

**DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES CLÍNICAS & EVALUACIÓN DE IMPACTO****PROTOCOLO DE ENSAYO CLÍNICO**

“Estudio Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1A anti SARS-CoV-2, en convalecientes de COVID-19”

SOBERANA PLUS**Versión 1.0****IFV/COR/11****Marzo 2021**

CONTENIDO

RESUMEN.....	5
I: INFORMACIÓN GENERAL	6
Título:	6
Código de identificación del protocolo:.....	6
Versión:	6
Fase de investigación:	6
Centro Promotor:	6
Investigador Promotor:	6
Representante del Promotor:	6
Monitores:	6
Experto médico del Promotor:	6
Experto sobre asuntos regulatorios del Promotor:.....	7
Investigador Principal:	7
Investigadores en los Centros Participantes: (Ver ANEXO I).....	7
Lista de sitios participantes:	7
Comité de Ética de las Investigaciones:.....	8
II: LISTADO DE ACRÓNIMOS Y DEFINICIONES DE TÉRMINOS.....	9
Abreviaturas y acrónimos:	9
IV: OBJETIVOS DEL ENSAYO	14
Objetivo General:	14
Objetivos Específicos:.....	14
Hipótesis de trabajo.	14
Consideraciones éticas generales de la investigación.....	15
Justificación de las determinaciones en el estudio.	16
Revisiones y Aprobaciones del protocolo del ensayo:.....	18
Preparación adecuada para enfrentar posibles eventos adversos y garantía de la seguridad de los sujetos.	18
Responsabilidades éticas de todos los participantes en la investigación:.....	19
Información a los sujetos.	19
VI: DISEÑO DEL ESTUDIO	21
VII: SELECCIÓN DE LOS SUJETOS	23
Universo de estudio.	23
Criterios de inclusión.	23
Criterios de exclusión.	23
Criterios de Salida.....	24

VIII. TRATAMIENTO	25
Grupos de tratamiento, fortalezas, vía de administración, volumen a administrar, esquema.	25
Forma de presentación de los medicamentos, composición y conservación.	26
Medidas para garantizar la seguridad en la manipulación de los productos y procedimientos para el suministro.	27
Conservación del Producto de investigación.	27
Conducta a seguir con los bulbos utilizados del Producto en Investigación.	28
Aleatorización y asignación a los tratamientos.	28
Técnica empleada para el enmascaramiento y acceso al código del ensayo.	28
Medidas para comprobar el cumplimiento del tratamiento.	28
Tratamiento concomitante.	29
Criterios de interrupción del estudio:	29
Criterio de Parada del estudio.	30
Forma de actuación e información en caso de abandono o exclusión de alguno de los sujetos incluidos.	30
Seguimiento de los sujetos.	30
IX. EVENTOS ADVERSOS	31
Generalidades de Eventos Adversos.	31
Eventos Adversos Solicitados.	32
Eventos Adversos Solicitados locales (sitio de inyección).	32
Eventos Adversos sistémicos.	35
Evaluación de los Eventos Adversos no solicitados.	36
Periodicidad y método de las mediciones de los Eventos Adversos	36
Conducta a seguir frente a los Eventos Adversos.	37
Evaluación de cualquier Evento Adverso.	38
Evaluación de la causalidad de los EA.	38
Requerimientos para la notificación y reporte de Eventos Adversos Graves e Inesperados.	39
Información sobre la apertura prematura de códigos.	40
X. EVALUACION DE LA RESPUESTA	40
Variables de respuesta:	40
XI. RECOLECCIÓN Y MANEJO DE DATOS	45
Manejo de datos y procedimientos para conservar la información.	45
XII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
Número de individuos planeados. Justificación del tamaño de muestra.	45
A) Análisis exploratorio.	48
B) Análisis confirmatorio.	50

C) Procedimientos para diagnosticar y explicar datos perdidos (missing) o extremos (outliers).....	52
D) Análisis Beneficio-Riesgo.	52
XIII: CONSIDERACIONES PRÁCTICAS.....	53
Deberes y responsabilidades:	56
Cuestiones sobre confidencialidad.....	67
XIV: PLAN DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD.....	68
Programa de Monitoreo y Auditorías a los Sitios del Ensayo.	68
Programa de Visitas de Control de Calidad.	68
XV: ASEGURAMIENTO Y ASPECTOS LEGALES.....	68
Aseguramiento de recursos indispensables.....	68
Actividades previas al inicio del ensayo:	69
Autorizaciones y aprobaciones.....	69
XVI: CALENDARIO GENERAL.....	70
XVII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
XVIII: APROBACIONES.....	73
XIX: ANEXOS.....	74

RESUMEN

Se propone un ensayo clínico Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) anti SARS-CoV-2 en convalecientes de COVID-19.

Participarán convalecientes cubanos, adultos, de ambos sexos, en edades comprendidas entre los 19-80 años de edad, con antecedentes de COVID-19 leve o moderada, o infección asintomática, que otorguen su consentimiento de participación y que cumplan con los criterios de selección.

El ensayo se realizará en dos etapas:

- Fase IIa: abierto, no controlado. Se amplía el grupo etario evaluado en el ensayo Fase I, incluyendo voluntarios entre 60 y 80 años de edad. En esta etapa se evaluará como objetivo principal la seguridad y reactogenicidad del candidato vacunal. Adicionalmente, se evaluará si la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (50 µg de RBD dimérico adyuvado en gel de hidróxido de aluminio) es adecuada para continuar el desarrollo clínico en este grupo de edad. En esta fase se incluirán 20 sujetos.
- Fase IIb: en grupos paralelos, aleatorizada controlada con placebo y a doble ciego. Se evaluará la inmunogenicidad del candidato vacunal como criterio principal y se mantendrá la vigilancia sobre la seguridad y reactogenicidad.

Se incluirán 430 sujetos (344 y 86 en los grupos experimental y control, respectivamente) distribuidos de manera aleatoria en dos grupos, con una relación 4:1.

A) Grupo Experimental: Vacunados con una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus).

B) Grupo Control: Placebo (serán inmunizados con la vacuna específica al finalizar el estudio).

Los eventos adversos serán evaluados durante 1 hora de observación posterior a la inmunización en el sitio clínico y seguidamente se realizará vigilancia activa y pasiva con seguimiento ambulatorio hasta los 28 días posteriores. La inmunogenicidad se evaluará mediante la determinación de los niveles de anticuerpos específicos anti-RBD, la inhibición de la unión del RBD a su receptor ACE2 y la neutralización viral.

I: INFORMACIÓN GENERAL**Título:**

“Estudio Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1A anti SARS-CoV-2, en convalecientes de COVID-19”.

Título abreviado:

SOBERANA PLUS

Código de identificación del protocolo:

IFV/COR/11

Versión:

Versión 1.0. Fecha: Marzo 2021

Fase de investigación:

Fase II

Centro Promotor:

Instituto Finlay de Vacunas (IFV).

Investigador Promotor:

Dr. Rolando Felipe Ochoa Azze. Médico Especialista de I y II Grado en Inmunología. Dr. en Ciencias Médicas, Investigador Titular y Profesor Titular y Consultante. Dirección: Calle 21 entre 198 y 200, Atabey, Playa, P.O. Box 16042. La Habana, Cuba; C.P. 11600. Teléfono: 7271-8331.

Representante del Promotor:

Dra. Dagmar García Rivera. Dr. en Ciencias Farmacéuticas, Investigador Titular. Dirección: Calle 21 entre 198 y 200, Atabey, Playa, P.O. Box 16042. La Habana, Cuba; C.P. 11600. Teléfono: 7271-8331.

Monitores:

Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos (CENCEC).

Experto médico del Promotor:

Dr. Rinaldo Puga Gómez. Especialista de II Grado en Pediatría. Máster en Ciencias Médicas. Clínica Central “Cira García”. Dirección: Calle 18 No. 4304 entre Ave 43. Alt de Miramar. La Habana, Cuba. Teléfono: 7204-2811.

Experto sobre asuntos regulatorios del Promotor:

M.Sc. Julián Rodríguez Álvarez. Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos. Dirección: Ave 5A entre 60 y 62. Miramar, Playa. La Habana, Cuba. Teléfono: 7216-4214.

Investigador Principal:

Dr. Arturo Chang Monteagudo. Médico Especialista de I Grado en Medicina General Integral y en Inmunología. Maestro en Ciencias en Bioquímica. Investigador Auxiliar, Profesor Auxiliar. Instituto de Hematología e Inmunología. Dirección: Calle 8 No. 460 entre 17 y 19. Vedado, Plaza de la Revolución, C.P. 10400. La Habana, Cuba. Teléfono 7846-1146 / 7830-5553.

Investigadores en los Centros Participantes: (Ver ANEXO I)

Lista de sitios participantes:

Sitios participantes	Código	Responsabilidad
Instituto Finlay de Vacunas	IFV	- Promotor - Aseguramiento de la Calidad - Manejo del Producto - Manejo de Muestras
Instituto de Hematología e Inmunología	IHI	- Sitio Clínico Principal - Conducción del ensayo clínico - Evaluación de voluntarios - Inclusión - Vacunación - Seguimiento postvacunación - Toma y manejo de muestras - Determinaciones de laboratorio clínico - Manejo del Producto en Investigación - Atención al Evento Adverso Grave
Centro Nacional de Educación Sexual	CENESEX	- Sitio Clínico - Conducción del ensayo clínico - Evaluación de voluntarios - Inclusión - Vacunación * - Seguimiento postvacunación - Toma y manejo de muestras * - Determinaciones de laboratorio clínico * - Manejo del Producto en Investigación * - Atención al Evento Adverso Grave *
Centro de Inmunología Molecular	CIM	- Determinaciones Inmunológicas
Centro de Investigaciones de la Defensa Civil	DC	- Determinaciones Inmunológicas
Centro de Inmunoensayo	CIE	- Determinaciones Inmunológicas

Hospital Hermanos Ameijeiras	HHA	-	Procesamiento de muestras para PCR confirmatorio y emisión de resultados
Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos	CENCEC	-	Monitoreo del ensayo

* En el CENESEX estas actividades serán realizadas en estrecha coordinación con el sitio clínico principal (IHI), atendiendo a su cercanía y recursos.

Comité de Ética de las Investigaciones:

Instituto de Hematología e Inmunología (IHI)

Nombre y Apellidos	Responsabilidad
Dra. C. Vianed Marsán Suárez	Presidente
Dr. Wilfredo Roque García	Vice-Presidente
Lic. Luz Mirella Morera Barrios	Secretaria
Dra. Kalia Lavaut Sánchez	Miembro
Lic. Yamilé Padrón Mirabal	Miembro
Ing. Alejandro Santiago Jorge	Miembro de la comunidad
Lic. Librada Martell Martorell	Miembro suplente

Comité Independiente de Monitoreo de los Datos (CIMD):

Nombre y apellidos	Formación	Responsabilidad	Ubicación
Dra. Mery Martínez Cabrera	Esp. de 1er Grado en MGI. MsC. en Longevidad Satisfactoria	Presidente	Dirección de Relaciones Internacionales del MINSAP
M.Sc. Patricia Lorenzo-Luaces.	Lic. en Matemática. Máster en Ciencias Matemáticas	Miembro	Investigaciones Clínicas. CIM
Dr.C. Héctor L. Lara Fernández	Especialista de I Grado en Epidemiología. MsC en Farmacoeconomía. Doctor en Ciencias de la Salud	Miembro	CENCEC
Dra. Gisela María Suárez Formigo	Esp. de I Grado en Inmunología	Miembro	Inmunología Clínica. CIM

II: LISTADO DE ACRÓNIMOS Y DEFINICIONES DE TÉRMINOS

Abreviaturas y acrónimos:

Ac: Anticuerpo.

Ag: Antígeno.

Al: Alúmina.

BPC: Buenas Prácticas Clínicas.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

CECMED: Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos.

CEI: Comité de Ética de las Investigaciones.

CENCEC: Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos.

CIMD: Comité Independiente de Monitoreo de Datos.

Consulta NO presencial: Para los efectos de este Protocolo, la definimos como la consulta no física, disponible a voluntad del convaleciente ante cualquier eventualidad, mediante llamada telefónica que este realice a los números proporcionados en la “Hoja de Información para el Sujeto” y la “Tarjeta de Identificación”, así como otros números y vías (ejemplo correo electrónico) proporcionados por los investigadores, con el objetivo de informar de cualquier evento adverso o tramitar alguna inquietud. El investigador podrá solicitarle al voluntario que se comuniquen con el equipo de investigación durante determinados días después de la vacunación, para conocer sobre su estado de salud. Por otra parte, aún y cuando no se establezcan consultas presenciales en determinados periodos, siempre estará habilitado un consultorio en los sitios clínicos a la que puede acudir el voluntario.

COVID-19 leve: Enfermedad producida por el coronavirus SARS-CoV-2. Definida como leve cuando presenta signos y síntomas no específicos, tales como pérdida de gusto y de olfato, fiebre, tos, dolor de garganta, congestión nasal, ligera cefalea, malestar general, y manifestaciones digestivas (náuseas, vómitos y diarreas), sin signos de deshidratación, disnea o sepsis; en esencia, un cuadro prácticamente indistinguible de otras afecciones virales respiratorias.

COVID-19 moderada: Cuando además de los signos y síntomas anteriores, el paciente haya presentado tos intensa que puede ser productiva, polipnea, con estertores crepitantes, o presentarse como una neumonía atípica, pero sin signos de insuficiencia respiratoria ni gravedad. Se considera un cuadro clínico moderado, cuando estos pacientes, al igual que los clasificados como COVID-19 leve, no han requerido ingreso en unidades de cuidados intensivos.

CRD: Cuaderno de Recogida de Datos.

d-RBD: Dímero del RBD: Dominio de unión al receptor: del inglés (Receptor-Binding Ddomain) del virus SARS-CoV-2.

EAS: Evento Adverso Solicitado.

EAE: Evento Adverso Esperado.

EAG: Evento Adverso Grave.

EAGI: Evento Adverso Grave e Inesperado.

EANE: Evento Adverso No Esperado.

ELISA: Análisis de Inmunoabsorción Ligado a Enzima, del inglés Enzyme- Linked Immunosorbent Assay.

IFV: Instituto Finlay de Vacunas.

INM: Inmunógeno.

MGI: Medicina General e Integral.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCR: Reacción en Cadena a la Polimerasa, del inglés Polymerase Chain Reaction. En este estudio nos referiremos al PCR para el diagnóstico de SARS-CoV-2.

SNS: Sistema Nacional de Salud.

Título Inhibitorio 50 (TI50): Medida que indica la cantidad de anticuerpos (título) que se necesita para inhibir in-vitro la interacción entre el RBD y su receptor ACE2 en un 50%.

Test Rápido de Antígenos (TRA): Ensayo inmunocromatográfico para detectar antígenos de forma rápida y sin equipamiento. En este estudio nos referiremos al TRA para el diagnóstico de SARS-CoV-2.

III: INTRODUCCIÓN. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO PROPUESTO

La COVID-19 se caracteriza por una mayor letalidad en individuos con afectaciones cuantitativas o cualitativas de la inmunidad y con la presencia de comorbilidades. La respuesta inflamatoria incontrolada y la tormenta de citocinas son responsables de su evolución tórpida (1,2,3).

En el otro espectro clínico-epidemiológico se observan infectados asintomáticos, otros con cuadros clínicos leves y moderados, así como individuos con evidencia de haber tenido una infección subclínica, detectada mediante estudios serológicos poblacionales (4,5).

Además de las particularidades de la evolución clínica de esta enfermedad, otra característica importante radica en su elevada transmisibilidad (3,4,5).

El porcentaje de sujetos asintomáticos ha oscilado entre el 20% y el 60% entre todos aquellos casos con PCR positivo. Por otra parte, se ha reportado que el número de infectados no detectados, y por tanto no incluidos en las tasas de incidencia, puede ser entre 10 y 20 veces mayor que los diagnosticados. En ambos casos, en dependencia de la efectividad de las pesquisas activas y las políticas de salud establecidas en cada país (5,6,7).

Respecto a la posibilidad de volver a padecer la enfermedad, hay criterios diversos: algunos investigadores reportan inmunidad, de corta o larga duración, en dependencia de los niveles de anticuerpos neutralizantes (4,8,9,10,11). Otros estudios aportan evidencias de reinfección, en especial ante la emergencia de nuevas cepas del SARS-CoV-2 (8,9).

En Cuba, el tratamiento precoz, incluyendo el uso masivo de inmunomoduladores y anti-inflamatorios, no facilita la inducción de anticuerpos protectores y otros efectores de la respuesta inmune (6). Por todo ello, algunos convalecientes de COVID-19, posiblemente no estén protegidos adecuadamente ante un nuevo contacto con el SARS-CoV-2.

Los anticuerpos neutralizantes contra este virus son estimulados por la subunidad S1 de la proteína espicular, especialmente el dominio de unión con el receptor ACE2: conocido como RBD por sus siglas en inglés (Receptor Binding Domain). Otras proteínas del virus pueden propiciar el mecanismo inmunopatogénico mediado por anticuerpos: ADE (Antibody Dependent Enhancement) (1,2,3,9,11).

Por ello, se ha priorizado el desarrollado de candidatos vacunales en diferentes plataformas, basados en el RBD como inmunógeno vacunal timodependiente, los que han demostrado su seguridad e inmunogenicidad, tanto en estudios nacionales como internacionales (10,12,13).

Los estudios preclínicos que sustentan la propuesta de evaluación clínica, son los mismos que han avalado otros ensayos clínicos "Soberana". La evaluación preclínica del RBD dimérico (d-RBD) como inmunógeno vacunal ha demostrado que es seguro mediante estudios toxicológicos; e inmunogénico en ratones y conejos, en los que ha estimulado la producción de altos títulos de anticuerpos contra el

RBD, con un alto índice de avidéz por el antígeno, y con la capacidad de inhibir la interacción del RBD con su receptor ACE2, así como neutralizar el virus vivo.

Destacar en especial el ensayo clínico Fase I, abierto, adaptativo y monocéntrico, diseñado para evaluar la seguridad, reactogenicidad y explorar la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus: d-RBD en hidróxido de aluminio), en convalecientes de 19-59 años de edad, registrado con el código: RPCEC 00000349 y que finalizó en febrero del presente año. Durante este estudio se demostró que el Producto en Investigación era seguro y bien tolerado. Las reacciones adversas fueron escasas; predominando las locales y de intensidad moderada. El 86,67% de los sujetos evaluados alcanzaron elevados niveles de anticuerpos inhibitorios de la unión in-vitro del RBD con su receptor ACE2, superior al panel de suero de convalecientes. Todos los respondedores con 94% de anticuerpos inhibitorios para el día 14 después de la vacunación (14). El 80% de los participantes con títulos iguales o mayores a 1:160 mediante la prueba de oro de neutralización viral, umbral que se ha considerado como protector (8,11,14). Además, se evidenció la correlación entre la concentración de anticuerpos y su funcionalidad, respecto a la prueba convencional de neutralización viral; lo que avala las menos complejas técnicas in-vitro para estudios ulteriores.

Para dar continuidad a la evaluación clínica del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus), se propone un ensayo clínico Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad de una dosis de dicho candidato vacunal. Se llevará a cabo en adultos cubanos, convalecientes de cuadros clínicos leves y moderados de COVID-19, e individuos asintomáticos diagnosticados mediante PCR. Todos entre los 19 y 80 años de edad, que otorguen su consentimiento de participación.

La hipótesis científica de este estudio, avalada por el ensayo clínico al que hacíamos referencia, se fundamenta en la existencia de clones de linfocitos B de memoria en individuos previamente infectados por el SARS-CoV-2, que se estimulan selectivamente con una dosis de la vacuna FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus), induciendo así elevados niveles de anticuerpos neutralizantes, que pudieran protegerlos ante una reinfección, en particular contra nuevas cepas del SARS-CoV-2. Este candidato vacunal, al reactivar de forma específica la respuesta inmune inducida por la infección natural, pudiera constituir una alternativa diferenciada para el sector de la población que ha padecido la COVID-19, y que probablemente no será incluido en las primeras etapas de la campaña cubana de vacunación contra esta enfermedad, cuando esté disponible una vacuna de producción nacional.

El ensayo se realizará en dos etapas, (Fase IIa y IIb). En la Fase IIa, abierta, no controlada, se amplía el grupo etario evaluado en el ensayo Fase I, incluyendo voluntarios entre 60 y 80 años de edad. En esta etapa se evaluará como objetivo principal la seguridad y reactogenicidad del candidato vacunal. Adicionalmente, se evaluará si la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) es adecuada para continuar el desarrollo clínico en este grupo de edad.

En la Fase IIb, en grupos paralelos, aleatorizada, controlada con placebo y a doble ciego, se evaluará la inmunogenicidad del candidato vacunal como criterio principal y se mantendrá la vigilancia sobre la seguridad y reactogenicidad. Los sujetos, entre 19 y 80 años de edad, se distribuirán aleatoriamente en dos grupos, con una relación entre el grupo experimental y el control de 4:1. Para este diseño se tuvo en cuenta que los participantes en el estudio son convalecientes de COVID-19, por lo cual se redujo, dentro de lo estadísticamente permisible, el tamaño del grupo control con placebo; que por otra parte, será inmunizado con la vacuna específica al finalizar el estudio.

Durante el estudio se realizarán diferentes determinaciones de laboratorio. Para la Fase IIa: hemograma y química sanguínea para evaluar seguridad; pruebas para despistaje de hepatitis B, C y VIH. Para ambas fases, se pesquisará SARS-CoV-2 mediante el Test Rápido de Antígeno (TRA) de La Roche, con una Sensibilidad de 96,5% y una Especificidad de 99,7% respecto al PCR (15), y el PCR como prueba confirmatoria. La Fase IIb incluirá pruebas rápidas de embarazo donde corresponda.

Los eventos adversos serán evaluados durante 1 hora de observación posterior a la inmunización en el sitio clínico y seguidamente se realizará vigilancia activa y pasiva con seguimiento ambulatorio hasta los 28 días después de la vacunación. La exploración de la inmunogenicidad será a través de la determinación de los niveles de anticuerpos específicos anti-RBD, la inhibición in-vitro de la interacción ACE2:RBD, así como la neutralización viral.

El Título inhibitorio 50 (TI50), medida que indica la cantidad de anticuerpos (título) que se necesita para inhibir in-vitro la interacción entre el RBD y su receptor ACE2 en un 50%, es la variable principal de inmunogenicidad en este ensayo. Se considerará como respuesta inmune satisfactoria si TI50 $\geq$ 250, valor 3 veces superior a la media geométrica de este indicador en el panel de suero de convalecientes cubanos. Valoramos, además, los resultados alcanzados en el estudio clínico Fase I precedente, en el que se demostró una excelente correlación entre esta prueba y la neutralización viral convencional (14).

IV: OBJETIVOS DEL ENSAYO

Objetivo General:

Evaluar la seguridad, la reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) contra el SARS-CoV-2 basado en d-RBD en hidróxido de aluminio; en convalecientes de COVID-19 con cuadro clínico leve, moderado y asintomáticos PCR positivos.

Objetivos Específicos:

1. Evaluar el perfil de seguridad de una dosis del candidato vacunal, en convalecientes de COVID-19 con cuadro clínico leve, moderado y asintomáticos PCR positivos.
2. Evaluar la reactogenicidad de una dosis del candidato vacunal, en convalecientes de COVID-19 con cuadro clínico leve, moderado y asintomáticos PCR positivos.
3. Evaluar la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal, en convalecientes de COVID-19 con cuadro clínico leve, moderado y asintomáticos PCR positivos.

Hipótesis de trabajo.

1. Se espera que la administración del candidato vacunal sea segura en convalecientes de COVID-19 con edades comprendidas entre 60 y 80 años de edad, con cuadro clínico leve y moderado, así como en individuos asintomáticos PCR positivos, admitiendo no más de un 5% de individuos con eventos adversos graves (EAG) con relación de causalidad consistente con la vacunación.
2. Se espera que la proporción de sujetos con respuesta inmune satisfactoria [título inhibitorio 50 (TI50) mayor o igual a 250; valor 3 veces superior a la media geométrica (MGT) del panel de convalecientes cubanos], sea superior en al menos un 50% respecto al grupo control, con una cota inferior del intervalo de confianza al 95% superior al 30% [Ref Panel de convalecientes cubanos: MGT=83 (53–129)].

V: DEONTOLOGÍA MÉDICA

Consideraciones éticas generales de la investigación.

El protocolo de ensayo clínico se realizará de acuerdo a los principios éticos para la investigación médica con sujetos humanos, establecidos en la actualización de la Declaración de Helsinki en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.

Previo al inicio del estudio, el protocolo será evaluado por el Comité de Ética de las Investigaciones (CEI) del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI). Este comité está conformado acorde a las Buenas Prácticas Clínicas (BPC), contando con el documento que avala su constitución y los procedimientos normalizados de trabajo diseñados para su correcto funcionamiento. El comité será informado permanentemente sobre la marcha del estudio y podrá participar e intervenir en cualquiera de sus etapas. El dictamen otorgado por el CEI, conjuntamente con la documentación del estudio, será entregado al Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) para su revisión y aprobación. Una vez obtenida la aprobación por el CECMED se procederá al inicio del ensayo clínico.

Previo a la inclusión de los sujetos en el estudio, los mismos recibirán información relativa al estudio y al candidato vacunal, con el objetivo de ofrecer su consentimiento de participación firmado y fechado. Los sujetos conservarán un duplicado del Formulario de Consentimiento.

El Proceso de Reclutamiento velará por el ritmo de evaluación de sujetos, con el objetivo de no exceder la cantidad de sujetos que requiera el estudio.

Se creará un Comité Independiente de Monitoreo de Datos, conformado acorde a las BPC, contando con el documento que avala su constitución y los procedimientos diseñados para su correcto funcionamiento. Este comité tendrá entre sus misiones el análisis y reporte de la seguridad asociada a cada dosis aplicada. El objetivo de estos reportes es mostrar las evidencias de seguridad del Producto en Investigación. Los reportes serán generados con los resultados de la seguridad a partir de los primeros 7 días posteriores a la dosis aplicada. También se monitorearán los análisis de inmunogenicidad.

Toda la información individual relacionada con los sujetos durante el estudio, quedará debidamente custodiada por los responsables del ensayo, de forma tal que se garantice la absoluta confidencialidad. Una vez concluido el estudio, toda la documentación generada durante el mismo será archivada en el IHI .

Justificación de las determinaciones en el estudio.

De acuerdo a la etapa del estudio se establecen diferentes alcances en las determinaciones de laboratorio.

