



Universidad de Concepción  
Facultad Farmacia

**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE ANTICUERPOS  
IgG ANTI S-RBD SARS-CoV-2 EN INDIVIDUOS QUE HAN  
RECIBIDO LA SEGUNDA DOSIS DE LAS VACUNAS  
BNT162b2 O CoronaVac DE LA REGIÓN DEL BIOBÍO,  
CHILE**

**POR JORGE THOMAS BUCHERT VARGAS**

Trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud presentado a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Bioquímico

**Profesora Patrocinante**

Dra. Liliana Ivone Lamperti Fernández  
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología  
Facultad de Farmacia  
Universidad de Concepción

**Profesional Guía**

M.Sc. Teresa Benilde Rizzo Retamal  
Laboratorio Clínico PreveGen

Enero, 2022

Concepción, Chile.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

## **AGRADECIMIENTOS**

En cada momento que sentí que finalizar este proceso parecía complejo y lejano, estuve rodeado de personas maravillosas que me alentaban a seguir adelante. Personas a las cuales quisiera expresar mi agradecimiento porque ellos sabrán lo importante que es para mí compartir con ellos un buen momento de risas.

A mis padres, Lupe y Jorge, mis hermanas, Carolina, Romina y Natalia, mi cuñado, Horacio y mis sobrinos, Rafaella y Raimundo, les agradezco profundamente su amor y cariño, que sin exigirme nunca nada, estuvieron orgullosos de mí en todo momento.

Llegar a Concepción fue algo completamente nuevo que enfrenté, significaba por primera vez, alejarme físicamente de mi familia y mis grandes amigos que me apoyaron desde Santiago, con los que tuve el agrado de seguir manteniendo el contacto y sumar nuevas experiencias.

A pesar de creer que centrarme en la Universidad, limitó dedicarle tiempo a mis amigos y otras actividades, gratamente puedo decir que compartí innumerables buenos momentos con cada persona que se fue sumando en este camino.

Agradezco también a mi Profesora Patrocinante, Dra. Liliana Ivone Lamperti Fernández, y Profesora Guía, M.Sc. Teresa Benilde Riffo Retamal, quiénes tuvieron la confianza en mis capacidades y me corrigieron en cada momento para tener un mejor desempeño. De igual manera agradezco al Laboratorio Clínico PreveGen, a todo el personal de trabajo, donde pude desarrollar este Trabajo de Internado en Sector Salud, sentirme cómodo y seguir aprendiendo.

## TABLA DE CONTENIDOS

|                                                                                                           |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>                                                                              | <b>iii</b>  |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>                                                                             | <b>vii</b>  |
| <b>ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....</b>                                                                      | <b>viii</b> |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                                                      | <b>ix</b>   |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                                                      | <b>xi</b>   |
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>                                                                               | <b>1</b>    |
| 1.1. Manifestaciones clínicas leves, moderadas y críticas .....                                           | 3           |
| 1.2. Mecanismo de patogenicidad .....                                                                     | 7           |
| 1.3. Respuesta inmunológica innata frente al virus SARS-CoV-2 .....                                       | 9           |
| 1.4. Respuesta inmunológica adaptativa frente al virus SARS-CoV-2 .....                                   | 11          |
| 1.5. Vacunas dirigidas contra el SARS-CoV-2 .....                                                         | 17          |
| <b>2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....</b>                                                                 | <b>22</b>   |
| <b>3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....</b>                                                                  | <b>22</b>   |
| <b>4. HIPÓTESIS.....</b>                                                                                  | <b>23</b>   |
| <b>5. OBJETIVO GENERAL .....</b>                                                                          | <b>24</b>   |
| <b>6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>                                                                      | <b>24</b>   |
| <b>7. METODOLOGÍA.....</b>                                                                                | <b>26</b>   |
| 7.1. Diseño del estudio.....                                                                              | 26          |
| 7.2. Ingreso de muestras .....                                                                            | 26          |
| 7.3. Criterios de inclusión y exclusión.....                                                              | 27          |
| 7.4. Clasificación del grupo de estudio .....                                                             | 28          |
| 7.5. Tamaño muestral .....                                                                                | 29          |
| 7.6. Obtención y preparación de muestras.....                                                             | 29          |
| 7.7. Determinación de anticuerpos anti SARS-CoV-2.....                                                    | 30          |
| 7.7.1 Kit de reactivo MAGLUMI™ SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA) .....                                          | 32          |
| 7.8. Interpretación de los resultados.....                                                                | 33          |
| 7.9. Análisis estadístico.....                                                                            | 34          |
| <b>8. RESULTADOS .....</b>                                                                                | <b>36</b>   |
| <b>9. DISCUSIÓN .....</b>                                                                                 | <b>47</b>   |
| 9.1. Diferencias de los niveles de anticuerpos IgG S-RBD SARS-CoV-2 entre<br>ambos grupos de estudio..... | 47          |

|            |                                                                                                |           |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 9.2.       | Influencia de la edad en la respuesta inmune .....                                             | 50        |
| 9.3.       | Influencia del género en la respuesta inmune.....                                              | 52        |
| 9.4.       | Influencia del tiempo en la respuesta inmune .....                                             | 55        |
| 9.5.       | Influencia de otros factores en la respuesta inmune.....                                       | 57        |
| 9.6.       | Limitaciones del estudio.....                                                                  | 60        |
| <b>10.</b> | <b>CONCLUSIÓN Y PROYECCIONES.....</b>                                                          | <b>63</b> |
| <b>11.</b> | <b>GLOSARIO.....</b>                                                                           | <b>66</b> |
| <b>12.</b> | <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>                                                                       | <b>68</b> |
| <b>13.</b> | <b>ANEXOS.....</b>                                                                             | <b>92</b> |
| 13.1       | Anexo 1: Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCOV del Laboratorio Clínico PreveGen. .... | 92        |
| 13.2       | Anexo 2: Fórmula para el cálculo del tamaño muestral de una población infinita .....           | 95        |
| 13.3       | Anexo 3: Procedimientos de tratamientos de desechos biológicos o químicos ..<br>.....          | 96        |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1-I. Informe epidemiológico especificado por Región, Plan de acción COVID-19, 25 de Marzo de 2021, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. ....                                                            | 6  |
| 1-II. Recuento de linfocitos y subpoblaciones en sangre periférica en pacientes con manifestaiones clínicas severas y no severas .....                                                                     | 14 |
| 8-III. Características de los grupos de estudio. ....                                                                                                                                                      | 37 |
| 8-IV. Comparación e los grupos etarios según grupo de estudio .....                                                                                                                                        | 39 |
| 8-V. Comparación según género y grupo de estudio .....                                                                                                                                                     | 41 |
| 8-VI. Comparación según tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna respectiva y grupo de estudio .....                                                                         | 42 |
| 8-VII. Correlación de Spearman entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 y la edad de los individuos de cada grupo de estudio .....                                                       | 44 |
| 8-VIII. Correlación de Spearman entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 y los días transcurridos desde haber recibido la segunda dosis de los individuos de cada grupo de estudio ..... | 46 |

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

|                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1-1A. Estructura del virus SARS-CoV-2.....                                                                                                                                                                                                                 | 8  |
| 1-1B. Mecanismo de patogenicidad del virus SARS-CoV-2 .....                                                                                                                                                                                                | 8  |
| 1-2. Porcentaje de positividad para anticuerpos de clase IgM e IgG anti SARS-CoV-2 y carga viral .....                                                                                                                                                     | 15 |
| 1-3. Título de anticuerpos IgG anti SARS-CoV-2 en un periodo de 8 meses ....                                                                                                                                                                               | 17 |
| 7-4. Esquema general de la metodología del Trabajo de Internado en Sector Salud “Determinaión de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en individuos que han recibido las vacunas BNT162b2 o CoronaVac en la Región del Biobío, Chile ..... | 35 |
| 8-5. Análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 según determinadas características de los inividuos y el grupo de estudio .....                                                                                          | 40 |
| 8-6. Regresión lineal entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 y determinadas características de los individuos y el grupo de estudio.....                                                                                               | 45 |

## RESUMEN

El nuevo coronavirus SARS-CoV-2 produce la enfermedad infecciosa denominada COVID-19, la cual ha provocado una pandemia aún persistente a nivel mundial. La comunidad científica ha trabajado por desarrollar vacunas que sean eficaces en conferir protección inmunológica en función de inducir la producción de anticuerpos, por ejemplo, dirigidos contra el Dominio de Unión al Receptor de la Proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 que coordina su entrada en las células del huésped. Actualmente en Chile se inició una campaña de vacunación, siendo las vacunas BNT162b2 y CoronaVac las más utilizadas.

El objetivo de esta investigación fue determinar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en individuos vacunados con la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac, en la Región del Biobío, Chile.

La determinación fue realizada para 75 individuos en el Laboratorio Clínico PreveGen, Concepción, los cuales fueron clasificados en dos grupos de estudio según la vacuna recibida, donde 21 individuos fueron vacunados con la vacuna BNT162b2 y 54 individuos con CoronaVac.

Los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en individuos vacunados con BNT162b2 fueron significativamente mayor en comparación a los niveles alcanzados con la vacuna CoronaVac; mediana 100,00 (59,50 - 100,0) UA/mL y 20,74 (8,96 - 40,82) UA/mL, respectivamente. Además, se determinó que la edad y el género no muestran diferencias significativas en los niveles de estos anticuerpos alcanzados, dentro de un mismo grupo de vacunados, pero sí disminuyen significativamente en el tiempo.

En conclusión, los individuos vacunados con BNT162b2 presentaron mayores niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2, sin influencia de la edad y género.

## **ABSTRACT**

COVID-19 is caused by a novel coronavirus named SARS-CoV-2 which has caused a persistent worldwide pandemic. The scientific community has worked to develop an effective vaccine to provide immune protection by inducing the production of antibodies, for example, directed against the SARS-CoV-2 Spike Protein Receptor Binding Domain (S-RBD) that coordinates its entry into host cells. Now in Chile, have begun a vaccination campaign, using mostly the BNT162b2 and CoronaVac vaccines

The aim of this study was determining the levels of anti-S-RBD SARS-CoV-2 IgG antibodies in individuals vaccinated with the second dose of the BNT162b2 or CoronaVac vaccines, in the Biobío Region, Chile.

It was determined for 75 individuals at the PreveGen Clinical Laboratory, Concepción, who were classified into two study groups according to the vaccine received, where 21 individuals were vaccinated with the BNT162b2 vaccine and 54 individuals with CoronaVac.

The levels of anti-S-RBD SARS-CoV-2 IgG antibodies in individuals vaccinated with BNT162b2 were significantly higher compared to the levels achieved with the CoronaVac vaccine; median 100.00 (59.50 - 100.0) AU / mL and 20.74 (8.96 - 40.82) AU / mL. Furthermore, it was found that age and gender do not produce significant differences within the same study group, and the levels of these antibodies decrease significantly over time.

In conclusion, individuals vaccinated with BNT162b2 presented higher levels of anti-S-RBD SARS-CoV-2 IgG antibodies, without influence of age and gender.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se está viviendo una emergencia a nivel mundial en la salud pública debido a la aparición de una enfermedad respiratoria severa producida por el Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo 2 (SARS-CoV-2), denominada como la enfermedad por coronavirus (COVID-19) (Naqvi *et al.*, 2020). Los primeros casos fueron documentados en Wuhan, China, a finales de Diciembre de 2019, expandiéndose rápidamente por los países del Sudeste Asiático y luego por el resto del mundo (Li *et al.*, 2020). Este virus se caracteriza por presentar una estructura similar a aquellos coronavirus responsables de otras pandemias que han sido controladas en el pasado, tales como el Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV) en el 2003 (Peiris J. S., 2003) y el Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV) en 2013 (Hajjar *et al.*, 2013), que surgieron como enfermedades infecciosas emergentes, sin embargo, no comparten su mismo tratamiento (Chen *et al.*, 2020). Los coronavirus pertenecen a un grupo de virus de la familia *Coronaviridae* del orden Nidovirales que se clasifican en 4 géneros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ , donde los coronavirus  $\alpha$  y  $\beta$  son capaces de infectar mamíferos, y sólo a las aves y  $\delta$  que infecta ambas clases de animales (Wu *et al.*, 2020).

Este grupo de virus se caracteriza por presentar envoltura, genoma ARN monocatenario positivo y por producir una infección zoonótica, que es patógena para humanos y otros organismos vertebrados (Chathappady *et al.*, 2021), y puede afectar el sistema nervioso central, hepático, gastrointestinal y respiratorio (Lofti *et al.*, 2020)

La aparición de esta enfermedad en la población, en un principio fue confundida con un brote de neumonía en Wuhan, China debido a que los pacientes presentaban manifestaciones clínicas moderadas como tos, fiebre, disnea, fatiga y sugerencia de neumonía por radiografía torácica, (Huang *et al.*, 2020), sin embargo, el agente etiológico era desconocido, por lo tanto, urgentemente nació el interés por identificarlo. De esta manera el Centro Chino para el Control y Prevención de enfermedades (CCPEEU) se dirigió a la localidad de Wuhan, China, para realizar el muestreo donde se recolectaron muestras de lavado broncoalveolar. Éstas fueron comparadas con muestras de pacientes con neumonía de origen conocido del Hospital de Beijing, China y luego fueron procesadas con un kit de extracción de ácidos nucleicos para luego realizar un RT-PCR en tiempo real que permite la identificación de 22 patógenos, entre ellos 18 virus y 4 bacterias, sugiriendo la presencia de un coronavirus tipo  $\beta$  (Zhu *et al.*, 2020).

Posteriormente el agente etiológico se aisló y se secuenció el genoma viral, determinándose que correspondía a un nuevo virus de tipo coronavirus  $\beta$  denominado SARS-CoV-2 y que para su identificación como agente etiológico se requería el uso de técnicas de biología molecular como RT-PCR en tiempo real, la cual es una técnica sensible y específica (Zhou *et al.*, 2020). Por lo tanto, el agente etiológico de la pandemia actual se trata de un Coronavirus  $\beta$  que en la naturaleza presenta un reservorio animal que aún es de origen desconocido, pero se especula que proviene de los murciélagos de la especie *Rhinolophus affinis* de donde se han podido muestrear coronavirus  $\beta$ , por ejemplo, el coronavirus RaTG13 que posee una identidad de 96% con el SARS-CoV-2 aislado en Wuhan, China, al inicio de la pandemia, en el momento que se aisló este nuevo coronavirus por primera vez (Andersen *et al.*, 2020).

### **1.1 Manifestaciones clínicas leves, moderadas y críticas**

Esta enfermedad infecciosa ha sido de rápida propagación, llegando a causar una emergencia en la salud pública de carácter mundial y debido a esto la Organización mundial de la Salud la declaró una nueva pandemia (OMS., 2020), que provocó en alrededor de un mes, Enero de 2021, la infección de personas de más de 212 países afectados por la enfermedad COVID-19 (OMS., 2020). Esto ocurrió debido a que el agente etiológico es un patógeno altamente

transmisible por contacto estrecho a través de gotas de aerosol provenientes de la cavidad oral de pacientes contagiados y que sigue extendiéndose por el mundo, superando las cifras de los coronavirus que afectaron décadas anteriores (Liu *et al.*, 2020). Las manifestaciones clínicas de los pacientes infectados por el virus SARS-CoV-2 son variadas y se manifiestan como cuadros asintomáticos, leves, severos o críticos, que podrían llegar a requerir hospitalización (Srivastava y Gupta, 2020; Guan *et al.*, 2020), aunque el mayor número de pacientes se concentra en el grupo de asintomáticos y manifestaciones clínicas leves (Oran y Topol, 2021).

