

Desarrollo de vacunas nasales como estrategia para disminuir la infección de SARS-CoV-2

Mónica Márquez, Daniel Guillén, Romina Rodríguez-Sanoja*.

Instituto de *Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.*

**romina@iibiomedicas.unam.mx*

Resumen

Las vacunas actuales aprobadas y administradas contra SARS-CoV-2 son efectivas en términos de reducción en la mortalidad y en enfermedad severa, sin embargo, el reto de conseguir inmunidad protectora aún sigue pendiente de cumplir. La inmunización vía mucosa es una alternativa para lograr la inmunidad deseada, previniendo la infección y por tanto la transmisión viral y la aparición de variantes, debido a esto, es necesario seguir innovando en el desarrollo de nuevos candidatos vacunales vía nasal, enfocándose en cumplir los objetivos de inmunidad neutralizante. En esta revisión se incluyen algunos avances en el desarrollo de prototipos de vacunas intranasales, que abarca una gran variedad de plataformas a utilizar como adenovirus, nanopartículas híbridas de polímeros y materiales inorgánicos, así como subunidades proteicas administradas en conjunto con adyuvantes. A pesar de que los candidatos presentados a continuación tienen resultados prometedores, aún es necesario continuar evaluando la inmunidad generada a largo plazo.

Palabras Claves: SARS-CoV-2, inmunidad en mucosas, vacunas intranasales, COVID-19

Abstract

The current vaccines approved and applied against SARS-CoV-2 are effective in terms of reducing mortality and severe disease, however, the challenge of achieving protective immunity remains to be reached. Mucosal immunization is an alternative to produce the desired immunity, preventing viral infection and therefore transmission and the variants appearance; consequently, it is necessary to continue innovating in the development of new nasal vaccine candidates, focusing on meeting the objectives of neutralizing immunity. This review includes some advances in the development of intranasal vaccine prototypes, where a wide variety of platforms were found to be used such as adenovirus, hybrid nanoparticles of polymers and inorganic materials, as well as protein subunits administered together with adjuvants. Although the candidates presented below have promising results, it is still necessary to continue evaluating the long-term immunity generated.

Key Words: SARS-CoV-2, mucosal immunity, nasal vaccines, COVID-19

Introducción

El SARS-CoV-2, causante de la enfermedad COVID-19, es un betacoronavirus de cadena sencilla de ARN de sentido positivo (+ssRNA) que se compone principalmente de cuatro proteínas estructurales: membrana (M), envoltura (E), nucleocápside (N) y espícula (S); esta última se encuentra localizada en la superficie viral y es la encargada del acoplamiento y entrada a la célula huésped por medio de la interacción del dominio de unión al receptor (RBD, por sus siglas en inglés) con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA-2) (Ludwig et al., 2020). La mayoría de las vacunas actuales aprobadas para uso humano se basan en diferentes tecnologías como mRNA liberado por nanopartículas lipídicas, virus inactivo y vectores adenovirales, entre otros; y todas tienen como blanco la proteína S en su totalidad o una región de ella, como el RBD.

A pesar de que las estrategias de vacunación han provocado un descenso en los índices de mortalidad y de casos de enfermedad severa, aún siguen apareciendo casos de COVID-19 alrededor del mundo; esto se debe posiblemente a que las vacunas actuales se evalúan principalmente en términos de eficacia en reducir la carga viral y no se evalúa la prevención de la infección, es por eso que se buscan estrategias en donde se logre inmunidad protectora, en donde se prevenga la infección, evitando que el virus pueda transmitirse.

La aparición de las diferentes variantes del SARS-CoV-2 aumenta las consideraciones para el diseño de una vacuna efectiva ya que se ha demostrado (Carabelli et al., 2023) que las alteraciones en las propiedades funcionales y cambios en la antigenicidad del virus confieren la capacidad de evadir una respuesta inmune generada por las vacunas o infecciones previas.

