µg (GMT 465,8 [95% CI 277 · 6–781 · 7]) contro 24 (100%) su 24 partecipanti nel gruppo 6 µg (987 · 0 [647 · 8–1504 · 0]) contro due (8%) di 24 partecipanti nel gruppo placebo (84,8 [78 · 0–92 · 1]) a 14 giorni dopo la seconda dose, e 21 (88%) nel gruppo 3 µg (465 · 8 [288 · 1–753 · 1]) contro 24 (100%) nel gruppo 6 µg (1395 · 9 [955 · 2–2039 · 7]) contro due (8%) nel gruppo placebo (89 · 8 [76 · 1–105 · 9]) a 28 giorni dopo la seconda dose nei giorni 0 e 14 della coorte di vaccinazione; e 24 (100%) su 24 partecipanti al 3 µg gruppo (1365 · 1 [881 · 4–2086 · 4]) contro 24 (100%) di 24 partecipanti nel gruppo 6 µg (2152 · 7 [1446 · 1–3204 · 6])

	3 µg di gruppo	6 µg di gruppo	Gruppo placebo	valore p *
<b>Fase 1</b>				
Coorte di vaccinazione nei giorni 0 e 14				
Anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2				
Giorno 14	11/24 (45,8%; 25,6–67,2)	12/24 (50,0%; 29,1–70,9)	0/24 (0 · 0%; 0 · 0–14 · 3)	0 · 77
Giorno 28	6/24 (25,0%; 9,8–46,7)	20/24 (83,3%; 62,6–95,3)	0/24 (0 · 0%; 0 · 0–14 · 3)	<0 · 0001
RBD-IgG				
Giorno 14	20/24 (83,3%; 62,6–95,3)	24/24 (100%; 85 · 8–100)	2/24 (8,3%; 1 · 0–27 · 0)	0 · 11
Giorno 28	21/24 (87,5%; 67,6–97,3)	24/24 (100%; 85 · 8–100)	2/24 (8,3%; 1 · 0–27 · 0)	0 · 23
Coorte di vaccinazione nei giorni 0 e 28				
Anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2				
Giorno 14	19/24 (79,2%; 57,9–92,9)	20/24 (83,3%; 62,6–95,3)	0/23 (0 · 0%; 0 · 0–14 · 8)	1 · 00
Giorno 28	20/24 (83,3%; 62,6–95,3)	19/24 (79,2%; 57,9–92,9)	1/23 (4 · 4%; 0 · 1–22 · 0)	1 · 00
RBD-IgG				
Giorno 14	24/24 (100%; 85 · 8–100)	24/24 (100%; 85 · 8–100)	0/23 (0 · 0%; 0 · 0–14 · 8)	1 · 00
Giorno 28	24/24 (100%; 85 · 8–100)	24/24 (100%; 85 · 8–100)	0/23 (0 · 0%; 0 · 0–14 · 8)	1 · 00
<b>Fase 2</b>				
Coorte di vaccinazione nei giorni 0 e 14				
Anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2				
Giorno 14	109/118 (92,4%; 86,0–96,5)	117/119 (98,3%; 94,1–99,8)	2/60 (3 · 3%; 0 · 4–11 · 5)	0 · 030
Giorno 28	111/118 (94,1%; 88,2–97,6)	117/118 (99,2%; 95,4–100)	0/60 (0 · 0%; 0 · 0–6 · 0)	0 · 066
RBD-IgG				
Giorno 14	111/115 (96,5%; 91,3–99,0)	118/118 (100%; 96 · 9–100)	0/56 (0 · 0%; 0 · 0–6 · 4)	0 · 058
Giorno 28	111/114 (97,4%; 92,5–99,5)	118/118 (100%; 96 · 9–100)	0/57 (0 · 0%; 0 · 0–6 · 3)	0 · 12
Coorte di vaccinazione nei giorni 0 e 28				
Anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2				
Giorno 28	114/117 (97,4%; 92,7–99,5)	118/118 (100%; 96,9–100)	0/59 (0 · 0%; 0 · 0–6 · 1)	0 · 12
RBD-IgG				
Giorno 28	116/117 (99,2%; 95,3–100)	117/117 (100%; 96,9–100)	4/59 (6,8%; 1,9–16,5)	1 · 00
I dati sono n / N (%; IC 95%). I tempi si riferiscono al numero di giorni trascorsi dalla seconda dose di vaccino nel programma. RBD = dominio di legame del recettore. SARS-CoV-2 = sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2. * I valori di p si riferiscono al confronto tra i gruppi da 3 µg e 6 µg.				
<b>Tavola 2: Tassi di sieroconversione di anticorpi neutralizzanti per vivere SARS-CoV-2 e IgG RBD-specifiche</b>				