Según los resultados obtenidos por la plataforma virtual China que tiene como nombre “Virtual Outpatient Management Clinic” (VOMC), creada para evitar el colapso de los centros de salud en ese país, se identifica que entre las principales manifestaciones clínicas producidas por el COVID-19, en el grupo de pacientes que no requieren hospitalización, se encuentran la tos, pérdida de olfato y gusto, dolor de cabeza, mialgias y congestión nasal (Berquist *et al.*, 2020), perteneciendo al grupo de las manifestaciones clínicas leves. La sintomatología es inespecífica para la infección, y puede progresar a un cuadro crítico que cursa con hipoxemia, disnea, síndrome de dificultad respiratoria aguda, insuficiencia orgánica múltiple e incluso la muerte (Chen *et al.*, 2020) en este grupo los pacientes con dificultad respiratoria ingresan a las salas de unidades de cuidados

intensivos, entre los cuales hasta el 88% de los pacientes pueden requerir ventilación mecánica invasiva (Grasselli *et al.*, 2020), haciendo que las personas se vuelvan más susceptibles a sufrir neumonías producto de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud (IAAS) (Maes *et al.*, 2021). Sin embargo, se han podido identificar determinadas características clínicas como factores de riesgo para el agravamiento de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad que, aumentan significativamente la mortalidad durante la infección por el virus SARS-CoV-2, por ejemplo, edad avanzada, sexo masculino y presentar comorbilidades tales como diabetes y enfermedades cardiovasculares (Grasselli *et al.*, 2020).

En Chile, la crisis sanitaria ha estado presente desde la confirmación del primer caso de COVID-19, el 3 de Marzo de 2020. El Ministerio de Salud (MINSAL) del Gobierno de Chile es el organismo encargado de entregar las cifras oficiales y los informes epidemiológicos diarios durante la pandemia y hasta el día 25 de Marzo de 2021, a nivel nacional, se acumularon 954.762 casos confirmados a través del test de RT-PCR en tiempo real para SARS-CoV-2 y además ocurrieron un total de 22.524 muertes asociada a esta infección, que presentan una mayor concentración en ciertas regiones, como son la Región Metropolitana, Biobío y Valparaíso (MINSAL, 2021).

A nivel nacional, hasta esa fecha, el 85,64% de los pacientes ingresados en la sección de Unidades de Cuidados Intensivos se encontraba utilizando un ventilador mecánico, disminuyendo la disponibilidad de camas críticas como se muestra en la Tabla I (MINSAL, 2021).

**Tabla I.** Informe epidemiológico especificado por Región, Plan de acción COVID-19, 25 de Marzo de 2021, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. Información Epivigila, Epidemiología y DEIS MINSAL. **(A)** Casos confirmados totales. **(B)** Situación de camas de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). **(C)** Situación Tipo de ventilación.

| <b>A</b> | Región           | Casos confirmados acumulados | Casos activos confirmados <sup>1</sup> | Fallecidos totales <sup>2</sup> | Casos confirmados recuperados <sup>3</sup> | Casos confirmados por antígeno <sup>4</sup> | Casos con sospecha de reinfección |
|----------|------------------|------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|
|          | Arica Parinacota | 16.955                       | 645                                    | 343                             | 15.956                                     | 25                                          | 7                                 |
|          | Tarapacá         | 27.824                       | 1.050                                  | 494                             | 26.271                                     | 30                                          | 19                                |
|          | Antofagasta      | 42.261                       | 1.323                                  | 849                             | 40.050                                     | 146                                         | 23                                |
|          | Atacama          | 13.810                       | 533                                    | 168                             | 13.116                                     | 16                                          | 10                                |
|          | Coquimbo         | 25.768                       | 1.208                                  | 485                             | 24.059                                     | 23                                          | 9                                 |
|          | Valparaíso       | 61.832                       | 3.817                                  | 1.802                           | 56.161                                     | 119                                         | 18                                |
|          | Metropolitana    | 404.648                      | 12.571                                 | 12.632                          | 379.119                                    | 1.040                                       | 207                               |
|          | O'Higgins        | 36.396                       | 1.885                                  | 864                             | 33.641                                     | 141                                         | 18                                |
|          | Maule            | 51.172                       | 2.699                                  | 963                             | 47.501                                     | 810                                         | 28                                |
|          | Ñuble            | 20.309                       | 1.043                                  | 390                             | 18.879                                     | 46                                          | 20                                |
|          | Biobío           | 90.942                       | 5.213                                  | 1.486                           | 84.184                                     | 186                                         | 50                                |
|          | Araucanía        | 51.417                       | 2.727                                  | 630                             | 48.041                                     | 538                                         | 17                                |
|          | De los Ríos      | 25.930                       | 1.833                                  | 286                             | 23.813                                     | 93                                          | 13                                |
|          | De los Lagos     | 59.151                       | 1.819                                  | 761                             | 56.547                                     | 116                                         | 21                                |
|          | Aysén            | 3.412                        | 99                                     | 26                              | 3.290                                      | 5                                           | 1                                 |
|          | Magallanes       | 22.889                       | 234                                    | 344                             | 22.299                                     | 5                                           | 11                                |
|          | Desconocida      | 46                           | 0                                      | 1                               | 46                                         | 0                                           | 0                                 |
|          |                  | 954.762                      | 38.699                                 | 22.524                          | 892.973                                    | 3.339                                       | 472                               |

| <b>B</b> | Total de camas críticas | 3.518 | Camas críticas disponibles | 182 | Camas críticas ocupadas | 3.336 |
|----------|-------------------------|-------|----------------------------|-----|-------------------------|-------|
|----------|-------------------------|-------|----------------------------|-----|-------------------------|-------|

| <b>C</b> | Tipo de ventilación      | # pacientes  | % total     |
|----------|--------------------------|--------------|-------------|
|          | En ventilación mecánica  | 2.069        | 85,64%      |
|          | Sin ventilación mecánica | 347          | 14,36%      |
|          | <b>Total</b>             | <b>2.416</b> | <b>100%</b> |

\* Pacientes reportados durante el día anterior de forma agregada, UGCC

Este escenario se ha mantenido hasta Diciembre de 2021, aumentando los casos confirmados acumulados y fallecidos totales a nivel nacional (MINSAL, 2021).

## **1.2 Mecanismo de patogenicidad**

El virus SARS-CoV-2 posee un genoma de 30.000 nucleótidos que codifican para cuatro proteínas estructurales que se muestran en la Figura 1A, las cuales son la proteína de la nucleocápside (N), proteína de membrana (M), proteína Spike (S) y la proteína Envelop (E), junto con otras proteínas no estructurales, por ejemplo, las proteínas del complejo de replicación/transcripción (Poma y Kolandaivel, 2020). El mecanismo de entrada y replicación viral se observa en la Figura 1B, donde se muestra que la proteína Spike (S), que posee dos subunidades asociadas al reconocimiento celular y fusión de membranas, encargadas de coordinar la adherencia al receptor “Enzima Convertidora de Angiotensina 2” (ACE2), una proteína de membrana que se expresa ampliamente en las células del organismo humano, entre ellas, células pulmonares, donde el virus realiza su primera entrada (Li, M *et al.*, 2020). Luego ocurre la formación de un endosoma que a través de la fusión con vesículas lisosomales, se promueve la liberación del genoma viral en el citoplasma de la célula huésped donde realizará la replicación y transcripción viral.

Finalmente, las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma, se ensamblan en el retículo endoplásmico y se obtienen los nuevos viriones que serán liberados por exocitosis y lisis celular, desencadenando la respuesta inmunológica.

Además, la producción viral actúa como un agente estresor celular, que a través de determinados mecanismos, aún no bien elucidados conduce a la muerte celular mediante apoptosis y necroptosis, asociada a la activación de la caspasa-8 (Li, M., 2020).

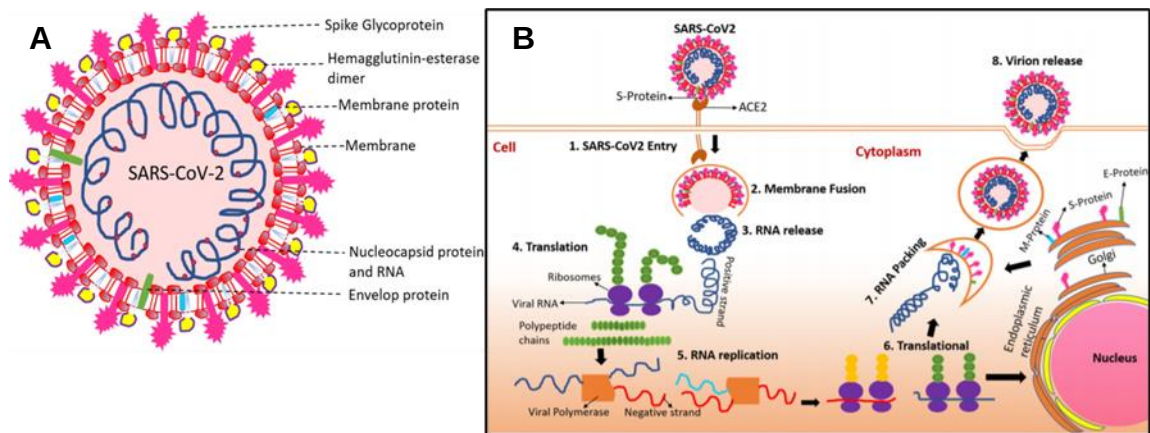


**Figura 1: (A)Estructura. (B) Mecanismo de patogenicidad del virus SARS-CoV-2 mediante la entrada del a virus a través de la interacción de la proteína S y el receptor “Enzima convertidora de angiotensina 2” (ACE2).**

La patogenia de la infección por SARS-CoV-2 se manifiesta en humanos, principalmente como síntomas respiratorios, debido a la capacidad del virus SARS-CoV-2, de replicarse en las células epiteliales del tracto respiratorio, que luego migra hacia los alveolos y pulmones, desencadenando la respuesta inmunológica que comienza con un proceso inflamatorio (Brosnahan *et al.*, 2020).

### **1.3 Respuesta inmunológica innata frente al virus SARS-CoV-2**

En el huésped, la progenie viral que es liberada luego de la muerte celular, se desencadena la respuesta inmunológica innata, que corresponde a la primera línea de defensa frente a microorganismos, en este caso el virus SARS-CoV-2. En esta respuesta inmunológica innata, participan fagocitos como neutrófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas y proteínas plasmáticas como el sistema del complemento, citocinas y receptores celulares, que buscan detener la propagación del agente etiológico y activar una respuesta inflamatoria (Alberts *et al.*, 2002). El daño tisular asociado a la apoptosis y necroptosis inducida por el virus, promueven la síntesis de citoquinas proinflamatorias tales como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 1 (IL-1) e Interleucina 6 (IL-6) (Abbas *et al.*, 2015) y la liberación de contenido citoplasmático y progenie viral. Sin embargo esta respuesta inflamatoria también puede ser activada debido a la estimulación de los Receptores de Reconocimiento de Patrones (RRP) debido a la entrada del virus SARS-CoV-2 en las células que infecta, mediante la activación de Receptores de Tipo Toll (TLR), Proteína inducible por Ácido Retinoico (RIG-1) y la Proteína asociada a la diferenciación de Melanoma (MDA5), que activarán cascadas de fosforilación y posteriormente a los factores de transcripción IRF3 y NF- $\kappa$ B para promover la producción de citoquinas proinflamatorias (Harrison *et al.*, 2020). De esta manera se produce interferón

tipo I (IFN-I) para entregar una respuesta antiviral e interleucinas proinflamatorias como Interleucina 6 (IL-6) e Interleucina 12 (IL-12) (Zhou *et al.*, 2017).

Esta respuesta promueve la inhibición de la replicación viral en células infectadas, el reclutamiento de fagocitos y el aumento de la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I y II (MHC I y II), y así potenciar la presentación antigénica en células infectadas con el virus y también coordinar la progresión de la respuesta inmunológica hacia la respuesta inmune adaptativa. Sin embargo, se ha observado que durante la respuesta inmunológica innata por la infección por SARS-CoV-2, existe la evasión de la respuesta de IFN-I, debido a la expresión de las Proteínas No Estructurales 1 y 6, que inhiben su producción (Xia *et al.*, 2020). Por lo tanto, se mantiene la replicación viral junto con la producción de citoquinas proinflamatorias en respuesta al daño tisular, manteniendo una reacción inflamatoria junto con el reclutamiento de leucocitos, dando paso al evento conocido como “tormenta de citoquinas” (Behrens y Koretzky, 2017), empeorando las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Hojyo *et al.*, 2020). Por lo tanto, se ha propuesto que la respuesta inmunológica innata es interrumpida en el progreso hacia la respuesta inmunológica adaptativa debido a la respuesta inflamatoria sostenida en el tiempo, puesto que las citoquinas proinflamatorias aumentan significativamente durante la infección por el virus SARS-CoV-2 (Ahmadpoor y Rostaing, 2020; Qin *et al.*, 2020).

#### **1.4. Respuesta inmunológica adaptativa frente al virus SARS-CoV-2**

La respuesta inmunológica adaptativa frente a agentes patógenos está mediada por células, por ejemplo, células Presentadoras de Antígeno profesionales (CPA), linfocitos B y linfocitos T, junto con subpoblaciones y diferentes estados de maduración de éstas mismas, y además por señales coestimuladoras (Kawabe *et al.*, 2011). Durante la infección por el virus SARS-CoV-2, esta respuesta se lleva a cabo mediante la fagocitosis e internalización del virus SARS-CoV-2 junto con la posterior presentación antigénica en el contexto del Complejo Mayor de Histocompatibilidad que permite la diferenciación de estas células, ya sean linfocitos B y T, inmaduros.

Esto conlleva a que los linfocitos T citotóxicos (CD8<sup>+</sup>) inmaduros, sean activados a través del Receptor de linfocitos T (TCR), que reconoce cualquier célula nucleada que presenta antígenos peptídicos a través del Complejo Mayor de histocompatibilidad I (MHC I), (Rock y Goldberg, 1999) siendo capaces de reconocer células infectadas que no presentan antígenos propios, sino que presentan antígenos virales, y de esta forma, promueven su destrucción a través de la transcripción de genes que permiten la formación y liberación de lisosomas que contienen perforinas y granzimas, que destruirán a las células infectadas por

el virus SARS-CoV-2, como mecanismo de eliminación del virus en su estadio intracelular (Peters *et al.*, 1991).

Por otro lado, debido a la presentación antigénica viral de las Células Presentadoras de Antígenos (CPA), en el contexto del Complejo Mayor de Histocompatibilidad II, se promoverá la diferenciación de los linfocitos T cooperadores (CD4<sup>+</sup>) inmaduros en linfocitos T cooperadores (CD4<sup>+</sup>) de tipo 1 (Th1) (Komastu *et al.*, 1998), para llevar a cabo la respuesta inmunológica T dependiente que estimula la diferenciación y maduración de los linfocitos B (Geisberger *et al.*, 2006). De esta manera los linfocitos B maduros proliferan y realizan el proceso de expansión clonal, formando centros germinales en los órganos linfoides periféricos, donde se diferencian a linfocitos B de memoria y células plasmáticas capaces de producir anticuerpos de alta afinidad contra el agente viral (Hamel *et al.*, 2012). Así ocurre la respuesta inmunológica primaria durante la primera exposición al agente etiológico, donde las células plasmáticas secretan principalmente anticuerpos de Clase IgM, mientras que los linfocitos B de memoria de esta etapa, poseen una corta vida media y se almacenan en los órganos linfoides (Sathe *et al.*, 2021). En paralelo se activarán linfocitos B maduros que realizarán el cambio de clase en la síntesis de anticuerpos, en la respuesta inmunológica T dependiente, sintetizando anticuerpos de clase IgG debido al antígeno viral involucrado (Abbas *et al.*, 2015).

Por lo tanto, existe un recambio en la presencia de anticuerpos en sangre entre anticuerpos de clase IgM e IgG, lo que se conoce como cinética de seroconversión que inicia desde la respuesta inmunológica primaria (Qin *et al.*, 2020).

Sin embargo, durante la recopilación de datos demográficos y clínicos de 452 pacientes confirmados con COVID-19 del Hospital de Tongji, China, agrupados en distintos grados de manifestaciones clínicas, se observó que presentaban linfopenia en sangre periférica a expensas de una disminución estadísticamente significativa de linfocitos T, que afectaba principalmente linfocitos T cooperadores (CD4<sup>+</sup>) en cada uno de los grupos como se muestra en la Tabla II, los cuales son fundamentales para la respuesta inmune humoral en la estimulación de la producción de anticuerpos de los linfocitos B. Por otro lado, a nivel periférico, en los ganglios linfáticos también se han observado estas repercusiones, ya que existe evidencia de que ocurre la disminución de la formación de centros germinales y células T foliculares (Kanecko *et al.*, 2020), pudiendo afectar la respuesta inmune humoral a largo plazo.