En la etapa IIa se realizarán exámenes de laboratorio clínico, previo a la inclusión (T0) y a los 14 días después de la vacunación (T14), a la totalidad de los sujetos incluidos en esta etapa. Las determinaciones previo a la inclusión contribuirán al análisis del estado de salud de los voluntarios, y las realizadas después del tratamiento permitirán evaluar los cambios en los parámetros de laboratorio con repercusión clínica.

Se establecen tres técnicas inmunológicas para la evaluación del candidato vacunal, las cuales se realizarán en las dos etapas del estudio. Fase IIa, en los tiempos T0, T14 y T28. La Fase IIb en T0 y T28.

- Concentración de anticuerpos específicos IgG anti RBD:
 - Para la Fase IIa: Se realizará al total de la muestra en todos los tiempos establecidos.
 - Para la Fase IIb: Se realizará al total de la muestra en todos los tiempos establecidos.
- % de inhibición RBD:ACE2:
 - Para la Fase IIa: Se realizará al total de la muestra en todos los tiempos previstos.
 - Para la fase IIb: Se realizará al total de la muestra en todos los tiempos previstos.
- Títulos neutralizantes mediante la técnica convencional:
 - Para la Fase IIa: se realizará a todos los sujetos en T0 y T28.
 - Para la Fase IIb: Se realizará al 20% del total de sujetos con respuesta inmune satisfactoria, en todos los tiempos previstos. Este porcentaje garantiza la determinación en alrededor de 86 sujetos, lo cual se considera relevante considerando las limitaciones prácticas para esta determinación.

Objetivo de las determinaciones:

- Laboratorio clínico: determinar el estado clínico del sujeto al inicio y al final del tratamiento correspondiente.
- Laboratorio de microbiología: determinar si el sujeto está infectado por el SARS-CoV-2, virus del VIH, virus de la hepatitis B y C y serología VDRL.
- Laboratorio de inmunología: evaluar la respuesta inmunológica estimulada por el candidato vacunal.

Organización de las determinaciones de laboratorio en el estudio:

Determinaciones	Fase IIa			Fase IIb	
	Evaluación inicial	Día 14	Día 28	Evaluación inicial	Día 28
Clínicas	X	X	-	-	-
Microbiológicas	X	-	-	TRA/PCR	-
Inmunológicas	X	X	X	X	X

Nota: **TRA/PCR**. Se realizará TRA para pesquisar SARS-CoV-2 en ambas fases. El PCR como prueba confirmatoria y para el pesquisaje en aquellos casos con criterio clínico o epidemiológico.

Justificación del diseño del estudio.

El diseño del ensayo está basado en la evaluación de una dosis del candidato vacunal en convalécientes, con las que se obtendrán datos de seguridad e inmunogenicidad. Esto posibilitará obtener información que permita incidir en el incremento del conocimiento de la respuesta inmune inducida por el candidato vacunal en la población estudiada, y como consecuencia, sobre la probabilidad de éxito de las próximas etapas de desarrollo clínico.

Se propone un diseño secuencial, donde en la primera etapa se evalúe la seguridad en un subgrupo etario no estudiado (60-80 años) y posteriormente en la segunda etapa, se extienda la evaluación de la inmunogenicidad respecto a un grupo control concurrente, basados en los resultados de la etapa precedente del proyecto (IFV/COR/07, Registro Público de ensayos clínicos: RPCEC 00000349) (14).

En la segunda etapa, la asignación aleatoria de los sujetos al tratamiento, tiene como objetivo contribuir a la homogeneidad de los grupos de tratamiento en cuanto a sus características de base y evitar sesgo de selección que tiene incidencia en la evaluación, tanto de la seguridad como de los indicios de efecto. La aleatorización, por tanto, aporta mayor fortaleza, y contribuye de manera esencial a la validez interna y veracidad a los resultados que se obtengan.

En el estudio se propone un diseño adaptativo, donde se evaluará iterativamente un criterio de parada por toxicidad inadmisibles, lo cual eleva el estándar ético frente al sujeto en investigación. Para los protocolos con diseños adaptativos, se sugiere que se incluyan criterios pre-especificados donde se puedan cerrar regímenes con insuficiente seguridad o efecto (16,17,18).

La introducción de los diseños adaptativos en la investigación clínica, así como la aceptación por parte de las agencias reguladoras se ha ido incrementando en el tiempo; de manera especial, durante la pandemia actual de COVID-19. Teniendo en cuenta el incremento considerable de la actividad científica, así como la necesidad de obtención de resultados tan pronto como sea posible, los diseños adaptativos se han convertido en una opción muy atractiva, ya que permiten modificar,

basado en análisis intermedios, algunos aspectos del diseño y evaluar criterios de parada tempranos, sin comprometer la validez e integridad científica del estudio.

Los diseños de combinación de etapas durante la fase exploratoria de evaluación de los fármacos son un tipo de diseño adaptativo aprobado y promovido por las agencias reguladoras internacionales (16,17,18), que han mostrado ventajas sobre los diseños convencionales en la duración entre las fases de desarrollo, en la obtención de mayor número de aprobaciones expeditas, facilidad para explorar un mayor número de dosis, esquemas y combinaciones de tratamientos, refinamiento en la selección de dosis y subpoblaciones dianas a evaluar en las etapas posteriores de desarrollo. Como consecuencia, han incidido en una mayor velocidad en la obtención de registros sanitarios, y por tanto, en disponer más temprano de alternativas terapéuticas eficaces. También se sugiere el establecimiento de un Comité Independiente de Monitoreo de datos, el cual está incorporado en el diseño propuesto (16,19,20).

Revisiones y Aprobaciones del protocolo del ensayo:

- Revisión y aprobación: Aseguramiento de la Calidad del Instituto Finlay.
- Revisión y dictamen: Comité de Ética de las Investigaciones (CEI).
- Revisión y aprobación: Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED)

Preparación adecuada para enfrentar posibles eventos adversos y garantía de la seguridad de los sujetos.

En el estudio se establece una vigilancia ambulatoria de forma activa y pasiva durante 28 días posteriores a la dosis administrada:

- En el sitio clínico, inmediatamente después de la vacunación, se realizará vigilancia por 1 hora. El sitio clínico contará con un Carro de Paro y Stock de Urgencia y los eventos adversos se tratarán según se indica en los protocolos de manejo y tratamiento en pacientes adultos.
- Durante los primeros 7 días postvacunación se vigilarán los eventos adversos solicitados locales y sistémicos. Para la Fase IIa a través de consultas presenciales en las primeras 72 horas; los días 4, 5 y 6 siguientes se realizará vigilancia pasiva (consulta no presencial) y al 7mo día se realizará consulta presencial. Para la Fase IIb, la vigilancia en los primeros 7 días se realizará de forma no presencial; no obstante, los participantes podrán acudir a los consultorios del sitio clínico ante cualquier eventualidad.
- Durante 28 días se vigilan los eventos adversos no solicitados. Además de las consultas ya descritas, se añaden consultas presenciales los días 14 y 28 para la Fase IIa, y el día 28 para

la Fase IIb, y consultas no presenciales el día 21 en la Fase IIa y los días 14 y 21 en la Fase IIb.

- Durante 28 días se vigilarán los eventos adversos graves, se registrarán, notificarán y se le dará seguimiento, según se generen.
- Se habilita el Diario de Eventos Adversos para el seguimiento de la seguridad por el sujeto incluido en el estudio.

Responsabilidades éticas de todos los participantes en la investigación:

- a) Investigadores clínicos: Garantizar la adherencia al protocolo y cumplimiento de los procedimientos que establece el mismo. Informar y solicitar el consentimiento de los sujetos. Mantener la confidencialidad de la información generada en el estudio.
- b) Institución: Asegurar el mantenimiento de las facilidades y su utilización adecuada por parte del investigador.
- c) Equipo de investigación: Garantizar el cumplimiento del protocolo y los procedimientos que establece el Promotor. Mantener la confidencialidad de la información generada en el estudio.
- d) Promotor: Garantía del cumplimiento de las BPC en el diseño del protocolo, garantía del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la producción del candidato vacunal a ser utilizado en el estudio.
- e) Monitor: Verificar el cumplimiento de las BPC y la correcta ejecución del protocolo.
- f) Comité de Ética de la Investigación: Revisar y dictaminar el protocolo del ensayo y verificar el progreso del estudio.
- g) Comité Independiente de Monitoreo de Datos (CIMD): Mantener la confidencialidad de la información generada en el estudio.
- h) Autoridad Reguladora de Medicamentos (CECMED): Salvaguardar la integridad de los sujetos a través de la revisión, aprobación y seguimiento del ensayo.

Información a los sujetos.

El Investigador Clínico designado en el sitio clínico, informará a los sujetos del diseño del estudio, el candidato vacunal a investigar y sus antecedentes. Toda esta información le será proporcionada de forma oral y escrita, en términos sencillos y asequibles al sujeto, con el objetivo de lograr su comprensión. También se le informará que en el caso excepcional de que sufriera algún daño como resultado directo del estudio, el Sistema Nacional de Salud garantizará toda la atención médica.

Le informará al sujeto que toda la información que genere durante el estudio quedará debidamente custodiada, de forma tal que se garantice la confidencialidad de sus datos personales, así como,

que cualquier información que pueda ser relevante durante su permanencia en el estudio le será informada y que podrán abandonar el mismo sin perjuicio alguno.

Los sujetos, después de haber recibido toda la información relativa al ensayo y de contar con un tiempo prudencial para el análisis de la información recibida, decidirán su participación en el estudio; firmarán el “Formulario de Consentimiento Informado” (ANEXO II) y conservarán una copia de este documento.

VI: DISEÑO DEL ESTUDIO

Diseño: Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, diseñado para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) anti SARS-CoV-2 en convalecientes de COVID-19 (Fig. 1).

➤ Fase IIa: abierto, no controlado. Se amplía el grupo etario evaluado en el ensayo Fase I, incluyendo voluntarios entre 60 y 80 años de edad. En esta etapa se evaluará como objetivo principal la seguridad y reactogenicidad del candidato vacunal. Adicionalmente, se evaluará si la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (50 µg de RBD dimérico adyuvado en gel de hidróxido de aluminio) es adecuada para continuar el desarrollo clínico en este grupo de edad. En esta fase se incluirán 20 sujetos.

➤ Fase IIb: en grupos paralelos, aleatorizada, controlada con placebo y a doble ciego. Se evaluará la inmunogenicidad del candidato vacunal como criterio principal y se mantendrá la vigilancia sobre la seguridad y reactogenicidad.

Se incluirán 430 sujetos (344 y 86 en los grupos vacunado y control, respectivamente) entre 19 y 80 años de edad y se distribuirán aleatoriamente en dos grupos, con una relación entre el grupo experimental y el control de 4:1.

A) Grupo Experimental: Vacunados con una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus).

B) Grupo Control: Placebo (serán inmunizados con la vacuna específica al finalizar el estudio).

Población: Convalecientes de COVID-19, con antecedentes de cuadro clínico leve, moderado o asintomáticos; de ambos sexos, y en edades comprendidas entre los 19-80 años de edad, que otorguen su consentimiento de participación y que cumplan con los criterios de selección.

Se evaluará de manera iterativa el criterio de parada por toxicidad inadmisibles (más de un 5% de individuos con eventos adversos graves (EAG) con relación de causalidad consistente con la vacunación).

Como criterio de continuidad a la Fase IIb del grupo etario 60-80 años, se evaluará a los 14 días la probabilidad de superar el 50% de respuesta inmune satisfactoria, definida como TI50 mayor o igual a 250 (valor 3 veces superior a la MGT del panel de convalecientes cubanos). De no cumplirse, se evaluaría nuevamente a los 28 días después de la vacunación. En caso de no continuidad de este

grupo etario a la fase IIb, el tamaño de muestra previsto para la etapa IIb incluirá solo sujetos entre 19 y 59 años de edad.

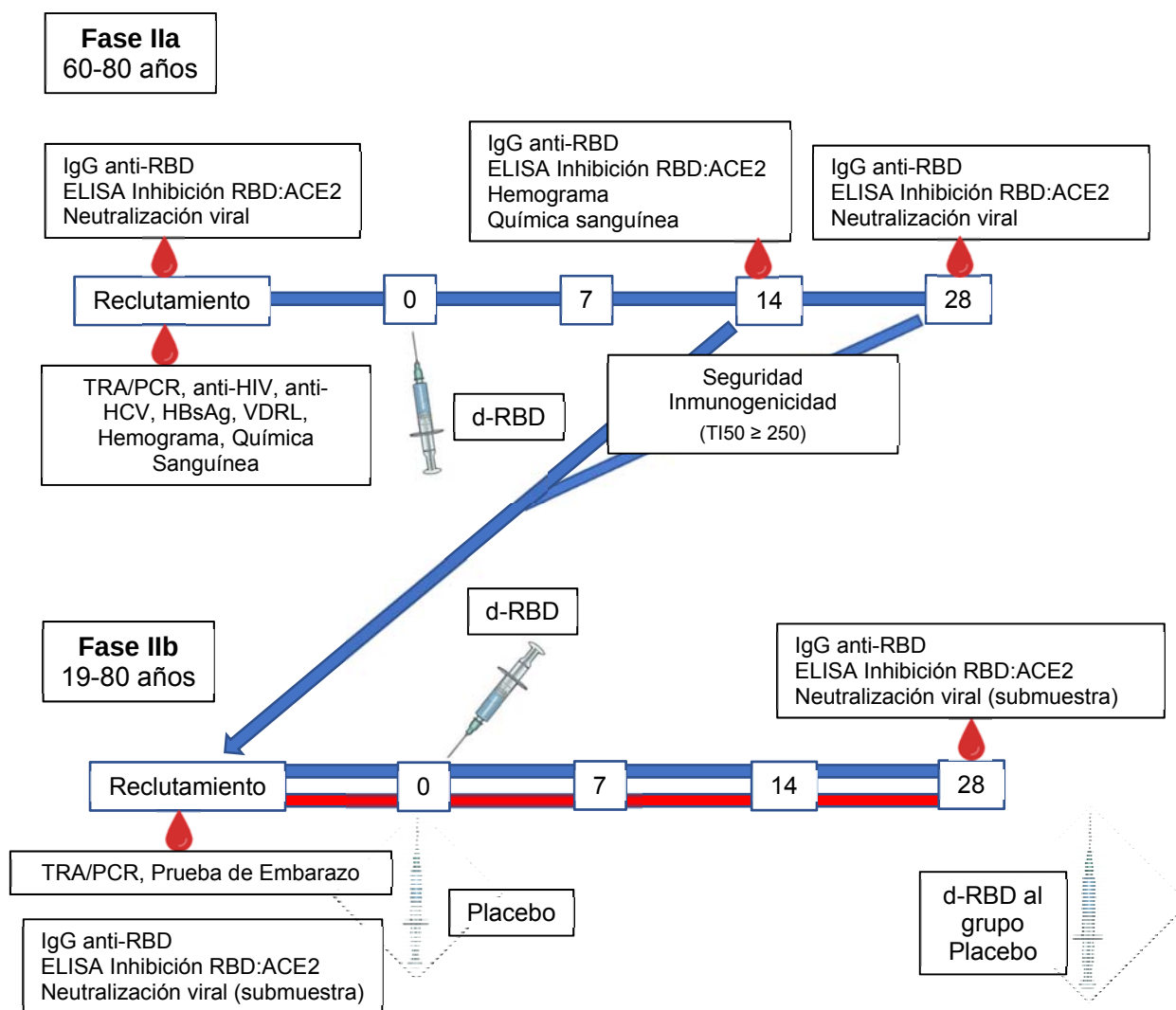


Fig. 1. Diseño del estudio.

Leyenda: d-RBD: “dimeric-Receptor Binding Domain”. TRA: Test Rápido de Antígenos.

Nota: Consultas Presenciales durante el proceso de vacunación para ambas fases, con vigilancia 1 hora después. La Fase IIa incluye Consultas Presenciales durante las primeras 72 horas y a los 7, 14 y 28 días después de vacunar y no presenciales los días 4, 5, 6 y 21 después de la vacunación. La Fase IIb, Consultas Presenciales planificadas durante el proceso de vacunación y a los 28 días, y no presenciales durante los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 y 21 después de la vacunación.

VII: SELECCIÓN DE LOS SUJETOS

La selección de los sujetos será realizada por los Investigadores Clínicos designados al efecto, liderados por el Investigador Principal del estudio.

Universo de estudio.

Sujetos de ambos géneros, con edades comprendidas entre 19 y 80 años de edad, de nacionalidad cubana, residentes permanentes en Cuba y con antecedentes de ser convalecientes de COVID-19 con cuadro clínico leve o moderado, y asintomáticos PCR positivos.

Criterios de inclusión.

1. Sujetos que otorguen por escrito su consentimiento informado de participación en el estudio.
2. Sujetos con edad comprendida entre 19 y 80 años.
3. Índice de masa corporal entre 18,5 y 34,9 kg/m². (Se incluirán individuos con obesidad grado I).

Criterios de exclusión.

1. Sujetos con antecedentes de COVID-19 que cumplan cualquiera de los siguientes criterios:
 - a) Historia actual de infección o haber recibido alta médica por SARS-CoV 2 durante los 2 meses previos al reclutamiento.
 - b) Antecedentes de cuadro clínico grave o crítico por COVID-19, según su historia clínica u obtenidos durante la entrevista médica. Se excluirán aquellos que hayan estado en unidades de cuidado intensivo.
2. Sujetos con enfermedad febril o infecciosa aguda en los 7 días previos a la administración de la vacuna o en el momento de su aplicación.
3. Sujetos con tratamiento con antimicrobianos o tratamiento sostenido con AINES en los 7 días previos a la administración de la vacuna.
4. Sujetos con enfermedades crónicas no transmisibles NO controladas, según criterios clínicos o de laboratorio establecidos para cada entidad en las normas cubanas de medicina (Ejs: asma bronquial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cardiopatía isquémica, hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedades del tiroides, neurológicas, del sistema hemolinfopoyético, insuficiencia hepática, insuficiencia renal, enfermedad psiquiátrica a nivel psicótico, entre otras).
5. Sujetos con inmunodeficiencias congénitas, o inmunodeficiencias adquiridas no resueltas.

6. Sujetos con antecedentes de enfermedad neoplásica que no se encuentre en remisión completa.
7. Sujetos con antecedentes de abuso de sustancias tóxicas durante los últimos 30 días o enfermedad adictiva a sustancias tóxicas, excepto el tabaquismo.
8. Sujetos con facultades mentales disminuidas.
9. Sujetos con antecedentes de enfermedad alérgica severa (shock anafiláctico, edema angioneurótico, edema de la glotis, urticaria severa).
10. Sujetos con antecedentes de hipersensibilidad al tiomorsal.
11. Participación en otro ensayo clínico de intervención preventiva o terapéutica en los últimos 3 meses.
12. Aplicación de otra vacuna en los últimos 30 días.
13. Tratamiento con inmunomoduladores en los últimos 30 días, ej; esteroides (excepto el uso ocasional de esteroides tópicos o inhalados), citostáticos, interferón, inmoferón, factor de transferencia, anticuerpos monoclonales, biomodulina T, cualquier ganmaglobulina, levamisol, heberferón, timosina) o previsiblemente aquellas personas que por su enfermedad de base requieran tratamiento inmunomodulador, que pueda coincidir durante el desarrollo del estudio.
14. Antecedentes de haber recibido transfusión de sangre o hemoderivados en los últimos 3 meses.
15. Sujetos con dificultades para asistir a las consultas de seguimiento previstas.
16. Esplenectomía o disfunción esplénica.
17. Mujeres que en edad fértil NO usen métodos anticonceptivos seguros durante el estudio.
18. Embarazo, puerperio o lactancia.
19. Sujetos con tatuajes en la región deltoidea de ambos brazos.
20. Sujetos con resultados positivos a: anticuerpos contra VIH1+2, anticuerpos contra hepatitis C, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y serología VDRL.

Criterios de Salida.

No se definen criterios de salida.

VIII. TRATAMIENTO

Grupos de tratamiento, fortalezas, vía de administración, volumen a administrar, esquema.

Fase IIa. Se incluirá un grupo de tratamiento:

Grupo experimental: 50 µg de d-RBD+ Gel de Hidróxido de Aluminio, vía IM en la región deltoidea, volumen 0,5 mL, una dosis.

Fase IIb. Dos grupos:

Grupo experimental: 50 µg de d-RBD+ Gel de Hidróxido de Aluminio, vía IM en la región deltoidea, volumen 0,5 mL, una dosis.

Grupo control: Placebo, vía IM en la región deltoidea, volumen 0,5 mL, una dosis.

Justificación del esquema de vacunación.

A partir de la actualización del estado del arte hemos observado que en los estudios clínicos que utilizan RBD como inmunógeno vacunal, se han evaluado fortalezas entre 5 y 50 µg/dosis, por lo que nuestra formulación se encuentra dentro del rango evaluado por otros candidatos vacunales similares al nuestro.

Se usará una sola dosis, teniendo en cuenta que los voluntarios del estudio se han puesto en contacto previamente con el SARS-CoV-2, y deben tener células B de memoria, por lo que una dosis de la vacuna debe comportarse como una dosis de refuerzo e incrementar los niveles de anticuerpos protectores.

En nuestros estudios preclínicos se evaluó la fortaleza propuesta para el estudio clínico, con lotes experimentales y lotes BPM, que demostraron buenos resultados, tanto para seguridad como inmunogenicidad. Debe tenerse en cuenta que el RBD que se empleará es el mismo usado en ensayos clínicos en nuestro país, registrados bajo el código: RPCEC00000332 (Soberana 01) y RPCEC00000338 (Soberana 01A), en los que se ha evidenciado la seguridad del inmunógeno vacunal. La documentación preclínica avala su seguridad.

En especial, debemos valorar los resultados alcanzados en el ensayo clínico Fase I abierto, adaptativo y monocéntrico, en el que se evaluó la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad de una dosis del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) en convalecientes de 19-59 años de edad, registrado con el código: RPCEC 00000349 (Soberana 01B). Durante este estudio se demostró que el Producto en Investigación era seguro y bien tolerado. Las reacciones adversas fueron escasas, predominando las locales, y de intensidad moderada. La inmunogenicidad fue muy elevada, con niveles inhibitorios superiores al 70% de la unión del RBD

con su receptor ACE2 en el 86,67% de los sujetos evaluados, y con títulos mayores a 1:160 con la prueba de oro de neutralización viral en el 80% de los participantes (14).

Forma de presentación de los medicamentos, composición y conservación.

El candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) es una suspensión inyectable; se presenta en bulbo 2R, unidosis, para uso simple, con retapa de color carmelita; contiene un volumen de 0,7 mL; a vacunar 0,5 mL. Independientemente de la fase del estudio, cada bulbo (con el candidato vacunal o el placebo) se identificarán con la siguiente etiqueta, con 3 dígitos, correspondientes al número de inclusión, seguido por la letra C (convalecientes). Por otra parte, tanto el candidato vacunal como el placebo no difieren en sus características organolépticas, todo lo cual garantiza el doble ciego en la Fase IIb. El código individualizado permitirá que el bulbo contenga de forma indistinguible el Producto en Investigación o el Placebo, necesario en esta fase. Para la Fase IIa, abierta, no controlada, se garantizará que todos contengan el Producto en Investigación.

El código QR identifica solamente el estudio clínico y no el grupo al cual el voluntario fue asignado.



Cada dosis (0,5 mL) del candidato vacunal contiene:

Tabla 1: Composición del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus).

Lote EC-CVRBDd-2101

Componentes	Cantidad por dosis (0,5 mL)
Sustancias activas	
Dímero del dominio de unión al receptor ACE2 (RBD) de la proteína S1	50 µg
Excipientes	
Tiomersal	0,05 mg
Hidrógeno Fosfato de Disodio	0,03 mg
Dihidrógeno Fosfato de Sodio	0,02 mg
Cloruro de Sodio	4,25 mg
Agua para inyección, csp	0,5 mL
Adyuvante	
Gel de Hidróxido de Aluminio	1250 µg

Cada dosis (0,5 mL) del placebo contiene:

Tabla 2: Composición del placebo. Lote E1001PS02

Componentes	Cantidad por dosis (0,5 mL)
Hidrógeno Fosfato de Disodio	0,03 mg
Dihidrógeno Fosfato de Sodio	0,02 mg
Cloruro de Sodio	4,25 mg
Agua para inyección, csp	0,5 mL
Gel de Hidróxido de Aluminio	250 µg

El envase para el estudio serán estuches de embalaje con capacidad para 20 bulbos. Los estuches de embalaje se identificarán con una etiqueta que identifica el envío como producto en ensayos clínicos.

Medidas para garantizar la seguridad en la manipulación de los productos y procedimientos para el suministro.

El candidato vacunal o placebo, serán aplicados por una enfermera vacunadora, certificada para este proceder. Se administrarán 0,5 mL del Producto en Investigación, por vía IM en el deltoides. Se utilizarán jeringuillas y agujas desechables. Las jeringuillas a utilizar serán aquellas con aforo en 0,5 mL y agujas 23G x 1" o 22G. La técnica correcta de administración se garantizará con los procedimientos para la aplicación de vacunas por vía IM.

Antes de la administración, es necesario verificar la uniformidad de la suspensión, comprobando que su apariencia sea blanca opalescente (auxiliándose de una fuente de luz). No debe ser administrada si la suspensión no es uniforme.

El proceso de administración del producto podrá ser verificado por un representante del CIMD.

Conservación del Producto de Investigación.

La temperatura de conservación de las vacunas es de 2 a 8°C. No deben utilizarse si han sido expuestas a temperaturas de congelación, por lo cual será preciso realizar controles diarios (tres veces al día) de la temperatura de los refrigeradores o neveras de almacenamiento por el Responsable del Manejo del Producto en Investigación o personal designado al efecto.

Durante la permanencia en el vacunatorio del Producto en Investigación, el mismo se localizará en termos refrigerados con equipos de medición de la temperatura; para este caso la medición se realizará cada 30 minutos por la Enfermera que prepara y aplica el candidato vacunal. Los controles de temperatura garantizarán la conservación de la cadena de frío, siguiendo las normativas establecidas por el Sistema Nacional de Salud (SNS) y el Instituto Finlay de Vacunas (IFV).

El Responsable del Manejo del Producto en Investigación del IFV será responsable del traslado de las vacunas hacia el sitio clínico, cumpliendo con la solicitud de las cantidades de candidato vacunal a utilizar y las normas establecidas para la actividad de traslado de Producto en Investigación.