contro nessuno dei 23 partecipanti (80 · 0 [80 · 0–80 · 0]) nel gruppo placebo a 14 giorni dopo la seconda dose, e 24 (100%) nel gruppo 3 µg (1045 · 7 [721 · 6–1515 · 5]), contro 24 (100%) nel gruppo 6 µg (1917 · 9 [1344 · 8–2735 · 2]) contro nessuno nel gruppo placebo (80,0 [80 · 0–80 · 0]) 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28 (tabella 2, figura 3; appendice 2 p 19). Le modifiche dinamiche di IgG specifiche per RBD, IgG specifiche per S, IgM specifiche per S e anticorpi neutralizzanti contro lo pseudovirus sono mostrate nell'appendice 2 (pagg. 19–23), che mostra

che i livelli di anticorpi non sono aumentati in modo significativo fino a dopo la seconda dose di vaccino.

A 14 giorni dalla seconda dose del farmaco in studio, gli SFC medi IFN-γ-positivi per 100.000 cellule erano 7,4 (IC 95% da 3,9 a 11,1) nel gruppo da 3 µg, 3,9 (1 · Da 0 a 6 · 7) nel gruppo da 6 µg e da 1 · 5 (da 0,2 a 2 · 9) nel gruppo placebo per la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14; e 3 · 4 (da 0,9 a 5 · 7) nel gruppo 3 µg, 1 · 2 (da 0,5 a 1 · 8) nel gruppo da 6 µg e 1 · 2 (da –0 · 1 a 2 · 5) nel gruppo placebo per la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28 (appendice 2, pagg. 25–26).

Nello studio di fase 2, l'incidenza complessiva delle reazioni avverse è stata 40 (33%) su 120 nel gruppo 3 µg, 42 (35%) su 120 nel gruppo 6 µg e 13 (22%) su 60 nel gruppo placebo per la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14 e 23 (19%) di 120 nel gruppo 3 µg, 23 (19%) di 120 nel gruppo 6 µg e 11 (18%) di 60 nel gruppo placebo nei giorni Coorte di vaccinazione 0 e 28, senza differenze significative tra i tre gruppi per entrambi i programmi. Tuttavia, il valore p di confronto tra i tre gruppi era significativo per l'incidenza di qualsiasi sintomo al sito di iniezione (p = 0,02) e dolore al sito di iniezione (p = 0,04; figura 2; appendice 2 pp 7–10). Il sintomo più comune era il dolore al sito di iniezione, che si è verificato in 25 (21%) 120 partecipanti nel gruppo 3 µg, 31 (26%) su 120 nel gruppo 6 µg e sei (10%) su 60 nel gruppo placebo per la coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14 e 12 (10%) di 120 nel gruppo da 3 µg, 13 (11%) di 120 nel gruppo da 6 µg e sei (10%) di 60 nel gruppo del placebo nei giorni 0 e 28 coorte di vaccinazione. La maggior parte delle reazioni avverse è stata di gravità lieve (grado 1) e i partecipanti si sono ripresi entro 48 ore. Non sono stati osservati eventi avversi gravi correlati al vaccino entro 28 giorni dalla seconda dose di vaccino (figura 2; appendice 2 pagg. 7–10).

Nello studio di fase 2, al basale, nessuno dei partecipanti aveva anticorpi neutralizzanti rilevabili. I tassi di sieroconversione degli anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 vivi erano 109 (92%) di 118 partecipanti nel gruppo 3 µg (GMT 27 · 6 [95% CI 22 · 7–33 · 5]) contro 117 (98%) di 119 partecipanti nel gruppo 6 µg (34 · 5 [28 · 5–41 · 8]) contro due (3%) di 60 partecipanti nel gruppo placebo (2 · 3 [2 · 0–2 · 5]) a 14 giorni dopo la seconda dose e 111 (94%) di 118 nel gruppo da 3 µg (23,8 [20 · 5–27 · 7]) contro 117 (99%) di 118 nel gruppo da 6 µg (30 · 1 [26 · 1–34 · 7]) contro nessuno di 60 nel gruppo placebo (2 · 0 [2 · 0–2 · 0]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione del giorno 0 e 14; e 114 (97%) di 117 partecipanti nel gruppo 3 µg (44 · 1 [37 · 2–52 · 2]) contro 118 (100%) di 118 partecipanti nel gruppo 6 µg (65 · 4 [56 · 4– 75,9]) rispetto a nessuno dei 59 partecipanti al gruppo placebo (2 · 0 [2 · 0–2 · 1]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28 (tabella 2, figura 3) Nelle analisi post-hoc, i titoli anticorpali neutralizzanti dopo la seconda dose di vaccino erano inferiori in tutti i partecipanti formiche che hanno ricevuto il vaccino rispetto a quanto rilevato in 117 pazienti asintomatici convalescenti che avevano precedentemente avuto COVID-19