Un aspecto importante para lograr inmunidad protectora es la vía de administración, debido a que se contempla que la inmunoprotección debe ser en los tejidos que actúan como vía de entrada para el patógeno, es decir, inducir respuesta inmune robusta de IgA secretora, permitiendo neutralizar al virus en el inicio del ciclo de infección, disminuyendo la carga viral

en los individuos infectados (Butler et al., 2021)

Alternativas para vacunación contra SARS-CoV-2

Las vacunas actuales aprobadas y administradas contra SARS-CoV-2 son efectivas para la prevención de la enfermedad grave y la hospitalización, sin embargo, la aparición de nuevas variantes del virus sigue siendo una gran preocupación a nivel mundial, es por eso que se siguen desarrollando nuevos candidatos que al aplicarse como refuerzo de las vacunas actuales, tengan como meta principal reducir la infección y transmisión del SARS-CoV-2 en las vías respiratorias mientras se mantiene o aumenta la protección contra la enfermedad sintomática y severa. El uso de vacunación vía nasal es un acercamiento para lograr estas metas por medio de la inducción de respuesta inmune duradera localizada en vías respiratorias que tengan el potencial de prevenir la infección viral, replicación y transmisión, siendo una posibilidad de que estas vacunas vías mucosa sean aplicables para cualquier tipo de infección viral que se transmita y replique por vías respiratorias.

Uno de los más grandes retos en la vacunación vía mucosa es la selección correcta de plataformas y adyuvantes, la vía de administración y marcadores de respuesta inmune que puedan ser cuantificados en los estudios correspondientes. Lo ideal en la búsqueda de protección vía nasal, es lograr una producción alta de anticuerpos neutralizantes presentes en las vías respiratorias superiores. Además, la búsqueda de células B y T de memoria en fluidos de lavados broncoalveolares (BAL) que reflejen inmunidad en las vías respiratorias inferiores (Knisely et al., 2023). En cuanto a la producción de anticuerpos, una característica importante de la respuesta inmune en mucosas es la producción local y secreción de inmunoglobulina A dimérica o multimérica ya que promueve el atrapamiento de los antígenos en la mucosa, además puede bloquear o intervenir estéricamente las moléculas superficiales del patógeno que tengan la capacidad de unirse a receptores en el epitelio. La producción de IgG local también se ve enriquecida después de la inmunización al administrar antígenos vía mucosa y de igual manera que los anticuerpos IgA pueden tener

un rol importante en el bloqueo de la entrada de patógenos (Figura 1) (Neutra & Kozlowski., 2006).

Dentro de los retos a considerar en el desarrollo de una vacuna vía mucosa es que los antígenos pueden ser diluidos en secreciones mucosales, capturados por moco, atacados por proteasas y nucleasas y ser excluidos por las barreras epiteliales; para eliminar estos problemas, las estrategias en la formulación de vacunas pueden ser más efectivas cuando mimetizan al patógeno en cuestión, es decir, que sean multiméricas o particuladas, que puedan adherirse a las superficies de la mucosa y estimular respuesta inmune que tenga como blanco al patógeno (Neutra & Kozlowski., 2006).

Vacunas vía nasal contra SARS-CoV-2 en fase preclínica

Como se ha mencionado anteriormente, el desarrollo de nuevas estrategias de vacunación contra SARS-CoV-2 que tengan como objetivo generar una protección neutralizante y evitar el esparcimiento del virus, es de gran importancia. Debido a que el SARS-CoV-2 es un virus respiratorio y la infección se lleva en el tracto respiratorio inferior, gran parte de las alternativas se han centrado en vacunas nasales que confieran la producción de anticuerpos neutralizantes en vías respiratorias superiores e inferiores, además, la importancia de generar la protección adecuada podrá evitar el esparcimiento del virus y, por lo tanto, la generación de nuevas variantes del virus se verá reducida.