**Tabla II.** Recuento de linfocitos y subpoblaciones en sangre periférica en pacientes con manifestaciones clínicas severas y no severas.

|                                       | Normal Range  | All Patients (N = 44) | Nonsevere (n = 17) | Severe (n = 27) | P    |
|---------------------------------------|---------------|-----------------------|--------------------|-----------------|------|
| Lymphocyte subsets                    |               |                       |                    |                 |      |
| T cells + B cells + NK cells/ $\mu$ L | 1100.0–3200.0 | 852.9 (412.0)         | 1020.1 (396.5)     | 743.6 (384.4)   | .032 |
| T cells + B cells + NK cells, %       | 95.0–105.0    | 98.9 (1.0)            | 99.2 (0.6)         | 98.6 (1.2)      | .103 |
| B cells (CD3– CD19+) $\mu$ L          | 90.0–560.0    | 179.7 (143.1)         | 196.1 (144.9)      | 169.0 (140.9)   | .559 |
| B cells (CD3– CD19+), %               | 5.0–18.0      | 20.5 (10.9)           | 18.5 (8.1)         | 21.8 (12.2)     | .353 |
| T cells (CD3+ CD19–) $\mu$ L          | 955.0–2860.0  | 541.5 (292.7)         | 663.8 (291.3)      | 461.6 (264.7)   | .027 |
| T cells (CD3+ CD19–), %               | 50.0–84.0     | 61.3 (10.1)           | 63.4 (8.5)         | 60.0 (10.8)     | .283 |
| T-cell subsets                        |               |                       |                    |                 |      |
| Th cells (CD3+ CD4+) $\mu$ L          | 550.0–1440.0  | 338.6 (196.3)         | 420.5 (207.8)      | 285.1 (168.0)   | .027 |
| Th cells (CD3+ CD4+), %               | 27.0–51.0     | 38.3 (8.1)            | 39.8 (7.5)         | 37.2 (8.4)      | .314 |
| Ts cells (CD3+ CD8+) $\mu$ L          | 320.0–1250.0  | 173.4 (115.2)         | 201.9 (107.1)      | 154.7 (116.5)   | .197 |
| Ts cells (CD3+ CD8+), %               | 15.0–44.0     | 19.6 (8.1)            | 19.5 (6.2)         | 19.7 (9.2)      | .930 |

Valor  $p < 0,05$

A pesar de la existencia de estos eventos que obstaculizan la respuesta inmunológica del huésped, existe evidencia de que los pacientes infectados por el virus SARS-CoV-2, confirmados con un resultado positivo para la prueba de diagnóstico molecular RT-PCR en tiempo real, son capaces de llevar a cabo la respuesta inmunológica humoral, ya que se ha logrado la determinación de anticuerpos anti SARS-CoV-2 mediante pruebas serológicas, utilizando inmunoensayos por quimioluminiscencia. Se ha observado, una cinética de seroconversión entre los anticuerpos de las clases IgM e IgG (Wu *et al.*, 2020), los cuales pueden estar dirigidos contra la nucleocápside, proteína Spike (S) y el Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) del virus SARS-CoV-

2 y, son éstos los que presentan una actividad neutralizante significativa sobre la entrada del virus a las células del huésped mediante el bloqueo de la interacción con el receptor “Enzima Convertidora de Angiotensina 2” (ACE2) (Premkumar *et al.*, 2020). Estos pacientes, desde que son portadores del agente etiológico y manifiestan sintomatología asociada a la infección, presentan un aumento variable en el título de anticuerpos IgM anti SARS-CoV-2 durante la respuesta primaria, que disminuye en el tiempo junto con la carga viral, mientras que desde la segunda semana existe un aumento del título de anticuerpos IgG anti SARS-CoV-2 que se mantiene en el tiempo (Wu *et al.*, 2020), como se muestra en la Figura 2.

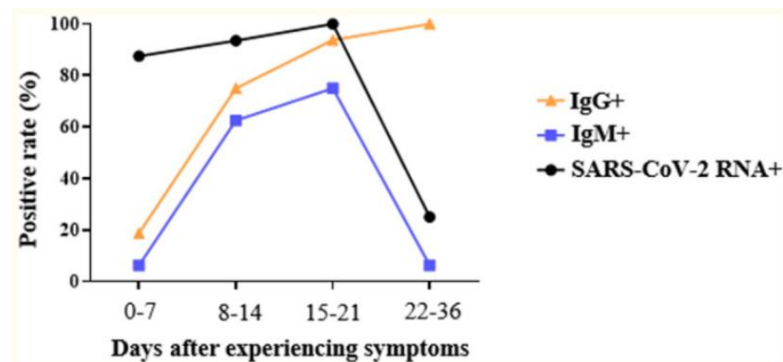


**Figura 2:** Porcentaje de positividad de pacientes para anticuerpos de clase IgM e IgG anti SARS-CoV-2 y carga viral hasta 32 días después de la aparición de síntomas.

Estos anticuerpos IgG dirigidos contra las estructuras Nucleocápside, Proteína Spike y Dominio de Unión al Receptor de la Proteína Spike (S-RBD) mantienen un título elevado durante un periodo de 8 meses luego de la infección como se muestra en la Figura 3, sin embargo, tienden a disminuir significativamente en el tiempo en individuos que se han expuesto al virus SARS-CoV-2 (Hou *et al.*, 2020; Jin *et al.*, 2020), y además, se ha observado que se desarrolla memoria inmunológica asociada a linfocitos B y T, mediante el uso marcadores de fluorescencia, sin embargo, esta respuesta es heterogénea entre los paciente y es limitada, ya que estas poblaciones celulares también tienden a disminuir, por lo tanto no se puede asegurar que exista una inmunidad protectora posterior a la infección y se requiere de investigaciones a largo plazo (Dan *et al.*, 2020).

Se estima que existe un comportamiento similar a la respuesta inmunológica frente a otros coronavirus que son patógenos para los humanos, que presentan una memoria inmunológica de corta duración, ya que se ha observado que el huésped después de 12 meses, de superar la infección, es susceptible a contagiarse de nuevo (Edridge *et al.*, 2020).

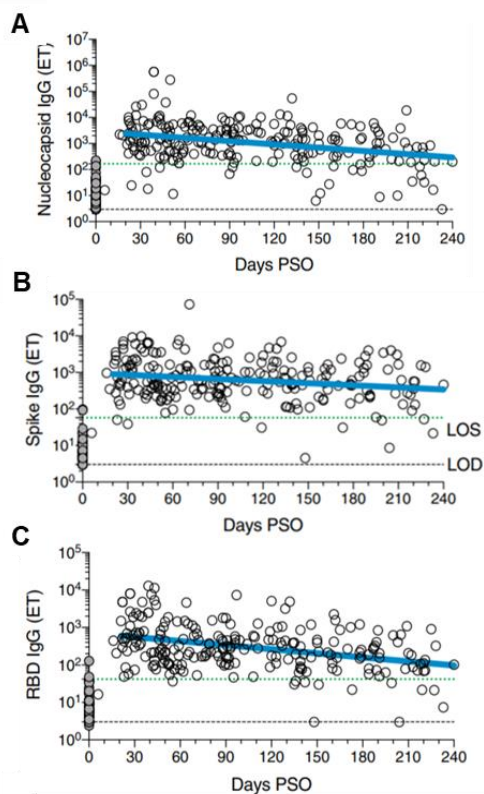


**Figura 3: Títulos de anticuerpos IgG anti SARS-CoV-2 en un periodo de 8 meses.** (A)Anticuerpos IgG anti nucleocápside. (B)Anticuerpos IgG anti proteína Spike. (C) Anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD). LOS: Límite de sensibilidad. LOD: Límite de detección.  $p < 0.05$

### 1.5. Vacunas dirigidas contra el SARS-CoV-2

Hasta el inicio del año 2021, la infección por SARS-CoV-2 que produce la enfermedad COVID-19, sumó más de 100 millones de contagios y ha superado 1 millón de muertes durante los primeros 6 meses de pandemia, las cuales son

cifras que siguen en aumento (Dong *et al.*, 2020), lo cual ha provocado la saturación de los centros de salud, repercutiendo en la economía de los países (Usman *et al.*, 2020). Por lo tanto, se requieren medidas de prevención de la transmisión de la enfermedad y agravamiento de las manifestaciones clínicas que eviten su evolución hacia el síndrome respiratorio agudo y la muerte, por ejemplo, la aplicación de vacunas que históricamente han resultado beneficiosas para la salud mundial (Orenstein y Ahmed, 2017). Las vacunas tienen como objetivo, inducir la respuesta inmunológica humoral sin cursar con la enfermedad que el agente etiológico produce, ya que las vacunas son capaces de conferir protección inmunitaria. Existen distintos mecanismos para conferir esta protección inmunitaria como son, vacunas atenuadas, recombinantes, inactivadas o utilizando ácidos nucleicos (Iwasaki y Omer, 2020). Para enfrentar la pandemia actual, hoy se realizan más de 300 proyectos que buscan diseñar una vacuna contra el virus SARS-CoV-2 y alrededor de 40 de ellos se encuentran realizando ensayos clínicos para ser aplicadas en la población posterior a su aprobación (Forni *et al.*, 2021). Actualmente el Ministerio de Salud del Gobierno de Chile ha iniciado una campaña de vacunación diferida, la cual ha priorizado a la población de mayor riesgo por edad y/o padecimiento de enfermedades crónicas y se han administrado en mayor medida, las vacunas BNT162b2 y CoronaVac, aprobadas por el Instituto de Salud Pública (MINSAL, 2021).

La vacuna BNT162b2 elaborada por el laboratorio Pfizer-BioNTech, consiste en una vacuna que contiene el ARN mensajero que codifica para la proteína Spike SARS-CoV-2, con nucleósidos modificados envueltos en nanopartículas de lípidos para ingresar libremente a las células del huésped y promover su traducción, induciendo una respuesta inmunológica, por lo tanto, la producción de anticuerpos es específica contra esta proteína. La producción de esta secuencia de ARN mensajero se realiza mediante cultivos de *Escherichia coli* que son transformadas con plásmidos de ADN que se utilizan como molde para la síntesis de ARN mensajero (Xie *et al.*, 2021). Esta vacuna ha sido aprobada en ensayos clínicos, mostrando una eficacia del 95%. Demostró ser inmunogénica y segura y, se han reportado solamente malestares a corto plazo como fatiga, dolor de cabeza y dolor en el lugar de punción (Polack *et al.*, 2020), y promover la producción de elevados títulos de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) (Sahin *et al.*, 2020). Esta vacuna se administra vía intramuscular, utilizando dos dosis separadas por una ventana de 28 días (MINSAL, 2021).

La vacuna CoronaVac, elaborada por el laboratorio Sinovac Life, corresponde a una vacuna basada en la administración del virus SARS-CoV-2 inactivado, por lo tanto, induce una respuesta inmunológica, pero es incapaz de replicarse (Gao *et al.*, 2021). Debido a que la inoculación involucra la estructura viral completa, la producción de anticuerpos no está dirigida solamente contra la proteína Spike (S) sino que también contra otros determinantes antigénicos del virus, por lo tanto, se producirán anticuerpos anti SARS-CoV-2 para cada uno de éstos.

Este virus inactivado, se prepara cultivando la línea celular Vero en un medio de cultivo con  $\beta$ -propiolactona en presencia del agente etiológico normal, desnaturalizando el ARN viral y luego se purifica (Perrin *et al.*, 1995). Esta vacuna emplea dos dosis con una ventana de 28 días, se administra vía intramuscular y en ensayos clínicos de fase 1 y 2, ha demostrado ser inmunogénica y segura para personas desde los 18 años, buscando prevenir la enfermedad COVID-19 (MINSAL, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Además, durante el ensayo clínico de la fase 3 en Chile, se determinó que esta vacuna induce una respuesta inmune humoral y celular, junto con un aumento en el título de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) (Bueno *et al.*, 2021)

En este Trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud realizado en el Laboratorio Clínico PreveGen, se busca evidenciar cómo se manifiesta la respuesta inmune humoral en individuos de la Región del Biobío inoculados con las vacunas BNT162b2 y CoronaVac, luego de 14 días de haber recibido la segunda dosis de estas vacunas, en función de la determinación de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 determinados mediante quimioluminiscencia.

## **2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

La actual crisis sanitaria requiere la búsqueda de estrategias para la prevención de la infección por SARS-CoV-2 con el fin de solucionar el problema en la salud pública producido por la enfermedad COVID-19, lo cual ha dado paso a que se desarrolle una carrera científica por crear vacunas contra el virus SARS-CoV-2. En Chile la campaña de vacunación ha comenzado, suministrando en la población en mayor proporción, las vacunas de los laboratorios Pfizer-BioNTech y Sinovac Life, BNT162b2 y CoronaVac, respectivamente, pero se desconoce cómo se manifiesta la respuesta inmune humoral que inducen ambas vacunas, asociadas a la producción de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2.

## **3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la diferencia de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre los individuos que han recibido la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 o CoronaVac de la Región del Biobío, Chile, durante la pandemia COVID-19?

#### **4. HIPÓTESIS**

La respuesta inmune humoral asociada a la producción de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 es comparable entre individuos que recibieron la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac.

## **5. OBJETIVO GENERAL**

Determinar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 generados en individuos que hayan recibido la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac, en la Región del Biobío, Chile.

## **6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en muestras de suero de individuos con la segunda dosis de la vacuna BNT162b2.
2. Determinar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en muestras de suero de individuos con la segunda dosis de la vacuna CoronaVac.

3. Comparar la respuesta inmune humoral asociada a los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 generados entre individuos que han recibido la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 o CoronaVac.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1. Diseño del estudio**

Se realizó un estudio observacional, de corte transversal, de tipo poblacional y correlacional.

### **7.2. Ingreso de muestras**

En este trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud se hizo uso de los resultados de laboratorio de las muestras de individuos que solicitaron la cuantificación de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en el Laboratorio Clínico PreveGen, Concepción de la Región del Biobío, Chile, dentro del quehacer analítico propio del laboratorio al utilizar un nuevo Kit de Reactivo, MAGLUMI™ SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA), Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd (Snibe). Además, se solicitó a los individuos, completar el Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV del Laboratorio

Clínico PreveGen, Chile, el cual forma parte del protocolo de Laboratorio PCR COVID-19 solicitado por el Instituto de Salud Pública (ISP), presente en el Anexo 1, donde se hizo uso de datos personales como antecedentes epidemiológicos de COVID-19, edad, género, vacuna recibida, fecha de vacunación y fecha de ingreso al laboratorio.

### **7.3. Criterios de inclusión y exclusión**

Dentro de los Individuos que solicitaron la cuantificación de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 se aplicaron criterios de inclusión y exclusión para el uso de las muestras en el desarrollo de este Trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud.

Se incluyeron las muestras de los individuos según los siguientes criterios:

1. Que se hayan vacunado con la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac, posterior a 14 días de la segunda dosis.
2. Que pertenezcan a la Región del Biobío, Chile.
3. Edad mayor a 18.

Se excluyeron las muestras de los individuos según los siguientes criterios:

1. Si presentan antecedentes de enfermedad COVID-19.
2. Si son de nacionalidad extranjera.
3. Si padecen enfermedad autoinmune.
4. Si son mujeres embarazadas.

#### **7.4. Clasificación del grupo de estudio**

Las muestras que se recolectaron fueron clasificadas en dos grupos según la vacuna recibida por el individuo, informada en el Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV del Laboratorio Clínico PreveGen, Chile presente en el Anexo 1.

1. Individuos con la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 posterior a 14 días.
2. Individuos con la segunda dosis de la vacuna CoronaVac posterior a 14 días.

## **7.5. Tamaño muestral**

Se calculó el tamaño muestral del estudio utilizando la fórmula del cálculo del tamaño muestral para una población finita presente en el Anexo 2, en función de la población de la región del Biobío, Chile que ha recibido la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac según las cifras oficiales del Informe DEIS/MINSAL (<https://www.gob.cl/yomevacuno/#vacunados>) obteniendo un tamaño muestral de 49 individuos para el grupo de individuos con la segunda dosis de la vacuna BNT162B2 posterior a 14 días y un tamaño muestral de 49 individuos para el grupo de individuos con la segunda dosis de la vacuna CoronaVac posterior a 14 días, para un nivel de confianza de 95% y un error máximo tolerable de 10%.