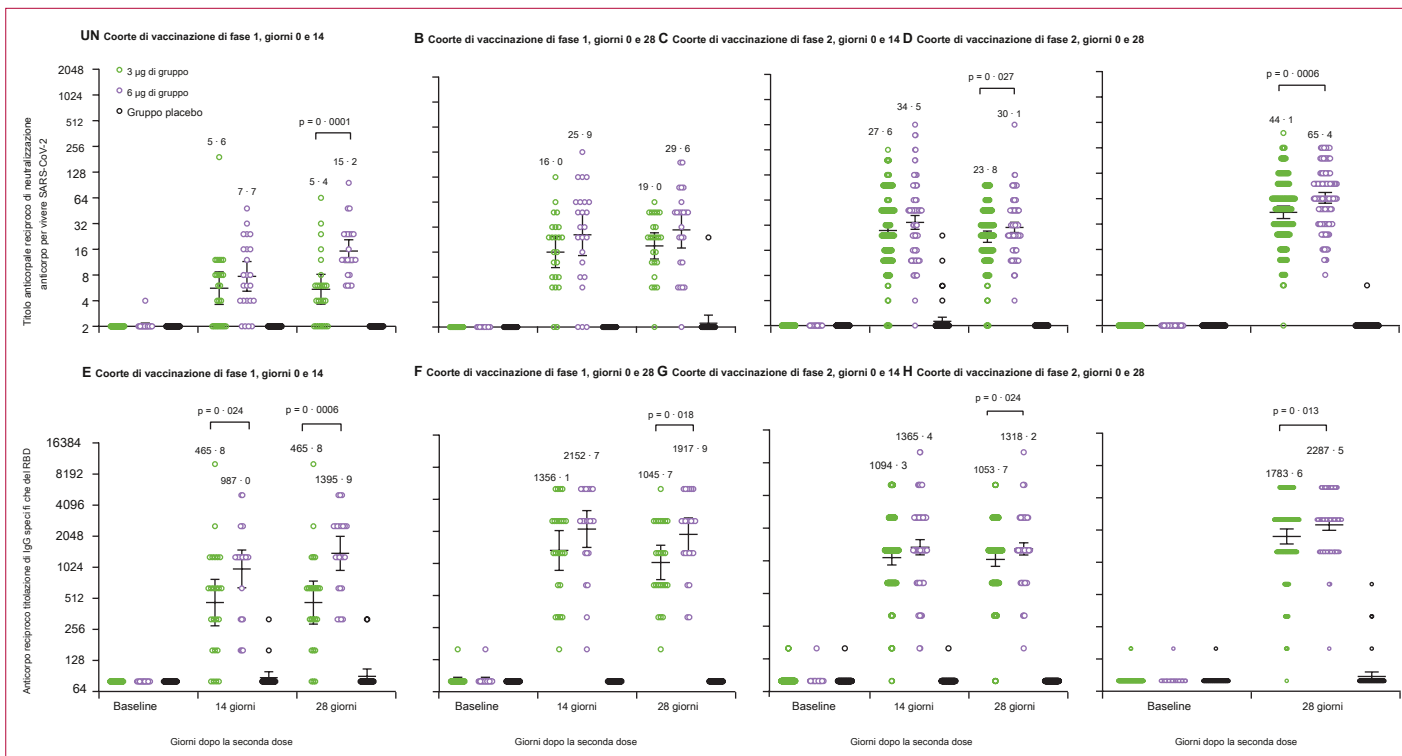


Figura 3: Titoli anticorpali di anticorpi neutralizzanti contro SARS-CoV-2 (A – D) e IgG specifici per RBD (E – H) indotti dopo due dosi di CoronaVac o placebo somministrati nei giorni 0 e 14 e nei giorni 0 e 28 coorti di vaccinazione, nelle prove di fase 1 e fase 2

Le barre di errore indicano il 95% CI del GMT e le macchie indicavano i titoli anticorpali individuali, con i numeri sopra le macchie che mostrano la stima GMT. Nella figura sono mostrati solo i valori p per differenze significative, tutti i valori p per tutti i dati sono nell'appendice 2 (p 19). GMT = titolo medio geometrico. RBD = dominio di legame del recettore. SARS-CoV-2 = sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2.