Conducta a seguir con los bulbos utilizados del Producto en Investigación.

Una vez concluida la vacunación, los bulbos utilizados serán depositados en el estuche de embalaje. Este estuche será sellado con una etiqueta de “Producto Utilizado”, este sellaje ocurrirá posterior al inventario entre la Enfermera Vacunadora del sitio clínico y el Responsable de Farmacia del sitio clínico.

Estos estuches serán trasladados a la farmacia del sitio clínico donde permanecerán 7 días en condiciones de conservación: temperatura de 2-8°C. Transcurrido este tiempo se conservarán a temperatura ambiente en la farmacia hasta finalizado el estudio.

La destrucción de los bulbos será realizada por el promotor al finalizar el estudio.

Aleatorización y asignación a los tratamientos.

En la Fase IIa el estudio es abierto.

En la Fase IIb, el estudio es aleatorizado, controlado y a doble ciegas. Teniendo en cuenta la amplitud del grupo etario evaluado, se realizará una selección de sujetos estratificada por decenas de grupos etarios, con tamaño proporcional a la representación de cada estrato en la población objetivo.

La lista aleatoria será centralizada. Se desecharán las últimas asignaciones hasta completar los tamaños de muestra predefinidos en cada subgrupo.

No se especifica a priori la cantidad de sujetos por decenas de grupos etarios, porque dependerá de la decisión de continuidad de la Fase IIa en el subgrupo de 60-80 años de edad.

En cada etapa, la selección de los sujetos para alcanzar el tamaño de muestra definido en cada subgrupo etario se realizará usando un muestreo simple aleatorio, respecto a los sujetos evaluados que satisfacen los criterios de inclusión del estudio.

Técnica empleada para el enmascaramiento y acceso al código del ensayo.

Cada uno de los voluntarios aleatorizados recibirá un número consecutivo de inclusión, que coincidirá con el de la etiqueta del bulbo. Para la fase IIb se establecerá de forma aleatoria los números correspondientes que recibirán el Producto en Investigación o el Placebo.

El candidato vacunal y el placebo no diferirán en el formato de presentación ni en sus características organolépticas. Los bulbos serán identificados con las etiquetas generadas. Con esta estrategia,

los médicos y otros miembros del equipo de investigación, no conocerán el producto administrado a cada sujeto, lo que garantiza el doble-ciego durante todo el proceso.

Los investigadores principales de los sitios clínicos serán responsables de resguardar los códigos de cada sujeto. En caso que se requiera acceder a la información, se procederá según se describe en el Capítulo IX Eventos Adversos, en el acápite: Información sobre la apertura prematura de códigos.

Medidas para comprobar el cumplimiento del tratamiento.

Una vez vacunados los sujetos, la enfermera vacunadora procederá al completamiento del Registro de Administración del Producto en Investigación. El mismo recogerá fecha y hora de la vacunación y la firma del sujeto, como constancia de que recibió la vacuna; además, en la Historia Clínica quedará reflejada la dosis y volumen aplicado, así como la zona anatómica de aplicación del producto.

Tratamiento concomitante.

La administración de medicamentos inmunomoduladores es un criterio de exclusión del estudio. Si su uso fue necesario después de vacunar, será necesario anotar todos los detalles del tratamiento en la Historia Clínica y se tendrá en cuenta en el análisis posterior de la magnitud de la respuesta. Se registrarán los medicamentos que el sujeto consume antes de iniciar el estudio, así como la causa de la indicación, dosis diaria, fecha de inicio, tiempo que hace que lo utiliza. Igualmente serán registrados los medicamentos que el sujeto consume durante el estudio. En caso de indicación para tratar eventos adversos, se especificarán todos los datos en la historia clínica y modelo de Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) correspondiente (ANEXO III).

Criterios de interrupción del tratamiento:

1. Abandono voluntario.
2. Aparición de evento adverso grave con relación de causalidad.
3. Sujeto que en cualquier momento del estudio sea TRA o PCR positivo a SARS-CoV 2.
4. Cambios en el estado clínico del paciente que justifiquen detener la participación del voluntario en el estudio. (La aplicación de este criterio se realizará en consulta con el Investigador Principal del Estudio)
5. Fallecimiento del sujeto.

Criterio de Parada del estudio.

En caso de producirse un evento adverso grave con sospecha de relación con el Producto de Investigación, se procederá a la detención momentánea del estudio, hasta tanto se concluya la investigación causal del evento adverso y se tome la decisión de:

- Continuar el estudio
- Cierre del estudio

Forma de actuación e información en caso de abandono o exclusión de alguno de los sujetos incluidos.

- Si algún sujeto resulta excluido o abandona el estudio, se tomará en cuenta toda la información obtenida hasta ese momento.
- Los investigadores contactarán con el sujeto para conocer la causa del abandono, para ser referida en la Historia Clínica y completada en el CRD.

Seguimiento de los sujetos.

El seguimiento de los sujetos incluidos en este estudio será de 28 días. Se prevé un seguimiento de la seguridad clínica (eventos adversos) y epidemiológico.

Para el seguimiento de la seguridad clínica se establecen consultas de evaluación, que se describen en el acápite: "Preparación adecuada para enfrentar posibles eventos adversos y garantía de la seguridad de los sujetos".

Para el seguimiento clínico-epidemiológico, se seguirán las pautas establecidas por el "Protocolo de Actuación Nacional para la COVID-19" (6), en especial su Capítulo 4 "Manejo del Paciente Convaleciente de COVID-19 desde la Atención Primaria de Salud", así como el Anexo 3 "Manejo de caso sospechoso o confirmado de COVID-19 en el paciente adulto". Si ocurriera alguna de las siguientes situaciones se procedería según lo establecido:

- Sujeto "contacto de caso positivo o caso sospechoso de COVID-19" (aislamiento institucional o domiciliario, en este último caso bajo seguimiento desde la Atención Primaria de Salud).
- Sujeto "sospechoso COVID-19" (Ingreso en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri").
- Sujeto "caso positivo COVID-19" (Ingreso en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri").

Una vez concluido este estudio, se mantendrá por los investigadores del ensayo clínico el seguimiento de la seguridad de los sujetos hasta completar un año posterior a su inclusión. Se establecerán consultas de evaluación presenciales y no presenciales en coordinación con la Atención Primaria de Salud, según lo establecido en el Capítulo 4 "Manejo del Paciente Convaleciente de COVID-19" del "Protocolo de Actuación Nacional para la COVID-19" (6).

En especial se seguirán por la Dirección del Instituto de Hematología e Inmunología, atendiendo al papel asignado a esta institución dentro del “Programa Nacional de Atención a Convalecientes por COVID-19”, los siguientes:

- Eventos adversos graves.
- Mujeres incluidas que resulten embarazadas en ese período.
- Sujetos vacunados que resulten contactos, sospechosos y enfermos de COVID 19.

Se medirán por asociación de bases de datos del estudio habilitadas al efecto.

Se coordinó la atención de los eventos adversos graves en el Hospital Universitario Clínico Quirúrgico “Comandante Manuel Fajardo”, se mantendrá comunicación estrecha con esta institución, así como otras a las que puedan haber acudido los sujetos. En estos casos, se requerirá conocer el diagnóstico al ingreso, así como el manejo farmacológico del caso.

IX. EVENTOS ADVERSOS

Generalidades de Eventos Adversos.

Definiciones:

Evento Adverso (EA).

Cualquier acontecimiento médico desfavorable que se presenta en un paciente o sujeto de investigación clínica al que se administra un producto farmacéutico, y que no tiene necesariamente una relación causal con este tratamiento. Un acontecimiento o evento adverso puede ser, por tanto, cualquier signo desfavorable e inesperado (incluyendo un hallazgo de laboratorio anormal), síntoma o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un Producto en Investigación, esté o no relacionado con este.

Evento Adverso Grave (EAG).

Un evento adverso grave es cualquier ocurrencia médica desfavorable que concluye con la muerte, amenaza la vida, resulta en una discapacidad/incapacidad persistente o significativa, requiere la hospitalización del paciente o prolongación de la hospitalización actual o provoca una anomalía congénita en la descendencia del sujeto. Además, deben considerarse graves los eventos médicos importantes que puedan poner en peligro al paciente o requerir intervenciones para prevenir algunos de los resultados arriba mencionados. Ejemplos de tales tratamientos son terapias intensivas para el bronco-espasmo, discrasias sanguíneas y convulsiones que no resulten en hospitalización.

Reacción Adversa.

Todas las respuestas nocivas e involuntarias a un Producto en Investigación, a cualquier dosis, se considerarán reacciones adversas al Producto en Investigación. La reacción adversa al fármaco se considerará cuando entre un producto y el evento adverso existe una posibilidad razonable de relación causal, o que no se pueda descartar una relación entre ambos.

Evento Adverso Inesperado.

Evento adverso de una naturaleza o gravedad inconsistente con la información disponible sobre el producto (Manual del Investigador).

Reacción Adversa Inesperada.

Reacción adversa de una naturaleza o gravedad inconsistente con la información disponible sobre el producto (Manual del Investigador para un producto no aprobado o prospecto/ficha técnica de las características de un producto aprobado).

Eventos Adversos Solicitados.

Los eventos adversos solicitados incluirán un grupo de eventos adversos locales y sistémicos que han sido reportados con mayor frecuencia en vacunas de composición similar a la que se encuentra en investigación, y serán vigilados de forma activa durante los 7 primeros días posteriores a la vacunación. Serán registrados diariamente por el sujeto en el Diario de Eventos Adversos, y posteriormente descritos en la historia clínica por parte del médico.

Estos eventos serán registrados en el CRD en los modelos correspondientes a Eventos Adversos Solicitados Locales y Eventos Adversos Solicitados Sistémicos, durante los 7 primeros días de la vacunación.

Eventos Adversos Solicitados locales (sitio de inyección).

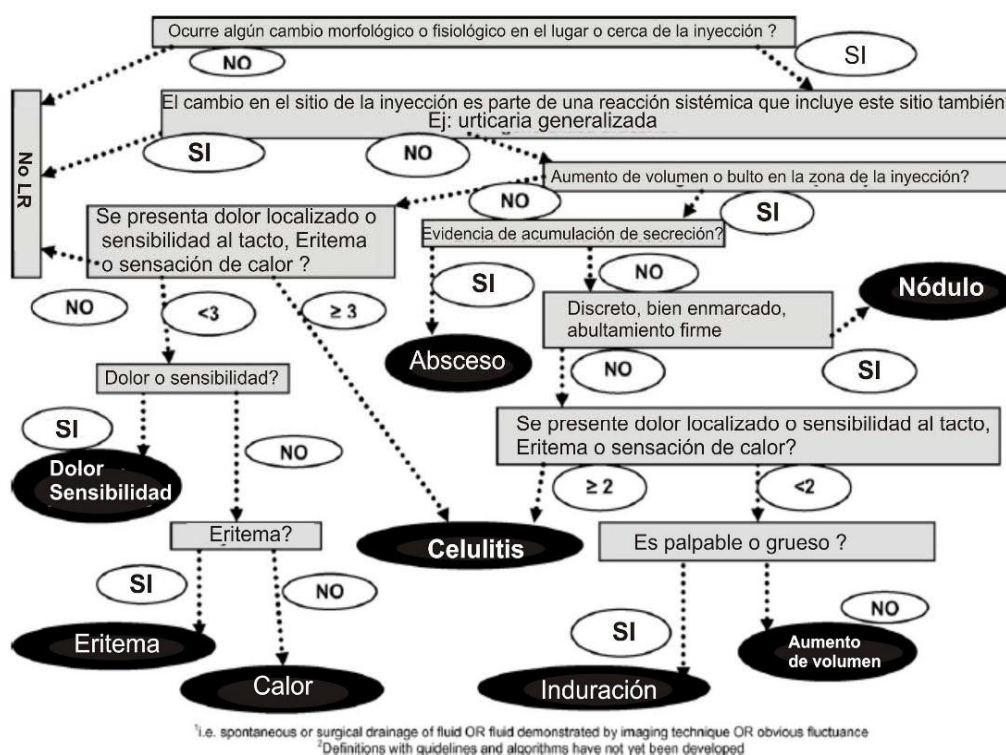
Se reflejarán los siguientes eventos adversos locales en el Diario de Eventos Adversos durante los primeros 7 días (Tabla 3):

Tabla 3 Eventos Adversos Solicitados locales, definición e intensidad

Evento adverso	Definición	Intensidad		
		Leve	Moderada	Severa
Dolor en el sitio de la inyección	Sensación no placentera asociada con un daño potencial del tejido que ocurre en el sitio de la inyección	Dolor al tacto	Dolor al mover la extremidad	Dolor espontáneo, impide la realización de las actividades cotidianas
Eritema	Enrojecimiento que circunda la zona de la inyección, que desaparece a la vitro presión y reaparece con el cese de la misma	>0 a <2,5 cm	≥2,5 y <5 cm	≥5 cm
Aumento de volumen	Aumento en tamaño o volumen en el sitio de la inyección, típicamente causado por infiltración de líquido en el tejido. Puede abarcar el miembro completo en casos severos. Generalmente es suave al tacto, aunque en algunos casos puede ser firme en dependencia del espacio disponible para el líquido. Se diferencia de la induración en que esta última es más firme al tacto y con bordes más delimitados. El edema puede estar acompañado por eritema y sensibilidad (clásicos de una reacción inflamatoria).	>0 a <2,5 cm	≥2,5 y <5 cm	≥5 cm
Induración	Endurecimiento patológico del tejido en el sitio de la inyección, firme a la palpación, de bordes definidos, incluye dermis, epidermis, tejido subcutáneo, adiposo y músculo, puede existir independiente o concomitantemente con otras reacciones locales. Para describirlo es necesario tocarlo y sentirlo, no a la observación, tiene la forma plana a diferencia del nódulo que es redondo	>0 a <2,5 cm	≥2,5 y <5 cm	≥5 cm
Calor local	Calor en el sitio de la vacunación	Calor local que circunda la zona de la inyección, suficientemente ligero como para que el sujeto no necesite medicación	Calor local que se extiende a toda la región deltoidea, que necesita medidas antitérmicas locales	Calor que se extiende a toda la región del brazo, acompañado de otros signos flogísticos y necesita medicación

:

Para la identificación de los eventos adversos locales se propone la utilización del siguiente algoritmo (Fig. 2):



Leyenda: LR: Reacción Local

Eventos Adversos sistémicos

Se solicitarán en la tarjeta diaria los siguientes eventos adversos sistémicos durante los primeros 7 días (Tabla 4):

Tabla 4 Eventos Adversos Solicitados sistémicos, definición e intensidad

Evento adverso	Definición	Intensidad		
		Leve	Moderada	Severa
Fiebre*	Aumento de origen endógeno de la temperatura corporal hasta una temperatura, observada en al menos una medición, igual o superior a 38°C. Se tomará la temperatura axilar.	≥38,0°C a ≤39,0°C	>39,0°C a 40,0°C	>40°C
Malestar general	Trastorno caracterizado por una sensación de incomodidad o malestar general, una sensación de mal humor.	Inquietud o falta de bienestar, bien tolerado por el sujeto	Inquietud o falta de bienestar que interfiere la realización de actividades cotidianas	Inquietud o falta de bienestar que impide la realización de actividades diarias
Rash	Erupción cutánea caracterizada por la presencia de máculas o pápulas delimitadas o ambas .	Presencia de máculas o pápulas que cubren menos del 10% de la superficie corporal	Presencia de máculas o pápulas que cubren entre el 10 y 30% de la superficie corporal	Presencia de máculas o pápulas que cubren más del 30% de la superficie corporal

* **Nota aclaratoria:** Se anotará la temperatura entre 37 y 37,9°C (Febrícula) en la Historia Clínica, pero al no considerarse un evento adverso, no se registrará en el Cuaderno de Recogida de Datos

Evaluación de los Eventos Adversos no solicitados.

Se recogerán todos los eventos adversos que ocurran después de la vacunación hasta los 28 días posteriores a la misma. Se registrarán en el Diario de Eventos Adversos por el sujeto o familiares y posteriormente serán descritos y evaluados por el médico en la Historia Clínica y CRD.

La intensidad de cada uno de los eventos adversos no solicitados se evaluará de acuerdo con los criterios siguientes:

Grado 1: Leve: Evento adverso que es fácilmente tolerado por el sujeto, causando el mínimo de molestias y que no interfiere sus actividades cotidianas.

Grado 2: Moderado: Evento adverso que es suficientemente molesto como para interferir las actividades cotidianas normales.

Grado 3: Severo: Evento adverso que impide las actividades cotidianas.

Se utilizarán las definiciones de caso de la Brighton Collaboration, y el Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) versión 5.0.

Periodicidad y método de las mediciones de los Eventos Adversos

- Se realizará seguimiento de los eventos adversos posteriores a la vacunación desde el día de la vacunación (Día 0) hasta 28 días después.
- Durante el día de la vacunación (Día 0) los sujetos serán sometidos a una vigilancia médica estricta en el vacunatorio, por parte del equipo de investigadores seleccionados, durante 1 hora posterior a la administración de la vacuna.
- Una vez concluida la observación, el Investigador Clínico le entregará al sujeto el Diario de Eventos Adversos (ANEXO IV) para ser completado durante el tiempo que no esté bajo observación médica. El mismo deberá ser presentado por el sujeto en todas las evaluaciones presenciales previstas en el estudio. La información recogida en el mismo, así como los resultados de todas las observaciones, serán recogidos en las Historias Clínicas. Se completarán los datos en el CRD una vez concluida y cerrada la evaluación del evento adverso.
- Durante los primeros 7 días postvacunación se vigilarán los eventos adversos solicitados locales y sistémicos. Para la Fase IIa a través de consultas presenciales en las primeras 72 horas. Los días 4, 5 y 6 siguientes se realizará vigilancia pasiva (consulta no presencial) y al 7mo día se realizará consulta presencial. Para la Fase IIb mediante consultas no presenciales.

- Durante 28 días se vigilan los eventos adversos no solicitados, añadiendo consultas presenciales los días 14 y 28 para la Fase IIa, y el día 28 para la Fase IIb, y consultas no presenciales el día 21 en la Fase IIa y los días 14 y 21 en la Fase IIb.

Para el caso de un sujeto que presente un evento adverso que persista a las 72 horas, será citado y evaluado en los siguientes días hasta la conclusión del evento.

Conducta a seguir frente a los Eventos Adversos.

El Investigador Principal garantizará todos los recursos necesarios para tratar cualquier evento adverso que pudiera producirse en la primera hora de vigilancia posterior a la vacunación, incluidos los eventos adversos graves. Se contará con Carro de Paro y Stock de urgencia en el sitio clínico.

Se utilizará el Servicio de Urgencias Médicas (SIUM) u otro transporte disponible, dependiendo de la magnitud y el requerimiento de apoyo vital en caso de que se produzca un evento adverso en el sitio clínico donde se administra el Producto en Investigación. De ser necesario, se hará el traslado a la unidad de cuidados intensivos o servicio correspondiente del sitio clínico u hospital designado, previamente conveniado entre las partes para la recepción y atención de los sujetos participantes en el estudio. En el hospital, el sujeto será investigado e internado (según sea el caso) con el objetivo de profundizar en la evaluación, el estudio clínico e inmunológico y para completar la investigación causal del evento adverso.

El algoritmo para el tratamiento de los eventos adversos se corresponderá con los protocolos actualizados de tratamiento de urgencias médicas.

Además, se garantizará el funcionamiento adecuado de medios de comunicación telefónica para la consulta y asistencia de los servicios de urgencia si esto fuera necesario.

Los Investigadores clínicos orientarán al sujeto:

- Comunicarse con su médico del equipo de investigación de producirse cualquier evento adverso o ante cualquier preocupación durante el periodo ambulatorio.
- Ante la necesidad de acudir a cualquier centro de atención médica deberá identificarse con la "Tarjeta de Identificación de Sujeto en Ensayo Clínico" (ANEXO V)
- Completar el Diario de Eventos Adversos durante el período ambulatorio y presentarlo en las consultas.

El seguimiento de la seguridad de los sujetos, se garantizará con vigilancia activa y pasiva, según los momentos descritos en el punto anterior. La información generada en estas consultas será recogida en las Historias Clínicas habilitadas para el estudio y luego se registrarán en el CRD en sus acápites correspondientes.

Evaluación de cualquier Evento Adverso.

Los eventos adversos se registrarán en términos de diagnóstico, cuando esto no sea posible se expresarán como signos o síntomas.

En cada visita el investigador preguntará por la ocurrencia de eventos adversos en los días previos a la visita, revisará el Diario de Eventos Adversos que debe portar el sujeto y los registrará en la Historia Clínica.

Para cada evento adverso se recogerán los siguientes datos:

- Diagnóstico médico o signos y síntomas
- Fecha y hora de inicio
- Tratamiento recibido
- Intensidad
- Gravedad
- Desenlace
- Fecha y hora de terminación
- Relación causal con la vacuna

Para el diagnóstico de los eventos adversos se utilizarán las definiciones de caso de la Brighton Collaboration, y el Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) versión 5.0.

Evaluación de la causalidad de los Eventos Adversos.

La calidad en la evaluación de la causalidad depende de diversos factores que deberán ser asegurados en lo posible por el Promotor, de conjunto con las instituciones de salud participantes:

- Conocimiento del Producto en Investigación.
- Selección adecuada de los investigadores, capacitación y entrenamiento.
- Disponibilidad de los recursos necesarios para llevar a cabo toda la investigación y seguimiento de los casos.
- Acceso a la información científica y técnica apropiada, así como el personal capacitado y actualizado.

Para la evaluación de la causalidad será necesario recopilar toda la información necesaria (interrogatorio, enfermedades concomitantes, examen físico, resultados de laboratorio clínico, microbiológico, Rx, uso de medicamentos, fecha y hora de inicio, duración, antecedentes personales y familiares, etc.) con el fin de llegar a un diagnóstico de certeza siempre que sea posible.

El análisis de causalidad de los eventos adversos se realizará cuando se disponga de todos los elementos para su evaluación y debe ser analizada por una comisión integrada por el Investigador Principal, el médico que ha seguido el caso, epidemiólogo, co-investigadores y el Promotor, según se requiera, utilizando el algoritmo de la OMS 2013 (ANEXO VI)

Una vez que se tengan las categorías, se reportará la relación de causalidad en los siguientes términos:

- A: Asociación causal consistente con la vacunación
- B. Indeterminado
- C. Asociación causal inconsistente con la vacunación
- D. No Clasificable

Requerimientos para la notificación y reporte de Eventos Adversos Graves e Inesperados.

El Investigador Responsable/Principal será el responsable de notificar de forma inmediata todos los EAG antes de las primeras 24 horas de ocurrido. La notificación se realizará al Promotor, al CEI y al CIMD. Estos EAG serán recogidos en la Historia Clínica del sujeto y en el modelo correspondiente del CRD.

El promotor notificará al CECMED todos los EAG, tengan relación causal o no con el Producto de Investigación. Esta notificación se realizará por cualquier vía posible (teléfono, e-mail, fax, personal u otras), en las primeras 72 horas de conocida la ocurrencia del evento adverso.

En caso de presentarse un Evento Adverso Grave Inesperado (EAGI) con relación causal con el producto, el Investigador Principal realizará el reporte al Promotor y este reportará al CECMED en el menor tiempo posible y nunca después de 7 días calendarios en caso de ser fatal o comprometer la vida del sujeto. De no ser así, el tiempo de reporte será de 15 días.

La confección del Reporte de EAGI será responsabilidad del Investigador Principal. Para el completamiento del reporte se utilizará la regulación 45/2007 del CECMED.

Para la discusión de los EAGI se convocará a un comité integrado por el Investigador Principal, el médico que ha seguido el caso, epidemiólogo, co-investigadores, el Promotor, miembros del CIMD, así como otros especialistas, según sea necesario.

Una vez se arribe a conclusiones, se completará el reporte y se enviará al Promotor para su posterior presentación al CECMED.

Información sobre la apertura prematura de códigos.

El código asignado a los voluntarios tiene el objetivo de mantener confidencial su identidad, incluyendo el procesamiento de las muestras.

Para la Fase IIa, de diseño abierto, no procede un procedimiento para la apertura prematura de códigos.

Para la Fase IIb, los códigos de los sujetos, con su correspondiente grupo de tratamiento, se guardarán en sobres de aleatorización individuales, estos sobres se conservarán en el sitio clínico donde se incluye al sujeto y permanecerá en un lugar con acceso restringido. En el caso que se requiera la revelación del código, el Investigador Responsable se comunicará con el Investigador Principal, presentará el caso y se decidirá la apertura o no del sobre correspondiente al sujeto involucrado en el evento. Se habilitará un modelo para registrar las solicitudes y apertura de sobres de aleatorización.

X. EVALUACION DE LA RESPUESTA**Variables de respuesta:****A. Evaluación de la reactogenicidad**

- **Variables independientes:** Edad, Color de la piel, Sexo, Tratamiento asignado, Tiempo transcurrido desde el alta médica.
- **Variables dependientes:** Cada uno de los eventos adversos que puedan presentarse en el estudio. Se definirá para cada evento presentado: tiempo de aparición, duración, intensidad, gravedad y desenlace (Tabla 5).

Tabla 5. Descripción de las variables relacionadas con la seguridad

Variable	Tipo	Criterios	Evaluación
Descripción del EA solicitado	Nominal	Cualquier signo o síntoma que aparezca después de la vacunación y hasta 7 días que esté declarado como EA solicitado	Número, Porcentaje
Descripción del EA no solicitado	Nominal	Cualquier signo o síntoma que aparezca después de la vacunación y antes de 28 días, que no esté dentro de los EA solicitados.	Número, Porcentaje
Duración del EA	Ordinal	• ≤24 horas • >24 - ≤48 horas • >48 - ≤72 horas • Más de 72 horas	Número, Porcentaje
Aparición del EA	Ordinal	• ≤60 minutos • >60 minutos ≤24 horas • >24 - ≤48 horas • >48 - ≤72 horas • Más de 72 horas	Número, Porcentaje
Intensidad del EA	Ordinal	• Grado 1 o Leve • Grado 2 o Moderada • Grado 3 o Severa	Número, Porcentaje
Gravedad del EA	Nominal	• Grave • No grave	Número, Porcentaje
Resultado del EA	Nominal	• Recuperado • Recuperado con secuelas • Persiste • Muerte • Desconocido	Número, Porcentaje
Relación de causalidad	Nominal	• Asociación causal consistente con la vacunación • Indeterminado • Asociación causal inconsistente con la vacunación • No clasificable	Número, Porcentaje

B. Evaluación de la inmunogenicidad

- Variables independientes**

Edad, Raza, Sexo, Tratamiento asignado, Tiempo transcurrido desde el alta médica.