## **7.6. Obtención y preparación de muestras**

Se utilizó muestras de sangre que fueron recolectadas en un tubo sin anticoagulante de tapa roja en la sala de “Toma de Muestra” del Laboratorio Clínico PreveGen por la Enfermera Daniela Obreque. Para procesar las muestras se centrifugaron a 3200 rpm por 12 minutos y se utilizó el suero para la determinación de anticuerpos mediante Inmunoensayos por Quimioluminiscencia

(CLIA) utilizando el analizador de inmunoensayos de quimioluminiscencia automatizado MAGLUMI™ 800 de Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd (Snibe). Los desechos biológicos producidos durante el desarrollo de este trabajo especificados en el Anexo 3, fueron eliminados de manera segura, a través de la empresa Veolia.

### **7.7. Determinación de anticuerpos anti SARS-CoV-2**

El analizador de inmunoensayos de quimioluminiscencia automatizado que se utilizó para la determinación de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 corresponde al equipo MAGLUMI™ 800, junto con el kit de reactivos MAGLUMI™ SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA), ambos de la industria Snibe. Este kit de reactivos cuenta con distintos componentes específicos para la determinación de estos anticuerpos, tales como perlas magnéticas, calibrador, control negativo y control positivo.

El método que se utilizó para la determinación de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 mediante el kit de reactivo mencionado anteriormente, se basa en el uso de micro perlas nano magnéticas de óxido de hierro (FeO) cubiertas por poliestireno con grupos carbonilo monodispersos que son capaces de unirse

covalentemente a péptidos y oligonucleótidos en presencia de 1-etil-3- (3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC), el cual es un agente activante de grupos carbonilos (Mani *et al.*, 2011). Por lo tanto, al inicializar el equipo MAGLUMI™ 800 de Snibe, se debe mantener en agitación por 30 minutos el kit de reactivos, previos a la determinación de anticuerpos y durante el procesamiento de la muestra, debido a la característica magnética de las perlas para mantener una solución homogénea.

En cuanto a la reacción quimioluminiscente, se utilizó anticuerpos conjugados con un marcador no enzimático, llamado N- (4-aminobutil) -N-etil-isoluminol (ABEI), que corresponde a una lactona (Palmioli *et al.*, 2013), la que produce una señal quimioluminiscente en presencia de hidróxido de sodio (NaOH) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) contenidos en los reactivos “Starters” 1 y 2 de Snibe, señal que es medida por un fotomultiplicador como Unidades Relativas de Luz (RLU), que en función de la curva de calibración entregó los resultados en Unidades Arbitrarias por mililitro (UA/mL).

### **7.7.1 Kit de reactivo MAGLUMI™ SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA)**

Se utilizaron micro perlas nano magnéticas cubiertas con antígenos recombinantes del Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) del virus SARS-CoV-2. Luego fueron mezclados con el suero del paciente, donde los anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 que pueden estar presentes en la muestra, reconocerán a estos antígenos recombinantes. Se formarán inmunocomplejos y luego de un determinado tiempo de incubación, precipitarán y se eliminará el líquido sobrenadante. Luego se incubaron anticuerpos anti IgG de humanos marcados con el agente quimioluminiscente N- (4-aminobutil) -N-etil-isoluminol (ABEI), los que reconocerán el Fragmento Cristalizable (Fc) de los anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 que se hayan unido al antígeno recombinante. Finalmente se añadió los iniciadores de la reacción quimioluminiscente, los “Starters” 1 y 2. Por lo tanto, las Unidades relativas de Luz (RLU) será directamente proporcional a la concentración de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2.

## **7.8. Interpretación de los resultados**

Los resultados obtenidos según las Unidades Relativas de Luz (RLU) por cada determinación, fueron expresados en Unidades de Absorbancia por mililitro (AU/mL) según una curva de calibración de dos puntos realizada por el analizador de inmunoensayos de quimioluminiscencia automatizado MAGLUMI™ 800.

Los resultados se determinaron como reactivo o no reactivo dependiendo de su concentración.

- Reactivo: Mayor o igual a 1.00 AU/mL. ( $\geq 1.00$  AU/mL). Por lo tanto, los anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 sí fueron detectados.
- No reactivo: Menor a 1.00 AU/mL. ( $< 1.00$  AU/mL). Por lo tanto, los anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 no fueron detectados.

## 7.9. Análisis estadístico

El análisis estadístico y los gráficos fueron realizados utilizando el software GraphPad Prism 8 ®. Las variables continuas se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (D.E), y se compararon con la prueba t de Student o bien se compararon mediana en un Rango Intercuartílico (RIC), con la prueba U de Mann-Whitney respectivamente, dependiendo si los conjuntos de datos presentaron distribución normal o no, mediante la Prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas como porcentaje (%). Se realizaron tablas de contingencia y se aplicó la prueba de Chi Cuadrado donde se evaluó la existencia de alguna relación entre estas variables categóricas, en cuanto a la diferencia de la proporción de individuos. En cuanto al análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 para más de dos grupos, se utilizó la Prueba de Kruskal-Wallis, seguido de la Prueba de Dunn. Para evaluar el grado de asociación entre dos variables representadas por conjuntos de datos que no presentan distribución normal se realizó la Correlación de Spearman y se representó gráficamente transformando el conjunto de datos utilizando log 2 para realizar la regresión lineal de estos mismos. En cada prueba estadística que se realizó, se consideró como estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ .

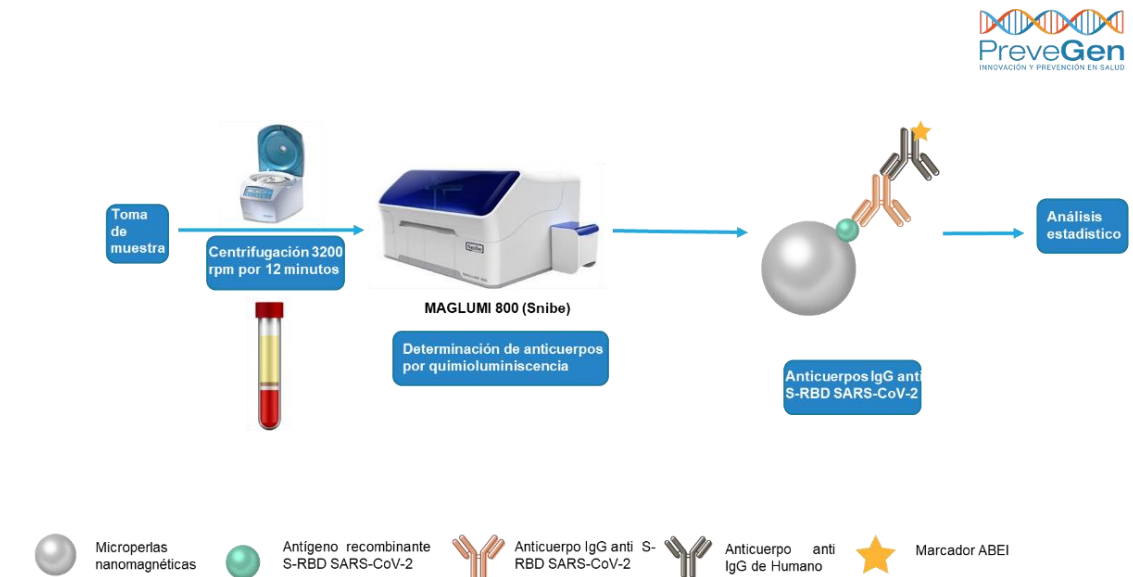


**Figura 4:** Esquema general de la metodología del Trabajo de investigación de Internado Sector Salud “Determinación de los niveles de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 en individuos que han recibido las vacunas BNT162B2 o CoronaVac de la Región del Biobío, Chile.”

## **8. RESULTADOS**

Se logró la determinación de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en un total de 75 muestras en el Laboratorio Clínico PreveGen, Concepción, Chile provenientes de 21 individuos vacunados con BNT162b2 y 54 individuos vacunados con CoronaVac, posterior a 14 días, luego de haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente al esquema de vacunación, quienes fueron seleccionados bajo los criterios de inclusión y exclusión establecidos. En la Tabla III se muestran las variables continuas correspondientes a la edad, periodo de tiempo transcurrido luego de recibir la segunda dosis de la vacuna y los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 de los individuos de los cuales se obtuvieron estas muestras, clasificados en los grupos de estudio mencionados anteriormente.

**Tabla III. Características de los grupos de estudio**

|                                                                            | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis BNT162b2<br/>(n = 21)</b> | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis CoronaVac<br/>(n = 54)</b> | <b>Normalidad</b> |                        |
|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------|------------------------|
| <b>Característica</b>                                                      | <i>Media ± DE,<br/>Mediana (RIC) o<br/>n (%)</i>        | <i>Media ± DE,<br/>Mediana (RIC) o n<br/>(%)</i>         |                   | <i>Valor p</i>         |
| <b>Niveles de anticuerpos<br/>IgG anti S-RBD SARS-<br/>CoV-2 (UA/mL)</b>   | 100,0 (59,50-100,0)                                     | 19,17 (8,96-40,82)                                       | No                | <b>&lt;<br/>0,0001</b> |
| <b>Edad (Años)</b>                                                         | 35,33 ± 11,48                                           | 51,00 ± 19,01                                            | Sí                | <b>0,0038</b>          |
| <b>Periodo de tiempo<br/>luego de recibir la<br/>segunda dosis (Meses)</b> | 3,00 (2,00-4,00)                                        | 1,00 (1,00-4,00)                                         | No                | <b>0,0446</b>          |
| <b>Resultados reactivos<br/>(n, %)</b>                                     | 21 (100)                                                | 54 (100)                                                 | _*                |                        |

DE: Desviación estándar; RIC: Rango Intercuartil; S-RBD: Spike-Receptor Binding Domain; %: Porcentaje;

\*: Variable categórica

La edad de los individuos presentó una distribución normal de los datos, aunque el periodo de tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente, y los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 no presentaron dicha distribución. Dentro de estos parámetros se logró determinar que la edad del grupo de estudio vacunado con la segunda dosis de la vacuna CoronaVac fue significativamente mayor en comparación con el grupo vacunado con BNT162b2, mientras que el periodo de tiempo y los niveles de

estos anticuerpos fueron significativamente mayores para el grupo de estudio que recibió la segunda dosis de la vacuna BNT162b2. Sin embargo, para ambos grupos de estudio se obtuvo el 100% de los resultados interpretados como reactivos, por lo tanto, fue posible detectar anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en cada muestra que se analizó, independiente de la vacuna utilizada.

En base a la información obtenida en el Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV del Laboratorio Clínico PreveGen de Concepción, Chile, se determinó la diferencia de la proporción de individuos para características como edad, género y periodo de tiempo transcurrido desde que se recibió la segunda dosis, en relación con el grupo de estudio al cual pertenecían.

En cuanto a la edad de los grupos estudiados, se determinó que las proporciones de individuos según su grupo etario, menor o mayor a 45 años, con respecto al grupo de estudio al que pertenecieron, fue significativamente distinta, por lo tanto, la distribución de los individuos en esta comparación no es homogénea y, se observó que sólo un 13,51% de los individuos mayores a 45 años pertenece al grupo de estudio vacunado con BNT16b2 (Tabla IV). Se determinó como punto de corte la edad de 45 años debido a que corresponde a la media de la edad entre ambos grupos de estudio.

**Tabla IV. Comparación de los grupos etarios según grupo de estudio.**

| <i>Característica</i>                     | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis BNT162b2<br/>(n = 21)</b> | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis CoronaVac<br/>(n = 54)</b> | <b>Total</b> | <b>Valor p</b> |
|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------|----------------|
| <b><i>Edad &lt; 45 años<br/>n (%)</i></b> | 16 (42,11)                                              | 22 (57,89)                                               | 38 (100)     | <b>0,0124</b>  |
| <b><i>Edad &gt; 45 años<br/>n (%)</i></b> | 5 (13,51)                                               | 32 (86,49)                                               | 37 (100)     |                |

Por otra parte, se realizó un análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 alcanzados por cada grupo etario, según el grupo de estudio al que pertenecieron. Dentro de un mismo grupo de estudio, no existen diferencias significativas de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre los grupos etarios menor a 45 años y mayor a 45 años. Sin embargo, existen diferencias entre los niveles de estos anticuerpos, de individuos que pertenecen al mismo grupo etario que fueron inoculados con diferentes vacunas, los cuales fueron significativamente mayores en ambos casos para el grupo de estudio inoculado con la segunda dosis de la vacuna BNT162b2, en comparación a los inoculados con CoronaVac (Figura 5A).

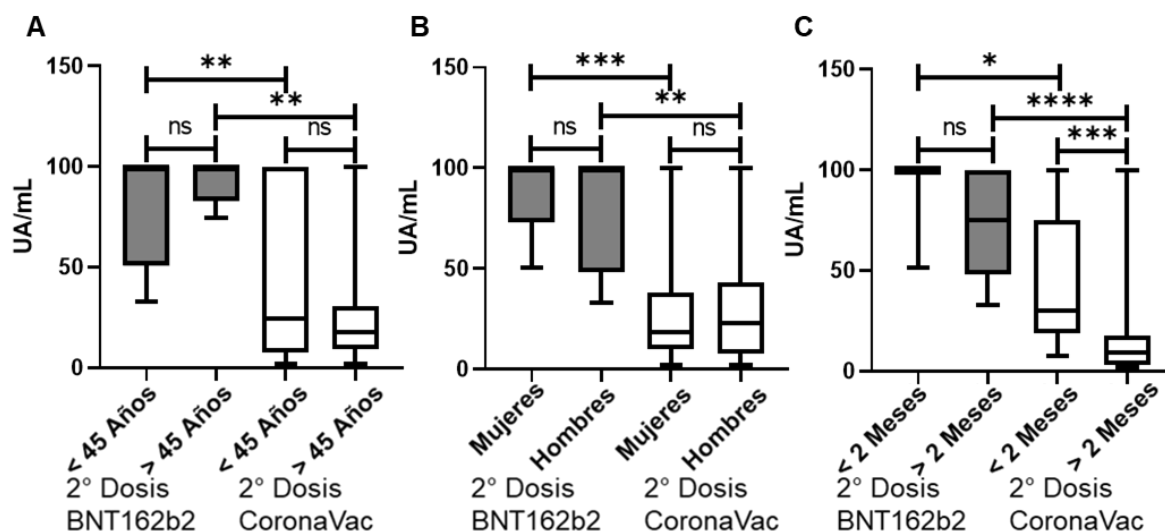


**Figura 5: Análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV2 según determinadas características de los individuos y el grupo de estudio.** Los individuos fueron clasificados en función de la Edad (**A**), Género (**B**) y el Periodo de tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente (**C**). Las cajas de color gris representan a los individuos que recibieron la segunda dosis de la vacuna BNT162b2, mientras que las cajas de color blanco, CoronaVac. El límite superior de la caja representa el percentil 75, la línea horizontal en el interior de la caja la mediana, y el límite inferior de la caja el percentil 25.

Como se mencionó anteriormente, con el Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV del Laboratorio Clínico PreveGen, Concepción, Chile, también se dispuso de la información asociada al género de los individuos de los cuales se obtuvieron estas muestras. En cuanto a esta característica, los individuos fueron clasificados en mujeres y hombres, según el grupo de estudio al que

pertenecieron, y no se observaron diferencias significativas en la proporción de individuos, por lo tanto, se distribuyeron de manera homogénea en cada clasificación (Tabla V).

**Tabla V. Comparación según género y grupo de estudio.**

| <i><b>Característica</b></i>    | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis BNT162b2<br/>(n = 21)</b> | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis CoronaVac<br/>(n = 54)</b> | <b>Total</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------|----------------|
| <i><b>Mujeres<br/>n (%)</b></i> | 10 (23,81)                                              | 32 (76,19)                                               | 42 (100)     | 0,0952         |
| <i><b>Hombres<br/>n (%)</b></i> | 11 (33,33)                                              | 22 (66,67)                                               | 33 (100)     |                |

Además, se realizó un análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 alcanzados por ambos géneros, según el grupo de estudio al que pertenecieron (Figura 5B). Se observó que no existen diferencias significativas entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-Cov-2 entre mujeres y hombres que pertenecen al mismo grupo de estudio. Sin embargo, los niveles de estos anticuerpos, alcanzados por mujeres que recibieron la segunda dosis de la vacuna BNT162b2, fueron significativamente mayor en comparación

a los alcanzados por mujeres vacunadas con la segunda dosis de CoronaVac, lo cual también ocurrió para el sexo masculino entre grupos de estudio diferentes.