(GMT 163 · 7 [95% CI 128 · 5–208 · 6]; tabella 2, figura 3; appendice 2 p 24). I tassi di sieroconversione delle IgG specifiche per RBD erano 111 (97%) di 115 partecipanti nel gruppo da 3 µg (GMT 1094,3 [IC 95% 936 · 7–1278 · 4]) contro 118 (100%) di 118 partecipanti in il gruppo da 6 µg (1365 · 4 [1160 · 4–1606 · 7]) rispetto a nessuno dei 56 partecipanti nel gruppo placebo (81,0 [79 · 0–83 · 0]) 14 giorni dopo la seconda dose e 111 (97%) di 114 nel gruppo 3 µg (1053 · 7 [911 · 7–1217 · 7]) contro 118 (100%) di 118 nel gruppo 6 µg (1318 · 2 [1156 · 9–1501 · 9]) contro nessuno dei 57 nel gruppo placebo (80,0 [80 · 0–80 · 0]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 14; e 116 (99%) di 117 nel gruppo 3 µg (1783 · 6 [1519 · 3–2093 · 8]) contro 117 (100%) di 117 nel gruppo 6µ (2287 · 5 [2038 · 2–2567 · 3]) contro quattro (7%) su 59 nel gruppo placebo (87 · 9 [79 · 7–96 · 9]) a 28 giorni dopo la seconda dose nella coorte di vaccinazione dei giorni 0 e 28 (tabella 2, figura 3).

Sulla base dei dati aggregati degli studi di fase 1 e 2 (due coorti di vaccinazione raggruppate), il coefficiente di correlazione tra l'anticorpo neutralizzante per SARSCoV-2 vivo e l'IgG specifico per RBD era 0,85 (IC 95% 0,82-0 · 92) utilizzando il titolo anticorpale a 28 giorni dopo la seconda dose di vaccino ed era 0,80 (0,75-0,86) utilizzando il titolo 14 giorni dopo la seconda. Il coefficiente di correlazione tra l'anticorpo neutralizzante per vivere SARS-CoV-2 e l'anticorpo neutralizzante per

lo pseudovirus era 0,82 (0,76-0,88) usando il titolo anticorpale 14 giorni dopo la seconda dose (nessun dato preso al giorno 28). Il coefficiente di correlazione tra l'anticorpo neutralizzante contro lo pseudovirus e l'IgG specifico per RBD era 0,73 (0,66-0,80) utilizzando il titolo anticorpale 14 giorni dopo la seconda dose (nessun dato preso al giorno 28; appendice 2 p 24 ).

**Discussione**

Abbiamo scoperto che due dosi di CoronaVac a diverse concentrazioni e utilizzando diversi schemi di dosaggio erano ben tollerate e moderatamente immunogeniche negli adulti sani di età compresa tra 18 e 59 anni. L'incidenza delle reazioni avverse nel gruppo 3 µg e 6 µg è risultata simile, indicando che non ci sono problemi di sicurezza correlati al dosaggio, ma è necessario un follow-up più a lungo termine. Inoltre, la maggior parte delle reazioni avverse è stata lieve, con i sintomi più comuni che sono stati il dolore al sito di iniezione, che è in accordo con i risultati precedenti per un altro vaccino COVID-19 inattivato di Sinopharm (Pechino, Cina). «Rispetto ad altri vaccini candidati COVID-19, come i vaccini a vettore virale o i vaccini a DNA o RNA, la presenza di febbre dopo la vaccinazione con CoronaVac era relativamente bassa.<sup>10,11,13</sup>