- Variables dependientes**

No existe un subrogado de protección para la evaluación de los candidatos vacunales contra COVID-19. Por tanto, las variables inmunológicas se están definiendo sobre la experiencia de los otros candidatos vacunales que están en la clínica. Si surgiera información de estudios externos (evento intercurrente), donde se establezca algún criterio sobre el umbral de anticuerpos, se valoraría la adición de otros criterios de evaluación.

Tabla 6. Descripción de las variables relacionadas con la inmunogenicidad

Variable	Tipo	Criterios	Evaluación
Niveles de anticuerpos IgG específicos anti-RBD.	Cuantitativa Continua	Niveles de anticuerpos IgG.	MGT de los niveles de anticuerpos anti-RBD e IC95%. Correlación entre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD respecto al % de inhibición RBD:ACE2 y al título de anticuerpos neutralizantes.
		Se calculará la seroconversión, definida como el incremento en cuatro veces de los valores de anticuerpos IgG anti-RBD respecto a los niveles basales.	Número, porcentaje, IC95%.
Títulos de anticuerpos neutralizantes	Cuantitativa Continua	Títulos de anticuerpos neutralizantes, determinado por ensayo de neutralización.	MGT del título de anticuerpos neutralizantes e IC95%. Correlación respecto a los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD y al % de inhibición RBD:ACE2
% de inhibición de la interacción RBD:ACE2	Cuantitativa Continua	% de inhibición de la interacción RBD:ACE2 en un rango de dilución a partir de 1/100. Se determinará la proporción de sujetos con una inhibición $\geq$ al 70% de la unión RBD con ACE2, a la dilución 1/100. Se determinará TI50 y aquellos con valores $\geq$ 250 (valor correspondiente a 3 veces el valor de la MGT del TI50 del panel de suero de convalecientes cubanos).	Mediana (IC95%) Correlación respecto a: -Niveles de anticuerpos IgG anti-RBD. -Títulos de anticuerpos neutralizantes Número, porcentaje, IC95%

Exámenes y evaluaciones.

1. Etapa previa: Reclutamiento, evaluación clínica y por laboratorio e inclusión de sujetos.

- Reclutamiento:

En el marco del Proceso de Reclutamiento, los voluntarios recibirán información oral y escrita sobre el objetivo y diseño del estudio, el Producto en Investigación, los beneficios y riesgos de su participación en el estudio. Los voluntarios recibirán las Hojas de Información y Formulario de Consentimiento Informado, y contarán con tiempo para un mejor análisis de la información recibida. Los sujetos que consientan en participar en el estudio procederán a la firma de dos copias del Formulario de Consentimiento Informado, una quedará en su poder y la otra en la Carpeta del Investigador Principal.

Los encuentros con los voluntarios se programarán y realizarán velando por el cumplimiento de las medidas establecidas por el Ministerio de Salud Pública en relación con la epidemia por SARS-CoV-2.

- Evaluación:

Una vez firmado el consentimiento, se procederá a realizar las mensuraciones, test de embarazo (cuando corresponda), evaluación clínica, exámenes de laboratorio clínico, microbiológico e inmunológico, para definir la posible inclusión de los sujetos en la Fase IIa. Para la Fase IIb se realizarán las mensuraciones pertinentes, la evaluación clínica, el TRA/PCR, la prueba de embarazo y las inmunológicas, y solo en caso de ser necesario se realizarían otros exámenes, a criterio de los evaluadores clínicos, bien sea como estudio complementario para avalar la inclusión de algún sujeto determinado, o completar la evaluación clínica durante o al finalizar el estudio.

- Inclusión y vacunación:

La inclusión del sujeto y la aplicación del candidato vacunal o placebo, ocurren el mismo día en el orden de: inclusión y vacunación.

Para determinar la inclusión, el sujeto será interrogado, evaluado mediante examen físico y toma de los parámetros vitales. Se verificarán los criterios de selección y si cumple con todos los requerimientos, se decide la inclusión o no del sujeto.

Una vez incluido el sujeto, se indica la aplicación del Producto en Investigación.

2. Evaluación durante el tratamiento (hasta 28 días después de la aplicación del Producto en Investigación).

Toda la información relacionada con la evaluación inicial y seguimiento de los sujetos será recogida en la Historia Clínica y el CRD.

Las consultas programadas se realizarán por los médicos designados y debidamente entrenados. En caso de no asistir a la consulta planificada se contactará por vía telefónica u otra. A través del interrogatorio, examen físico y revisión del Diario de Eventos Adversos, se recogerán en cada consulta los datos relativos a la aparición y seguimiento de los eventos adversos. También se registrará la utilización de tratamiento concomitante y la verificación de los criterios de inclusión/exclusión o interrupción del ensayo.

Tabla 7. Distribución de las determinaciones de laboratorio según tiempos de evaluación

Determinaciones	Fase IIa			Fase IIb	
	Reclutamiento	T14	T28	Reclutamiento	T28
TRA/PCR SARS-CoV-2	X	-	-	X	-
Hemograma con diferencial	X	X	-	-	-
Glucosa	X	X	-	-	-
Creatinina	X	X	-	-	-
ALAT	X	X	-	-	-
ASAT	X	X	-	-	-
Grupo sanguíneo y factor	X	-	-	-	-
Anticuerpos anti-HIV 1+2	X	-	-	-	-
HBsAg	X	-	-	-	-
Anticuerpos contra Hepatitis C	X	-	-	-	-
VDRL	X	-	-	-	-
Prueba de embarazo	-	-	-	X	-
Anticuerpos anti-RBD	X	X	X	X	X
% de Inhibición de RBD:ACE2	X	X	X	X	X
Título de Anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2	X	-	X	X (submuestra)	X (submuestra)

Nota:- En la Fase IIb pudieran realizarse otros exámenes: de laboratorio clínico o microbiológico, a criterio de los evaluadores clínicos, si fuera necesario para avalar la inclusión de algún sujeto determinado, o completar la evaluación clínica durante el estudio. El pesquiasaje y reclutamiento se realiza durante 7 días antes de la inclusión del voluntario y su vacunación. El TRA previo a la inclusión, el PCR como prueba confirmatoria y para el pesquiasaje en aquellos casos con criterio clínico o epidemiológico.

Criterios para evaluar la inmunogenicidad.

La variable principal de inmunogenicidad en este ensayo, es la inducción de anticuerpos específicos contra el RBD.

No existe un subrogado de protección para la evaluación de los candidatos vacunales contra COVID-19. Por tanto, las variables inmunológicas se están definiendo sobre la experiencia de otros estudios clínicos. Si surgiera información de estudios externos (evento intercurrente), donde se establezca algún criterio sobre el umbral de anticuerpos, se adicionaría este criterio de evaluación.

Descripción de las técnicas para evaluar la inmunogenicidad del candidato vacunal (ANEXO VII):

- ELISA indirecto cuantitativo para determinar los niveles de anticuerpos IgG específicos anti-RBD.
- ELISA de inhibición de la interacción RBD:ACE2.
- Ensayo de neutralización viral.

Toma, manejo y conservación de muestras:

- Las extracciones de sangre serán realizadas por técnicos de laboratorio capacitados.
- El traslado y conservación de muestras de laboratorio será registrada en el Registro correspondiente.
- Para el enmascaramiento de las muestras se utilizará el procedimiento “Enmascaramiento de muestras biológicas para determinaciones inmunológicas” del Instituto Finlay de Vacunas.

XI. RECOLECCIÓN Y MANEJO DE DATOS

Toda la información generada en el estudio será recogida en modelos y registros diseñados para los fines del estudio.

Manejo de datos y procedimientos para conservar la información.

El CRD será archivado por el Investigador Responsable en la Carpeta del Investigador habilitada en el sitio clínico. Una copia será recogida durante las visitas de Control de Calidad para su posterior introducción en el Sistema para el Manejo de Datos de Ensayos Clínicos. Se utilizará el Sistema Gestor para estudios clínicos “OpenClinica” en su versión Community.

Las actividades para el manejo de datos se establecen en los procedimientos de trabajo.

XII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Número de individuos planeados. Justificación del tamaño de muestra.

Fase IIa:

Para satisfacer la hipótesis de seguridad del estudio de estimar una toxicidad grave consistente con la vacunación inferior al 5%, se calcula el número de sujetos por el método de estimación de un intervalo de confianza al 95% para una proporción:

Confidence Intervals for One Proportion

Numeric Results for Two-Sided Confidence Intervals for One Proportion

Confidence Interval Formula: Exact (Clopper-Pearson)

Confidence Level	Sample Size (N)	Target Width	Actual Width	Proportion (P)	Lower Limit	Upper Limit	Width if P = 0.5
0.950	20	0.25	0.247	0.05	0.001	0.249	0.456

Se propone la inclusión de 20 sujetos, con lo cual se puede estimar la proporción admitida con un intervalo de confianza de amplitud de 0,25. No se prevé la adición de pérdidas, considerando que la población de seguridad para dar respuesta al objetivo principal del estudio quedará constituida por todos los sujetos a los que se les administren la dosis planificada.

Se realizarán análisis probabilísticos para evaluación del criterio de parada por toxicidad inadmisibles, si la probabilidad de que la proporción de individuos con eventos adversos graves con relación de causalidad sea superior al 5% ($\geq 0,90$). Si se satisface el criterio de parada no se incluirán nuevos sujetos, ni se continuará a la siguiente etapa en este subgrupo etario.

De manera similar se evaluará la probabilidad de éxito inmunológico (más de un 50% de respuesta inmune satisfactoria). Si la probabilidad de éxito es inferior a 0,1 este subgrupo etario no será incluido en la siguiente etapa.

Fase IIb:

Tomando en cuenta el criterio de éxito de eficacia alrededor del 50%, adoptado por las agencias reguladoras internacionales para vacunas encaminadas a COVID-19, con una cota inferior del intervalo de confianza superior al 30%, se realiza el cálculo de tamaño de muestra para estimar una diferencia respecto al grupo control de aproximadamente el 50%, de modo que el límite inferior del intervalo de confianza para la diferencia respecto al control sea superior al 30%, y asumiendo que en el grupo control la proporción de individuos con respuesta inmune satisfactoria (TI50 mayor o igual a 250; valor 3 veces superior a la MGT del panel de convalecientes cubanos) será del 20%. [Ref MGT=83 (53–129); >250: 9/47 (19,1%)].

Se muestran varias alternativas en función de la amplitud del intervalo de confianza. En todos los casos, el límite inferior del intervalo de confianza se estima en una cifra superior al 30%.

Confidence Intervals for the Difference Between Two Proportions

Numeric Results for Two-Sided Confidence Intervals for the Difference in Proportions

Confidence Interval Method: Chi-Square - Simple Asymptotic (Pearson)

Confidence Level	N1	N2	N	Target R	Target Width	P1	P2	P1-P2	Lower Limit	Upper Limit
0.950	1306	327	1633	4:1	0.100	0.70	0.20	0.50	0.45	0.55
0.950	1069	353	1422	3:1	0.100	0.70	0.20	0.50	0.45	0.55
0.950	815	408	1223	2:1	0.100	0.70	0.20	0.50	0.45	0.55
0.950	569	569	1138	1:1	0.100	0.70	0.20	0.50	0.45	0.55
0.950	582	146	728	4:1	0.150	0.70	0.20	0.50	0.43	0.57
0.950	475	157	632	3:1	0.150	0.70	0.20	0.50	0.43	0.57
0.950	362	181	543	2:1	0.150	0.70	0.20	0.50	0.43	0.57
0.950	253	253	506	1:1	0.150	0.70	0.20	0.50	0.43	0.57
0.950	326	82	408	4:1	0.200	0.70	0.20	0.50	0.40	0.60
0.950	268	88	356	3:1	0.200	0.70	0.20	0.50	0.40	0.60
0.950	203	102	305	2:1	0.200	0.70	0.20	0.50	0.40	0.60
0.95	143	143	286	1:1	0.200	0.70	0.20	0.50	0.40	0.60

Se decide la inclusión de 408 sujetos con una razón de aleatorización 4:1, que permitirá estimar una diferencia entre los grupos superior al 40% con una precisión de 0,075 (mitad del ancho del intervalo de confianza). Adicionando un 5% de pérdidas, para cubrir los abandonos o salidas del estudio por cualquier causa, se requeriría la inclusión de aproximadamente 430 sujetos (344 y 86 en los grupos vacunado y control, respectivamente).

Los sujetos incluidos en la primera etapa serán considerados en el análisis principal.

Plan de Análisis estadístico.

Se distinguirán tres poblaciones:

- “Por protocolo” (PP): definido como los individuos que hayan sido incluidos, que cumplen todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión, que hayan recibido la dosis planificada, en los que se disponga de la valoración de las variables y que no hayan sufrido ninguna desviación mayor al protocolo. Los individuos serán considerados en el grupo donde fueron aleatorizados.

Se considerarán como desviaciones mayores las siguientes:

1. Sujetos que interrumpan el estudio en ausencia de alguna causa de interrupción definida en el protocolo.
2. Errores en la asignación del tratamiento.
3. Uso de terapia concomitante no establecida.
4. Fallos en la obtención del consentimiento informado, por ejemplo, no documentación, consentimiento obtenido después del inicio de los procedimientos del estudio

- “Intención de tratar” (ITT): Se considerarán todos los individuos que hayan sido incluidos y que hayan sido vacunados, con independencia de:
- ✓ la adherencia o no a los criterios de entrada,
 - ✓ el abandono del estudio,
 - ✓ las desviaciones del protocolo.

Los individuos serán considerados en el grupo donde fueron aleatorizados.

En esta población se estudiarán las variables de seguridad y dentro de las variables de efecto se considerarán las evaluaciones inmunológicas: anticuerpos específicos, % de inhibición RBD:ACE2 y anticuerpos neutralizantes.

- “Población de Seguridad”: incluirá a todos los individuos vacunados. Los individuos serán considerados en el grupo donde fueron tratados.

A) Análisis exploratorio.

Se verificará el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

Todas las variables involucradas (de control-variables independientes, principales y secundarias) se resumirán del siguiente modo:

- En caso de las variables cuantitativas, las medidas de tendencia central y dispersión: número de observaciones disponibles, media, mediana, desviación estándar, mínimo, máximo, rango intercuartílico, percentiles 25 y 75.
- En el caso de las variables cualitativas, las distribuciones de frecuencias.

Se analizarán las interrupciones con distribuciones de frecuencia y se harán listados por causas.

Variable principal Fase IIa:

Eventos Adversos. Perfil de seguridad y reactogenicidad.

Eventos adversos (en ambas etapas):

- ✓ Se estimará la frecuencia de individuos con eventos adversos graves relacionados con la administración de la vacuna y se calculará el intervalo de confianza 95% correspondiente. En caso de que la frecuencia sea muy baja o muy alta, se estimará el intervalo de confianza usando el enfoque bayesiano.
- ✓ Se estimará la frecuencia de individuos con cada evento adverso.
- ✓ Se mostrarán las distribuciones de frecuencias de cada tipo de evento reportado (en caso necesario se recodificarán entidades comunes). Similar análisis se hará con la intensidad, la duración, gravedad, resultado y relación de causalidad.

- ✓ Se evaluará de manera iterativa el criterio de parada por toxicidad inadmisibile (superior al 5% con elevada probabilidad), bajo el siguiente procedimiento:

a) Asumir función de densidad a priori no informativas $B(1,1)$:

$$\text{beta}(u; a, b) = \frac{u^{a-1} (1-u)^{b-1}}{B(a, b)}, \quad 0 < u < 1, \quad B(a, b): \text{función beta}$$

b) Estimar la probabilidad de toxicidad y efecto temprano según el Teorema de Bayes:

$$P[\text{toxicidad}] = \text{Beta}(a + \text{EAg}_{jm}; b + m - \text{EAg}_{jm}),$$

dónde:

EAg_{jm} : # de pacientes con evento adverso grave y relación de causalidad consistente con la vacunación

c) Calcular la probabilidad de toxicidad inadmisibile:

$$P[\text{Tox}_{\text{inadmisibile}}] = P[\text{toxicidad}_j > 0.05 / X_{j,m}] = 1 - \int_0^{0.05} \text{beta}(u; a + \text{EAg}_{j,m}, b + m - \text{EAg}_{j,m}) du$$

d) Evaluar el criterio de decisión

- En la Fase IIa: Si $P[\text{Tox}_{\text{inadmisibile}}] > 0.90$, el subgrupo etario 60-80 años no continúa a la Fase IIb.
- En la Fase IIb: Si $P[\text{Tox}_{\text{inadmisibile}}] > 0.90$ se detiene el estudio.

La diferencia entre la composición del candidato vacunal FINLAY-FR-1A (SOBERANA Plus) y el Placebo en cuanto a la cantidad por dosis del adyuvante: gel de Hidróxido de Aluminio, constituye una debilidad del estudio y pudiera tener potencialmente implicaciones en la evaluación de la reactogenicidad, a priori desfavorables al candidato vacunal, que tiene una cantidad mayor de este adyuvante. Sin embargo, teniendo en cuenta que este hecho no afecta el enmascaramiento y que el criterio de seguridad considerado en la hipótesis, así como la evaluación del criterio de parada en ambas etapas no es relativa al placebo, sino relativa a la cota máxima admisible, se considera no relevante para dar respuesta a los objetivos del estudio.

Exámenes de laboratorio:

- ✓ Se realizarán análisis pareados inicio-final en cada grupo (prueba t de Student para muestras dependientes o prueba de Wilcoxon), dependiendo del supuesto de aproximación de los datos por una distribución normal.
- ✓ Se presentarán gráficos que muestren la evolución de los valores de tendencia central y dispersión.

Evaluación inmunológica.

Respuesta inmune satisfactoria (RIS): Título inhibitorio 50 (TI50) ≥ 250 .

En la Fase IIa (a los 14 y 28 días de administrado el candidato):

- ✓ Estimar el intervalo de confianza al 95% para la proporción de sujetos con RIS.
- ✓ Calcular la probabilidad de que la RIS sea superior del 50%.

a) Asumir función de densidad a priori no informativas $B(a, b)$, con $a=b=1$:

$$beta(u; a, b) = \frac{u^{a-1}(1-u)^{b-1}}{B(a, b)}, \quad 0 < u < 1, \quad B(a, b): \text{función beta}$$

b) Estimar la probabilidad de RIS según el Teorema de Bayes para ambas variables:

$$P(RIS) = Beta(a + RIS_{jm}; b + m - RIS_{jm}),$$

dónde:

$RIS_{j,m}$: # de pacientes con $TI50 \geq 250$ en el grupo j para los m sujetos evaluados.

c) Calcular la probabilidad de que la RIS sea superior al 50%:

$$P[RIS_j > 0.50 / X_{j,m}] = 1 - \int_0^{0.50} beta(u; a + RI_{j,m}, b + m - RI_{j,m}) du$$

d) Evaluar el criterio de decisión

- Si $P[RIS > 0.50] < 0.1$, el subgrupo etario 60-80 años no continúa a la Fase IIb.

B) Análisis confirmatorio.

Fase IIb

Variable principal

Respuesta inmune satisfactoria (RIS): Título inhibitorio 50 (TI50) ≥ 250

En la Fase IIb (a los 28 días de administrado el candidato):

- ✓ Estimar el intervalo de confianza al 95% en cada grupo.
- ✓ Estimar el intervalo de confianza al 95% para la diferencia Vacuna-Control.
- ✓ Estimar la probabilidad de RIS, bajo el procedimiento previamente descrito para la Fase IIa, incisos a), b) y c), considerando adicionalmente como información a priori, los resultados observados en la Fase IIa y en el estudio Fase 1 precedentes.
- ✓ Estimar la razón odds como medida de asociación Respuesta-Tratamiento, con el intervalo de confianza asociado.
- ✓ Evaluar la influencia de las variables de control (variables independientes), a través de un modelo de regresión logística.
- ✓ Ilustrar la variabilidad inter-lote, a través de un modelo multinivel con efectos aleatorios.

Variables secundarias:

Seroconversión (Según nivel de anticuerpos IgG anti-RBD alcanzado a los 14 y 28 días de la dosis empleada (Fase IIa) o a los 28 días (Fase IIb), respecto a los niveles prevacunales); **Proporción de sujetos con niveles de anticuerpos IgG inhibitorios mayor al 70%** de la unión RBD con ACE2 a una dilución 1/100:

- ✓ Estimar el intervalo de confianza al 95% para la diferencia Vacuna-Control.
- ✓ Evaluar la relación de dependencia Respuesta-Tratamiento.
- ✓ Estimar la razón odds como medida de asociación Respuesta-Tratamiento, con el intervalo de confianza asociado.

Título de anticuerpos neutralizantes:

- ✓ Estimar la media geométrica de los niveles de anticuerpos IgG, con el intervalo de confianza al 95% asociado.
- ✓ Comparar los grupos usando la prueba t de Student o prueba U de Mann-Whitney, dependiendo de la aproximación de los datos a una distribución normal.
- ✓ Estimar la correlación entre los títulos de anticuerpos neutralizantes y los niveles de anticuerpos IgG, así como el % de inhibición RBD:ACE2, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson o el coeficiente de correlación de Spearman (en caso de no aproximación de los datos a una distribución normal).

Niveles de anticuerpos IgG; % de Inhibición de la interacción RBD:ACE2 en un rango de dilución a partir de 1/100:

- ✓ Estimar en cada grupo, las medidas de tendencia central, con su intervalo de confianza al 95%.
- ✓ Comparar entre los grupos usando la prueba t de Student o la prueba U de Mann Whitney, dependiendo del supuesto de aproximación de los datos a una distribución normal.
- ✓ Evaluar la capacidad de discriminación, respecto a la RIS y Anticuerpos Neutralizantes, a través de una curva ROC (por sus siglas en inglés: receiver operating characteristic). En caso de capacidad significativa de discriminación, identificar el punto de corte que mejor discrimina a los sujetos (de mayor sensibilidad y especificidad).
- ✓ Clasificar los sujetos según los puntos de corte seleccionados para cada variable y estimar las medidas de diagnóstico correspondientes (sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos).

C) Procedimientos para diagnosticar y explicar datos perdidos (missing) o extremos (outliers)

Para el diagnóstico de datos aberrantes o extremos se usarán técnicas descriptivas (rango intercuartil) y gráficas (boxplot y residual plots) en las variables principales de respuesta (Inmunogenicidad). Los casos que visualmente se encuentren fuera de rango serán analizados con el Investigador Principal y posteriormente evaluados por posible influencia en los resultados y conclusiones, comparando los resultados de los análisis con y sin el valor detectado. En caso de que se detecten discrepancias en los resultados de los dos análisis se reportará y discutirá en el informe estadístico e informe final.

Los datos faltantes se manejarán de la siguiente forma:

1. Se comparará la proporción de voluntarios que abandonan el estudio.
2. Siempre que los datos lo permitan se confeccionarán gráficos de tipo Kaplan Meier para evaluar el patrón de abandonos.
3. Se describirán las razones de abandono.

Los valores faltantes en las variables principales de seguridad o inmunogenicidad serán considerados “*missing at random* (MAR)” y por tanto serán ignorados en el análisis primario. Sin embargo, si se reporta más del 5% de todas las respuestas primarias para todas las variables incluidas en el análisis principal como dato faltante, un análisis de sensibilidad se llevará a cabo en adición al análisis primario MAR. Este análisis de sensibilidad incluirá una evaluación de los resultados de los modelos bajo las siguientes suposiciones:

1. Arrastrando la última observación (siempre que sea posible).
2. Imputación por el peor caso.
3. En caso de que la fecha de comienzo o fin de algún evento adverso esté incompleta, esta será imputada por el peor caso posible.

D) Análisis Beneficio-Riesgo.

Como medida de Balance Beneficio-Riesgo se estimará en cada grupo, el Factor de Bayes (FB) definido como:

$$\text{Factor de Bayes} = FB = \frac{\pi(\text{beneficio} | x) / p(\text{beneficio})}{\pi(\text{riesgo} | x) / p(\text{riesgo})}$$

Se considerarán los siguientes escenarios de Beneficio y de Riesgo:

Beneficio₁ = Proporción de individuos con RIS.

Riesgo₁ = Eventos adversos graves relacionados con el tratamiento.

Riesgo₂ = Eventos adversos severos relacionados con el tratamiento.

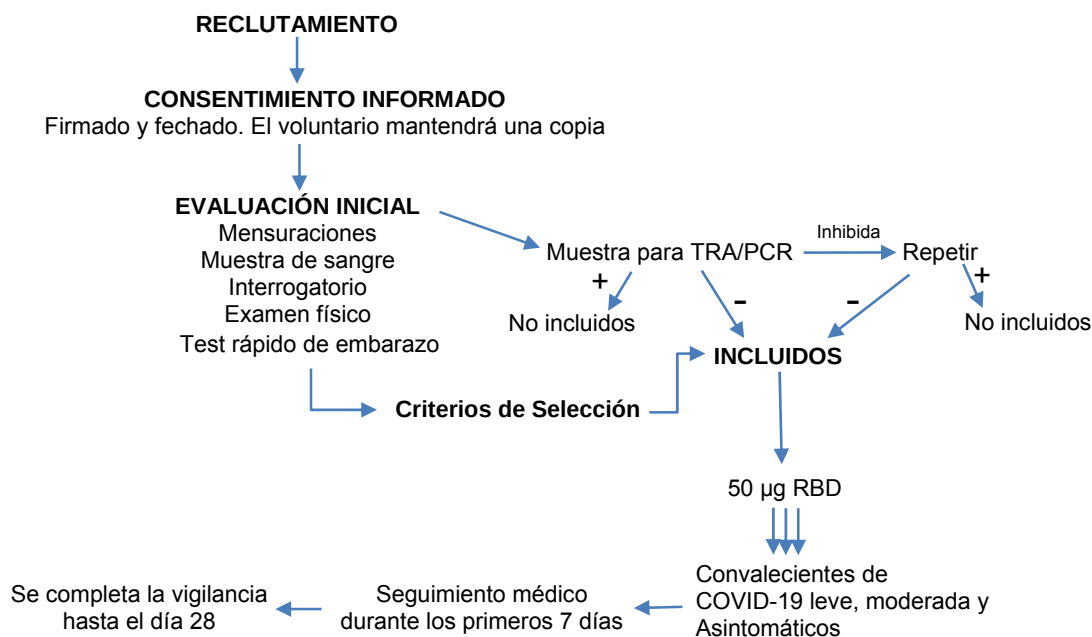
Las decisiones se pueden ubicar según el siguiente criterio:

Si $FB \geq 1$:	Evidencias a favor del beneficio.
Si $1 > FB \geq 10^{-1/2}$:	Evidencia mínima contra el beneficio.
Si $10^{-1/2} > FB \geq 10^{-1}$:	Evidencia substancial contra el beneficio.
Si $10^{-1} > FB \geq 10^{-2}$:	Fuerte evidencia contra el beneficio.
Si $10^{-2} > FB$:	Decisiva evidencia contra el beneficio.