También se contó con la fecha de vacunación de 21 individuos vacunados con BNT162b2 y 45 individuos vacunados con CoronaVac, en la cual recibieron la primera y segunda dosis del esquema de vacunación. Para el periodo de tiempo transcurrido luego de haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente, los individuos se clasificaron en periodos de tiempo menor o mayor a dos meses. Se determinó como punto de corte un periodo de dos meses, debido a que corresponde a la media del tiempo transcurrido desde la segunda dosis, entre ambos grupos de estudio. Para esta característica se obtuvo que no existen diferencias significativas en la proporción de individuos, por lo tanto, se distribuyeron de manera homogénea en cada clasificación (Tabla VI).

**Tabla VI. Comparación según tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna respectiva y grupo de estudio.**

| <i>Característica</i>                            | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis BNT162b2<br/>(n = 21)</b> | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis CoronaVac<br/>(n = 45)</b> | <b>Total</b> | <b>Valor p</b> |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------|----------------|
| <b><i>Periodo &lt; 2<br/>Meses<br/>n (%)</i></b> | 10 (25,00)                                              | 30 (75,00)                                               | 40 (100)     | 0,2283         |
| <b><i>Periodo &gt; 2<br/>Meses<br/>n (%)</i></b> | 11 (42,31)                                              | 15 (57,69)                                               | 26 (100)     |                |

Por otro lado, se realizó un análisis comparativo de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 alcanzados por cada clasificación asociada al tiempo transcurrido luego de haber recibido la segunda dosis (Figura 5C). En cuanto a esta característica se tiene que para el grupo de estudio vacunado con la segunda dosis de la vacuna BNT162b2, no existen diferencias significativas en los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre ambas clasificaciones en función del periodo de tiempo transcurrido desde la segunda dosis, sin embargo, aquellos que recibieron la segunda dosis de la vacuna CoronaVac en un periodo superior a dos meses, presentaron niveles significativamente menores de estos anticuerpos en comparación a los individuos que recibieron la segunda dosis de la vacuna CoronaVac durante un periodo de tiempo menor a dos meses. Por otro lado, en ambos periodos de tiempo, el grupo de estudio vacunado con la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 presentó niveles significativamente mayores de estos anticuerpos, en comparación a los vacunados con la segunda dosis de CoronaVac.

En el análisis del comportamiento de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 se calcularon los Coeficientes de Correlación de Spearman y se representaron gráficamente mediante regresión lineal entre los niveles de estos anticuerpos, frente a características como la edad y la cantidad de días transcurridos desde haber recibido la segunda dosis en los individuos de cada grupo de estudio.

Los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 tienden a disminuir en cuanto aumenta la edad de los individuos en ambos grupos de estudio, lo cual se observó según sus Coeficientes de Correlación de Spearman, sin embargo, esta disminución es significativa solamente en el grupo de estudio vacunado con CoronaVac (Tabla VII). Para ambos grupos de estudio, esta relación está representada en la Figura 6A, mediante una regresión lineal, donde la recta que representa a los individuos vacunados con BNT162b2 presentó una pendiente de  $0,004 \frac{1}{Edad}$  y los vacunados con CoronaVac, una pendiente de  $-0,027 \frac{1}{Edad}$ .

**Tabla VII. Correlación de Spearman entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV2 y la edad de los individuos de cada grupo de estudio.**

| <i>Parámetro</i>                                                            | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis BNT162b2<br/>(n = 21)</b> | <b>Vacunados con 2°<br/>Dosis CoronaVac<br/>(n = 54)</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b><i>Coeficiente de correlación de<br/>Spearman (<math>r_s</math>)</i></b> | -0,009                                                  | -0,023                                                   |
| <b><i>Valor p</i></b>                                                       | 0,969                                                   | <b>0,033</b>                                             |

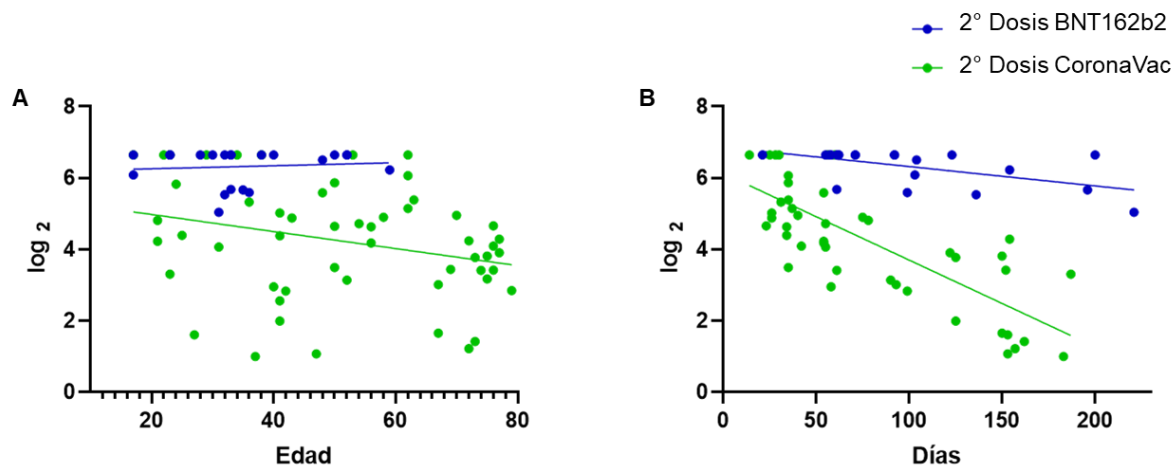


**Figura 6: Regresión lineal entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV2 y determinadas características de los individuos y el grupo de estudio.** En función de la Edad **(A)** y los días transcurridos desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente **(B)**. Los puntos y línea azul representan a los individuos vacunados con la segunda dosis de BNT162b2, (A) Pendiente =  $0,004 \frac{1}{\text{Días}}$ , (B) Pendiente =  $-0,005 \frac{1}{\text{Años}}$ , mientras que los puntos y línea verde, a los vacunados con CoronaVac, (A) Pendiente =  $-0,027 \frac{1}{\text{Días}}$ , (B) Pendiente =  $-0,024 \frac{1}{\text{Años}}$ .

En cuanto al comportamiento de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en función del tiempo transcurrido, en días, desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna correspondiente, se tiene que, para ambos grupos de estudio, los niveles de estos anticuerpos tienden a disminuir significativamente según sus Coeficientes de Correlación de Spearman (Tabla VIII).

**Tabla VIII. Correlación de Spearman entre los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV2 y los días transcurridos desde haber recibido la segunda dosis de los individuos de cada grupo de estudio.**

| <i>Parámetro</i>                                                 | Vacunados con 2°<br>Dosis BNT162b2<br>(n = 21) | Vacunados con 2°<br>Dosis CoronaVac<br>(n = 45) |
|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <i>Coeficiente de correlación de Spearman (<math>r_s</math>)</i> | -0,574                                         | -0,738                                          |
| <i>Valor p</i>                                                   | 0,006                                          | < 0,0001                                        |

Para ambos grupos de estudio, esta relación se representa en la Figura 6B, mediante una regresión lineal donde la recta que representa a los individuos vacunados con BNT16b2 presentó una pendiente de  $-0,005 \frac{1}{\text{Días}}$  y los vacunados con CoronaVac, una pendiente de  $-0,024 \frac{1}{\text{Días}}$ .

## **9. DISCUSIÓN**

### **9.1. Diferencias de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre ambos grupos de estudio.**

Las vacunas contra el agente etiológico SARS-CoV-2, BNT162b2 y CoronaVac, han sido mayormente distribuidas en la población chilena en el desarrollo de la campaña de vacunación “Yo Me Vacuno”, situación que también es reflejada en la Región del Biobío. Los Informes Epidemiológicos publicados por el Ministerio de Salud del Gobierno de Chile, indican que la vacuna BNT162B2 presenta una efectividad de 98,4 % (97,4 - 99,0) en la prevención de manifestaciones clínicas que requieran hospitalización en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), mientras que la vacuna CoronaVac presentó una efectividad de 90,0 % (89,3 – 90,6), a la fecha de 26 de junio de 2021 (MINSAL, 2021). Esta efectividad, en parte, es conferida por la inducción en la producción de anticuerpos capaces de neutralizar la entrada del virus SARS-CoV-2 en las células del huésped, por ejemplo, los anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 que evitan la coordinación entre la Proteína Spike del SARS-CoV-2 (Bin ju *et al.*, 2020), específicamente en

el dominio de unión al receptor, que interactúa con el receptor, Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2) (Wang et al., 2020).

En este contexto, en el presente Trabajo de Investigación de Internado en Sector Salud, se logró detectar niveles de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 en el 100% de las muestras que se analizaron. Además, nuestros análisis evidencian diferencias entre los niveles de estos anticuerpos alcanzados entre ambos grupos de estudio, que podrían explicarse por las características de la vacuna, pero además por las características propias del huésped, por ejemplo, factores genéticos y ambientales que impulsan y afectan el desarrollo del sistema inmunológico a partir la infancia (MacGillivray et al., 2014).

Una posible explicación a las diferencias encontradas entre los grupos de estudio radica en el mecanismo de acción de ambas vacunas, ya que la vacuna BNT162b2, contiene nanopartículas lipídicas que envuelven el ARN mensajero que codifica para la Proteína Spike del virus SARS-CoV-2 (Polack et al., 2020), por lo tanto limita el desarrollo de la respuesta inmune hacia la producción de anticuerpos sólo contra esta proteína (Sahin et al., 2020), mientras que la vacuna CoronaVac contiene el virus SARS-CoV-2 completo e inactivado, que es inmunogénico pero incapaz de replicarse (Gao et al., 2021), induciendo la

producción de anticuerpos para cada una de las estructuras de este agente etiológico, incluyendo los anticuerpos contra la proteína Spike del virus SARS-CoV-2 (Choudhary., *et al.* 2021). Si bien ambas vacunas tienen como objetivo terapéutico mitigar la gravedad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad COVID-19 mediante una respuesta humoral y celular, ambas lo logran, pero mediante mecanismos diferentes, generando distintos niveles de anticuerpos IgG anti Dominio de Unión al Receptor de la Proteína Spike (S-RBD) SARS-CoV-2 alcanzados en cada grupo de estudio, siendo significativamente mayores en el grupo que recibió la vacuna BNT162B2 (Tabla III). Además, se destaca que en la metodología de este trabajo se utilizó el kit de reactivos MAGLUMI™ SARS-CoV-2 S-RBD IgG (CLIA), de Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd (Snibe), Shenzhen, China, que sólo permite la detección de los anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2, a pesar de que existen anticuerpos neutralizantes del virus SARS-CoV-2 que no son específicos contra el Dominio de Unión al Receptor de la Proteína Spike (Chi *et al.*, 2020), y se desconoce cómo se distribuye la producción de anticuerpos inducidos por la vacuna CoronaVac, sin embargo, se sabe que podría estar dirigida para cada determinante antigénico del virus SARS-CoV-2 y no exclusivamente contra la proteína Spike.

## 9.2. Influencia de la edad en la respuesta inmune

El sistema inmune se adapta a los distintos estímulos que se presentan en su desarrollo, sin embargo, durante el envejecimiento del huésped ocurren procesos complejos que involucran la función del sistema inmune, por ejemplo, la disminución de la capacidad de entregar una respuesta robusta y eficaz, fenómeno que se conoce como inmunosenescencia (Gruver *et al.*, 2007), que se puede evidenciar como una linfopenia que es progresiva acorde aumenta la edad, junto a un estado proinflamatorio predominante (Valiathan *et al.*, 2016). Además, existen investigaciones que sugieren que es posible diferenciar la respuesta inmune humoral asociada a la infección del virus SARS-CoV-2, según edad, evidenciando que individuos convalecientes de edad avanzada, presentan mayores niveles de anticuerpos IgG dirigidos contra este agente etiológico en comparación a los adultos jóvenes (Yang *et al.*, 2021), sin embargo, esto puede estar asociado a que las manifestaciones clínicas severas involucran mayores niveles de estos anticuerpos (Yan *et al.*, 2021), las cuales son más comunes en este grupo etario (Cunha *et al.*, 2020) ya que se ha definido la edad avanzada como un factor de riesgo para el agravamiento de las manifestaciones clínicas y la muerte en pacientes que cursan con la patología (Grasselli *et al.*, 2020).

Por otro lado, en una población sana, investigaciones asociadas al uso de vacunas de virus inactivados, por ejemplo, la vacuna contra la influenza, no se han logrado encontrar diferencias significativas entre grupos etarios de 18 – 49 años y superior a 65 años (Russell *et al.*, 2018). También existe evidencia de que para vacunas de tipo ARN mensajero contra este mismo agente etiológico, en grupos etarios de 18 – 64 años, se llevan a cabo respuestas humorales eficientes (Feldman *et al.*, 2019), aunque no se menciona que existan diferencias entre las respuestas de adultos jóvenes y adultos mayores.

En el marco de este trabajo coincidimos en que para ambos grupos de estudio no existieron diferencias significativas en los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 asociadas a la edad, entre individuos sin antecedentes de COVID-19, que recibieron la misma vacuna, ya sea la vacuna BNT162b2, o con la vacuna CoronaVac, que fueron clasificados en dos grupos etarios (Figura 5A), sin embargo, en este trabajo, la media de la edad entre ambos grupos de estudio fue de alrededor de 45 años, pese a que se ha evidenciado que las diferencias significativas por grupo etario ocurren en individuos desde los 80 años (Collier *et al.*, 2021) y que la positividad en la detección de anticuerpos IgG dirigidos contra el virus SARS-CoV-2 es significativamente menor en individuos mayores a 60 años tanto para la población vacunada con BNT162b2 o CoronaVac (Sauré, D *et al.*, 2021), lo cual se puede inferir del análisis del Coeficiente de Correlación de

Spearman, pero sólo para el grupo de estudio vacunado con CoronaVac (Figura 6A).

### **9.3. Influencia del género en la respuesta inmune**

El género del huésped es una variable biológica que repercute en el desarrollo de la respuesta inmune (Klein y Flanagan, 2016). Aunque el sexo femenino y masculino cuentan con las mismas células, proteínas y vías que participan en la respuesta inmune, éstas se diferencian en la cinética y magnitud a la hora de enfrentarse a un antígeno (Klein, S *et al.*, 2012), donde los niveles de hormonas esteroideas sexuales y factores genéticos contribuyen a este contraste tanto en la respuesta inmune innata como adaptativa. Por ejemplo, existen diferencias de género asociadas a una mayor incidencia de enfermedades autoinmunes (Fairweather, D *et al.*, 2008) y recuentos de subpoblaciones celulares (Abdullah, M *et al.*, 2012) en las que destaca el sexo femenino por sobre el masculino.

Esto ha permitido hacer surgir la discusión sobre la diferencia entre la respuesta inmune en mujeres y hombres a otros escenarios, como evaluar la existencia de una perspectiva de género asociada a la respuesta inmune frente a una vacuna en cuanto a la inducción de la producción de anticuerpos contra un agente

etiológico determinado (Engler, R. J *et al* 2008), sin embargo, este campo es de interés emergente y las investigaciones que se han realizado con anterioridad no han sido diseñadas para discutir este punto, por lo tanto sus resultados no son concluyentes (Tadount, F *et al.*, 2020). Pese a esto, existe evidencia de que la respuesta inmune humoral es significativamente mayor en mujeres, pero en grupos etarios mayores a 65 años en campañas de vacunación contra la influenza (Sánchez-de Prada, L *et al.*, 2021).