Nel corso della sperimentazione di fase 1/2, abbiamo modificato il processo di produzione del vaccino dall'uso di un processo di fabbrica cellulare (che è stato utilizzato nel nostro processo preclinico e

studio di fase 1 per generare una coltura da 50 L di cellule Vero) per l'uso di un bioreattore per la fase 2. Il processo del bioreattore ha consentito di ottimizzare il processo per la crescita delle cellule, con un controllo preciso sui parametri della coltura cellulare come ossigeno disciolto, pH e carbonio livelli di anidride carbonica e ossigeno. Abbiamo apportato questa modifica per aumentare la capacità di produzione di vaccini e soddisfare i requisiti di biosicurezza. I dati preclinici per ciascuna sperimentazione di fase (dati non mostrati) hanno indicato che i profili di sicurezza dei vaccini preparati tramite il nuovo processo bioreattore e il vecchio processo sono simili. In particolare, le risposte immunitarie nella fase 2 sono state molto migliori di quelle registrate nella fase 1, con tassi di sieroconversione superiori al 90% in entrambi i gruppi da 3 µg e 6 µg. Per indagare la ragione di questo cambiamento, abbiamo effettuato un'analisi della composizione proteica dei virioni SARS-CoV-2 inattivati purificati e abbiamo scoperto che il vaccino prodotto dal bioreattore aveva una ridondanza maggiore di proteina spike intatta (massa molecolare circa 180 kDa) rispetto al vaccino prodotto tramite il processo di cell factory (appendice 2 p 27). L'analisi quantitativa ha mostrato che la proteina spike intatta rappresentava circa il 3,7% della massa proteica totale del vaccino utilizzato nella fase 1 e circa il 7,0% della massa proteica totale del vaccino utilizzato negli studi di fase 2. L'esame al microscopio elettronico dei campioni ha ulteriormente verificato che il numero medio di picchi per virione del campione virale utilizzato nello studio di fase 2 era quasi il doppio del numero di picchi per virione del campione utilizzato nello studio di fase 1 (appendice 2 p 27). Queste osservazioni evidenziano l'importanza di sviluppare un processo di produzione ottimale e l'integrazione di tecniche multidisciplinari, come la genomica e la biologia strutturale, per supportare una nuova era di vaccinologia di precisione. La risposta immunitaria indotta da 3 µg e 6 µg di vaccino in 0,5 ml di diluente per dose è stata simile in questo studio. Come anticipato, dopo due dosi di vaccino, le risposte immunitarie indotte dal programma di vaccinazione dei giorni 0 e 28 erano maggiori di quelle indotte dal programma di vaccinazione dei giorni 0 e 14, indipendentemente dalla dose. Tuttavia, risposte anticorpali rapide potrebbero essere indotte in un tempo relativamente breve utilizzando un programma di vaccinazione di giorno 0 e 14, che potrebbe essere adatto per l'uso di emergenza ed è di vitale importanza durante la pandemia COVID-19. Per quanto riguarda il programma di vaccinazione dei giorni 0 e 28, è stata generata una risposta anticorpale più robusta e ci si poteva aspettare una persistenza più lunga rispetto al programma dei giorni 0 e 14, che supporta il potenziale uso di routine del vaccino secondo questo programma quando il rischio epidemico di COVID-19 è basso. Tuttavia, l'effettiva persistenza immunitaria dei due programmi deve essere verificata in studi futuri.

Nello studio di fase 2, il livello di anticorpi neutralizzanti inclusi dal vaccino al giorno 28 dopo l'ultima dose di vaccino variava da un GMT di 23,8 a 65,4, a seconda del programma di vaccinazione, che era inferiore a quello del convalescente pazienti che avevano precedentemente COVID-19 con un livello GMT medio di 163,7, testati con lo stesso metodo nello stesso laboratorio.<sup>19</sup> Tuttavia, ci pensiamo ancora