Se han reportado (King et al., 2021) resultados preclínicos de inmunogenicidad estudiando AdCOVID, un candidato vacunal intranasal contra COVID-19 utilizando como vector un adenovirus serotipo 5 (Ad5) deficiente en replicación que codifica el RBD de la proteína Spike del SARS-CoV-2. Se demostró la inmunogenicidad del AdCOVID siguiendo un esquema de vacunación de dosis única en ratones hembra C56BL/6J y CD1, dando como resultado la inducción de anticuerpos IgG e IgA específicos de Spike; se encontraron tanto en suero como en BAL observándose que estos anticuerpos permanecen por al menos 6 meses. Adicionalmente, se demostró la funcionalidad de esta vacuna en ensayos de neutralización, concluyendo que, una sola administración de

AdCOVID protege completamente a ratones K18-hACE2 del reto letal.

En otros estudios utilizando adenovirus como vectores, Wu et al. (2020) ha reportado que, una sola vacunación con adenovirus no replicante del tipo 5 que codifica para la proteína Spike (Ad5-nCoV), protege completamente a ratones BALB/c contra la infección en el tracto respiratorio superior e inferior por SARS-CoV-2 adaptada a ratón. Adicionalmente, se observó que una única dosis de Ad5-CoV protege de infección con la cepa wt del SARS-CoV-2 en las vías respiratorias superiores e inferiores en hurones.

Hassan et al. (2020) evaluaron la actividad protectora de una vacuna utilizando como vector adenovirus de chimpancé codificando la proteína Spike del SARS-CoV-2 (ChAd-SARS-CoV-2-S). Demostrando que la vacuna, en un esquema de única dosis administrada vía intranasal induce altos niveles de anticuerpos neutralizantes, promueve respuesta celular (T) y de inmunoglobulina A (IgA) sistémica y en mucosas, además previene la infección de SARS-CoV-2 tanto en el tracto respiratorio superior e inferior. En estudios más recientes, Hassan et al. (2021) se reporta que ChAd-SARS-CoV-2-S, confiere casi en su totalidad protección en el tracto respiratorio inferior y superior después del reto con variantes del SARS-CoV-2 (B.1.351, B.1.1.28, y B.1.617.1), sugiriendo que la inmunización con esta vacuna proporciona protección de hasta 9 meses contra cepas emergentes del SARS-CoV-2.

En otros estudios (An et al., 2021), se ha utilizado el virus parainfluenza tipo 5 (PIV5) expresando la proteína S del SARS-CoV-2 (CVXGA1), demostrando que una sola dosis intranasal de CVXGA1 protege contra la infección letal en ratones K18-hACE2. Adicionalmente, la inmunización con CVXGA1 previene la infección en hurones y bloquean la transmisión, sugiriendo que esta vacuna, provee una estrategia para inducir respuesta inmune celular e innata, además de reducir la infección de SARS-CoV-2.

En el desarrollo de vacunas intranasales contra COVID-19, se ha propuesto el uso de los candidatos vacunales como refuerzo después de la administración intramuscular,

debido a que, actualmente es la situación en la se encuentra una gran cantidad de países y poblaciones, además de buscar alternativas capaces de montar una respuesta inmune a largo tiempo, vía anticuerpos neutralizantes que puedan ser ventajosos contra el virus.

En la búsqueda de nuevas estrategias Zhou et al. (2022) diseñaron una vacuna de DNA basada en el virus de la influenza atenuado (LAIV) en donde el gen RBD se fusionó al dominio PD1 humano (PD1-RBD-DNA/LAIV-HK68-RBD) la cual fue administrada vía intranasal como refuerzo después de una primera dosis intramuscular con las vacunas comerciales Pfizer/BioNTech o Sinovac. Observando inducción de respuesta inmune sistémica y mucosa, incluyendo IgA/IgG en BAL y células T CD8 en pulmón. Posterior al reto con virus pseudotipados que contienen la mutación D614G (característica de las variantes de interés del SARS-CoV-2), sugiriendo que los anticuerpos generados posterior a la estrategia de vacunación vía intranasal pueden ser efectivos contra las variantes de interés.