Se emplearán para el análisis estadístico los sistemas: SPSS versión 25.0, STATISTICA versión 12.0, R versión 3.2.4 EPIDAT versión 3.1 y WinBugs versión 1.4

XIII: CONSIDERACIONES PRÁCTICAS.

En el siguiente diagrama mostramos la secuencia de actividades a realizar durante el estudio.



Distribución de actividades. Fase IIa

Actividades	D -7 Eval. Inicial	D 0	1 h	D 1	D 2	D 3	D 7	D 14	D 21	D 28
Consulta presencial	X	X	X	X	X	X	X	X		X
Consulta no presencial									X	
Consentimiento Informado	X	X								
Mensuración	X	X								
Interrogatorio	X	X	X	X	X	X	X	X		X
Examen físico	X	X	X	X	X	X	X	X		X
Toma de muestra de sangre	X							X		X
Laboratorio Clínico	X							X		
Laboratorio Inmunológico	X							X		X
Laboratorio Microbiológico	X									
Toma de muestra TRA/PCR	X									
Test rápido embarazo										
Criterios de selección	X	X								
Vacunación		X								
Eventos adversos solicitados		X	X	X	X	X	X			
Eventos adversos no solicitados		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análisis de relación de causalidad		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Completar CRD		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Completar HC		X	X	X	X	X	X	X	X	X

Distribución de actividades. Fase IIb

Actividades	D -7 Eval. Inicial	D 0	1 h	D 1	D 2	D 3	D 7	D 14	D 21	D 28
Consulta presencial	X	X	X							X
Consulta no presencial				X	X	X	X	X	X	
Consentimiento Informado	X	X								
Mensuración	X	X								
Interrogatorio	X	X	X							X
Examen físico	X	X	X							X
Toma de muestra de sangre	X									X
Laboratorio Clínico										
Laboratorio Inmunológico	X									X
Laboratorio Microbiológico										
Toma de muestra TRA/PCR	X									
Test rápido embarazo	X									
Criterios de selección	X	X								
Vacunación		X								
Eventos adversos solicitados		X	X	X	X	X	X			
Eventos adversos no solicitados		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análisis de relación de causalidad		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Completar CRD		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Completar HC		X	X	X	X	X	X	X	X	X

Nota:- En la Fase IIb pudieran realizarse otros exámenes: de laboratorio clínico o microbiológico, a criterio de los evaluadores clínicos, si fuera necesario para avalar la inclusión de algún sujeto determinado, o completar la evaluación clínica durante el estudio. El pesquiasaje y reclutamiento se realiza durante 7 días antes de la inclusión del voluntario y su vacunación. El TRA previo a la inclusión, el PCR como prueba confirmatoria y para el pesquiasaje en aquellos casos con criterio clínico o epidemiológico.

Indicaciones médicas para el tiempo de vigilancia ambulatoria

- ✓ Cumplir con las medidas orientadas por el Ministerio de Salud Pública:
 - Lávese las manos frecuentemente.
 - Uso obligatorio del nasobuco.
 - Evite tocarse la nariz, los ojos y la boca.
 - Evite acudir a lugares donde exista aglomeración de personas.
 - Mantenga el distanciamiento físico.
- ✓ Evite realizar viajes a otras provincias. En caso de necesidad extrema debe comunicarse con el Investigador Principal a través de los teléfonos: 7830-5553; 7846-1146.
- ✓ Anote en el Diario de Eventos Adversos cualquier acontecimiento relacionado con su salud y tratamiento recibido.
- ✓ Evite el embarazo durante el estudio.
- ✓ En caso de visitar alguna institución de salud por presentar acontecimientos adversos, presente la Tarjeta de Identificación y comuníquese con el Investigador Principal a través de los teléfonos: 7830-5553; 7846-1146.

Especificaciones en los casos de desviaciones menores previstas en el protocolo

En caso de producirse alguna desviación, deberá ser analizada previamente por el Promotor, el Investigador Principal y los Investigadores Responsables. El equipo del estudio determinará la conducta a seguir en cada caso particular.

A continuación, se relacionan las desviaciones previstas y la conducta a seguir:

Desviación	Conducta
No cumplimiento de las consultas presenciales de seguimiento de seguridad postvacunales, sin que la causa constituya criterio de interrupción.	Se localizará al sujeto por cualquier vía para recuperar la información. Se aceptará un margen de hasta 72 horas para recuperar la consulta.
No acudir el día de las tomas de muestras, sin que la causa constituya criterio de interrupción.	Día 14: Se aceptará un margen de hasta 7 días Día 28: Se aceptará un margen de hasta 14 días.
Administración de inmunomoduladores, transfusión de sangre o derivados, durante los 30 días posteriores a la vacunación.	Se tendrá en cuenta la información para el análisis de los datos

Deberes y responsabilidades:

A. Promotor:

➤ Control y Garantía de calidad:

- ✓ Establecer convenios de colaboración por escrito y antes del inicio del ensayo entre el Promotor y la Institución/Investigador y otras partes implicadas en el ensayo clínico
- ✓ Establecer un acuerdo entre las partes implicadas que aseguren el acceso a todos los locales, documentos/datos originales e informes relacionados con el ensayo de sus monitores y auditores, así como de las agencias reguladoras para realizar inspecciones.
- ✓ Establecer y mantener sistemas de aseguramiento y control de calidad, con Procedimientos Normalizados de Operación (PNOs) escritos a fin de asegurar que el ensayo y los datos sean generados, documentados (registrados) y comunicados de acuerdo con el protocolo, las BPC y los requisitos reguladores vigentes.
- ✓ Cumplir las normas establecidas en el Programa de Aseguramiento de la Calidad del Ensayo Clínico, para lo cual se realizarán visitas de evaluación de monitoreo y auditorías.
- ✓ Designación de los monitores que controlarán la marcha del estudio y contribuirán a garantizar la calidad del estudio.
- ✓ Debe guardar todos los documentos esenciales específicos de acuerdo con los requerimientos reguladores vigentes.
- ✓ Conservar la información primaria, incluyendo los informes que se generen en el estudio, durante al menos 15 años, luego de concluido y realizada la publicación correspondiente.

➤ Diseño del Ensayo:

- ✓ Confección del Protocolo del ensayo y solicitud de las aprobaciones del CEI y el CECMED.
- ✓ Suministro del CRD y las instrucciones para su llenado.

➤ Selección del Investigador y acuerdos:

- ✓ El Promotor es responsable de la selección del Investigador/Institución. Cada investigador debe estar calificado por formación y experiencia, así como tener resultados adecuados para conducir apropiadamente el ensayo para el cual es seleccionado. La selección de los investigadores coordinadores, así como su organización son responsabilidad del Promotor.
- ✓ Antes de llegar a un acuerdo con el Investigador/Institución para realizar el ensayo, el Promotor debe facilitarle el Protocolo y un Manual del Investigador actualizado y debe darles tiempo suficiente para que los revisen.
- ✓ Establecer con los Investigadores Principales la distribución de responsabilidades.

➤ **Confirmación de Revisión por el CEI:**

El Promotor debe obtener del Investigador/Institución:

- ✓ El nombre y dirección de cada uno de los integrantes del CEI.
- ✓ Una declaración del CEI que confirme que está organizado y opera de acuerdo con la BPC y las leyes y normas reguladoras vigentes.
- ✓ Opinión favorable/aprobación del CEI documentada y, si lo requiere, una copia actualizada del Protocolo, formulario de consentimiento informado, cualquier otra información escrita que se le facilite a los sujetos, procedimientos de reclutamiento de sujetos y documentos relacionados con la atención a los sujetos y cualquier otro documento que pueda haber solicitado el CEI.
- ✓ Si el CEI condiciona su opinión favorable/aprobación a la realización de cambios en cualquier aspecto del ensayo, tales como modificación del Protocolo, formulario de consentimiento informado o cualquier otra información escrita que se le facilite a los sujetos y/u otros procedimientos, el Promotor debe obtener del Investigador/Institución una copia de las modificaciones hechas y la fecha en que el CEI dio su opinión favorable/aprobación.
- ✓ El Promotor debe obtener del Investigador/Institución la documentación y las fechas de las nuevas aprobaciones/ nuevas evaluaciones con opinión favorable del CEI y de cualquier suspensión o retirada de opinión favorable/aprobación.

➤ **Manejo del Producto en Investigación:**

- ✓ Es responsable del suministro al Investigador/Institución del Producto en Investigación. No debe entregarlo al Investigador/Institución hasta que obtenga las aprobaciones requeridas (opinión favorable/aprobación del CEI y aprobación de la autoridad reguladora).
- ✓ Debe asegurarse de que los procedimientos escritos incluyen las instrucciones que el Investigador/Institución debe seguir para el manejo y almacenamiento del Producto en Investigación y de la documentación relacionada.
- ✓ Los procedimientos deben dar las normas para que la recepción sea adecuada y segura, y para el manejo, almacenamiento, dispensación, recuperación del producto no utilizado por los sujetos y devolución al Promotor del Producto en Investigación no utilizado (o disposición alternativa si el Promotor lo autoriza y está de acuerdo con los requisitos reguladores vigentes).
- ✓ Debe asegurarse de que el Investigador recibe a tiempo el Producto en Investigación.
- ✓ Mantener registros de los documentos de envío, recepción, disposición, devolución y destrucción de los Productos en Investigación.

- ✓ Mantener un sistema para recuperar Productos en Investigación y documentar estas recuperaciones (ej, retirada de productos deficientes, reclamación del producto después de la finalización del ensayo).
- ✓ Tomará medidas para asegurar que el Producto en Investigación sea estable durante el período de uso.
- ✓ Debe mantener cantidades suficientes del Producto en Investigación utilizado en el ensayo para reconfirmar especificaciones, si ello es necesario, y mantener registros de las muestras de los lotes, los análisis y las características. En la medida en que la estabilidad lo permita, las muestras deben guardarse bien, hasta que se complete el análisis de los datos del ensayo o bien como indiquen los requisitos reguladores vigentes.
- ✓ El Promotor es responsable de la evaluación de la seguridad del Producto en Investigación.
- **Información de Seguridad:**
 - ✓ El Promotor es responsable de la evaluación de la seguridad del Producto en Investigación.
 - ✓ Debe notificar rápidamente al Investigador/Institución implicados y a las autoridades reguladoras, los hallazgos que pudieran afectar negativamente a la seguridad de los sujetos, o a la realización del ensayo, o bien pudieran alterar la opinión favorable/aprobación del CEI para continuar el ensayo.
 - ✓ Evaluación, de conjunto con los investigadores, de cualquier EAG que se presente con la finalidad de tomar las medidas necesarias en cada caso, e información al CECMED.
- **Organización y aspectos financieros del ensayo:**
 - ✓ Organizar el inicio de la ejecución y asegurar los recursos económicos y/o materiales necesarios para el desarrollo de la investigación.
 - ✓ Los aspectos financieros del ensayo deben ser documentados en un contrato entre el Promotor y el Investigador/Institución.
- **Manejo de las muestras de laboratorio:**
 - ✓ Custodiar, conservar y manipular las muestras para las pruebas inmunológicas y microbiológicas.
 - ✓ Garantizar la calidad de los resultados inmunológicos.
 - ✓ Conservación de los registros primarios.
- **Capacitación de los Recursos Humanos:**
 - El Promotor garantizará la capacitación del equipo de investigación de los sitios del ensayo en:

- Ética de la investigación y Buenas Prácticas Clínicas.
- Funciones y responsabilidades de todo el personal participante, incluyendo investigadores, responsables de componentes y el CIMD.
- Manejo del producto de investigación y de control al equipo de aseguramiento logístico y enfermeras vacunadoras.
- Entrenamiento al personal encargado en la toma, manejo y transporte de muestras.
- Manejo, Notificación y Reporte de Eventos Adversos a los investigadores clínicos, incluyendo los EAG

El Promotor, a través de la Dirección de Capital Humano del Instituto Finlay de Vacunas, garantizará la acreditación de los cursos de capacitación planificados y la expedición de un certificado que avale la participación de todos los participantes en dichas capacitaciones.

B. Responsabilidades del CENCEC:

- ✓ Designar gerente(s) de proyecto y asistentes de investigación clínica, quienes serán responsables de la monitorización del ensayo en su totalidad.
- ✓ Aseguramiento y control de la calidad.
- ✓ Promover el ensayo clínico entre los investigadores calificados y las instituciones de interés.
- ✓ Evaluar la idoneidad de los sitios y equipos de investigación propuestos por el Promotor.
- ✓ Asegurar la adherencia al protocolo, a las guías de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) y de BPC y a los requerimientos regulatorios por parte del personal involucrado en el ensayo.
- ✓ Preparar y garantizar la documentación oficial que se necesite para el inicio de la ejecución del estudio.
- ✓ Organizar, conjuntamente con el Promotor el inicio de la ejecución y el aseguramiento del material para el ensayo.
- ✓ Obtener la aprobación del CEI Institucional a través del Investigador Principal/Investigador Responsable.
- ✓ Realizar todos los trámites regulatorios necesarios durante la ejecución del ensayo.
- ✓ Monitoreo de los datos y actividades del ensayo.
- ✓ Monitoreo de los eventos adversos que se presenten durante la marcha del ensayo.
- ✓ Considerar rápidamente, con los investigadores y el centro patrocinador, cualquier situación importante referente a la investigación para la toma oportuna de decisiones.

- ✓ Promover y participar en reuniones destinadas a solucionar eventualidades importantes, con el objetivo de evitar retrasos o dificultades mayores en el estudio que luego puedan influir negativamente en los resultados.
 - ✓ Elaborar, a solicitud del Promotor, modificaciones al Protocolo en caso que se presenten.
 - ✓ Solicitar al Investigador Principal/Investigador Responsable la presentación/aprobación de las modificaciones por el CEI.
 - ✓ Mantener actualizada la información de la conducción del estudio.
 - ✓ Mantener la confidencialidad de los sujetos incluidos en el ensayo.
 - ✓ Realizar su actividad en función de lo establecido y acordado en el contrato de trabajo con el Promotor.
 - ✓ Revisar, al finalizar el estudio, la totalidad de los registros y realizar la conciliación de los medicamentos y otros insumos con respecto al inventario inicial.
 - ✓ Proporcionar la información sobre la destrucción o retorno de los recursos no utilizados al Promotor.
- **Plan e informes de Monitorización:**
- ✓ El monitor deberá desarrollar un plan de monitorización basado en los objetivos principales de cada visita, el cual presentará al Promotor para su revisión, aprobación y chequeo.
 - ✓ El monitor debe presentar un informe escrito al Promotor después de cada visita al lugar del ensayo o después de cada comunicación relacionada con el ensayo.
 - ✓ Los informes deben incluir la fecha, el lugar, el nombre del monitor y el nombre del investigador u otro individuo con el que se contacte.
 - ✓ Los informes deben incluir un resumen de aquello que ha revisado el monitor y de los hallazgos, hechos significativos, desviaciones o deficiencias, conclusiones, acciones emprendidas o a ser emprendidas y/o acciones recomendadas para asegurar el cumplimiento.
 - ✓ Comunicar al investigador las desviaciones del Protocolo, PNOs, BPC y requisitos reguladores vigentes y emprender las acciones apropiadas para prevenir la reaparición de las desviaciones detectadas.
 - ✓ La visita subsiguiente de monitoreo deberá comenzar por la revisión de los señalamientos, desviaciones, recomendaciones, y otros aspectos detectados en visita anterior.

- ✓ La revisión y seguimiento del informe de monitorización por parte del promotor, deberá quedar documentada en su carpeta.

C. Investigador Principal/Institución:

Debe Garantizar:

➤ **Calificación de los investigadores:**

- ✓ Que los investigadores estén calificados por sus estudios, formación y experiencia para asumir la responsabilidad del correcto desarrollo del ensayo, y que les facilitarán a los monitores del CENCEC un currículum vitae actualizado y toda documentación relevante que sea solicitada por el CEI y el CECMED.
- ✓ Que los investigadores conozcan y cumplan las BPC y los requisitos reguladores vigentes.
- ✓ Que el Investigador/Institución permita la monitorización por parte del CENCEC y auditoría por parte del Promotor, así como la inspección por parte del CECMED.
- ✓ Que el Investigador Principal (IP) tenga un listado de delegación de funciones en personas debidamente calificadas.

➤ **Recursos apropiados:**

- ✓ Que el IP disponga del tiempo y los recursos requeridos para reclutar el número necesario de voluntarios para participar en el ensayo, con un adecuado proceso de selección acorde con las exigencias del protocolo.
- ✓ Que el Investigador/Institución disponga del tiempo suficiente para desarrollar adecuadamente el ensayo y completarlo en el período convenido.
- ✓ Que el Investigador/Institución tenga disponible el personal calificado necesario y las instalaciones adecuadas para la conducción del ensayo con seguridad y en el tiempo previsto.
- ✓ El IP se asegurará de que todo el personal que participa en el ensayo está informado adecuadamente y conozca el contenido del Protocolo, los Productos de Investigación a evaluar y sus deberes y funciones relacionadas con el ensayo.

➤ **Asistencia médica de los voluntarios:**

- ✓ El IP o los miembros del colectivo de investigadores designados por él, serán los responsables de todas las decisiones médicas relacionadas con el ensayo clínico.
- ✓ El Investigador/Institución se asegurará de que durante y después de la participación de un voluntario en el ensayo, se le brinde asistencia médica adecuada ante cualquier EA.

- ✓ El investigador debe informar oportunamente al voluntario cuando este necesite asistencia médica para las enfermedades intercurrentes que aparezcan durante el ensayo clínico.
- ✓ Aunque el voluntario no esté en la obligación de dar razones para abandonar prematuramente el ensayo, el investigador realizará un esfuerzo razonable para averiguar dichas razones, respetando en todo momento los derechos del voluntario.
- **Atención de enfermería de los voluntarios:**
 - ✓ El IP asegurará que la atención de enfermería a los voluntarios que participan en el ensayo clínico se realizará por personal graduado y entrenado.
 - ✓ El IP/Institución se asegurará que durante el ensayo clínico se brinde adecuada atención de enfermería, con observancia de las buenas prácticas durante los procedimientos y ante la aparición de un EA.
- **Comunicación con el Comité de Ética:**
 - ✓ Antes de comenzar el ensayo clínico el Investigador/Institución debe solicitar y tener por escrito y fechados la opinión favorable/aprobación de los CEI para el Protocolo del ensayo, el formulario de consentimiento informado y sus actualizaciones, los procedimientos de reclutamiento y cualquier otra información escrita que sea suministrada a los voluntarios.
 - ✓ Durante el ensayo el Investigador/Institución facilitará a los CEI todos los documentos sujetos a revisión.
- **Cumplimiento del protocolo:**
 - ✓ El IP debe trabajar en la revisión del Protocolo de investigación, conjuntamente con el Investigador Promotor y el monitor, suministrando toda la información clínica-científica actualizada del asunto tratado.
 - ✓ El Investigador/Institución realizará el ensayo clínico cumpliendo el Protocolo acordado con el Promotor, y según las recomendaciones realizadas por los CEI y el CECMED.
 - ✓ El Investigador/Institución debe firmar el Protocolo y un acta de entendimiento para confirmar el acuerdo.
 - ✓ El IP no realizará enmiendas o modificaciones al Protocolo sin el conocimiento del promotor y sin la revisión del CEI, excepto cuando sea necesario evitar riesgos inmediatos a los voluntarios o cuando el cambio sólo implique asuntos logísticos o administrativos.
 - ✓ El IP o una persona designada por él, documentará y explicará cualquier desviación del Protocolo aprobado.

- ✓ Cuando el IP realice un cambio o se produzca una desviación del Protocolo, éste será informado de inmediato al CEI y al Promotor, y este último lo enviará al CECMED si fuera necesaria su aprobación.
- **Producto en Investigación:**
 - ✓ La responsabilidad del Producto en Investigación en el sitio del ensayo recae sobre el Investigador/Institución.
 - ✓ En la medida de lo requerido, el Investigador/Institución debe asignar alguna o todas las responsabilidades sobre el Producto en Investigación, en el sitio del ensayo, a un farmacéutico u otro individuo apropiado que esté bajo su supervisión.
 - ✓ El Investigador/Institución y/o el farmacéutico u otro individuo apropiado designado, debe registrar el envío del producto al sitio del ensayo, el inventario en el sitio del ensayo, el uso realizado por cada sujeto y la devolución al Promotor o disposición alternativa de los productos no utilizados. Estos registros deben incluir fecha, cantidades, números del código asignado al Producto en Investigación y a los sujetos del ensayo. Los investigadores deben tener registros que documenten adecuadamente que a los sujetos se le suministraron la dosis especificada por el Protocolo y que estén conciliados todos los productos recibidos del promotor.
 - ✓ El Producto en Investigación debe ser almacenado según especifique el Promotor y de acuerdo con los requisitos reguladores sobre el manejo de los medicamentos.
 - ✓ El investigador debe asegurarse de que el Producto en Investigación sea utilizado sólo de acuerdo con el Protocolo aprobado.
- **Estudios de laboratorio y manejo de las muestras:**
 - ✓ No se retendrán muestras clínicas (incluyendo muestras de suero) sin la aprobación del Promotor y el consentimiento expreso de los sujetos involucrados.
 - ✓ Velará porque no se realicen otros ensayos biológicos en el sitio del ensayo que no sean aquellos descritos en el protocolo o en sus enmiendas.
 - ✓ Y que las muestras estén debidamente etiquetadas y codificadas según se indica en el Protocolo.
- **Consentimiento informado de los voluntarios y sus contactos:**
 - ✓ El investigador obtendrá el consentimiento informado de los voluntarios, cumpliendo con las BPC.
 - ✓ El investigador entregará al voluntario una copia firmada y fechada del consentimiento informado.

➤ **Registros e informes:**

- ✓ El investigador debe asegurarse de la exactitud, integridad, legibilidad de los datos transmitidos al Promotor a partir de las fichas clínicas y los registros primarios de laboratorio a los CRD.
- ✓ El investigador entregará al promotor el CRD debidamente completado después de concluido el estudio.
- ✓ Los datos incluidos en el CRD, derivados de la Historia Clínica, registros primarios de laboratorios y otros documentos originales, tienen que ser consistentes con dichos documentos y si existen discrepancias deberán ser explicadas.
- ✓ Los cambios o correcciones hechos en el CRD serán registrados acorde con las BPC.
- ✓ El Investigador/Institución guardará los documentos del ensayo por un período no menor de 15 años, y tomará las medidas para prevenir la destrucción accidental o prematura de los mismos.
- ✓ Ante la petición de los monitores, el auditor, el CEI, el CIMD o del CECMED, el IP tendrá disponibles todos los registros relacionados con el ensayo clínico.
- ✓ El IP comunicará al promotor en un plazo no mayor de 24 horas sobre la aparición de cualquier EAG.

➤ **Detención, finalización prematura o suspensión del ensayo:**

- ✓ Si el ensayo finaliza prematuramente o se suspende por cualquier razón, el Investigador/Institución informará rápidamente a los voluntarios involucrados y les proporcionará tratamiento y seguimiento adecuados.
- ✓ Si el investigador detiene o suspende el ensayo sin previo acuerdo con el Promotor, éste tiene que informar rápidamente al Promotor con una explicación escrita detallada de los motivos.

Los Investigadores Coordinadores, además de tener las funciones especificadas anteriormente, tienen la responsabilidad de coordinar las actividades y el personal en el sitio clínico y las áreas de salud.

D. Co-investigadores:

- Garantizar que dispone del tiempo necesario para el cumplimiento de las tareas de la investigación.
- Entregar su Curriculum Vitae en la visita de evaluación inicial.

- Familiarizarse con el Manual del Investigador que contendrá toda la información clínica y pre-clínica del Producto en Investigación: dosis, eventos adversos y aspectos farmacocinéticos, entre otros.
- Asegurar el cumplimiento del Protocolo, de los principios éticos y las BPC.
- Participar conjuntamente con el investigador responsable, en la inclusión de los sujetos que cumplan con los criterios de selección.
- Informar a los monitores, dentro de las 24 horas inmediatas, cualquier EAG que ocurra u otra situación importante.
- Mantener la confidencialidad de la información que se genere durante la ejecución del ensayo. En caso de que se quiera divulgar los resultados, previo acuerdo con el IP, ya sea de forma preliminar, parcial o total, se debe pedir la autorización del Promotor. Aprobar y firmar el acuerdo de confidencialidad del estudio.
- Garantizar el llenado y conservación de los registros primarios, según se especifique en el Protocolo, para garantizar la trazabilidad de los datos.
- Garantizar la disponibilidad de los registros primarios en los monitoreos, auditorías e inspecciones planificadas a lo largo del estudio.

E. Personal de Enfermería:

- Estar familiarizado con el contenido del Protocolo.
- Participar en todas las actividades de capacitación programadas.
- Brindar atención de enfermería con calidad durante el ensayo clínico, y en observancia de las buenas prácticas y normas de bioseguridad durante los procedimientos.
- Participar en la extracción de sangre, realización de test rápido de embarazo, así como toma de muestra para TRA/PCR en tiempo real.
- Utilizar adecuadamente los medios de protección personal en correspondencia con la exposición al riesgo durante los procedimientos.
- Participar en el taller de unificación de criterios.
- Participar en el taller de Informe Final

Enfermeras Vacunadoras:

- Llevar a cabo el estudio según el Protocolo discutido con el Promotor y aprobado por el CEI y la Agencia Reguladora.
- Conocer y cumplir las BPC y los requisitos reguladores vigentes.
- Facilitarán al promotor un Curriculum Vitae actualizado.

- Asegurar el cumplimiento de los principios éticos establecidos en el Protocolo.
- Conocer los procedimientos relativos a la vacunación por vía intramuscular, para garantizar la correcta aplicación de los Productos en Investigación a los sujetos incluidos en el estudio.
- Estar familiarizado con el contenido del Protocolo, con las propiedades y el correcto manejo del Producto en Investigación.
- Participar en todas las actividades de capacitación programas.
- Participar en el taller de unificación de criterios.
- Participar en el taller de Informe Final.