che CoronaVac potrebbe fornire una protezione soddisfacente contro COVID-19 sulla base dei seguenti tre motivi. Innanzitutto, dalle esperienze di altri vaccini, come l'enterovirus 71 e i vaccini contro la varicella, la maggior parte degli endpoint surrogati basati sui titoli anticorpali neutralizzanti variava da 8 a 24.<sup>20,21</sup> In secondo luogo, il nostro studio preclinico<sup>18</sup> ha indicato che i titoli anticorpali neutralizzanti di 1/24 indotti nei modelli di macaco conferivano una protezione completa contro SARS-CoV-2. In terzo luogo, sebbene diversi studi abbiano scoperto che le risposte anticorpali generate dall'infezione naturale con coronavirus (p. Es., SARSCoV-2, coronavirus sindrome respiratoria acuta grave e coronavirus sindrome respiratoria mediorientale) potrebbero diminuire sostanzialmente nel tempo,<sup>22-24</sup> è stata raramente segnalata reinfezione in questi pazienti,<sup>25-27</sup> che indica che la memoria immunologica potrebbe avere un ruolo importante nella prevenzione delle reinfezioni. Pertanto, il livello di anticorpi stesso potrebbe non essere la chiave per un vaccino COVID-19 di successo, ma piuttosto l'istituzione di una risposta immunitaria specifica richiamabile a SARS-CoV-2. Inoltre, l'efficacia del vaccino sperimentale e il suo endpoint surrogato devono essere determinati in un futuro studio di fase 3. Inoltre, la comparabilità dei nostri risultati sugli anticorpi sierici con quelli di altri studi sul vaccino COVID-19 è limitata. Due partecipanti nel gruppo placebo nello studio di fase 1 e quattro nel gruppo placebo nello studio di fase 2 hanno avuto sieroconversione di IgG anti-RBD dopo la vaccinazione, e un partecipante ha ricevuto placebo nello studio di fase 1 e due nello studio di fase 2 hanno avuto sieroconversione di anticorpi neutralizzanti dopo la vaccinazione.

CoronaVac è stato ben tollerato e ha indotto risposte umorali contro SARS-CoV-2, che ha supportato l'approvazione dell'uso di emergenza di CoronaVac in Cina, e tre studi clinici di fase 3 in corso in Brasile (NCT04456595), Indonesia (NCT04508075) e Turchia (NCT04582344). Tenendo conto della sicurezza, dell'immunogenicità e della capacità di produzione, la bassa dose di 3 µg di CoronaVac in 0,5 mL di diluente, con un programma di vaccinazione di giorno 0 e 14, è oggetto di studio in questi studi in corso. E il programma di vaccinazione dei giorni 0 e 28 con 3 µg di Coronavac in 0,5 mL di diluente sarà studiato anche in futuri studi clinici di fase 3. L'efficacia protettiva di CoronaVac resta da determinare.

Il nostro studio ha avuto molte limitazioni. Innanzitutto, non abbiamo valutato le risposte delle cellule T nello studio di fase 2; tuttavia, la risposta dei linfociti T helper di tipo 1 e dei linfociti T helper di tipo 2 indotta da CoronaVac sarà studiata nello studio di fase 3 in corso in Brasile (NCT04456595). In secondo luogo, abbiamo riportato solo dati sulla risposta immunitaria per adulti sani e non includevamo individui di gruppi più suscettibili nella nostra popolazione di studio (p. Es., Individui più anziani [di età ≥60 anni] o con comorbidità); e non sono ancora disponibili dati sulla persistenza immunitaria, che devono essere ulteriormente studiati. Terzo, i valori p calcolati presentati in questo studio non possono supportare alcuna conclusione statistica potente e sono solo per riferimento e così via

dovrebbe essere interpretato con cautela. Inoltre, le risposte delle cellule T misurate da ELISpot erano basse nei partecipanti a cui è stato somministrato il vaccino, il che non ha fornito prove chiare che il vaccino inducesse le risposte delle cellule T. La valutazione delle reazioni immunitarie mediate dalle cellule CD8 non è stata inclusa nel disegno del nostro studio, perché non si ritiene che i vaccini inattivati inducano le risposte delle cellule T CD8. Infine, il cambiamento nella produzione dei lotti di vaccini per la sperimentazione di fase 2 ha portato a un livello più elevato dell'antigene spike contenuto nel vaccino rispetto a quello utilizzato nella sperimentazione di fase 1. Sebbene il cambiamento nel processo di produzione fosse pianificato, la differenza di antigenicità dei vaccini non era prevista e potrebbe potenzialmente comportare rischi aggiuntivi per i destinatari del vaccino. Fortunatamente, i profili di sicurezza dei vaccini negli studi di fase 1 e 2 erano simili, sebbene i vaccini per lo studio di fase 2 avessero un'immunogenicità sostanzialmente più forte rispetto ai vaccini per lo studio di fase 1. Tuttavia, anche i confronti tra i lotti di vaccino non erano un risultato definito a priori o sufficientemente potenziati.

In sintesi, CoronaVac è stato ben tollerato e ha indotto risposte umorali contro SARS-CoV-2, che ha sostenuto l'approvazione dell'uso di emergenza di CoronaVac in Cina e in tre studi di fase 3. L'efficacia protettiva di CoronaVac resta da determinare.