Se ha estudiado la vacunación nasal, en donde, en contraste con dos dosis intramusculares de una vacuna de mRNA, los refuerzos intranasales con vectores adenovirales inducen altos niveles de IgA en mucosa y células T residentes de pulmón (TRM), además que la neutralización en mucosas de variantes de preocupación del SARS-CoV-2 también mejora. Concluyendo que la primera dosis de mRNA provoca una respuesta integral de células T que consiste en TRM circulante y pulmonar después del refuerzo, adicionalmente, se reporta que las estrategias de refuerzo intranasales llevan a una protección completa contra la infección de SARS-CoV-2 en ratones (Lapiente et al., 2021).

En otros estudios (Bricker et al., 2021) se ha comparado la capacidad inmunogénica de la administración intranasal e intramuscular de una vacuna utilizando como vector un adenovirus de chimpancé que codifica a la proteína Spike del SARS-CoV-2 ([ChAd]-SARS-CoV-2-S) administrados en hámster sirios. Se reportó que se observa una respuesta robusta de anticuerpos neutralizantes específicos de Spike después de la administración intramuscular con ChAd-

SARS-CoV-2-S, sin embargo, cuando los animales son administrados vía intranasal, los niveles de anticuerpos en suero son mayores. Adicionalmente, observaron que, posterior al reto, los hámsteres inmunizados con ChAd-SARS-CoV-2 no presentaron pérdida de peso, también se encontró reducción en la infección viral en hisopados nasales y pulmonares, sugiriendo que la inmunización intranasal con ChAd-SARS-CoV-2 proporciona protección contra la infección de SARS-CoV-2.

Dentro de las estrategias para lograr un candidato vacunal, se han evaluado nanopartículas híbridas compuestas de materiales inorgánicos y poliméricos como vehículo de antígenos de interés. Kumar et al. (2021) reportan el potencial de una vacuna intranasal de DNA que codifica la proteína S del SARS-CoV-2 en modelos animales inmunocompetentes (BALB/c y C57BL/6J). Demostrando que la estrategia de vacunación utilizando como vehículo nanopartículas de quitosan-oro produce anticuerpos IgG, IgA e IgM, además de neutralización en ensayos de pseudovirus expresando la proteína S de diferentes variantes, sugiriendo que los altos niveles de IgA anti-SARS-CoV-2 en mucosa de pulmones y la presencia de células T residentes de tejido pueden inhibir de manera eficaz al virus y sus variantes en el sitio de entrada del virus. Además, se ha reportado (Chandrasekar et al., 2021) la respuesta inmune provocada por la administración heteróloga vía intranasal de Vaccinia Ankara Modificada (MVA) que expresa a las proteínas spike y nucleocápside del SARS-CoV-2, en donde se observó la producción de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 tanto en suero como en BAL en ratones (C57BL/6).

De manera interesante, se ha reportado el análisis de una vacuna de subunidad que consiste en la proteína Spike administrada con un adyuvante estimulante de TLR2 (Pam2Cys) por vía parenteral y mucosa; ambas rutas inducen títulos sustanciales de anticuerpos neutralizantes, sin embargo, la vacunación nasal genera IgA anti-Spike, aumenta anticuerpos neutralizantes en suero y en vías respiratorias, adicionalmente, se observó un incremento en la respuesta CD4+, concluyendo que en ratones K18-hACE2, la estrategia de vacunación antes mencionada proporciona protección completa contra la

Artículos

enfermedad e inmunidad esterilizante en pulmón contra SARS-CoV-2 (Ashhurst et al., 2022).