F. Personal de Laboratorio Clínico y Microbiológico:

- Estar familiarizado con el contenido del protocolo.
- Garantizar las normas de Bioseguridad en el área de extracción/toma de muestra. Facilitarán al promotor un Curriculum Vitae actualizado.
- Utilizar medios de protección y materiales desechables.
- Garantizar una correcta técnica de extracción de muestra de sangre/muestra nasofaríngea. Garantizar el correcto manejo, traslado y conservación de las muestras.
- Conocer y cumplir las BPC y los requisitos reguladores vigentes.
- Asegurar el cumplimiento de los principios éticos establecidos en el Protocolo. Participar en todas las actividades de capacitación programas.
- Participar en el taller de unificación de criterios. Participar en el taller de Informe Final.

G. Operadores de Datos:

- Estar familiarizado con el contenido del Protocolo.
- Garantizar un correcto archivo de la documentación mientras permanezca en los sitios de estudio.
- Conocer y cumplir las BPC y los requisitos reguladores vigentes.
- Asegurar el cumplimiento de los principios éticos establecidos en el Protocolo.
- Garantizar la entrada de los datos del Cuaderno de Recogida de Datos con la calidad y el tiempo establecidos.
- Participar en todas las actividades de capacitación programadas. Participar en el taller de unificación de criterios.
- Participar en el taller de Informe Final.

Cuestiones sobre confidencialidad

Toda información del ensayo es confidencial. Para que los monitores, auditores, miembros del CEI, CIMD o de la Autoridad Reguladora, tengan acceso directo a los registros médicos originales de cada sujeto para su revisión durante las visitas de evaluación de monitoreo, auditorías e inspecciones relacionadas con el estudio, el voluntario debe haber brindado previamente su consentimiento por escrito.

Se verificará que:

- ✓ El Investigador/Institución garantice que la información del ensayo no sea revelada, de ninguna forma a terceras partes, sin el consentimiento escrito de los voluntarios.
- ✓ Los derechos y bienestar de los sujetos humanos estén protegidos. Estos conocerán que tanto los resultados de los estudios de laboratorio como las muestras de los fluidos corporales, estarán debidamente protegidos y se conservarán únicamente en tanto sean necesarias para los fines que justificaron su recolección y no para otros no declarados en el protocolo del estudio, salvo que el sujeto en investigación haya otorgado su consentimiento explícito para otros usos posteriores.
- ✓ Los datos informados en el ensayo serán exactos, completos y verificables a partir de las fuentes originales.
- ✓ Los resultados del estudio serán expuestos en un informe final estructurado según el anexo 5 de la regulación 21-2008 de la Autoridad Reguladora Nacional Cubana, CECMED. Dicho informe será entregado al CECMED y al CEI del estudio.
- ✓ El investigador tendrá derecho a publicar o permitir la publicación de cualquier información o material relativo al trabajo; previa consideración del Promotor, quien podrá solicitar su postergación, si fuera necesario proteger algún derecho de propiedad intelectual del producto u otro aspecto.
- ✓ Cualquier propuesta de presentación (manuscrito, resumen, cartel u otra modalidad) para enviar a una revista o evento científico, deberá ser enviada antes a los Promotores que representan el Protocolo, junto con la confirmación de que los demás autores han revisado y están de acuerdo con la propuesta de publicación o presentación.
- ✓ El Promotor se compromete a comentar tales documentos en un plazo de 10 días.
- ✓ Todos los derechos e intereses en cualquier invención, know-how u otros derechos de propiedad intelectual o industrial que se generen durante el desarrollo del estudio clínico que es objeto de este protocolo, deberán ser asignados y permanecer bajo la propiedad del Promotor.

- ✓ Los resultados individuales de la investigación serán informados a cada sujeto del estudio tras la apertura de los códigos y el cierre de la base de datos. Los resultados globales de la investigación serán informados a los directivos de salud de las comunidades, en ambos casos a través de los investigadores responsables de los sitios clínicos.

XIV: PLAN DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD.

Programa de Monitoreo y Auditorías a los Sitios del Ensayo.

El plan de monitorización y de auditorías al ensayo clínico, será ejecutado por los monitores y auditores del CENCEC, así como por la Dirección de Aseguramiento de la Calidad del IFV.

Programa de Visitas de Control de Calidad.

Se realizarán visitas de control de calidad según plan de monitoreo, de acuerdo a los puntos críticos identificados.

En estas visitas se verificará la correcta ejecución de la investigación a través de la adhesión al Protocolo, las BPC y los procedimientos normalizados de trabajo de cada sitio, el resultado del proceso de consentimiento informado con cada uno de ellos y el completamiento de los registros que forman parte de la carpeta del investigador. Además, se verificará el correcto llenado de los CRD y su concordancia con la información primaria contenida en las historias clínicas, se revisarán los consentimientos informados, entre otros aspectos relacionados con la investigación. Se realizará el inventario del producto y se revisará toda la documentación correspondiente a los vacunatorios y locales de tomas de muestras.

La fecha de cada visita será consensuada con los investigadores clínicos responsables.

XV: ASEGURAMIENTO Y ASPECTOS LEGALES

Se informará a las autoridades correspondientes sobre el ensayo que se efectuará. Se firmarán los convenios o contratos, según corresponda, entre las instituciones participantes antes del inicio del estudio.

Se realizará una reunión con todos los integrantes de la investigación para la discusión del Protocolo y unificación de criterios.

Aseguramiento de recursos indispensables.

Los Productos en Investigación serán suministrados por el IFV. El resto de los recursos necesarios para el ensayo (jeringuillas estériles desechables, guantes desechables, y otros insumos de

laboratorio) se garantizará por el IFV y el MINSAP. De igual forma, se garantizará el material de oficina necesario para el buen desempeño del estudio. Los recursos humanos necesarios para el estudio serán dispuestos por las Unidades del Sistema de Salud involucradas, previa coordinación con las direcciones de las instituciones. Los investigadores serán debidamente entrenados por el Promotor y los investigadores principales.

Actividades previas al inicio del ensayo:

- ✓ Se realizará reunión con las Direcciones de las Instituciones involucradas en el estudio, para informar sobre la estrategia del estudio y las necesidades en cuanto a aseguramiento material y de recursos humanos.
- ✓ Se seleccionarán los equipos de investigación por cada sitio clínico, se analizarán los Curriculum Vitae de cada integrante para definir las funciones dentro de la investigación. Se realizarán talleres de capacitación, que serán impartidos por un equipo de investigadores seleccionados.

Autorizaciones y aprobaciones.

Este Protocolo será presentado al CEI del IHI, para su revisión y aprobación. Este comité dictaminará el cumplimiento de los principios éticos en la investigación a través de la carta de aprobación del CEI. Además, será informado permanentemente sobre la marcha del estudio y podrá participar e intervenir en calidad de observador en cualquiera de sus fases. El dictamen otorgado por el CEI, conjuntamente con el Protocolo del estudio y el Manual del Investigador, serán entregados al CECMED para su revisión y solicitud de autorizo de inicio de ejecución del estudio. En caso de presentarse modificaciones al Protocolo, las mismas serán sometidas a la aprobación del CEI y notificadas o sometidas a aprobación del CECMED, previo a su implementación. Si la modificación implica la inclusión de nuevos sitios, se solicitará el autorizo correspondiente al MINSAP y al CEI.

XVI: CALENDARIO GENERAL

N	Etapas/ Actividad	Fecha de Inicio
1	Planificación/Elaboración del protocolo	Febrero/marzo 2021
2	Planificación/Preparación de la ejecución	Marzo/2021
3	Entrega del protocolo al CEI del IHI	22 marzo 2021
4	Dictamen CEI	29 marzo/2021
5	Entrega del protocolo al CECMED	31 marzo/2021
6	Autorización del CECMED de inicio de Ensayo Clínico	8 abril/2021
7	Taller de Inicio del EC	9 abril/2021
8	Proceso de reclutamiento de sujetos / consentimiento informado / evaluación	10-17 abril
9	Inicio de la Vacunación	17 abril
10	Procesamiento de muestras Entrada a Base de Datos Procesamiento y análisis estadístico Elaboración de Informe Final	Mayo-julio/2021

XVII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shi-Lee W, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nature Microbiology*. 2020;5:1185-91.
2. Arvin AM, Fink K, Schmid MA, Cathcart A, Spreafico R, Havenar-Daughton C, et al. A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;584:353-63
3. Lópea-Pérez GT, Ramírez-Sandoval MLP, Torres-Altamirano MS. Participantes de la respuesta inmunológica ante la infección por SARS-CoV-2. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*. 2020;29(1):5-15. Disponible en: <https://doi.org/10.35366/93321>
4. Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller MS, Lichty BD, Xing Zh. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nature Reviews Immunology*. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/S41577-020-00434-6>
5. Wu SL, Mertens AN, Crider YS, Nguyen A, Pokpongkiat NN, Djajadi S, et al. Substantial underestimation of SARS-CoV-2 infection in the United States. *Nature Communications*. 2020;11:4507. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18272-4>
6. Ministerio de Salud Pública. Protocolo de actuación nacional para la COVID-19. Versión 1.5. La Habana; MINSAP: 2020.
7. International Society for Infectious Diseases. Estimation of the asymptomatic ratio of novel coronavirus infections (COVID-19). *International Journal of Infectious Diseases*. 2020;94:154-55.
8. Salazar E, Kuchipudi SV, Christensen PA, Eagar TN, Yi X, Zhao P, et al. Relationship between anti-spike protein antibody titers and SARS-CoV-2 in vitro virus neutralization in convalescent plasma. *bioRxiv preprint*. 2020: Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2020.06.08.138990>
9. Brouwer PhJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020;369:643-50.
10. Hotez PJ, Corry DB, Strych U, Bottazzi ME. COVID-19 vaccines: neutralizing antibodies and the alum advantage. *Nature Reviews Immunology*. 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/S41577-020-0358-6>
11. Shen Ch, Wang Zh, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*. 2020;27: Disponible en: <https://doi.org/10.100/jama.2020.4783>
12. Yang J, Wang W, Chen Z, Lu S, Yang F, Bi Z, et al. A vaccine targeting the RBD of the S protein of SARS-CoV-2 induces protective immunity. *Nature*. 2020;29. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2599-8>
13. Alturki SO, Alturki-Sawsan O, Connors J, Cusimano G, Kutzler MA, Izmirly AM, Haddad EK. The 2020 Pandemic: Current SARS-CoV-2 Vaccine Development. *Frontiers in Immunology*. 2020;11: Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01880>

14. Chang-Monteagudo A, Ochoa-Azze R, Climent-Ruiz Y, Macías-Abraham C, Rodríguez-Noda L, Valenzuela-Silva C, et al. A single dose of SARS-CoV-2 FINLAY-FR-1A dimeric-RBD recombinant vaccine enhances neutralization response in COVID-19 convalescents, with excellent safety profile. A preliminary report of an open-label phase 1 clinical trial. medRxiv preprint. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2021.02.22.21252091>
15. European Commission directorate general for health and food safety. EU health preparedness: A common list of COVID-19 rapid antigen tests, including those of which their test results are mutually recognised, and a common standardised set of data to be included in COVID-19 test result certificates. Brussel: European Commision; 2021.
16. U.S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for industry. Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19. White Oak, Maryland, USA: FDA; June 2020.
17. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for industry: Adaptive design for clinical trials of drugs and biologics. White Oak, Maryland, USA: FDA; 2019.
18. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for industry. COVID-19: Developing Drugs and Biological Products for Treatment or Prevention. White Oak, Maryland, USA: FDA; May 2020.
19. Flight L., Arshad F, Barnsley R, Patel K, Julious S, Brennan A, Todd S. A Review of Clinical Trials with an Adaptive Design and Health Economic Analysis. Value in health 2019;22(4):391-98. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jval.2018.11.008>
20. Hobbs BP, Barata PC, Kanjanapan Y, Paller CJ, Perlmutter J, Pond GR, et.al. Seamless Designs: Current Practice and considerations for Early-Phase Drug Development in Oncology. JNCI J Natl Cancer Inst. 2019;111(2): 118-28. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy1>

XVIII: APROBACIONES

Elaborado por: Dr. Rolando F. Ochoa Azze

Firma:

Cargo: Investigador Promotor, IFV

Fecha:

Revisado por: Dra. Dagmar García Rivera

:

Firma:

Cargo: Directora de Investigaciones, IFV

Fecha:

Revisado por: Lic. Yury Valdés Balbín

Firma:

Cargo: Director Adjunto, IFV

Fecha:

Aprobado por: M.Sc. Janet Lora García

Firma:

Cargo: J' del Dpto de Aseguramiento a la Calidad, IFV

Fecha:

Aprobado por: Dr. Vicente Vérez Bencomo

Firma:

Cargo: Director General del IFV

Fecha:

XIX: ANEXOS

Listado de Anexos

Anexo I: Investigadores de los Centros Participantes.

Anexo II: Hoja de Información para el sujeto y Consentimiento Informado.

Anexo III: Cuaderno de Recogida de Datos.

Anexo IV: Diario de Eventos Adversos.

Anexo V: Tarjeta de Identificación del Sujeto en Ensayos Clínicos.

Anexo VI: Algoritmo de Relación de Causalidad.

Anexo VII: Descripción de las técnicas inmunológicas.

ANEXO I. INVESTIGADORES DE LOS CENTROS PARTICIPANTES.
INSTITUTO FINLAY DE VACUNAS

Nombres y apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dr. Vicente Verez Bencomo	Dr.C. Químicas	Jefe de Proyecto Vacuna Específica COVID-19
Lic. Yury Valdés Balbín	Lic. Química	Jefe de Proyecto Vacuna Específica COVID-19
Dra. Dagmar García Rivera	Dra.C. Farmacéuticas	Jefe de Proyecto Vacuna Específica COVID-19
Dr. Rolando F. Ochoa Azze	Especialista de II Grado en Inmunología. Dr.C. Médicas	Investigador Promotor
Lic. Beatriz Paredes Moreno	Lic. C. Farmacéuticas	Control del estudio
Dra. Meiby Rodríguez González	Dra en Medicina	Control del estudio
Lic. Raúl González-Mugica	Lic. en Bioquímica	Manejo de Datos
Téc. Maite Medina	Téc. Informática	Operador de Datos
Lic. Marcos A. Fontaines	Lic. C. Farmacéuticas	Operador de Datos
Lic. Marisel Martínez Pérez	Lic. C. Farmacéuticas	Responsable de manejo del producto en investigación
Lic. Laura M. Rodríguez Noda	Lic. en Microbiología	Responsable de las evaluaciones inmunológicas
Lic. Yanet Climent Ruiz	Dr.C. Biológicas	Gerente de proyecto
Lic. Rocmira Perez Nicado	Lic. Biología	Evaluaciones inmunológicas
Lis. Ismavy Castillo	Lic. Biología	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Roberto Arias	Lic. Matemática	Responsable de Logística y planificación
Lic. Anais Linen García	Lic. Informática	Logística y planificación
Ing. Bertha Guillén Obregón	Ing. Química, MSc.	Aseguramiento de la Calidad
Lic. Janet Lora García	Lic. Farmacia, MSc.	Aseguramiento de la Calidad
Dr. Rodrigo F Valera Fernández	Especialista en Microbiología	Manejo de muestras
Lic. Aniurka Garcés Hechavarría	Lic. en Tecnología de la Salud	Evaluaciones inmunológicas
Tec. Aylín Amador Gómez	Tec. en Agronomía	Evaluaciones inmunológicas
Tec. Yanet Rodríguez Estrada	Tec. en Farmacia Industrial	Evaluaciones inmunológicas

CENTRO DE INMUNOLOGÍA MOLECULAR

Nombres y apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Lic. Carmen M. Valenzuela Silva	Lic. y MSc en Matemáticas	Responsable del Procesamiento y Análisis Estadístico
Dra. Belinda Sánchez Ramírez	Lic en Bioquímica, Dra.C. Biológicas	Obtención inmunógeno vacunal. Evaluaciones inmunológicas
Dra. Tays Hernández García	Lic en Bioquímica, Dra C. Biológicas	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Ivette Orosa Vázquez	Lic en Bioquímica y Biología Molecular	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Marianniz Díaz Hernández	Lic en Química	Evaluaciones inmunológicas

INSTITUTO DE HEMATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA (IHI)

Nombres y Apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dra. Consuelo Macías Abraham	Especialista de II Grado en Inmunología. Dr. Ciencias	Seguimiento a convalecientes participantes en el estudio clínico una vez que este haya concluido
Dr. Arturo Chang Monteagudo	Especialista de I Grado en Inmunología. MSc en Bioquímica	Investigador Principal
Dra. María de los A. García García	Especialista de I Grado en Inmunología	Médico investigador
Dra. Yanet Jerez Barceló.	Especialista de I Grado en MGI e Inmunología	Médico investigador
Lic. Aymara Leyva Rodríguez	Lic en Biología	Determinaciones VIH, HBsAg, VHC, hemoquímica
Lic. Julio C. Merlín Linares	Lic en Bioquímica	Determinaciones VIH, HBsAg, VHC, hemoquímica
Lic. Ana M. Simón Pita.	Lic en Tecnología de la Salud	Determinaciones hematológicas
Lic Yaquima de los M. Hernández Rego	Lic en Tecnología de la salud	Determinaciones hematológicas
Lic. Yaneth Zamora González	Lic en Tecnología de la Salud	Determinaciones hematológicas
Lic. Maydelín Miguel Morales	Lic en Bioquímica	Hemoquímica
Lic. Laura Ruiz Villegas	Lic en Biología	Coordinadora de Investigaciones Clínicas
Dr. Luis D. Rodríguez Prieto	Especialista de I grado en Medicina Intensiva y Emergencias	Médico investigador
Lic Suharmi Aquinos Rojas	Lic en Tecnología de la Salud	Determinaciones hematológicas
Lic Anaisy Hernández Borges	Lic en C. Farmacéuticas. MSc en Farmacoepidemiología	Responsable de la Farmacia
Dra. Maylín Rodríguez Pérez	Especialista de II Grado en Microbiología. MSc.	VDRL y toma de muestras para TRA/PCR SARS-CoV-2
Lic. Lázara M. Tam Rey	Lic en Tecnología de la Salud	Determinaciones hematológicas
Lic. Osalvis E. Nápoles Jiménez de Castro	Lic en Enfermería	Observación de vacunados
Lic. Aymara Piloto Martínez	Lic en Enfermería. MSc	Observación de vacunados
Lic. Ernesto Núñez Miranda	Lic en Enfermería	Observación de vacunados
Lic. Haichel Cardoso Zamora	Lic en Enfermería	Observación de vacunados
Tec. Sonia Cires Reyes	Tec en Estadística de Salud	Registros Médicos

CENTRO NACIONAL COORDINADOR DE ENSAYOS CLÍNICOS (CENCEC)

Nombres y Apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
MSc. Pedro Pablo Guerra Chaviano	Máster en Ensayos Clínicos	Monitor
Lic. Claudia Rodríguez Zamora	Lic en C. Farmacéuticas	Monitor
Lic. Analeys R. Maceo Sinabele	Lic en C. Farmacéuticas	Monitor
Lic. Anabel Amador González	Lic en C. Farmacéuticas	Monitor
MSc Julián Rodríguez Álvarez	Máster en Ensayos Clínicos	Revisión del protocolo

CENTRO DE INMUNOENSAYO

Nombres y apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dr.C. Irinia Y. Valdivia Alvarez	Lic en Microbiología. Dr.C. de la Salud	Evaluaciones inmunológicas
MSc Aurora Delahanty Fernández	Lic y MSc en Bioquímica	Evaluaciones inmunológicas
MSc Darien Ortega León	Lic y MSc en C. Farmacéuticas	Evaluaciones inmunológicas
MSc Ariel Palenzuela Díaz	Lic y MSc en Bioquímica	Evaluaciones inmunológicas

CENTRO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA DEFENSA CIVIL

Nombre y apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dra. Mireida Rodríguez Acosta	Dra Medicina. MSc. Nutrición Clínica. Dr.C. Médicas.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Enrique Noa Romero	Lic. Biología. MSc. Microbiología. Dr.C. de la Salud.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Juliet M. Enríquez Puertas	Lic. Tecnología de la Salud. MSc. de la Salud.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Yenictet Infante Hernández	Lic. Tecnología de la Salud	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Anamary Suárez Batista	Lic. Biología. MSc. Virología.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Marielis Cabrera Garrido	Lic. Bioquímica y Biología Molecular	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Nibaldo L. González Sosa	Lic. Microbiología. MSc. Microbiología	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Marta Dubed Echevarría	Lic. Biología. MSc. Virología.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. María T. Pérez Guevara	Lic. Bioquímica. MSc. Bioquímica	Evaluaciones inmunológicas
Dra. Carmen L. Perera González	Dra. Medicina Veterinaria. Dr.C. Veterinarias.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Otto Cruz Sui	Lic. Biología. MSc. Bioquímica. Dr.C. de la Salud.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Dayamí Martín Alfonso	Lic Ciencias Farmacéuticas. MSc. Microbiología. Dr.C. de la Salud.	Evaluaciones inmunológicas
Lic. Kenia Romero Martínez	Lic. Bioquímica. MSc. Bioquímica	Evaluaciones inmunológicas

Tec. Esperanza Sánchez Diéguez	Tec. Veterinario	Evaluaciones inmunológicas
Tec. Yuliet Sotes Sarguero	Tec. Veterinario	Evaluaciones inmunológicas

CENTRO NACIONAL DE EDUCACIÓN SEXUAL (CENESEX)

Nombres y Apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dra.C. Mariela Castro Espín	Lic en Psicología-Pedagogía. Dr.C. Sociológicas	Apoyo logístico
MSc. Manuel Vázquez Seijido	Lic en Derecho. Máster en Criminología	Apoyo logístico
Dra. Yamira Puentes Rodríguez	Especialista de II grado en Psiquiatría	Médico investigador
Lic. Ileana Coves Cordero	Lic en Enfermería	Observación de vacunados
Dra. Yenisey Triana Marrero	Especialista de I Grado en MGI e Inmunología	Investigador responsable del sitio clínico
Dr. Francisco Sotomayor Lugo	Especialista de I grado en Genética Médica	Médico investigador
Dr. Wilfredo Hernández Pérez	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dr. Sandier Tamayo Gutiérrez	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dr. Juan Camilo Viana Castaño	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dra. Yenny Alfonzo Rodríguez	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dra. Anna Gonzalez Rodríguez	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dra. Angélica Gutiérrez Riverón	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dra. Yanelis Simis Pérez	Especialista de I grado en MGI	Médico investigador
Dra. Amanda Mederos Rios	Médico General	Médico investigador
Dr. Jose M. Corbacho Padilla	Médico General	Médico investigador
Dra. Amanda M. Rodriguez Manso	Médico General	Médico investigador

Nota: Los médicos generales y especialistas en MGI, en Inmunología y Genética Médica no forman parte de la plantilla del CENESEX, pero son ubicados en esta institución durante el desarrollo del ensayo clínico, bajo la asesoría del Investigador Principal y la colaboración de co-investigadores del IHI.

HOSPITAL HERMANOS AMEIJERAS (HHA)

Nombres y Apellidos	Formación profesional	Responsabilidad
Dr. Nadezhda González García	Especialista de I Grado en Microbiología. MSc en Virología	Procesamiento PCR
Dr. Alexander Ortega Caraballosa	Especialista de I Grado en Inmunología	Procesamiento PCR

ANEXO II: HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL SUJETO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO.**Hoja de información para el sujeto participante en el estudio clínico****Versión 1.0**

Este documento le brinda información sobre los objetivos del presente estudio y acerca de los beneficios y riesgos que implica su participación en el mismo.

Le invitamos a participar en este estudio clínico.

Los médicos especialistas consideran que usted es elegible para incluirlo en este estudio; sin embargo, su participación es un acto voluntario. Los investigadores le explicarán de forma oral y por escrito los objetivos, beneficios y riesgos de esta investigación. Es necesario que conozca toda la información antes de tomar la decisión. Puede tomarse el tiempo suficiente para reflexionar, incluso, consultarlo con su familia u otro médico.

Preguntas y respuestas generales sobre el estudio**¿Cuál es el título del estudio?**

“Estudio Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1A anti SARS-CoV-2, en convalecientes de COVID-19”.

¿Por qué se hace este estudio?

La situación epidemiológica mundial causada por la COVID-19 y su alta transmisibilidad, imponen la necesidad de desarrollar vacunas que prevengan la infección por SARS-CoV-2.

Al cierre del 25 de marzo de 2021, se han reportado en Cuba un total de 70.634 casos positivos a la COVID-19 y un acumulado de 413 fallecidos, con un gran impacto en el Sistema Nacional de Salud y en la economía del país. Por otra parte, los convalecientes de la enfermedad pueden reinfectarse, en especial aquellos con niveles bajos de anticuerpos.

El Instituto Finlay de Vacunas ha desarrollado aceleradamente un candidato vacunal molecular que pretende prevenir la enfermedad, incluyendo los convalecientes que no estén protegidos. Este estudio se ha apoyado en una extensa revisión de más de 60 diseños de ensayos clínicos de vacunas específicas contra el SARS-CoV-2 que se desarrollan en el mundo. Además, en un exitoso estudio clínico en convalecientes de COVID-19, recién concluido en nuestro país, en el que se demostró la seguridad de la vacuna, así como la elevada protección contra el SARS-CoV-2 alcanzada por la mayor parte de los participantes.

¿Este estudio clínico es una investigación?

Sí. Un estudio clínico es una investigación que se realiza para evaluar nuevos tratamientos (incluidas vacunas) en seres humanos.

¿Quiénes participarán en este estudio?

Podrán participar adultos, ciudadanos cubanos, de ambos sexos, en edades comprendidas entre los 19-80 años, que sean convalecientes de COVID-19.

¿Quién no será incluido en este estudio?

No será incluido(a) si presenta alguna condición médica en estado de descompensación, entre otras causas, que serán analizadas e informadas por el médico que lo evaluará. El médico especialista le informará si cumple o no con los requisitos para recibir el Producto en Investigación.

Por otra parte, aunque usted cumpla con todos los requerimientos para participar en el estudio, si la cantidad de sujetos es mayor que la necesaria para el ensayo clínico, la selección para ser incluido se realizaría por un procedimiento aleatorio.

¿En qué consiste el candidato vacunal en estudio?

Se trata de un candidato vacunal contra el SARS-CoV-2 que contiene un fragmento proteico del virus. A diferencia de otros candidatos vacunales que se evalúan en el mundo, este no contiene al virus inactivado ni su material genético; por tanto, no hay ningún riesgo de adquirir la enfermedad.