En cuanto a la infección del virus SARS-CoV-2, existen evidencias que sugieren la presencia de una respuesta inmune diferenciable para ambos sexos (Takahashi *et al.*, 2020) ya que se ha observado que durante la etapa de convalecencia es posible encontrar diferencias tanto en los componentes de la respuesta inmune innata como en los niveles de anticuerpos anti SARS-CoV-2, siendo mayores en hombres que en mujeres (Klein *et al.*, 2020; Robbiani *et al.*, 2020; Markmann *et al.*, 2021), lo cual se ha relacionado con el sexo masculino como factor de riesgo para el agravamiento de las manifestaciones clínicas de la enfermedad COVID-19, desarrollando una respuesta inmune más robusta y duradera (Gebhard *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2021). Sin embargo, en investigaciones asociadas a la comparación de los niveles de anticuerpos anti SARS-CoV-2 se ha visto que en individuos que recibieron la vacuna BNT162B2, las mujeres alcanzan mayores niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2, luego de 10 – 20 días desde la administración de la segunda dosis de la

vacuna, en comparación a los hombres (Lo Sasso *et al.*, 2021), mientras que en otra investigación asociada a esta misma vacuna, no se encontraron diferencias significativas entre mujeres y hombres menores a 45 años luego de 42 días de haber completado el esquema de vacunación (Bayart *et al.*, 2021).

Por otro lado, en individuos vacunados con CoronaVac, a más de 30 días desde la administración de la segunda dosis de la vacuna, no se encontraron diferencias según el sexo de los individuos (Bichara *et al.*, 2021) de manera similar a lo observado en este trabajo, donde no existieron diferencias significativas en los niveles de estos anticuerpos asociadas al género de los individuos dentro de un mismo grupo de estudio (Figura 5B), sin embargo, existe la posibilidad de que se pueda apreciar una diferencia, durante un periodo más acotado, entre la fecha de vacunación y la fecha de determinación de anticuerpos, por ejemplo, entre 10 y 20 días como se mencionó anteriormente, ya que en este trabajo la media del periodo de tiempo transcurrido desde la segunda dosis fue de 2 meses, y existe evidencia de que el sexo femenino presenta una respuesta inmune más robusta, planteando que pueda existir un dimorfismo sexual asociada a la respuesta inmune humoral inducida por una vacuna (Cook *et al.*, 2008).

#### **9.4. Influencia del tiempo en la respuesta inmune**

Entre individuos, la respuesta inmune se caracteriza por ser heterogénea, sin embargo, se considera relativamente estable en el tiempo ya que comienza con un estado basal que entrega una respuesta aguda frente a un estímulo, que, al ser resuelto, finaliza con el retorno al estado basal (Brodin y Davis, 2017). Por lo tanto, no es posible pretender que la disminución de la respuesta inmune humoral ocurra de manera lineal y es necesario realizar investigaciones a largo plazo con un diseño experimental longitudinal que no esté enfocado solamente en los niveles de anticuerpos, sino que también a la naturaleza del antígeno y las poblaciones de las células B y T de memoria que llevan a cabo la respuesta inmune humoral en los centros germinales (Dogan *et al.*, 2009)

Con respecto a la inmunidad humoral frente a los virus de tipo Coronavirus, que son patógenos contra humanos, se tiene que producen resfríos comunes, autolimitados y estacionales, en los que la durabilidad de los anticuerpos neutralizantes disminuye luego de un año de haber superado la infección (Edridge., 2020). Este escenario se repite en la pandemia producida por el virus SARS-CoV-2 ya que existe evidencia de que luego de 2 meses de haber superado la infección, los niveles de anticuerpos IgG S-RBD SARS-CoV-2 no son detectables en individuos asintomáticos de la enfermedad COVID-19 (Milani *et*

*al.*, 2020), y a pesar de mantenerse elevados durante 8 meses, en individuos con manifestaciones clínicas leves, éstos tienden a disminuir (Dan., *et al* 2020).

Por otro lado, en investigaciones con un diseño experimental de corte transversal, asociadas al comportamiento de estos anticuerpos en individuos que han recibido ya sea las vacunas BNT162B2 o CoronaVac, se ha observado que el porcentaje de positividad para la detección de anticuerpos anti SARS-CoV-2 disminuye en el tiempo, solamente para individuos vacunados con CoronaVac, por lo menos en un periodo de 7 meses (Sauré *et al.*, 2021). Bajo este contexto, creemos que estos resultados son congruentes con nuestro trabajo ya que observamos una disminución significativa de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre individuos que recibieron la vacuna CoronaVac luego de más de 2 meses desde la inoculación de la segunda dosis (Figura 5C). Lo anterior, indica que estos anticuerpos tienden a disminuir en el tiempo, mientras que los individuos vacunados con BNT162B2 no presentaron diferencias significativas entre ambos periodos. Sin embargo, se han realizado Ensayos de Eficacia, que indican la disminución de la efectividad de esta vacuna hasta un 84% y un aumento progresivo de los casos diarios luego de 6 meses, en una población vacunada con BNT162B2 (Thomas *et al.*, 2021), lo cual es congruente con modelos predictivos de protección inmunológica que estiman la disminución de la efectividad de una vacuna en función de la disminución de los anticuerpos anti SARS-CoV-2 en individuos convalecientes (Khoury *et al.*, 2021). En este estudio

mostramos en la Tabla VIII y en la Figura 6, que, para ambos grupos de estudio, en cuanto aumentan los días desde haber recibido la segunda dosis de las vacunas, los niveles de estos anticuerpos tienen a disminuir significativamente. Estos hallazgos apoyan la decisión de implementar una dosis de refuerzo en el esquema de vacunación, medida que ya comenzó en Chile, en primera instancia para individuos vacunados con CoronaVac y luego para individuos que recibieron la vacuna BNT162B2 desde octubre de 2021 (MINSAL, 2021).

#### **9.5. Influencia de otros factores en la respuesta inmune**

En este estudio se observó que el tiempo es un factor que al ir aumentando, la protección inmunológica asociada a la producción de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 tiende a disminuir para ambos grupos de estudio (Figura 6A y 6B), sin embargo, existen otras variables a considerar que modifican la respuesta inmune al momento de comparar dos poblaciones con características distintas, factores más allá de las características de los individuos relacionadas con la edad y el género, como por ejemplo la presencia de comorbilidades y malos hábitos de vida.

Las características clínicas de un individuo ponen en contexto la calidad de la respuesta inmune que puede entregar el huésped frente a una vacuna, la cual se

ve deteriorada en individuos de distintos grupos etarios que presentan comorbilidades (Zimmermann y Curtis *et al.*, 2019). La obesidad y las enfermedades cardiovasculares son las principales comorbilidades a nivel mundial y durante la infección del virus SARS-CoV-2 predisponen al individuo a cursar con manifestaciones clínicas que requieren ventilación mecánica (Simonnet *et al.*, 2020), lo cual interviene en la respuesta inmune, en el desarrollo de los demás componentes de la respuesta inmune humoral, comprometiendo la durabilidad de la memoria inmunológica (Yu *et al.*, 2021)

Los hábitos de los individuos también actúan como un modulador de la respuesta inmune, los cuales pudieron verse modificados durante la crisis sanitaria producto de la pandemia y sus restricciones. Por ejemplo, mantener un estilo de vida saludable producto de hacer deporte, potencia la inmunovigilancia para entregar una respuesta inmune más eficaz, debido a la constante renovación de los componentes del sistema inmune (Nieman y Wentz *et al.*, 2019). Por otro lado, el tabaquismo exacerba la respuesta inmune innata manteniendo un estado proinflamatorio mientras que, producto de ello, disminuye la eficacia de la respuesta inmune adaptativa (Qiu *et al.*, 2017). También el ciclo circadiano de los individuos ha tomado importancia en la magnitud de la respuesta inmune alcanzada producto de las vacunas, en la que se ha podido evidenciar que individuos que fueron vacunados durante la mañana producen mayores niveles

de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en comparación a aquellos vacunados en la tarde, lo cual podría ser susceptible a diferencias producto de variaciones en el hábito del sueño (Zhang *et al.*, 2021). Otro parámetro no menor que puede influir en la respuesta inmune de los individuos, son los niveles de vitamina D que, dentro de sus funciones, contribuye a una respuesta inmune eficiente, en la que se han logrado identificar receptores de Vitamina D en distintas células del sistema inmune y su deficiencia está asociada a una mayor susceptibilidad a infecciones (Aranow *et al.*, 2011). Además, estos niveles pudieron disminuir en individuos de poblaciones bajo cuarentena, debido a la disminución a la exposición solar. Se ha evidenciado que mayores niveles de vitamina D están correlacionados con una menor incidencia en la gravedad de la enfermedad COVID-19 y mortalidad como medida de prevención (McCartney *et al.*, 2021), pero aún no se ha dilucidado esta relación con la detección de anticuerpos anti SARS-CoV-2 (Li *et al.*, 2021)

## **9.6. Limitaciones del estudio**

Una de las limitaciones de este trabajo fue el reducido tamaño de la muestra, específicamente para el grupo de estudio vacunado con la segunda dosis de BNT162b2, para el cual se obtuvieron 21 muestras, mientras que se calculó un tamaño muestral de 49 muestras para un nivel de confianza de 95% y un error máximo tolerable de 10%, no así con el grupo de estudio vacunado con CoronaVac del cual se obtuvieron 54 muestras. Esto trajo como aspectos negativos, tamaños muestrales reducidos para las clasificaciones asociadas a grupo etario, género y periodo de tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis. Esto podría producir un sesgo en el análisis estadístico de estos resultados, en el que las 21 muestras obtenidas no representen los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 alcanzados por la población de la Región del Biobío vacunada con BNT162b2, lo cual se podría solucionar con un mayor tamaño de la muestra para este grupo de estudio. Sin embargo, esto se encuentra ligado a la reducida población vacunada con BNT162b2, en la que alrededor del 23% de la Región del Biobío ha recibido esta vacuna mientras que el resto, en su mayoría, la vacuna CoronaVac (MINSAL, 2021). Por otro lado, el desarrollo de la campaña de vacunación “Yo me vacuno” también contribuyó en las diferencias asociadas a la edad y periodos de tiempo transcurridos desde

haber recibido la segunda dosis, que fueron superiores en el grupo de estudio vacunado con CoronaVac (Tabla III), ya que comenzó inoculando a individuos que pertenecen a la tercera edad y personal de salud, como prioridad al suministro limitado de dosis (CAVEI, 2020).

Otra de las limitaciones de este estudio fue que parte del desarrollo de este trabajo contó con la participación de los individuos que solicitaron la cuantificación de los anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en el Laboratorio Clínico PreveGen, en el que se completó el Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV (Anexo 1), lo cual pudo estar sujeto a error por equivocación en la información entregada. Además, en el punto en el que los individuos aclaran no haber cursado con la enfermedad COVID-19, esto no fue confirmado con un examen RT-qPCR para la detección de SARS-CoV-2, y existe la posibilidad de que estuvieran contagiados, pero sin presentar síntomas, lo cual de igual forma, induce una respuesta inmune humoral en el huésped, ya que existe evidencia, que individuos asintomáticos presentan niveles de anticuerpos anti SARS-CoV-2 significativamente mayores en comparación a controles sanos que no estuvieron expuestos a este virus (Lei *et al.*, 2021; Shirin *et al.*, 2020).

A pesar de que no se han encontrado diferencias entre los niveles de anticuerpos anti SARS-CoV-2 entre individuos vacunados con BNT162b2, con o sin

antecedentes de infección asociada a este agente etiológico, se desconoce como este factor pueda influir en individuos vacunados con CoronaVac (Gobbi *et al.*, 2021; Ebinger *et al.*, 2021), ya que haber cursado con la infección podría causar que los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 estuvieran aparentemente elevados en cada individuo producto de una infección previa y no por efecto único de la vacuna recibida.

El presente estudio es el primero en comparar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 entre individuos que pertenecen a la región del Biobío, Chile, que han recibido la vacuna BNT162b2 o CoronaVac, sin embargo, es necesario desarrollar un trabajo que posea un diseño experimental longitudinal y que además evalúe otros aspectos de la respuesta inmune humoral, por ejemplo, la identificación de las distintas subpoblaciones de linfocitos B y T, junto con ensayos de neutralización que permitan determinar la capacidad neutralizante de estos anticuerpos, de tal manera que permitan fortalecer esta comparación entre ambos grupos de estudio.

## 10. CONCLUSIÓN Y PROYECCIONES

Se ha logrado determinar los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 en individuos que recibieron la segunda dosis de las vacunas BNT162b2 o CoronaVac en la región del Biobío, Chile, durante la pandemia COVID-19. Además, estos niveles de anticuerpos alcanzados son comparables, siendo significativamente mayores en el grupo de estudio vacunado con BNT162b2, sin embargo, dentro de ambos grupos de estudio, en esta comparación no existe influencia debido a la edad y género, pero sí, debido al periodo de tiempos transcurrido de haber recibido la segunda dosis de la respectiva vacuna ya que disminuyen significativamente en el tiempo.

Si bien existieron limitaciones en el trabajo presentado, sería interesante conocer el comportamiento de los niveles de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 con un tamaño muestral más grande que permita una mayor representatividad de la población, evaluando adicionalmente otras características en estos individuos, como la presencia de enfermedades crónicas y estilo de vida, o bien desarrollar un trabajo que posea un diseño experimental retrospectivo que

permita conocer estas nuevas características a evaluar, de los individuos de los cuales se obtuvieron estas muestras.

A pesar que en Chile, bajo la campaña de vacunación “Yo me Vacuno” se ha implementado en la población principalmente las vacunas BNT162b2 y CoronaVac, también se ha hecho uso de vacunas de laboratorios como Johnson & Johnson, Astrazeneca y CanSino, las cuales no fueron incluidas en este estudio debido a que un bajo porcentaje de la población de la Región del Biobío, Chile, ha completado el esquema de vacunación con estas vacunas (DEIS, 2021), aunque se puede esperar que induzcan una respuesta inmune humoral comparable, asociada a la producción de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2 debido a que llevan a cabo su objetivo terapéutico a través de distintos mecanismos y son basadas en diferentes plataformas metodológicas, por ejemplo, ARN mensajero, virus inactivado y vector viral.

Un alto nivel de anticuerpos IgG anti S-RBD SARS-CoV-2, se ha asociado con una mayor protección inmunológica (Khoury *et al.*, 2021), sin embargo, aún no se ha dilucidado detalladamente, los niveles de estos anticuerpos que un individuo debe alcanzar para adquirir esta protección. Esto podría lograrse, determinando en las muestras que se utilizaron en este trabajo, los niveles de anticuerpos neutralizantes anti SARS-CoV-2, haciendo uso de un kit de reactivos

determinado, también de la marca SNIBE, que trata de homologar una prueba de neutralización convencional del virus SARS-CoV-2 para posteriormente compararlos entre ambos grupos de estudio.

Además, se podría adaptar este análisis, a las actualizaciones de la campaña de vacunación, donde se ha hecho uso de terceras dosis, o incluir otros grupos etarios, sin embargo, cada vez es menor la población que sólo ha recibido la primera y segunda dosis de estas vacunas, mientras el tiempo transcurrido desde haber recibido la segunda dosis de la vacuna respectiva y la exposición al virus aumentan.

## 11. GLOSARIO

ACE2: *Angiotensin-Converting Enzyme 2*

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

CCPEE: Centro Chino para el Control y Prevención de enfermedades

CLIA: *Chemiluminescence Immunoassay*

COVID-19: *Coronavirus Disease*

DE: Desviación Estándar

DEIS: Departamento de Estadística e Información en Salud

Fc: *Fragment Crystallizing*

IAAS: Infecciones Asociadas a la Atención en Salud

IFN-1: Interferón 1

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IL-1: Interleucina 1

IL-12: Interleucina 12

IL-6: Interleucina 6

IRF3: *Interferon Regulatory Transcription Factor 3*

ISP: Instituto Nacional de Salud

LOD: *Limit of Detection*

LOS: *Limit of Sensitivity*

MDA5: *Melanoma Differentiation-Associated Protein 5*

MERS-CoV: *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*

MHC-I: *Major Histocompatibility Complex I*

MHC-II: *Major Histocompatibility Complex II*

MINSAL: *Ministerio de Salud*

NFK $\beta$ : *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer*

OMS: *Organización Mundial de la Salud*

RBD: *Receptor-Binding Domain*

RIC: *Rango Intercuartílico*

RIG-1: *Retinoic Acid-Inducible Gene I*

RLU: *Relative Light Units*

RRP: *Receptor de Reconocimiento de Patrones*

$r_s$ : *Coeficiente de Correlación de Spearman*

RT-PCR: *Reverse Transcription Polymerase chain reaction*

SARS-CoV: *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*

SARS-CoV-2: *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

SNIBE: *Shenzhen New Industries Biomedical Engineering*

S-RBD: *Spike-Receptor Binding Domain*

TLR: *Toll Like Receptor*

TNF- $\alpha$ : *Tumor Necrosis Factor Alpha*

UCI: *Unidad de Cuidados Intensivos*

VOMC: *Virtual Outpatient Management Clinic*

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas, A., Lichtman, A., Pillai, S. (2015) *Inmunología celular y molecular* (8ª. Ed.). Barcelona: Elsevier España.
2. Abdullah, M., Chai, P. S., Chong, M. Y., Tohit, E. R., Ramasamy, R., Pei, C. P., & Vidyadaran, S. (2012). Gender effect on in vitro lymphocyte subset levels of healthy individuals. *Cellular immunology*, 272(2), 214–219.
3. Ahmadpoor, P., & Rostaing, L. (2020). Why the immune system fails to mount an adaptive immune response to a COVID-19 infection. *Transplant International*, 33(7), 824–825.
4. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. Innate Immunity. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26846/>
5. Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature medicine*, 26(4), 450–452.