De acuerdo con los estudios antes descritos y resumidos en la Tabla 1, se observa que la evaluación preclínica de una amplia gama de vacunas intranasales conduce a resultados prometedores en cuanto a protección contra SARS-CoV-2, las variantes de interés y la reducción en la transmisión del virus. Los vectores adenovirales han sido los más utilizados en estos prototipos vacunales ya que previamente han sido evaluados en diferentes modelos animales y se ha observado que confieren protección superior cuando se administran vía intranasal comparado con la parenteral; adicionalmente

se ha contemplado el uso de adenovirus de chimpancé, debido a la posible inmunidad preexistente de adenovirus en humanos (Guo et al., 2018). Aunque los vectores adenovirales sean de primera elección, también se ha evaluado la capacidad de otros sistemas, como aquellas que se basan en micro y nanopartículas basadas en polímeros como el quitosán y algunas derivadas de materiales inorgánicos, además se ha observado resultados prometedores al usar nuevas tecnologías como DNA y subunidades proteicas. Sin embargo, aún queda por determinar el alcance de la inmunidad protectora inducida por estas vacunas, así como la evaluación de la seguridad a largo plazo.

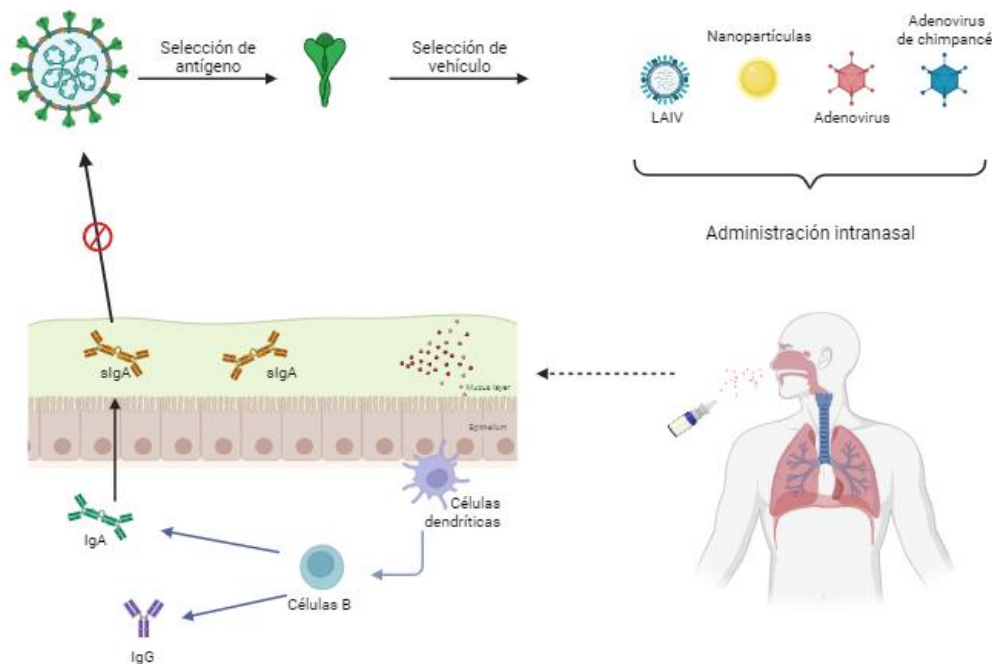


Figura 1. Vacunas intranasales contra SARS-CoV-2. Las vacunas en desarrollo tienen como antígeno a la proteína Spike, la selección del vehículo para la administración del antígeno es indispensable para generar la respuesta inmune esperada. El vehículo de elección deberá permitir que el antígeno no sea degradado y que pueda atravesar el moco y la barrera epitelial para llegar a los sitios de inducción de respuesta inmune. Una característica importante de la respuesta inmune en mucosas es la producción y secreción de IgA, la cual bloquea moléculas superficiales del patógeno que tengan la capacidad de unirse a receptores o ligandos y, por lo tanto, evita la infección.

Artículos

Tabla 1. Vacunas vía intranasal contra SARS-CoV-2 en fase preclínica.