#### Contributori

YZ, GZ, HP e CL sono stati i primi autori di questo manoscritto. FZ era l'investigatore principale e HP era l'investigatore principale di questo studio. FZ, GZ, RT e QG hanno progettato il protocollo di prova e studio. YZ, YaH e WH hanno contribuito alla ricerca della letteratura. Tutti gli autori avevano accesso ai dati e GZ, FZ e HP hanno verificato i dati. WH, JL, XW hanno scritto la prima bozza del manoscritto. FZ, YZ, GZ, WY, YaH e MY hanno contribuito all'interpretazione dei dati e alla revisione del manoscritto. YuH ha monitorato il processo. XC, XL, CJ e YS erano responsabili del lavoro sul sito, incluso il reclutamento, il follow-up e la raccolta dei dati, e KC era il coordinatore del sito. CL e ZC erano responsabili delle analisi di laboratorio.

#### Dichiarazione di interessi

QG è un dipendente di Sinovac Life Sciences. GZ, YaH, WH, WY e YuH sono dipendenti di Sinovac Biotech. Tutti gli altri autori non dichiarano interessi in competizione.

#### Condivisione dei dati

I dati a livello di singolo partecipante che sono alla base dei risultati riportati in questo articolo saranno condivisi dopo la deidentificazione (testo, tabelle, figure e appendici). Questa sperimentazione clinica è in corso e tutti i dati dei singoli partecipanti non possono essere disponibili fino a quando non sono state effettuate le valutazioni della persistenza immunitaria. I dati saranno disponibili immediatamente dopo la pubblicazione e la finalizzazione del rapporto completo dello studio clinico per almeno 6 mesi. I documenti clinici di supporto, inclusi il protocollo dello studio, il piano di analisi statistica e il modulo di consenso informato, saranno disponibili immediatamente dopo la pubblicazione di questo articolo per almeno 1 anno. Le informazioni su come accedere ai documenti clinici di supporto sono disponibili online. I ricercatori che forniscono una proposta scientificamente valida sarà autorizzato ad accedere ai dati dei singoli partecipanti non identificati. Le proposte devono essere inviate agli autori corrispondenti, a jszfc@vip.sina.com o gaoq@sinovac.com. Queste proposte saranno riviste e approvate dallo sponsor, dallo sperimentatore e dai collaboratori sulla base del merito scientifico. Per ottenere l'accesso, i richiedenti di dati dovranno firmare un contratto di accesso ai dati.

#### Ringraziamenti

Questo studio è stato finanziato dal National Key Research and Development Program (2020YFC0849600) e dal Beijing Science and Technology Program (Z201100005420023).