¿Cuál es el objetivo y las características del estudio?

El objetivo del estudio es demostrar la seguridad y la respuesta inmune inducida por el candidato vacunal, en personas de edades comprendidas entre 19 y 80 años, convalecientes de COVID-19 leve y moderada, así como individuos asintomáticos.

El estudio contará de dos Etapas: Fase IIa con 20 sujetos entre 60-80 años de edad y Fase IIb con 430 sujetos de 19-80 años.

La Fase IIa estará compuesta de un solo grupo, que recibirá una dosis del candidato vacunal.

La Fase IIb contará con dos grupos de tratamiento: uno de ellos, definido como grupo experimental, recibirá una dosis del candidato vacunal anti-SARS-CoV-2, y el otro grupo será el control, al que se le aplicará una dosis de placebo (diluyente del candidato vacunal sin el principio activo). El placebo es una solución inerte que no influirá negativamente sobre la salud de los voluntarios. El grupo control permitirá evaluar el candidato vacunal. Una vez concluido el estudio, a los 28 días de la vacunación, los sujetos que hayan recibido placebo, serán vacunados con el candidato vacunal anti-SARS-CoV-2, de tal forma que también queden protegidos contra la COVID-19. Usted será asignado aleatoriamente a uno de estos grupos de tratamiento: el experimental, o el control. El estudio se conduce a “doble ciego”, lo que significa que ni usted ni los investigadores clínicos sabrán

qué producto recibió. Al concluir el estudio será informado del tratamiento recibido y cuáles son los resultados.

¿Cómo se llevará a cabo el estudio?

- ✓ Un médico/clínico le explicará todas las características del estudio, incluyendo los beneficios y riesgos. Usted deberá ofrecer por escrito su consentimiento para participar.
- ✓ Usted será evaluado por médicos mediante un interrogatorio, examen físico, exámenes de laboratorio y Test Rápido de Antígenos o PCR al virus, como criterios de selección para decidir su inclusión o no en el estudio.
- ✓ La vacunación consiste en la aplicación de una dosis (0,5 mL) del candidato vacunal o del placebo por vía intramuscular en el brazo.
- ✓ Una vez vacunado permanecerá en el sitio clínico bajo observación médica durante 1 hora, transcurrido este tiempo podrá marcharse a su casa y continuará el seguimiento de forma ambulatoria.
- ✓ Usted recibirá un modelo de Diario de Eventos Adversos, donde deberá recoger toda la información que se le solicita en el transcurso del estudio.
- ✓ Durante el mes que dura el estudio le corresponden 8 consultas si usted participa en la Fase IIa, y 3 consultas si lo hace en la Fase IIb. El médico le comunicará las fechas de las consultas posteriores a la vacunación.

Si usted participa en la Fase IIa del estudio, y con el objetivo de evaluar las variables de laboratorio clínico y la respuesta inmune inducida por la vacuna, se le realizarán dos extracciones de sangre de 20 mL (antes de la vacunación y a los 14 días después de vacunado) y una de 10 mL al finalizar el estudio (28 días de vacunado).

En caso que se incluya en la Fase IIb, se le tomarán dos muestras de sangre de 10 mL para evaluar la respuesta inmune: antes de la vacunación y a los 28 días de vacunado. No obstante, en esta fase, algunas personas pudieran requerir exámenes de laboratorio adicionales, para definir la inclusión en el estudio o completar la evaluación clínica. En todo caso, la muestra de sangre no sería mayor de 20 mL.

¿Qué beneficios podría brindarme la participación en el estudio?

No se conoce a exactitud la inmunidad adquirida por la enfermedad. Los convalecientes con niveles bajos de anticuerpos neutralizantes, como los incluidos en el presente estudio, pueden reinfectarse, en especial ante la circulación de nuevas cepas; por lo que una vez vacunado, usted pudiera quedar protegido(a) contra el SARS-CoV-2.

¿Qué beneficios podría brindar el estudio para la salud pública?

Al demostrarse que el candidato vacunal es seguro y protege contra el SARS-CoV-2, se avanzaría a una fase superior en la investigación de este candidato.

¿Cuáles son los inconvenientes e incomodidades del estudio?

Usted podrá sentir leves o moderadas molestias locales y generales después de la vacunación, similares a los efectos que provocan otras vacunas. También podrá presentar ligero dolor en el sitio de las extracciones de sangre y molestias ligeras por la toma de muestra para el Test Rápido de Antígenos o el PCR. El seguimiento que se ha planificado en el estudio, conlleva su traslado en varias ocasiones a los lugares previstos para las consultas y exámenes correspondientes.

¿Cuáles son los riesgos de participar en el estudio?

Pueden presentarse algunos eventos que generalmente son leves, como dolor, enrojecimiento, induración del área donde le aplicaron la vacuna, también puede aparecer fiebre y malestar general. Muy raramente pudieran ocurrir reacciones adversas graves, como la anafilaxia (tipo de reacción alérgica) u otra, para lo cual se garantizará la atención médica especializada e inmediata.

Se le tomarán muestras de sangre, dada la necesidad de conocer el nivel de anticuerpos. Para ello se extraerá sangre de una vena de fácil acceso. Este procedimiento se realizará por personal de laboratorio experimentado y cumpliendo con todas las normas establecidas. La colección de sangre no implica riesgo para usted.

¿En caso de aparecer algún evento adverso cómo será tratado?

En caso de aparecer algún evento adverso durante el tiempo de observación en el sitio clínico, el médico adoptará las medidas adecuadas en el menor tiempo posible. Para el caso de eventos adversos graves serán aplicados los protocolos de tratamientos de urgencias médicas establecidos. Al concluir el tiempo de observación posterior a la vacunación, el médico le entregará una Tarjeta que lo identificará como participante en el estudio, y en caso de ser necesario, ante cualquier evento, la mostrará en la Institución de Salud a la que acuda.

¿Qué sucede si sufro daño en el estudio?

En el caso excepcional de que sufriera algún daño como resultado directo del estudio, el Sistema Nacional de Salud garantizará toda la atención médica necesaria.

¿Una vez dentro del estudio tendrá alguna repercusión si decido abandonarlo?

Su consentimiento para la participación en este estudio es voluntario. Usted se podrá retirar del mismo en cualquier momento.

¿Cuánto durará el estudio?

Usted estará involucrado en este estudio aproximadamente un mes, una vez que quede incluido en la investigación. Sin embargo, usted será seguido por el Sistema Nacional de Salud, según el programa establecido para la atención a convalecientes.

¿Existen medicamentos que puedan influir en los resultados del estudio?

Durante los 30 días antes y después de que se vacune debe evitar recibir tratamientos con gammaglobulina, esteroides, u otros medicamentos que afectan la respuesta a la vacuna, de lo cual será informado. Aunque la aplicación de estos fármacos no presupone un riesgo adicional, sí deberá informarlo al investigador para que lo tenga en cuenta al evaluar los resultados del estudio. Ante cualquier situación de salud que requiera alguna medicación específica, deberá informarlo al equipo de médicos del estudio.

¿Cuál es mi responsabilidad durante el estudio?

Ud. deberá cumplir con la programación de la vacunación y todas las consultas programadas. Llevará a ellas la Tarjeta que lo identifica como participante en el estudio. Deberá completar el Diario de Eventos Adversos que le será entregado e informará al investigador sobre enfermedades o acontecimientos médicos que le ocurran posterior a ser incluido en este estudio, así como cualquier medicamento que le sea indicado.

¿Durante el estudio y publicación de los resultados se conocerán mis datos?

Su identidad será confidencial, sus datos serán identificados con un código y no por su nombre.

¿Existen razones para que el investigador decida la interrupción de la participación en el estudio?

Los investigadores pueden retirarlo a usted del estudio por razones como: la aparición de un evento adverso grave relacionado con la vacuna, que su condición de salud se descompense o que resulte positivo al SARS-CoV-2.

¿A quiénes contactar en caso de necesitar información o informar de algún acontecimiento relacionado con el estudio?

El doctor, cuyo nombre se indica abajo, estará a cargo de informarle ante algún acontecimiento relacionado con este estudio. Si usted tiene cualquier preocupación o pregunta, no dude en contactarlo. Los datos de contacto son los siguientes:

Dr. Arturo Chang Monteagudo
(Investigador Principal)

Instituto de Hematología e Inmunología
Oficina Guardia 24h: 7830-5553 / 7846-1146

ANEXO II: FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

El médico Dr./Dra. _____ me ha informado verbal y mediante documento escrito acerca del estudio en el que participaré. Me ha dado la oportunidad de reflexionar sobre mi decisión y entiendo la información que se me ha proporcionado.

Por medio de la presente otorgo voluntariamente mi consentimiento para participar en el estudio titulado: "Estudio Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1A anti SARS-CoV-2, en convalecientes de COVID-19".

Ratifico que:

- ✓ Comprendo los beneficios y riesgos del estudio.
- ✓ Conoceré de cualquier nueva información que pueda ser de importancia para mi continuidad en el estudio.
- ✓ Me comprometo a cumplir con el programa de vacunación y de visitas, así como seguir las instrucciones de los responsables del estudio
- ✓ Informaré inmediatamente de cualquier alteración que presente durante todo el tiempo que dure la investigación.
- ✓ Estoy de acuerdo en que se me realicen las extracciones de sangre, toma de muestra para el Test Rápido de Antígenos o el PCR y evaluaciones médicas previstas en el estudio.
- ✓ Conozco que puedo retirar mi consentimiento de participación en el estudio en cualquier momento y que el médico puede decidir mi salida en dependencia de mi condición de salud.
- ✓ Estoy de acuerdo en que las muestras de sangre y los datos podrán ser utilizados en este estudio y otros posteriores que sean necesarios para culminar el desarrollo clínico del producto.
- ✓ Consentí para que la información médica se pueda registrar y revisar por el personal del estudio manteniendo la confidencialidad de mis datos.
- ✓ Con la firma de este documento otorgo de forma voluntaria, mi consentimiento de participación en el estudio y confirmo que en mi poder tengo una copia del "Formulario de Consentimiento Informado".

Nombre y Apellidos del Voluntario

Firma

Fecha/Hora

Nombre y Apellidos del Médico

Firma

Fecha / Hora

ANEXO III: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS.

Se presenta en las páginas siguientes.

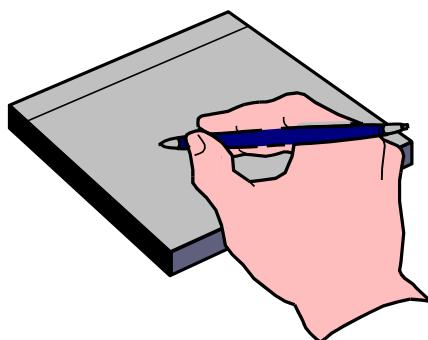
CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Ensayo Clínico

“Estudio Fase II, secuencial, multicéntrico, adaptativo, en grupos paralelos, aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego, para evaluar la seguridad, reactogenicidad y la inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1A anti SARS-CoV-2, en convalecientes de COVID-19”

IFV/COR/11

SOBERANA PLUS



Versión: 1.0

Marzo 2021

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_|
(Número de Inclusión)

DATOS GENERALES DEL SUJETO
1. Fecha del Consentimiento Informado: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

2. Iniciales del Sujeto: |_|_|_|_|_| (letra mayúscula)

3. Sexo: Femenino ☐_1 Masculino ☐_2

4. Fecha de Nacimiento: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

5. Edad: |_|_|_| (9años)

6. Color de la piel: Blanca ☐_1 Negra ☐_2 Mestiza ☐_3 Amarilla ☐_4

7. Peso: |_|_|_|_|,|_|_|_| Kg

8. Talla: |_|_|_|_|,|_|_| cm

9. IMC: |_|_|_|,|_|_| Kg/m2

10. COVID-19 Forma clínica durante su ingreso hospitalario:

Asintomática ☐_1 Cuadro clínico leve ☐_2 Cuadro clínico moderado ☐_3

11. Fecha del alta hospitalaria: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	87 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

TRATAMIENTO ACTUAL, PREVIO AL INICIO DEL ESQUEMA DE APLICACIÓN DEL PI

12. ¿El sujeto recibe algún tratamiento?: Si ☐₁ No ☐₂

No.	Fármaco	Motivo de medicación	Frecuencia	Unidad	Fecha de inicio (dd/mm/aa)	Tiempo que hace que lo utiliza
1			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
2			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
3			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
4			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
5			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
6			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
7			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
8			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
9			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
10			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃
11			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ ₁ meses ☐ ₂ años ☐ ₃

Unidad: 1. µg; 2. mg; 3. G; 4. MU; 5. UA; 6. mL; 7. Otros: _____; 8. Otros: _____; 9. Otros: _____

Frecuencia: 1. Diario; 2. Dos veces x semana; 3. Tres veces x semana; 4. c/2 horas; 5. c/3 horas; 6. c/4 horas; 7. c/6 horas; 8. c/8 horas; 9. c/12 horas; 10. Otros: _____; 11. Otros: _____; 12. Otros: _____

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	88 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

TRATAMIENTO ACTUAL, PREVIO AL INICIO DEL ESQUEMA DE APLICACIÓN DEL PI

No.	Fármaco	Motivo de medicación	Frecuencia	Unidad	Fecha de inicio (dd/mm/aa)	Tiempo que hace que lo utiliza
12			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
13			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
14			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
15			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
16			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
17			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
18			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
19			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
20			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
21			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3
22			_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ días ☐ 1 meses ☐ 2 años ☐ 3

Unidad: 1. µg; 2. mg; 3. G; 4. MU; 5. UA; 6. mL; 7. Otros: _____; 8. Otros: _____; 9. Otros: _____

Frecuencia: 1. Diario; 2. Dos veces x semana; 3. Tres veces x semana; 4. c/2 horas; 5. c/3 horas; 6. c/4 horas; 7. c/6 horas; 8. c/8 horas; 9. c/12 horas; 10. Otros: _____; 11. Otros: _____; 12. Otros: _____

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	89 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

DETERMINACIONES DE LABORATORIO PREVIO AL INICIO DEL ESQUEMA DE APLICACIÓN DEL PI.

 13. ¿Al sujeto se le realizó toma de muestra para lab. clínico / microbiológico? Si ☐₁ Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa) No ☐₂

 14. ¿Al sujeto se le realizó toma de muestra para laboratorio de inmunología? Si ☐₁ Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa) No ☐₂

Determinación Clínica	Resultado
Hemoglobina	_ _ _ g/L
Hematocrito	_ _ . _ %
Conteo de Plaquetas	_ _ _ x10 ⁹ /L
Recuento de leucocitos	_ _ _ . _ x10 ⁹ /L
Neutrófilos	_ _ . _ %
Linfocitos	_ _ . _ %
Monocitos	_ _ . _ %
Eosinófilos	_ _ . _ %
Basófilos	_ _ . _ %
Grupo sanguíneo	
Factor Rh	

Determinación Clínica	Resultado
Glucosa	_ _ . _ _ mmol/L
Creatinina	_ _ _ μmol/L
ASAT	_ _ _ U/L
ALAT	_ _ _ U/L
Anticuerpos anti-HIV1+2	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂
Antígeno de superficie hepatitis B	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂
Anticuerpos contra hepatitis C	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂
Serología VDRL	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂
TRA o PCR para SARS-CoV-2	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂
Prueba de embarazo	Neg ☐ ₁ Posit ☐ ₂ NP ☐ ₃

Determinación Inmunológica	Resultado
Nivel de IgG anti-RBD	
% inhibición RBD:ACE2 a la dilución 1/100	
Título Inhibitorio 50	
Título Ac. neutralizantes	

Firma del Investigador:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador Responsable:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

VERIFICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE SELECCIÓN

15. ¿La aplicación de los criterios de selección y su análisis se describe en la Historia Clínica? Si ☐₁ No ☐₂. En caso de respuesta negativa

regrese al caso y deje constancia de este momento en la Historia Clínica

16. ¿El sujeto fue incluido en el estudio? Si ☐₁ No ☐₂ 17. Fecha de Inclusión: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

18. No. de Inclusión: |_|_|_|_| 19. Fase del estudio: Ila ☐₁ IIb ☐₂

20. Grupo etario al que pertenece: 19 – 59 años ☐₁ 60 – 80 años ☐₂

ADMINISTRACIÓN DE LA VACUNA (SE APLICARÁ UNA SOLA DOSIS)

21. ¿El sujeto asistió a la consulta? Si ☐₁ 22. Fecha de la consulta: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

23. ¿Al sujeto le administró la vacuna? Si ☐₁ Hora: |_|_|_|:|_|_|_| (hh:mm) No ☐₂

**CONTROL DE LAS CONSULTAS: Día 0;
Conclusión de la observación inmediata a la aplicación del PI (Fase I: 3h; Fase II: 1h)**

24. ¿Se reportaron eventos adversos? Si ☐₁ (Completar el modelo de Eventos Adversos) No ☐₂

25. ¿Se reportó el uso de nuevos tratamientos concomitantes? Si ☐₁ (Completar el modelo de Tratamiento Concomitante) No ☐₂

26. ¿El sujeto cumple alguno de los criterios de interrupción del estudio? Si ☐₁ (completar el modelo de Interrupción y Conclusión del estudio) No ☐₂

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	91 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

CONTROL DE LAS CONSULTAS

Consultas	¿Se realizó la consulta? <i>(Respuesta positiva complete el resto de las preguntas. En caso de respuesta negativa deje en blanco el resto de las preguntas)</i>		Fecha de la consulta	¿Se reportaron eventos adversos? <i>(Respuesta positiva completar el modelo de Eventos Adversos)</i>		¿Se reportó el uso de tratamiento concomitante? <i>(Respuesta positiva completar el modelo de Tratamiento Concomitante)</i>		¿Cumple el sujeto alguno de los criterios de interrupción del estudio? <i>(Respuesta positiva completar el modelo de Conclusión del estudio)</i>	
	Si	No		Si	No	Si	No	Si	No
1ra (Reclutamiento)	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
2da (Inclusión)	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
1er día (después de vacunación)	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
2do día	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
3er día	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
7mo día	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Día 14	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Día 28	☐	☐	_ _ / _ _ / _ _	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Nota: Para la Fase IIa todas las consultas. Para la Fase IIb las consultas de Reclutamiento, Inclusión y 28 días después de vacunación.

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	92 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

EVENTOS ADVERSOS LOCALES SOLICITADOS
27. ¿Se registró algún evento adverso local solicitado durante los primeros 7 días? Si ☐₁ No ☐₂

(En caso de respuesta negativa marque "No" y pase a la página siguiente. En caso de respuesta positiva, complete la fila del Evento Adverso que se presentó y en los otros eventos marque "No" en la columna A1)

A Evento Adverso	A1 ¿El EA ocurrió?		B Fecha y Hora de inicio del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	C Fecha y Hora de Fin del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	E Intens.	F ¿Evento Adverso Grave? Si respuesta negativa la columna G se completa con ∅		G Evento Adverso Grave por:	H Resultado	I Causalidad
	Si	No				Si	No			
1. Dolor	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
2. Eritema	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
3. Aumento de volumen	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
4. Induración	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
5. Calor local	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _

Leyenda
E: Intensidad

- 1- Leve
-
- 2- Moderado
-
- 3- Severo

G: Evento Adverso Grave por:

- 1-Requiere hospitalización
-
- 2-Prolonga la hospitalización actual
-
- 3- Resulta una discapacidad/incapacidad persistente o significativa
-
- 4- Amenaza la vida
-
- 5- Muerte

H: Resultado

- 1-Recuperado
-
- 2-Recuperado con secuelas
-
- 3-Persiste
-
- 4-Muerte
-
- 5-Desconocido

I: Causalidad

- A: Asociación Causal Consistente con la vacunación
-
- B: Indeterminado
-
- C: Asociación Causal inconsistente con la vacunación.
-
- D: No Clasificable.

Firma del Investigador:

Fecha: |_|_|/|_|_|/|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador Responsable:

Fecha: |_|_|/|_|_|/|_|_| (dd/mm/aa)

93 de 113

EVENTOS ADVERSOS SISTÉMICOS SOLICITADOS

28. ¿Se registró algún evento adverso sistémico solicitado durante los primeros 7 días? Si ☐₁ No ☐₂ (En caso de respuesta negativa marque "No" y pase a la siguiente sección. En caso de respuesta positiva, complete la fila del Evento Adverso que se presentó y en los otros marque "No" en la columna A1)

A Evento Adverso	A1 ¿El EA ocurrió?		B Fecha y Hora de inicio del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	C Fecha y Hora de Fin del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	E Intens.	F ¿Evento Adverso Grave?		G Evento Adverso Grave por: F negativa, G con Ø	H Resultado	I Causalidad
	Si	No				Si	No			
6. Fiebre	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
7. Malestar general	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
8. Rash	☐ ₁	☐ ₂	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _

Leyenda
E: Intensidad

1- Leve
2- Moderado
3- Severo

G: Evento Adverso Grave por:

1- Requiere hospitalización
2- Prolonga la hospitalización actual
3- Resulta una discapacidad/incapacidad persistente o significativa
4- Amenaza la vida
5- Muerte

H: Resultado

1- Recuperado
2- Recuperado con secuelas
3- Persiste
4- Muerte
5- Desconocido

I: Causalidad

A: Asociación Causal Consistente con la vacunación
B: Indeterminado
C: Asociación Causal inconsistente con la vacunación.
D: No Clasificable.

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	94 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

OTROS EVENTOS
29. ¿Se registraron otros eventos adversos durante los 28 días posteriores a la vacunación? Si ☐₁ No ☐₂

(En caso de respuesta negativa marque "No" y pase a la siguiente sección. En caso de respuesta positiva, complete la fila del Evento Adverso)

A Evento Adverso	B Fecha y Hora de inicio del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	C Fecha y Hora de Fin del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	D ¿Evento Adverso solicitado?		E Intens.	F ¿Evento Adverso Grave? <i>Si respuesta negativa la columna G se completa con ∅</i>		G Evento Adverso Grave por:	H Resultado	I Causalidad
			Si	No		Si	No			
9.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
10.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
11.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
12.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
13.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _

Leyenda
E: Intensidad

- 1- Leve
- 2- Moderado
- 3- Severo

G: Evento Adverso Grave por:

- 1-Requiere hospitalización
- 2-Prolonga la hospitalización actual
- 3- Resulta una discapacidad/incapacidad persistente o significativa
- 4- Amenaza la vida
- 5- Muerte

H: Resultado

- 1-Recuperado
- 2-Recuperado con secuelas
- 3-Persiste
- 4-Muerte
- 5-Desconocido

I: Causalidad

- A: Asociación Causal Consistente con la vacunación
- B: Indeterminado
- C: Asociación Causal Inconsistente con la vacunación.
- D: No Clasificable.

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	95 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

OTROS EVENTOS

A Evento Adverso	B Fecha y Hora de inicio del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	C Fecha y Hora de Fin del evento (dd/mm/aa) y (hh:mm)	D ¿Evento Adverso solicitado?		E Intens.	F ¿Evento Adverso Grave? <i>Si respuesta negativa la columna G se completa con Ø</i>		G Evento Adverso Grave por:	H Resultado	I Causalidad
			Si	No		Si	No			
14.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
15.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
16.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
17.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _
18.	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _ : _ _	☐ ₁	☐ ₂	_	☐ ₁	☐ ₂	_	_	_ _

Leyenda
E: Intensidad

1- Leve
2- Moderado
3- Severo

G: Evento Adverso Grave por:

1-Requiere hospitalización
2-Prolonga la hospitalización actual
3- Resulta una discapacidad/incapacidad persistente o significativa
4- Amenaza la vida
5- Muerte

H: Resultado

1-Recuperado
2-Recuperado con secuelas
3-Persiste
4-Muerte
5-Desconocido

I: Causalidad

A: Asociación Causal Consistente con la vacunación
B: Indeterminado
C: Asociación Causal inconsistente con la vacunación.
D: No Clasificable.

Firma del Investigador:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador Responsable:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

96 de 113

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

TRATAMIENTO CONCOMITANTE
30. ¿Se registraron tratamientos concomitantes durante los 28 días posteriores a la vacunación? Si ☐₁ No ☐₂

(En caso de respuesta negativa marque "No" y deje la tabla en blanco)

No.	Fármaco	Motivo de indicación			Frecuencia	Unidad	Fecha de inicio	Fecha de terminación	Continúa al final del período
		Tratar EA	Profilaxis EA	Otro (especifique)					
1		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
2		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
3		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
4		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
5		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
6		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
7		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
8		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
9		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
10		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
11		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
12		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂
13		_ _	☐		_ _	_	_ _ / _ _ / _ _	_ _ / _ _ / _ _	Si ☐ ₁ No ☐ ₂

Tratar EA: Se completa con el número del evento adverso. Este número se localiza en la fila donde se registra el EA. **Profilaxis EA:** Se marca para aquellos tratamientos que se indican o administran para evitar EA. **Unidad:** 1. µg; 2. mg; 3. G; 4. MU; 5. UA; 6. mL; 7. Otros: _____; 8. Otros: _____; 9. Otros: _____

Frecuencia: 1. Diario; 2. Dos veces x semana; 3. Tres veces x semana; 4. c/2 horas; 5. c/3 horas; 6. c/4 horas; 7. c/6 horas; 8. c/8 horas; 9. c/12 horas; 10. Otros: _____; 11. Otros: _____; 12. Otros: _____

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	97 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ / _ _ / _ _ (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico: | | | | |

Código de Identificación del Sujeto: | | | | | (Número de Inclusión)

TRATAMIENTO CONCOMITANTE

No.	Fármaco	Motivo de indicación			Frecuencia	Unidad	Fecha de inicio	Fecha de terminación	Continúa al final del período
		Tratar EA	Profilaxis EA	Otro (especifique)					
14			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
15			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
16			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
17			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
18			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
19			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
20			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
21			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
22			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
23			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
24			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
25			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐
26			☐				/ /	/ /	Si ☐ No ☐

Tratar EA: Se completa con el número del evento adverso. Este número se localiza en la fila donde se registra el EA. **Profilaxis EA:** Se marca para aquellos tratamientos que se indican o administran para evitar EA. **Unidad:** 1. µg; 2. mg; 3. G; 4. MU; 5. UA; 6. mL; 7. Otros: _____; 8. Otros: _____; 9. Otros: _____
Frecuencia: 1. Diario; 2. Dos veces x semana; 3. Tres veces x semana; 4. c/2 horas; 5. c/3 horas; 6. c/4 horas; 7. c/6 horas; 8. c/8 horas; 9. c/12 horas; 10. Otros: _____; 11. Otros: _____; 12. Otros: _____

Firma del Investigador:	Fecha: / / (dd/mm/aa)	98 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: / / (dd/mm/aa)	

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

TOMA DE MUESTRAS Y DETERMINACIONES DE LABORATORIO
DÍA 14

31. ¿Al sujeto se le realizó toma de muestra para lab. clínico? Si ☐₁ Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa) No ☐₂ NP ☐₃

32. ¿Al sujeto se le realizó toma de muestra para lab. de inmunología? Si ☐₁ Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa) No ☐₂ NP ☐₃

Determinación Clínica	Resultado
Hemoglobina	_ _ _ g/L
Hematocrito	_ _ . _ %
Conteo de Plaquetas	_ _ _ x10 ⁹ /L
Recuento de leucocitos	_ _ . _ x10 ⁹ /L
Neutrófilos	_ _ . _ %
Linfocitos	_ _ . _ %
Monocitos	_ _ . _ %
Eosinófilos	_ _ . _ %
Basófilos	_ _ . _ %

Determinación Clínica	Resultado
Glucosa	_ _ . _ _ mmol/L
Creatinina	_ _ _ µmol/L
ASAT	_ _ _ U/L
ALAT	_ _ _ U/L

Determinación Inmunológica	Resultado
Nivel de IgG anti-RBD	
% Inhibición RBD:ACE2 a la dilución 1/100	
Título Inhibitorio 50	

Firma del Investigador:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador Responsable:

Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)

99 de 113

Sitio Clínico:|_|_|_|_|

Código de Identificación del Sujeto: |_|_|_|_| (Número de Inclusión)

TOMA DE MUESTRAS Y DETERMINACIONES DE LABORATORIO

DÍA 28

33. ¿Al sujeto se le realizó toma de muestra para laboratorio de inmunología? Si ☐₁ Fecha: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa) No ☐₂

Determinación Inmunológica	Resultado
Nivel de IgG anti-RBD	
% Inhibición RBD:ACE2 a la dilución 1/100	
Título inhibitorio 50	
Título Ac. neutralizantes	

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	100 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ (dd/mm/aa)	

INTERRUPCIÓN DEL ESTUDIO

Este acápite se completará para todos los sujetos incluidos en el estudio.