Vehículo	Antígeno	Modelo animal	Respuesta observada	Referencia
Ad5	RBD	Ratones C56BC/6J y CD1	Anticuerpos IgG e IgA y neutralizantes	King et al., 2021
Ad5	S	Ratones BALB/c	Anticuerpos IgG e IgA y neutralizantes	Wu et al., 2020
ChAd	S	Ratones BALB/c	Anticuerpos IgG e IgA	Hassan et al., 2020
ChAd	S	Ratones K18-hACE2 C57BL/6	Anticuerpos neutralizantes	Hassan et al., 2021
PIV5	S	Ratones K18-hACE 2, BALB/c,	Anticuerpos IgG y neutralizantes.	An et al., 2021
		Hurones	Ab IgG e IgA y neutralizantes	
LAIV	RBD	Ratones BALB/c y K18-ACE2	Anticuerpos IgA , IgG y neutralizantes.	Zhou et al., 2022
Ad5 y Ad19a	S y N	Ratones BALB/c	Anticuerpos IgA , IgG y neutralizantes	Lapiente et al., 2021
ChAd	S	Hámsteres sirios	Anticuerpos IgG y neutralizantes	Bricker et al., 2021
Nanopartículas híbridas	S	Ratones BALB/c y C57BL/6J	Anticuerpos IgG , IgA , IgM y neutralizantes	Kumar et al., 2021
MVA	S y N	Ratones C57BL/6	Anticuerpos IgA , IgG y neutralizantes	Chandrasekar et al., 2021
Pam2Cys	S	Ratones C57BL/6 y K18-hACE2	Anticuerpos IgA , IgG y neutralizantes	Ashhurst et al., 2022

Ad5: adenovirus tipo 5. Ad19a: adenovirus tipo 19a. ChAd: adenovirus de chimpancé. PIV5: virus de parainfluenza tipo 5. LAIV: virus de influenza atenuado. MVA: Vaccinia Ankara Modificada. S: spike. RBD: dominio de unión al receptor. N: nucleocápside

Conclusiones

Las vacunas actuales contra SARS-CoV-2 reducen significativamente la mortalidad y la aparición de sintomatología grave causada por la COVID-19, sin embargo, la protección contra la infección sigue siendo poco efectiva, es por eso por lo que se buscan nuevas estrategias de vacunación en donde se aumente la inmunidad y disminuya la carga viral en el tracto respiratorio disminuyendo la transmisión viral entre humanos y evitando la aparición de nuevas variantes de preocupación del virus. Por lo tanto, se requieren vacunas vía mucosa, seguras y eficientes para afrontar estos desafíos.

Actualmente, se encuentran en desarrollo una gran cantidad de prototipos administrados vía intranasal, que han demostrado que al administrarse como única dosis o como refuerzo, son efectivas para neutralizar el virus y disminuir la carga viral en el tracto respiratorio superior e inferior. Las formulaciones preferidas en las vacunas en desarrollo comprenden a la proteína Spike o una región de esta como antígeno y los vectores adenovirales como vehículo, sin embargo, también se ha incluido el estudio de

diferentes vehículos como lo son las micro y nanopartículas poliméricas e inorgánicas, demostrando ser efectivas en la generación de inmunidad protectora.

Aunque esta revisión se centró en los prototipos en fase preclínica de vacunas intranasales contra SARS-CoV-2, actualmente hay candidatos vacunales que ya se encuentran en fases clínicas como la vacuna ChAdOx1-S, Cansino, Codagenix y Vaxart, por mencionar algunas. Sin embargo, aunque han tenido resultados favorables, aún se deberá determinar y evaluar el tiempo en el que la inmunidad generada aún es neutralizante. Los avances en el desarrollo de vacunas vía nasal contra COVID-19 han sido exhaustivos y se ha podido afrontar los retos en el desarrollo de un candidato vacunal y los propios de la vía de administración con la que se espera tener inmunidad protectora.

Referencias

An D, Li K, Rowe DK, et al., (2021) Protection of K18-hACE2 mice and ferrets against SARS-CoV-2 challenge by a single-dose mucosal immunization with a parainfluenza virus 5-based COVID-19 vaccine. *Sci Adv.* 7(27):

eabi5246.