6. Aranow C. (2011). Vitamin D and the immune system. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 59(6), 881–886.
7. Bayart, J. L., Morimont, L., Closset, M., Wieërs, G., Roy, T., Gerin, V., Elsen, M., Eucher, C., Van Eeckhoudt, S., Ausselet, N., David, C., Mullier, F., Dogné, J. M., Favresse, J., & Douxflis, J. (2021). Confounding Factors Influencing the Kinetics and Magnitude of Serological Response Following Administration of BNT162b2. *Microorganisms*, 9(6), 1340.
8. Behrens, E. M., & Koretzky, G. A. (2017). Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era. *Arthritis & Rheumatology*, 69(6), 1135–1143.
9. Bergquist, S. H., Partin, C., Roberts, D. L., O'Keefe, J. B., Tong, E. J., Zreloff, J., Jarrett, T. L., & Moore, M. A. (2020). Non-hospitalized Adults with COVID-19 Differ Noticeably from Hospitalized Adults in Their Demographic, Clinical, and Social Characteristics. *SN comprehensive clinical medicine*, 1–9. Advance online publication.
10. Bichara, C., Queiroz, M., da Silva Graça Amoras, E., Vaz, G. L., Vallinoto, I., Bichara, C., Amaral, I., Ishak, R., & Vallinoto, A. (2021). Assessment of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies Post-CoronaVac Vaccination in the Amazon Region of Brazil. *Vaccines*, 9(10), 1169.

11. Brodin, P., & Davis, M. M. (2017). Human immune system variation. *Nature reviews. Immunology*, 17(1), 21–29.
12. Brosnahan, S. B., Jonkman, A. H., Kugler, M. C., Munger, J. S., & Kaufman, D. A. (2020). COVID-19 and Respiratory System Disorders: Current Knowledge, Future Clinical and Translational Research Questions. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 40(11), 2586–2597.
13. Bueno, S. M., Abarca, K., González, P. A., Gálvez, N. M., Soto, J. A., Duarte, L. F., Schultz, B. M., Pacheco, G. A., González, L. A., Vázquez, Y., Ríos, M., Melo-González, F., Rivera-Pérez, D., Iturriaga, C., Urzúa, M., Dominguez, A., Andrade, C. A., Berrios, R. V., Canedo-Marroquín, G., ... Kalergis, A. M. (2021). Interim report: Safety and immunogenicity of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 in healthy chilean adults in a phase 3 clinical trial. Cold Spring Harbor Laboratory.
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [Accessed May 12, 2020]; People who are at higher risk for severe illness. 2020 [cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-at-higher-risk.html](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-at-higher-risk.html).
15. Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in

- Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* (London, England), 395(10223), 507–513.
16. Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of medical virology*, 92(4), 418–423.
  17. Chi, X., Yan, R., Zhang, J., Zhang, G., Zhang, Y., Hao, M., Zhang, Z., Fan, P., Dong, Y., Yang, Y., Chen, Z., Guo, Y., Zhang, J., Li, Y., Song, X., Chen, Y., Xia, L., Fu, L., Hou, L., Xu, J., ... Chen, W. (2020). A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2. *Science* (New York, N.Y.), 369(6504), 650–655.
  18. Choudhary HR, Parai D, Dash GC, Peter A, Sahoo SK, Pattnaik M, Rout UK, Nanda RR, Pati S, Bhattacharya D. IgG antibody response against nucleocapsid and spike protein post-SARS-CoV-2 infection. *Infection*. 2021 Oct;49(5):1045-1048.
  19. Collier, D. A., Ferreira, I., Kotagiri, P., Datir, R. P., Lim, E. Y., Touizer, E., Meng, B., Abdullahi, A., CITIID-NIHR BioResource COVID-19 Collaboration, Elmer, A., Kingston, N., Graves, B., Le Gresley, E., Caputo, D., Bergamaschi, L., Smith, K., Bradley, J. R., Ceron-Gutierrez, L., Cortes-Acevedo, P., Barcenas-Morales, G., ... Gupta, R. K. (2021). Age-related immune response heterogeneity to SARS-CoV-2 vaccine BNT162b2. *Nature*, 596(7872), 417–422.

20. Cook I. F. (2008). Sexual dimorphism of humoral immunity with human vaccines. *Vaccine*, 26(29-30), 3551–3555.
21. Cunha, L. L., Perazzio, S. F., Azzi, J., Cravedi, P., & Riella, L. V. (2020). Remodeling of the Immune Response With Aging: Immunosenescence and Its Potential Impact on COVID-19 Immune Response. *Frontiers in immunology*, 11, 1748.
22. Dan, J. M., Mateus, J., Kato, Y., Hastie, K. M., Yu, E. D., Faliti, C. E., Grifoni, A., Ramirez, S. I., Haupt, S., Frazier, A., Nakao, C., Rayaprolu, V., Rawlings, S. A., Peters, B., Krammer, F., Simon, V., Saphire, E. O., Smith, D. M., Weiskopf, D., Sette, A., ... Crotty, S. (2021). Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science (New York, N.Y.)*, 371(6529), eabf4063.
23. Departamento de Estadística e Información. Ministerio de Salud de Chile. Cifras oficiales COVID-19 Chile. 2021. <https://deis.minsal.cl/>
24. Dogan, I., Bertocci, B., Vilmont, V., Delbos, F., Mégret, J., Storck, S., Reynaud, C. A., & Weill, J. C. (2009). Multiple layers of B cell memory with different effector functions. *Nature immunology*, 10(12), 1292–1299.
25. Dong, E., Du, H., & Gardner, L. (2020). An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet. Infectious diseases*, 20(5), 533–534.

26. Ebinger, J. E., Fert-Bober, J., Printsev, I., Wu, M., Sun, N., Prostko, J. C., Frias, E. C., Stewart, J. L., Van Eyk, J. E., Braun, J. G., Cheng, S., & Sobhani, K. (2021). Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nature medicine*, 27(6), 981–984.
27. Edridge, A., Kaczorowska, J., Hoste, A., Bakker, M., Klein, M., Loens, K., Jebbink, M. F., Matser, A., Kinsella, C. M., Rueda, P., Ieven, M., Goossens, H., Prins, M., Sastre, P., Deijis, M., & van der Hoek, L. (2020). Seasonal coronavirus protective immunity is short-lasting. *Nature medicine*, 26(11), 1691–1693.
28. Engler, R. J., Nelson, M. R., Klote, M. M., VanRaden, M. J., Huang, C. Y., Cox, N. J., Klimov, A., Keitel, W. A., Nichol, K. L., Carr, W. W., Treanor, J. J., & Walter Reed. Health Care System Influenza Vaccine Consortium (2008). Half- vs full-dose trivalent inactivated influenza vaccine (2004-2005): age, dose, and sex effects on immune responses. *Archives of internal medicine*, 168(22), 2405–2414.
29. Fairweather, D., Frisancho-Kiss, S., & Rose, N. R. (2008). Sex differences in autoimmune disease from a pathological perspective. *The American journal of pathology*, 173(3), 600–609.
30. Feldman, R. A., Fuhr, R., Smolenov, I., Mick Ribeiro, A., Panther, L., Watson, M., Senn, J. J., Smith, M., Almarsson, Ö., Pujar, H. S., Laska, M. E., Thompson, J., Zaks, T., & Ciaramella, G. (2019). mRNA vaccines against

H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine*, 37(25), 3326–3334.

31. Forni, G., Mantovani, A., & COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome (2021). COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell death and differentiation*, 28(2), 626–639.
32. Gao, Q., Bao, L., Mao, H., Wang, L., Xu, K., Yang, M., Li, Y., Zhu, L., Wang, N., Lv, Z., Gao, H., Ge, X., Kan, B., Hu, Y., Liu, J., Cai, F., Jiang, D., Yin, Y., Qin, C., Li, J., ... Qin, C. (2020). Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science (New York, N.Y.)*, 369(6499), 77–81.
33. Gebhard, C., Regitz-Zagrosek, V., Neuhauser, H. K., Morgan, R., & Klein, S. L. (2020). Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biology of sex differences*, 11(1), 29.
34. Geisberger, R., Lamers, M., & Achatz, G. (2006). The riddle of the dual expression of IgM and IgD. *Immunology*, 118(4), 429–437.
35. Gobbi, F., Buonfrate, D., Moro, L., Rodari, P., Piubelli, C., Caldrier, S., Riccetti, S., Sinigaglia, A., & Barzon, L. (2021). Antibody Response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Subjects with Prior SARS-CoV-2 Infection. *Viruses*, 13(3), 422.

36. Grasselli, G., Zangrillo, A., Zanella, A., Antonelli, M., Cabrini, L., Castelli, A., Cereda, D., Coluccello, A., Foti, G., Fumagalli, R., Iotti, G., Latronico, N., Lorini, L., Merler, S., Natalini, G., Piatti, A., Ranieri, M. V., Scandroglio, A. M., Storti, E., Cecconi, M., ... COVID-19 Lombardy ICU Network (2020). Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*, 323(16), 1574–1581.
37. Gruver, A. L., Hudson, L. L., & Sempowski, G. D. (2007). Immunosenescence of ageing. *The Journal of pathology*, 211(2), 144–156.
38. Hamel, K. M., Liarski, V. M., & Clark, M. R. (2012). Germinal center B-cells. *Autoimmunity*, 45(5), 333–347.
39. Hojyo, S., Uchida, M., Tanaka, K., Hasebe, R., Tanaka, Y., Murakami, M., & Hirano, T. (2020). How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflammation and Regeneration*, 40(1).
40. Hou, H., Wang, T., Zhang, B., Luo, Y., Mao, L., Wang, F., Wu, S., & Sun, Z. (2020). Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clinical & translational immunology*, 9(5), e01136.
41. Hsueh, P.-R., Huang, L.-M., Chen, P.-J., Kao, C.-L., & Yang, P.-C. (2004). Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(12), 1062–1066.

42. Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* (London, England), 395(10223), 497–506.
43. Infectious diseases, S1473-3099(21)00479-5. Advance online publication.
44. Iwasaki, A., & Omer, S. B. (2020). Why and How Vaccines Work. *Cell*, 183(2), 290–295.
45. Jin, Y., Wang, M., Zuo, Z., Fan, C., Ye, F., Cai, Z., Wang, Y., Cui, H., Pan, K., & Xu, A. (2020). Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 94, 49–52.
46. Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, Yu J, Shan S, Zhou B, Song S, Tang X, Yu J, Lan J, Yuan J, Wang H, Zhao J, Zhang S, Wang Y, Shi X, Liu L, Zhao J, Wang X, Zhang Z, Zhang L. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*. 2020 Aug;584(7819):115-119.
47. Kaneko, N., Kuo, H. H., Boucau, J., Farmer, J. R., Allard-Chamard, H., Mahajan, V. S., Piechocka-Trocha, A., Lefteri, K., Osborn, M., Bals, J., Bartsch, Y. C., Bonheur, N., Caradonna, T. M., Chevalier, J., Chowdhury, F., Diefenbach, T. J., Einkauf, K., Fallon, J., Feldman, J., Finn, K. K., ...

- Massachusetts Consortium on Pathogen Readiness Specimen Working Group (2020). Loss of Bcl-6-Expressing T Follicular Helper Cells and Germinal Centers in COVID-19. *Cell*, 183(1), 143–157.e13.
48. Kawabe, T., Matsushima, M., Hashimoto, N., Imaizumi, K., & Hasegawa, Y. (2011). CD40/CD40 ligand interactions in immune responses and pulmonary immunity. *Nagoya journal of medical science*, 73(3-4), 69–78.
49. Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Subbarao, K., Kent, S. J., Triccas, J. A., & Davenport, M. P. (2021). Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. In *Nature Medicine* (Vol. 27, Issue 7, pp. 1205–1211). Springer Science and Business Media LLC.
50. Klein S. L. (2012). Immune cells have sex and so should journal articles. *Endocrinology*, 153(6), 2544–2550.
51. Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 16, Issue 10, pp. 626–638). Springer Science and Business Media LLC.
52. Klein, S. L., Pekosz, A., Park, H. S., Ursin, R. L., Shapiro, J. R., Benner, S. E., Littlefield, K., Kumar, S., Naik, H. M., Betenbaugh, M. J., Shrestha, R., Wu, A. A., Hughes, R. M., Burgess, I., Caturegli, P., Laeyendecker, O., Quinn, T. C., Sullivan, D., Shoham, S., Redd, A. D., ... Tobian, A. A. (2020). Sex, age, and

- hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population. *The Journal of clinical investigation*, 130(11), 6141–6150.
53. Komastu, T., Ireland, D. D., & Reiss, C. S. (1998). IL-12 and viral infections. *Cytokine & growth factor reviews*, 9(3-4), 277–285.
54. Lei, Q., Li, Y., Hou, H. Y., Wang, F., Ouyang, Z. Q., Zhang, Y., Lai, D. Y., Banga Ndzouboukou, J. L., Xu, Z. W., Zhang, B., Chen, H., Xue, J. B., Lin, X. S., Zheng, Y. X., Yao, Z. J., Wang, X. N., Yu, C. Z., Jiang, H. W., Zhang, H. N., Qi, H., ... Fan, X. L. (2021). Antibody dynamics to SARS-CoV-2 in asymptomatic COVID-19 infections. *Allergy*, 76(2), 551–561.
55. Li, M. Y., Li, L., Zhang, Y., & Wang, X. S. (2020). Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infectious diseases of poverty*, 9(1), 45.
56. Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207.
57. Li, S., Zhang, Y., Guan, Z., Li, H., Ye, M., Chen, X., Shen, J., Zhou, Y., Shi, Z. L., Zhou, P., & Peng, K. (2020). SARS-CoV-2 triggers inflammatory responses and cell death through caspase-8 activation. *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), 235.

58. Li, Y., Tong, C. H., Bare, L. A., & Devlin, J. J. (2021). Assessment of the Association of Vitamin D Level With SARS-CoV-2 Seropositivity Among Working-Age Adults. *JAMA network open*, 4(5), e2111634.
59. Liu, J., Xie, W., Wang, Y., Xiong, Y., Chen, S., Han, J., & Wu, Q. (2020). A comparative overview of COVID-19, MERS and SARS: Review article. *International journal of surgery (London, England)*, 81, 1–8.
60. Lo Sasso, B., Giglio, R. V., Vidali, M., Scazzone, C., Bivona, G., Gambino, C. M., Ciaccio, A. M., Agnello, L., & Ciaccio, M. (2021). Evaluation of Anti-SARS-Cov-2 S-RBD IgG Antibodies after COVID-19 mRNA BNT162b2 Vaccine. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(7), 1135.
61. Lotfi, M., Hamblin, M. R., & Rezaei, N. (2020). COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 508, 254–266.
62. MacGillivray, D. M., & Kollmann, T. R. (2014). The role of environmental factors in modulating immune responses in early life. *Frontiers in immunology*, 5, 434.
63. Maes, M., Higginson, E., Pereira-Dias, J., Curran, M. D., Parmar, S., Khokhar, F., Cuchet-Lourenço, D., Lux, J., Sharma-Hajela, S., Ravenhill, B., Hamed, I., Heales, L., Mahroof, R., Solderholm, A., Forrest, S., Sridhar, S., Brown, N. M., Baker, S., Navapurkar, V., ... Conway Morris, A. (2021). Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19. *Critical Care*, 25(1).