- Para los sujetos que cumplen algún criterio de interrupción, completar la pregunta 34 con "Si"; seleccione la(s) causa(s) y pase a completar el acápite de "Conclusión del Estudio"

34. ¿El sujeto interrumpió el estudio? Si ☐₁ No. ☐₂

(En caso de respuesta positiva, marque la categoría más adecuada)

Criterios de Interrupción	Si	No
1- Abandono voluntario.	☐ ₁	☐ ₂
2- Aparición de evento adverso grave con relación de causalidad.	☐ ₁	☐ ₂
3- Sujeto que en cualquier momento del estudio sea TRA o PCR positivo a SARS-CoV-2	☐ ₁	☐ ₂
4- Decisión del investigador clínico, basado en cambios en el estado clínico del paciente que justifiquen detener la participación del voluntario en el ensayo clínico.	☐ ₁	☐ ₂
5- Fallecimiento del sujeto	☐ ₁	☐ ₂
6- Otras: Especifique: _____	☐ ₁	☐ ₂

CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO

Indique la fecha de conclusión del estudio para este sujeto.

Fecha: |_|_|_|_|/|_|_|_|_|/|_|_|_|_| (dd/mm/aa)

Firma del Investigador:	Fecha: _ _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ (dd/mm/aa)	101 de 113
Firma del Investigador Responsable:	Fecha: _ _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _ (dd/mm/aa)	

ANEXO IV: DIARIO DE EVENTOS ADVERSOS.
Título abreviado del estudio: _____

Sitio clínico: _____

Nombre del sujeto: _____

El objetivo de este documento es que Ud. recoja todos aquellos eventos que aparezcan después de la dosis recibida.

Como eventos entendemos molestias en el sitio de la inyección o sensaciones de malestar general.

En este documento haremos referencia a algunos eventos que usted vigilará para informar a su médico en la próxima consulta. Si aparece algún evento de los solicitados complete en que momento comenzó y desapareció; si la aparición de este evento afectó sus actividades diarias y si necesitó de algún medicamento. Toda la información que nos ofrezca será de mucha utilidad.

Solo queremos ofrecerle una herramienta que le ayude a recordar cómo se sintió en ese tiempo que el médico no estuvo a su lado. Este documento preséntelo en cada consulta.

Gracias por su cooperación.

Descripción del	Inicio Fecha / Hora	Final Fecha / Hora	Relación con actividad	Necesitó Medicamento	Nombre del medicamento
Dolor en el sitio de la vacunación			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Enrojecimiento en el sitio de la vacunación			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Inflamación del sitio de la vacunación			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Induración del sitio de la vacunación			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	

Calor en el sitio de la vacunación			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Fiebre (refiera la temperatura tomada con termómetro)			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Malestar general			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
Descripción del	Inicio Fecha / Hora	Final Fecha / Hora	Relación con actividad	Necesitó Medicamento	Nombre del medicamento
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	

			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	
			☐ No interfiere ☐ Interfiere ☐ Impide	☐ Sí ☐ No	

ANEXO V: TARJETA DE IDENTIFICACIÓN DEL SUJETO EN ENSAYOS CLÍNICOS.

 TARJETA DE IDENTIFICACIÓN SUJETO EN ENSAYO CLÍNICO	 Estudio SOBERANA PLUS
Estudio SOBERANA PLUS Candidato Vacunal Profiláctico anti SARS-CoV-2 Nombre: _____ — Municipio de residencia: _____ — Institución de salud donde se vacunó: _____ — En caso de urgencias o dudas comunicarse con: <u>Dr. Arturo Chang Monteagudo. Investigador Principal</u> <u>7830-5553 / 7846-1146</u>	Cumplimiento del tratamiento: Fecha vacunación: _____ Firma y Cuño médico que certifica: _____

ANEXO VI: ALGORITMO DE RELACIÓN DE CAUSALIDAD.
Evaluación de la causalidad de los eventos adversos
1. Asegúrese del diagnóstico correcto del evento adverso:

 Elabore la pregunta sobre causalidad (*seleccione la respuesta*):

¿La vacunación _____ causó _____?

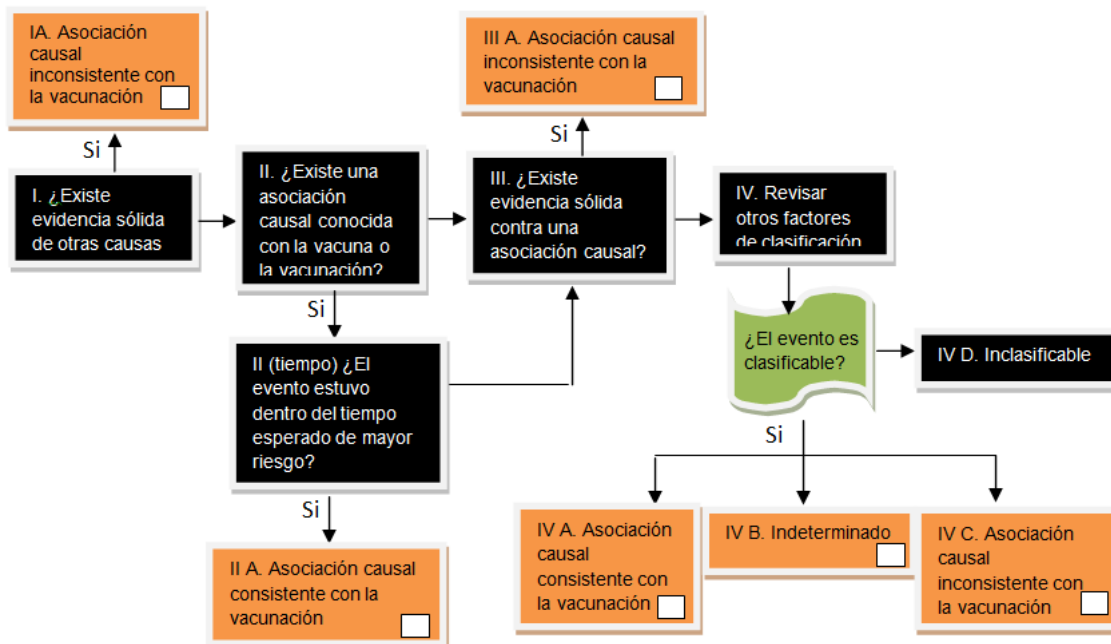
 (*Producto en Investigación, vacuna del esquema, concomitancia*).

2. Marcar con ☒ todas las casillas que correspondan:

I. ¿Existe evidencia sólida de otras causas?	S	N	NS	NA	Observaciones
¿El examen clínico o las pruebas de laboratorio realizadas al paciente confirmaron otra causa?	☐	☐	☐	☐	
II. ¿Existe una asociación causal conocida con la vacuna o la vacunación?					
<i>Producto(s) de la vacuna</i>					
¿Existe evidencia en la literatura de que esta vacuna o vacunas puedan causar el evento reportado incluso si se administran correctamente?	☐	☐	☐	☐	
¿Hubo alguna prueba específica que haya demostrado el rol causal de la vacuna o cualquiera de sus componentes?	☐	☐	☐	☐	
<i>Error en la vacunación (error programático)</i>					
¿Hubo un error al momento de dar o no cumplir con las recomendaciones para el uso de la vacuna (por ejemplo, utilizar más allá de la fecha de vencimiento, receptor incorrecto, etc.)?	☐	☐	☐	☐	
¿La vacuna (o alguno de sus componentes) se administró de forma no esterilizada?	☐	☐	☐	☐	
¿La condición física de la vacuna (por ejemplo, color, turbidez, presencia de sustancias foráneas, etc.) era anormal al momento de su administración?	☐	☐	☐	☐	
¿Hubo un error por parte del vacunador al momento de la constitución/preparación de la vacuna (por ejemplo, producto incorrecto, diluyente incorrecto, mezclado inadecuado, llenado de jeringa inapropiada, etc.)?	☐	☐	☐	☐	
¿Hubo un error en la manipulación de la vacuna (por ejemplo, se interrumpió la cadena de frío durante el transporte, almacenamiento y/o sesión de inmunización, etc.)?	☐	☐	☐	☐	
¿La vacuna se administró incorrectamente (por ejemplo, dosis incorrecta, sitio o vía de administración incorrecto; tamaño de la aguja incorrecto, etc.)?	☐	☐	☐	☐	
<i>Ansiedad por la inmunización</i>					
¿El evento pudo haber sido causado por la ansiedad respecto a la vacunación (por ejemplo, trastorno vasovagal, hiperventilación o estrés)?	☐	☐	☐	☐	
II (tiempo). Si la respuesta es "Sí" a cualquiera de las preguntas en la sección II, ¿el evento estuvo dentro del tiempo esperado de mayor riesgo?					
¿El evento ocurrió dentro de un tiempo apropiado después de la administración de la vacuna?	☐	☐	☐	☐	
III. ¿Existe evidencia sólida contra una asociación causal?					
¿Existe evidencia sólida contra una asociación causal?	☐	☐	☐	☐	
IV. Otros factores que califican para la clasificación					
¿El evento pudo haber ocurrido independientemente de la vacunación (tasa promedio)?	☐	☐	☐	☐	
¿El evento pudo haber sido una manifestación de otra condición de salud?	☐	☐	☐	☐	
¿Ocurrió un evento comparable después de recibir una dosis previa de una vacuna similar?	☐	☐	☐	☐	
¿Hubo exposición a un factor de riesgo potencial o toxina antes del evento?	☐	☐	☐	☐	
¿Hubo enfermedad aguda antes del evento?	☐	☐	☐	☐	
¿El evento había ocurrido en el pasado independientemente de la vacunación?	☐	☐	☐	☐	
¿El paciente estuvo tomando algún medicamento antes de la vacunación?	☐	☐	☐	☐	
¿Existe plausibilidad biológica de que la vacuna pudo haber causado el evento?	☐	☐	☐	☐	

S: Sí; N: No; NS: No se sabe; NA: No aplica

3. Revisar todos los pasos y marcar con un ☒ todas las casillas que correspondan. (Algoritmo):



4. Clasificación. Marcar con un ☒ todas las casillas que correspondan:

	A. Asociación causal consistente con la vacunación	B. Indeterminado	C. Asociación causal inconsistente con la vacunación
Adecuada información disponible	☐ A1. Evento Relacionado con la vacuna (de acuerdo a la literatura publicada)	☐ B1*. La relación de temporalidad es consistente, pero son insuficientes las evidencias para considerar la vacunación causa del evento (puede ser un nuevo evento a la vacuna)	☐ C. Coincidental Condición(es) subyacente(s) o emergente(s) o condición(es) causada(s) por la exposición a algo que no sea la vacuna
	☐ A2. Evento relacionado con un defecto en la calidad de la vacuna		
	☐ A3. Evento relacionado con un error programático/Técnico	☐ B2. Factores de clasificación dan como resultado tendencias contradictorias respecto a consistencias e inconsistencias con la asociación causal con la inmunización.	
	☐ A4. Evento relacionado con las condiciones inherentes al vacunado		
Información no disponible	D. No Clasificable		
	☐ No se puede tener mayor información por lo que no puede ser clasificada en otra categoría		

*Potencial para investigación

Resumen de la clasificación:

Con la evidencia disponible, podríamos concluir que la clasificación es:

Porque

ANEXO VII: DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS.**1) ELISA indirecto cuantitativo para anticuerpos tipo IgG específicos anti-RBD.**

Las placas de ultramicroELISA de 96 pocillos (Greiner Bio-one) se recubrirán con 18 µL de RBD dímero a una concentración de 4 µg/mL en disolución reguladora Tris 0,05 mol/L pH 8,0 y se incubarán de 16 a 18 horas a 20-25°C en cámara húmeda. Al término se lavarán con disolución reguladora de fosfatos pH 7,4 + Tween 20 al 0,05%. Posteriormente, se bloquearán los sitios no recubiertos empleando 26 µL de una disolución de bloqueo con BSA 0,1%, Sacarosa 5% durante 1 hora a 20-25 °C en cámara húmeda. Las placas así recubiertas se secan durante 2 horas a 37°C y son selladas bajo condiciones de humedad controlada. En el primer paso de la reacción se adicionarán 10 µL de una dilución 1/100, en disolución reguladora Tris 0,371 mol/L-suero de carnero 5 %, de la curva estándar de 6 puntos (0, 4, 8, 16, 32 y 64 U IgG /mL) y de las muestras. Las placas se incubarán 30 minutos a 37°C en cámara húmeda y serán lavadas. A continuación se adicionarán 10 µL de una dilución de anti-IgG humana conjugada a biotina (0,1 µg/mL) en disolución reguladora Tris 0,05 mol/L + Tween 20 0,05% + BSA al 1% y se incubará durante 30 minutos a 37°C en cámara húmeda. Luego de otro paso de lavado, se aplicarán 10 µL/pozo de un conjugado estreptavidina/fosfatasa alcalina en disolución reguladora de fosfatos + BSA 1% + Sacarosa 2% y se incubará durante 30 minutos a 37°C en cámara húmeda. Luego de un último paso de lavado se añade el sustrato 4 metilumbeliferil fosfato que se incubará a temperatura ambiente en la oscuridad durante 15 minutos y se leerá la fluorescencia en un lector de la Tecnología SUMA. Se calculará la concentración de IgG de cada muestra interpolando la señal de cada muestra en la curva estándar, lo que es realizado de manera automática por el software SRS v 9.29. Para cada muestra se calculará el cociente entre la concentración calculada después de vacunar (Tx) respecto a la señal pre-inmune (T0). Se considerará seroconversión cuando: concentración posvacunal/concentración preinmune $\geq$ 4.

2) Fundamentación del método de ELISA de inhibición de la interacción RBD-ACE2.

Este método es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida (ELISA), cuantitativo, de tipo indirecto, que persigue detectar la inhibición de la unión de una variante de la proteína RBD (fusionada a la región Fc de IgG de ratón, denominada RBD-Fcm) a una variante de la proteína ACE2 adsorbida a la fase sólida (dominio extracelular aa 18-740, fusionado a Fc humano, denominada A-740H). Posteriormente, la región Fc del RBD-Fcm es reconocida por un anticuerpo monoclonal anti-IgG murino conjugado a la enzima fosfatasa alcalina, y la interacción molecular es detectada mediante

una reacción enzimática que emplea el sustrato pNPP, que desarrolla color, con un máximo de absorción a 405 nm. Una menor intensidad del color en muestras que contienen RBD-Fcm mezclado con sueros de individuos vacunados con formulaciones que contienen el RBD, que se traduce en una menor absorbancia de la muestra a 405 nm, es indicativo de una inhibición de la unión de RBD-Fcm al ACE2 inmovilizado en la placa. Esto se produce, probablemente, debido a la unión de los anticuerpos contenidos en el suero a la RBD-Fcm, y el consiguiente bloqueo de su unión al ACE2. En este ensayo se utiliza como indicativo de máximo (100%) reconocimiento, pozos incubados con el RBD-Fcm, en ausencia de sueros inmunes. Como control negativo de inhibición se incluirá el suero preinmune del sujeto.

Denominación del reactivo y/o materias primas	Calidad	Firma/código	Lote
Leche desnatada en polvo	Reactivo comercial	Fluka/70166	BCL6784V
Conjugado anti-IgG humana-fosfatasa alcalina	Reactivo comercial	Sigma/A3188	059K6125V
Tween 20	Reactivo comercial	Merck/8170721000	K44512672340
pNPP	Reactivo comercial	N9389	059K-8209

Denominación de la solución y/o medios de cultivo	Condiciones de almacenamiento	Modo de preparar
Solución de lavado SSTF-T20 (0,05%)	TA	1 mL de T20 se adiciona a 2 L de SSTF. La solución se homogeniza.
Solución de bloqueo (SSTF-T20 + 2% Leche descremada)	Se prepara en el momento	2 g de leche se adicionan a 100 mL de SSTF-T20. La solución se incuba en agitación hasta tornarse homogénea.
Solución de ensayo (SSTF-T20 + 0,2% Leche descremada)	Se prepara en el momento	5 mL de solución de bloqueo se adicionan a 45 mL de SSTF-T20. La solución se homogeneiza.
Solución tampón de recubrimiento (bicarbonato)	4°C	Pesar 1,59 g de Carbonato de Sodio y 2,93 g de Bicarbonato de Sodio. Diluir en 900 mL de agua. Ajustar pH a 9,6. Enrasar a 1 L, con agua.

Técnica:

Día 1

1. Recubrir placa de microtitulación de 96 pozos-fondo plano con 50 µL de A-740H (5 µg/mL), en solución tampón de recubrimiento. Incubar en cámara húmeda durante toda la noche a 4°C.

2. Preparar una solución de RBD-Fcm (40 ng/mL) en solución tampón de ensayo para las mezclas y dispensar 60 µL en viales rotulados.

Considerando que los lotes de RBD están en el orden de los mg/mL, se recomienda preparar una dilución intermedia a 5 µg/mL, para de esta tomar 40 µL por cada 5 mL de solución tampón de ensayo (40 ng/mL).

3. Preparar diluciones de cada uno de los sueros preinmunes e inmunes en solución de ensayo.

Para muestras aplicadas por duplicado seguir la siguiente tabla:

Dilución preparada	Dilución final	V origen (µL)	V solución de ensayo (µL)	Vfinal(µL)
A) 1/50	1/100	2 (de suero)	98	100

4. Mezclar 60 µL de las diluciones de suero con 60 µL de RBD-Fcm; quedan tanto los sueros como el RBD a la mitad de la concentración/dilución inicial. Para un control adicional de máximo reconocimiento, mezclar igual volumen de RBD-Fcm 40 ng/ml y solución de ensayo, para obtener una concentración final de 20 ng/mL.

5. Pre-incubar las mezclas toda la noche a 4°C.

Día 2

5. Lavar las placas con solución salina tamponada con fosfatos (SSTF)/T20 0,05% (SSTF-T).

7. Bloquear con 200 µL de SSTF-T-leche al 2% (solución de bloqueo). Incube durante 1 h a 37°C en cámara húmeda.

8. Lavar una vez, con SSTF-T.

9. Aplicar 50 µL de las mezclas por duplicado. Incube en cámara húmeda 2h a 37°C.

10. Lavar tres veces con 200 µL de SSTF-T.

11. Añadir 50 µL de conjugado anti ratón IgG (gamma chain specific)-Fosfatasa alcalina (diluido 1/1000, en solución de ensayo). Incube en cámara húmeda 1 h a 37°C.

12. Lavar tres veces con 200 µL de SSTF-T.

13. Añadir 50 µL de solución sustrato pNPP (1mg/mL) en tampón dietanolamina. Incube 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad.

14. Medir absorbancia a 405nm, en un lector de ELISA.

Nota: Preparación de la muestra.

Realizar diluciones de los sueros inmunes a partir de 1/100. Las diluciones se prepararán en SSTF/T20-Leche, al 0,2% (solución de ensayo).

Calcular el porcentaje de inhibición según la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = [1 - (\text{A405 nm mezclas} / \text{A405 nm RBD20 ng/mL})] \times 100$$

En el caso de obtener inhibiciones superiores al 30% a dilución de suero 1/100, se evaluarán las muestras usando diluciones mayores (1/400, 1/1000 y 1/4000)

Criterio de validez del ensayo:

El ensayo es Válido si:

1. El porcentaje de inhibición para un suero preinmune de referencia (control negativo) es menor que 10%.
2. El porcentaje de inhibición de un suero de referencia positivo (control positivo) es mayor al 30%.
3. Si el valor de A 405nm de RBD-Fcm está entre 0,8-1,3 unidades de DO.
4. El control de conjugado es inferior a 0,2.

3) Descripción del ensayo de neutralización viral.

- 1- Preparación del medio MEM Suplementado:

Añadir al medio MEM, 2% de suero fetal bovino (SFB), 25 mM/mL de L-glutamina, 2 µg/mL de bicarbonato, 80 µg/mL de gentamicina y 5 µg/mL anfotericin B.

- 2- Hacer diluciones en base 2 del suero a evaluar diluido 1/10:

A un vial con 180 µL de medio agregar 20 µL del suero problema (dilución 1:10). A partir del segundo pozo de una placa de 96 pocillos, dispensar 50 µL de medio MEM suplementado. Añadir al primer pozo de la placa 100 µL de la dilución 1/10 y transferir 50 µL al siguiente pocillo y así sucesivamente hasta la dilución 1:2560. Homogeneizar cinco veces cada dilución antes de transferir 50 µL al pozo siguiente. Desechar los 50 µL sobrantes de la última dilución. Cada dilución se realizará por duplicado.

- 3- Preparar la suspensión viral:

Realizar una dilución que en medio MEM suplementado contenga 100 TCD50 en 50 µL.

- 4- Retar las diferentes diluciones del suero con el virus:

Añadir 50 µL de las 100 TCD50 del virus a todos los pocillos con los sueros problemas.

Homogeneizar la mezcla virus-suero mediante un ligero movimiento giratorio durante aproximadamente 30 segundos.

Incubar la placa con la mezcla virus-suero durante 1 hora a 37°C con atmosfera de 5% de CO₂.

- 5- Incubar la mezcla virus-suero con las células Vero E6:

Terminado el tiempo de incubación, desechar el medio de la placa de 96 pozos que contiene las células Vero E6, cultivadas por 24 horas a una concentración de 10.000 células por pozo.

Transferir 100 µL de la mezcla virus-suero a los pozos correspondientes en la placa con la monocapa de Vero E6.

Incubar durante 1 hora a 37° C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂.

Transcurrido este tiempo agregar a cada pozo 50 µL de medio MEM según acápite 1, sin SFB, e incubar a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂ durante 4 días.

Observar diariamente la placa en microscopio invertido.

6- Controles del ensayo:

Control viral: Preparar diluciones seriadas en base 10 a partir de la suspensión viral con 100 T_{ICD50} que contengan: diez, una y cero T_{ICD50}. Adicionar en la placa dos réplicas de las 100 T_{ICD50} y sus diluciones.

Control celular: A seis pozos de la placa no se le añadirá la mezcla virus-suero, y se le adicionará 50 µL de medio.

Control del suero: Agregar en cada placa dos réplicas de un control de suero positivo conocido.

7- Interpretación de los resultados:

Ensayo colorimétrico utilizando Rojo Neutro.

- ✓ Eliminar el sobrenadante de la placa y añadir 100 µL de solución de sales balanceadas pH 7,2 (PBS) que contenga 0,02% de rojo a cada pozo.
- ✓ Incubar una hora a temperatura ambiente y posteriormente desechar la solución de rojo neutro.
- ✓ Lavar la monocapa de células dos veces con PBS estéril que contenga 0,05% Tween 20.
- ✓ Adicionar 100 µL de la solución de lisis (50 partes de etanol absoluto, 49 partes de agua ultrapura y una parte de ácido acético glacial) a cada pozo.
- ✓ Incubar la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente y leer con un espectrofotómetro a 540 nm.

Lectura por el método colorimétrico: Se considera como título de neutralización, la mayor dilución del suero evaluado con un valor de densidad óptica mayor que el valor de corte. El valor de corte se calcula como el promedio de los valores de la densidad óptica de los pozos del control celular dividido por dos.

Validación de los resultados

- ✓ Controles celulares: Con valores de densidad óptica donde se aprecia coloración que demuestra la monocapa íntegra.

- ✓ Control viral: Con valores de densidad óptica inferiores al valor de corte.

Control del suero: Con valores de densidad óptica superior, hasta la dilución que se corresponde con su título neutralizante.

La determinación de los niveles de IgG específicos anti-RBD, se determinará por un ELISA indirecto, cuantitativo en el Centro de Inmunoensayo. Los resultados se expresarán como concentración de anticuerpos IgG anti-RBD, determinado con una curva de calibración de 6 puntos a partir de un suero estándar de 64 U IgG/mL. Se considera que un suero seroconvierte si: Concentración posvacunal/concentración preinmune ≥ 4 .

El % de inhibición de la interacción entre el RBD con su receptor ACE2, por los anticuerpos anti-RBD presentes en la muestra, se determinará en el Centro de Inmunología Molecular.

La determinación del título neutralizante del suero se realizará mediante el ensayo de neutralización viral, medido por el efecto citopático sobre células VERO, y este será realizado en el Centro de Investigaciones de la Defensa Civil, pues es el único laboratorio en el país que cuenta con un laboratorio de nivel de seguridad 3.