#### Riferimenti

- Walker PGT, Whittaker C, Watson OJ, et al. L'impatto di COVID-19 e strategie per la mitigazione e la soppressione nei paesi a basso e medio reddito. *Scienza* 2020; **369**: 413–22.
- CHI. Rapporto sulla situazione della malattia da coronavirus (COVID-19) - 163. Ginevra: Organizzazione mondiale della sanità, 2020. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situazione-reports/20200701-covid-19-sitrep-163.pdf?Sfvrn=c202f05b\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situazione-reports/20200701-covid-19-sitrep-163.pdf?Sfvrn=c202f05b_2) (visitato il 2 novembre 2020).
- Flaxman S, Mishra S, Gandy A, et al. Stima degli effetti di interventi non farmaceutici su COVID-19 in Europa. *Natura* 2020; **584**: 257–61.
- Sanche S, Lin YT, Xu C, Romero-Severson E, Hengartner N, Ke R. Alta contagiosità e rapida diffusione della sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2. *Emerg Infect Dis* 2020; **26**: 1470–77.
- CHI. Bozza del panorama dei vaccini candidati COVID-19. Ginevra: Organizzazione mondiale della sanità, 19 ottobre 2020. <https://www.who.int/publicazioni/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (accesso 28 ottobre 2020).
- Vaccini Krammer F. SARS-CoV-2 in fase di sviluppo. *Natura* 2020; **586**: 516–27.
- Callaway E. La corsa ai vaccini contro il coronavirus: una guida grafica. *Natura* 2020; **580**: 576–77.
- Corey L, Mascola JR, Fauci AS, Collins FS. Un approccio strategico alla ricerca e sviluppo del vaccino COVID-19. *Scienza* 2020; **368**: 948–50.
- Graham BS. Sviluppo rapido del vaccino COVID-19. *Scienza* 2020; **368**: 945–46.
- Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, et al. Un vaccino mRNA contro SARS-CoV-2 - rapporto preliminare. *N Engl J Med* 2020; pubblicato il 14 luglio. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2022483>.
- Zhu FC, Li YH, Guan XH, et al. Sicurezza, tollerabilità e immunogenicità di un vaccino COVID-19 ricombinante adenovirus di tipo 5 vettoriale: uno studio clinico in aperto, non randomizzato, con aumento della dose. *Lancetta* 2020; **395**: 1845–54.
- Xia S, Zhang Y, Wang Y, et al. Sicurezza e immunogenicità di un vaccino inattivato SARS-CoV-2, BBIBP-CorV: uno studio di fase 1/2 randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo. *Lancet Infect Dis* 2020; pubblicato online il 15 ottobre. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30831-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30831-8).
- Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Sicurezza e immunogenicità del vaccino ChAdOx1 nCoV-19 contro SARS-CoV-2: un rapporto preliminare di uno studio controllato randomizzato di fase 1/2, in singolo cieco. *Lancetta* 2020; **396**: 467–78.
- Xia S, Duan K, Zhang Y, et al. Effetto di un vaccino inattivato contro SARS-CoV-2 sugli esiti di sicurezza e immunogenicità: analisi ad interim di 2 studi clinici randomizzati. *JAMA* 2020; **324**: 951–60.
- Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Qin C. Sviluppo di un candidato vaccino inattivato per SARS-CoV-2. *Scienza* 2020; **369**: 77–81.
- Linee guida per la classificazione degli standard di eventi avversi negli studi clinici di vaccini preventivi. China National Medical Products Administration, 2019. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qjggtg/2019123111901460.html> (accesso 3 novembre 2020).
- Li P, Liang Z, Gao Q, et al. Sicurezza e immunogenicità di un nuovo vaccino per l'enterovirus umano 71 (EV71): uno studio clinico di fase I randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco. *Vaccino* 2012; **30**: 3295–303.
- Nie J, Li Q, Wu J, et al. Istituzione e convalida di un test di neutralizzazione dello pseudovirus per SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect* 2020; **9**: 680–86.
- Wang X, Guo X, Xin, et al. Neutralizzare le risposte anticorpali alla sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 nella malattia da coronavirus 2019 in pazienti ricoverati e convalescenti. *Clin Infect Dis* 2020; pubblicato online il 4 giugno. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa721>.
- Hao B, Chen Z, Zeng G, et al. Efficacia, sicurezza e immunogenicità del vaccino contro la varicella vivo attenuato in bambini sani in Cina: studio clinico in doppio cieco, randomizzato, controllato con placebo. *Clin Microbiol Infect* 2019; **25**: 1026–31.
- Jin P, Li J, Zhou Y, et al. Endpoint immunologici surrogati per valutare l'efficacia del vaccino. *Chin J Prev Med* 2015; **49**: 1110–14 (in cinese).
- Chen W, Xu Z, Mu J, et al. Risposta anticorpale e viremia durante il decorso dell'infezione da coronavirus associata alla sindrome respiratoria acuta grave (SARS). *J Med Microbiol* 2004; **53**: 435–38.

Per informazioni su come accedere al documento vedere <http://www.jshealth.com/>

- 23 Prévost J, Gasser R, Beaudoin-Bussièrès G, et al. Valutazione trasversale delle risposte umorali contro il picco di SARS-CoV-2. *Cell Rep Med* 2020; **1**: 100126.
- 24 Payne DC, Iblan I, Rha B, et al. Persistenza degli anticorpi contro il coronavirus della sindrome respiratoria mediorientale. *Emerg Infect Dis* 2016; **22**: 1824-26.
- 25 Zhang K, Lau JY-N, Yang L, Ma ZG. Reinfezione da SARS-CoV-2 in due pazienti che si sono ripresi da COVID-19. *Precis Clin Med* 2020; pubblicato online il 4 settembre. <https://doi.org/10.1093/pcmedi/pbaa031>.
- 26 Chan PKS, Lui G, HachimA, et al. Risposte sierologiche in adulti sani con reinfezione da SARS-CoV-2, Hong Kong, agosto 2020. *Emerg Infect Dis* 2020; pubblicato online il 22 ottobre <https://doi.org/10.3201/eid2612.203833>.
- 27 Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, et al. Una revisione sistematica dell'immunità mediata da anticorpi ai coronavirus: cinetica, correlati di protezione e associazione con la gravità. *Nat Commun* 2020; **11**: 4704.