<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.a bi5246>

Ashhurst A, Johansen M, Maxwell J, et al., (2022) Mucosal TLR2-activating protein-based vaccination induces potent pulmonary immunity and protection against SARS-CoV-2 in mice. *Nat Commun.* 13(1): 1–18.

<https://www.nature.com/articles/s41467-022-34297-3>

Bricker TL, Darling TL, Hassan AO, et al., (2021) A single intranasal or intramuscular immunization with chimpanzee adenovirus-vectored SARS-CoV-2 vaccine protects against pneumonia in hamsters. *Cell Rep.* 36(3): 109400.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34245672/>

Butler SE, Crowley AR, Natarajan H, et al., (2021) Distinct features and functions of systemic and mucosal humoral immunity among SARS-CoV-2 convalescent individuals. *Front Immunol.* 28; 11:618685.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.618685>

Carabelli, A.M., Peacock, T.P., Thorne, L.G. et al., (2023) SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness. *Nat Rev Microbiol.* 21:162–177.

<https://doi.org/10.1038/s41579-022-00841-7>

Chandrasekar SS, Phanse Y, Hildebrand RE, et al. (2021) Localized and systemic immune responses against SARS-CoV-2 following mucosal immunization. *Vaccines.* 9(2):132.

<https://doi.org/10.3390/vaccines9020132>

Guo J, Mondal M, Zhou D. (2018) Development of novel vaccine vectors: Chimpanzee adenoviral vectors. *Hum Vaccin Immunother.* 3;14(7):1679-1685.

<https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1419108>

Hassan AO, Kafai NM, Dmitriev IP, et al., (2020) A single-dose intranasal chad vaccine protects upper and lower respiratory tracts against SARS-CoV-2. *Cell.* 183(1): 169–184.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.026>

Hassan AO, Shrihari S, Gorman MJ, et al., (2021) An intranasal vaccine durably protects against SARS-CoV-2 variants in mice. *Cell*

Rep. 36(4):109452.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109452>

King RG, Silva-Sanchez A, Peel JN, et al. (2021) Single-dose intranasal administration of AdCOVID elicits systemic and mucosal immunity against SARS-CoV-2 in mice. *Vaccines.* 9(8):881.

<https://doi.org/10.3390/vaccines9080881>

Knisely, JM, Buyon, LE, Mandt, R. et al. (2023) Mucosal vaccines for SARS-CoV-2: scientific gaps and opportunities—workshop report. *npj Vaccines* 8, 53.

<https://doi.org/10.1038/s41541-023-00654-6>

Kumar US, Afjei R, Ferrara K, et al., (2021) Gold-nanostar-chitosan-mediated delivery of SARS-CoV-2 DNA vaccine for respiratory mucosal immunization: development and proof-of-principle. *ACS Nano.* 27.

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.1c05002>

Lapuente D, Fuchs J, Willar J, et al., (2021) Protective mucosal immunity against SARS-CoV-2 after heterologous systemic prime-mucosal boost immunization. *Nat Commun* 12(1): 6871.

<https://www.nature.com/articles/s41467-021-27063-4>

Ludwig S, Zarbock A. (2020) Coronaviruses and SARS-CoV-2: A Brief Overview. *Anesth Analg.* 131(1):93-96.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7173023/>

Neutra, M., Kozlowski, P. (2006) Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nat Rev Immunol* 6, 148–158.

<https://doi.org/10.1038/nri1777>

Wu S, Zhong G, Zhang J, et al. (2020) A single dose of an adenovirusvectored vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge. *Nat Commun.* 11(1):4081.

<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17972-1>

Zhou R, Wang P, Wong YC, et al. (2022) Nasal prevention of SARS-CoV-2 infection by intranasal influenza-based boost vaccination in mouse models. *EBioMedicine.* 75:103762. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103762>