64. Mallow, P. J., Belk, K. W., Topmiller, M., & Hooker, E. A. (2020). Outcomes of Hospitalized COVID-19 Patients by Risk Factors: Results from a United States Hospital Claims Database. *Journal of health economics and outcomes research*, 7(2), 165–174.
65. Mani, V., Chikkaveeraiah, B. V., & Rusling, J. F. (2011). Magnetic particles in ultrasensitive biomarker protein measurements for cancer detection and monitoring. *Expert opinion on medical diagnostics*, 5(5), 381–391.
66. Markmann, A. J., Giallourou, N., Bhowmik, D. R., Hou, Y. J., Lerner, A., Martinez, D. R., Premkumar, L., Root, H., van Duin, D., Napravnik, S., Graham, S. D., Guerra, Q., Raut, R., Petropoulos, C. J., Wrin, T., Cornaby, C., Schmitz, J., Kuruc, J., Weiss, S., Park, Y., ... Bartelt, L. A. (2021). Sex disparities and neutralizing antibody durability to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *medRxiv : the preprint server for health sciences*, 2021.02.01.21250493.
67. McCartney, D. M., O'Shea, P. M., Faul, J. L., Healy, M. J., Byrne, G., Griffin, T. P., Walsh, J. B., Byrne, D. G., & Kenny, R. A. (2021). Vitamin D and SARS-CoV-2 infection-evolution of evidence supporting clinical practice and policy development : A position statement from the Covit-D Consortium. *Irish journal of medical science*, 190(3), 1253–1265.
68. Milani, G. P., Dioni, L., Favero, C., Cantone, L., Macchi, C., Delbue, S., Bonzini, M., Montomoli, E., & Bollati, V. (2020). Serological follow-up of SARS-

- CoV-2 asymptomatic subjects. In Scientific Reports (Vol. 10, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC.
69. Ministerio de Salud de Chile. Dosis de refuerzo en la campaña de vacunación contra SARS-CoV-2 en Chile, División Prevención y Control de Enfermedades / Departamento de Inmunizaciones, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile; 2021.
70. Ministerio de Salud de Chile. Las vacunas Sinovac y Pfizer-BioNTech muestran en Chile un 90% y 98% de efectividad para prevenir el ingreso a UCI respectivamente. Ministerio de Salud; 2021. Disponible en: <https://www.minsal.cl/las-vacunas-sinovac-y-pfizer-biontech-muestran-en-chile-un-90-y-98-de-efectividad-para-prevenir-el-ingreso-a-uci-respectivamente/>; 2021
71. MINSAL, (2021). Ficha informativa de la vacuna COVID-19 Pfizer-BioNTech, Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile.
72. MINSAL, (2021). Ficha vacuna contra sars-cov-2, vacuna coronavac laboratorio sinovac life science, División prevención y control de enfermedades / departamento de inmunizaciones, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile.
73. MINSAL, (2021). Informe epidemiológico N°163, Enfermedad por SARS-CoV-2, 6 de Diciembre de 2021, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile.

74. MINSAL, (2021). Informe epidemiológico, Plan de acción COVID-19, 25 de Marzo de 2021, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile.
75. Naqvi, A., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., Atif, S. M., Hariprasad, G., Hasan, G. M., & Hassan, M. I. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1866(10), 165878.
76. Nieman, D. C., & Wentz, L. M. (2019). The compelling link between physical activity and the body's defense system. *Journal of sport and health science*, 8(3), 201–217.
77. Oran, D. P., & Topol, E. J. (2021). The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic : A Systematic Review. *Annals of internal medicine*, M20-6976.
78. Orenstein, W. A., & Ahmed, R. (2017). Simply put: Vaccination saves lives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(16), 4031–4033.
79. Palmioli, A., Crisma, M., Peggion, C., Brusasca, P., Zanin, D., Dal Corso, A., Ingallinella, P., & Peri, F. (2013). A new isoluminol reagent for chemiluminescence labeling of proteins. *Tetrahedron Letters*, 54(33), 4446–4450.

80. Perrin, P., & Morgeaux, S. (1995). Inactivation of DNA by beta-propiolactone. *Biologicals : journal of the International Association of Biological Standardization*, 23(3), 207–211.
81. Peters, P. J., Borst, J., Oorschot, V., Fukuda, M., Krähenbühl, O., Tschopp, J., Slot, J. W., & Geuze, H. J. (1991). Cytotoxic T lymphocyte granules are secretory lysosomes, containing both perforin and granzymes. *The Journal of experimental medicine*, 173(5), 1099–1109.
82. Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. V., Cooper, D., Frenck, R. W., Jr., Hammitt, L. L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615.
83. Poma, A. B., & Kolandaivel, P. (2020). Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 1–10. Advance online publication.
84. Premkumar, L., Segovia-Chumbez, B., Jadi, R., Martinez, D. R., Raut, R., Markmann, A., Cornaby, C., Bartelt, L., Weiss, S., Park, Y., Edwards, C. E., Weimer, E., Scherer, E. M., Rouphael, N., Edupuganti, S., Weiskopf, D., Tse, L. V., Hou, Y. J., Margolis, D., Sette, A., ... de Silva, A. M. (2020). The receptor

binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Science immunology*, 5(48), eabc8413.

85. Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D.-S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients

86. Qiu, F., Liang, C. L., Liu, H., Zeng, Y. Q., Hou, S., Huang, S., Lai, X., & Dai, Z. (2017). Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down?. *Oncotarget*, 8(1), 268–284.

87. Recomendación Provisoria Del CAVEI Para La Priorización Inicial De Grupos A Vacunar Contra Sars-Cov-2 En Contexto De Suministro Limitado De Vacunas. CAVEI “Comité asesor en vacunas y estrategias de inmunización”. 2020.

88. Robbiani, D. F., Gaebler, C., Muecksch, F., Lorenzi, J., Wang, Z., Cho, A., Agudelo, M., Barnes, C. O., Gazumyan, A., Finkin, S., Hägglöf, T., Oliveira, T. Y., Viant, C., Hurley, A., Hoffmann, H. H., Millard, K. G., Kost, R. G., Cipolla, M., Gordon, K., Bianchini, F., ... Nussenzweig, M. C. (2020). Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*, 584(7821), 437–442.

89. Rock, K. L., & Goldberg, A. L. (1999). Degradation of cell proteins and the generation of MHC class I-presented peptides. *Annual review of immunology*, 17, 739–779.
90. Russell, K., Chung, J. R., Monto, A. S., Martin, E. T., Belongia, E. A., McLean, H. Q., Gaglani, M., Murthy, K., Zimmerman, R. K., Nowalk, M. P., Jackson, M. L., Jackson, L. A., & Flannery, B. (2018). Influenza vaccine effectiveness in older adults compared with younger adults over five seasons. *Vaccine*, 36(10), 1272–1278.
91. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, Baum A, Pascal K, Quandt J, Maurus D, Brachtendorf S, Lörks V, Sikorski J, Hilker R, Becker D, Eller AK, Grützner J, Boesler C, Rosenbaum C, Kühnle MC, Luxemburger U, Kemmer-Brück A, Langer D, Bexon M, Bolte S, Karikó K, Palanche T, Fischer B, Schultz A, Shi PY, Fontes-Garfias C, Perez JL, Swanson KA, Loschko J, Scully IL, Cutler M, Kalina W, Kyratsous CA, Cooper D, Dormitzer PR, Jansen KU, Türeci Ö. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020 Oct;586(7830):594-599.
92. Sánchez-de Prada, L., Ortiz de Lejarazu-Leonardo, R., Castrodeza-Sanz, J., Tamayo-Gómez, E., Eiros-Bouza, J. M., & Sanz-Muñoz, I. (2021). Do Vaccines Need a Gender Perspective? Influenza Says Yes!. *Frontiers in immunology*, 12, 715688.

93. Sathe A, Cusick JK. Biochemistry, Immunoglobulin M. [Updated 2021 Jan 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555995/>
94. Sauré, D., O’Ryan, M., Torres, J. P., Zuniga, M., Santelices, E., & Basso, L. J. (2021). Dynamic IgG seropositivity after rollout of CoronaVac and BNT162b2 COVID-19 vaccines in Chile: a sentinel surveillance study. *The Lancet*.
95. Shirin, T., Bhuiyan, T. R., Charles, R. C., Amin, S., Bhuiyan, I., Kawser, Z., Rahat, A., Alam, A. N., Sultana, S., Aleem, M. A., Khan, M. H., Khan, S. R., LaRocque, R. C., Calderwood, S. B., Ryan, E. T., Slater, D. M., Banu, S., Clemens, J., Harris, J. B., Flora, M. S., ... Qadri, F. (2020). Antibody responses after COVID-19 infection in patients who are mildly symptomatic or asymptomatic in Bangladesh. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 101, 220–225.
96. Simonnet, A., Chetboun, M., Poissy, J., Raverdy, V., Noulette, J., Duhamel, A., Labreuche, J., Mathieu, D., Pattou, F., Jourdain, M., & LICORN and the Lille COVID-19 and Obesity study group (2020). High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(7), 1195–1199.

97. Srivastava, P., & Gupta, N. (2020). Clinical Manifestations of Corona Virus Disease. *Clinical Synopsis of COVID-19: Evolving and Challenging*, 31–49.
- Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., Liu, L., Shan, H., Lei, C. L., Hui, D., Du, B., Li, L. J., Zeng, G., Yuen, K. Y., Chen, R. C., Tang, C. L., Wang, T., Chen, P. Y., Xiang, J., Li, S. Y., ... China Medical Treatment Expert Group for Covid-19 (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine*, 382(18), 1708–1720.
98. Tadount, F., Doyon-Plourde, P., Rafferty, E., MacDonald, S., Sadarangani, M., & Quach, C. (2020). Is there a difference in the immune response, efficacy, effectiveness and safety of seasonal influenza vaccine in males and females? - A systematic review. *Vaccine*, 38(3), 444–459.
99. Takahashi, T., Wong, P., Ellingson, M. K., Lucas, C., Klein, J., Israelow, B., Silva, J., Oh, J. E., Mao, T., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Liu, F., Meir, A., Sun, J., Wang, E. Y., Wyllie, A. L., Vogels, C., Earnest, R., ... Yale IMPACT research team (2020). Sex differences in immune responses to SARS-CoV-2 that underlie disease outcomes. *medRxiv : the preprint server for health sciences*, 2020.06.06.20123414.
100. Thomas, S. J., Moreira, E. D., Jr., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Polack, F. P., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Xu, X., Roychoudhury, S., Koury, K., Bouguermouh, S.,

- Kalina, W. V., Cooper, D., Frenck, R. W., Jr., ... Jansen, K. U. (2021). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine through 6 Months. In New England Journal of Medicine. Massachusetts Medical Society.
101. Usman, M., Ali, Y., Riaz, A., Riaz, A., & Zubair, A. (2020). Economic perspective of coronavirus (COVID-19). Journal of public affairs, e2252. Advance online publication.
  102. Valiathan, R., Ashman, M., & Asthana, D. (2016). Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scandinavian journal of immunology*, 83(4), 255–266.
  103. Wang, C., Horby, P. W., Hayden, F. G., & Gao, G. F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet* (London, England), 395(10223), 470–473.
  104. Wang, M. Y., Zhao, R., Gao, L. J., Gao, X. F., Wang, D. P., & Cao, J. M. (2020). SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 587269.
  105. World Health Organization (WHO). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report-36. Disponible en <https://www.who.int/emergencies/diseases/novelcoronavirus2019/situation-reports/>. Updated 2020. Accessed February 25, 2020.

106. World Health Organization (WHO). Novel Coronavirus (2019-nCoV) situation report-1. Geneva: World Health Organization; 2020. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>. Accessed 27 Apr 2021.
107. Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., Meng, J., Zhu, Z., Zhang, Z., Wang, J., Sheng, J., Quan, L., Xia, Z., Tan, W., Cheng, G., & Jiang, T. (2020). Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell host & microbe*, 27(3), 325–328.
108. Wu, L., Wang, H., Gou, D., Fu, G., Wang, J., & Guo, B. (2020). Clinical significance of the serum IgM and IgG to SARS-CoV-2 in coronavirus disease-2019. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*.
109. Xia, H., Cao, Z., Xie, X., Zhang, X., Chen, J. Y., Wang, H., Menachery, V. D., Rajsbaum, R., & Shi, P. Y. (2020). Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell reports*, 33(1), 108234.
110. Xie, X., Lokugamage, K. G., Zhang, X., Vu, M. N., Muruato, A. E., Menachery, V. D., & Shi, P.-Y. (2021). Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system. *Nature Protocols*, 16(3), 1761–1784.
111. Yan, X., Chen, G., Jin, Z., Zhang, Z., Zhang, B., He, J., Yin, S., Huang, J., Fan, M., Li, Z., Chen, F., Zeng, Y., Han, X., & Zhu, Y. (2021). Anti-SARS-CoV-2 IgG levels in relation to disease severity of COVID-19. *Journal of medical virology*, 10.1002/jmv.27274. Advance online publication.

112. Yang, H. S., Costa, V., Racine-Brzostek, S. E., Acker, K. P., Yee, J., Chen, Z., Karbaschi, M., Zuk, R., Rand, S., Sukhu, A., Klasse, P. J., Cushing, M. M., Chadburn, A., & Zhao, Z. (2021). Association of Age With SARS-CoV-2 Antibody Response. *JAMA network open*, 4(3), e214302.
113. Yu, K. K., Fischinger, S., Smith, M. T., Atyeo, C., Cizmeci, D., Wolf, C. R., Layton, E. D., Logue, J. K., Aguilar, M. S., Shuey, K., Loos, C., Yu, J., Franko, N., Choi, R. Y., Wald, A., Barouch, D. H., Koelle, D. M., Lauffenburger, D., Chu, H. Y., Alter, G., ... Seshadri, C. (2021). Comorbid illnesses are associated with altered adaptive immune responses to SARS-CoV-2. *JCI insight*, 6(6), e146242.
114. Zhang, H., Liu, Y., Liu, D., Zeng, Q., Li, L., Zhou, Q., Li, M., Mei, J., Yang, N., Mo, S., Liu, Q., Liu, M., Peng, S., & Xiao, H. (2021). Time of day influences immune response to an inactivated vaccine against SARS-CoV-2. In *Cell Research* (Vol. 31, Issue 11, pp. 1215–1217). Springer Science and Business Media LLC.
115. Zhang, Y., Zeng, G., Pan, H., Li, C., Hu, Y., Chu, K., Han, W., Chen, Z., Tang, R., Yin, W., Chen, X., Hu, Y., Liu, X., Jiang, C., Li, J., Yang, M., Song, Y., Wang, X., Gao, Q., & Zhu, F. (2021). Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(2), 181–192.

116. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., Zheng, X. S., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273.
117. Zhou, Y., He, C., Wang, L., & Ge, B. (2017). Post-translational regulation of antiviral innate signaling. *European journal of immunology*, 47(9), 1414–1426.
118. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733.
119. Zimmermann, P., & Curtis, N. (2019). Factors That Influence the Immune Response to Vaccination. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00084-18.

## **13. ANEXOS**

### **13.1 Anexo 1: Formulario de Notificación Inmediata 2019-nCoV del Laboratorio Clínico PreveGen.**

**FORMULARIO NOTIFICACIÓN INMEDIATA 2019-nCoV**

**INFORMACIÓN DEL PACIENTE:**

Rut: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_  
Nombres: \_\_\_\_\_ Comuna: \_\_\_\_\_  
Apellido Paterno: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_  
Apellido Materno: \_\_\_\_\_ Región: \_\_\_\_\_  
Sexo: \_\_\_\_ Femenino / \_\_\_\_ Masculino Teléfono: \_\_\_\_\_  
Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_ (años)  
Correo electrónico: \_\_\_\_\_  
Folio Epivigila: \_\_\_\_\_ Médico: \_\_\_\_\_

**DATOS DE PROCEDENCIA:**

Profesional Responsable: \_\_\_\_\_  
Laboratorio/Hospital: LABORATORIO CLÍNICO PREVEGEN  
Dirección: CHACABUCO 556, OF 1-2 Comuna: CONCEPCIÓN  
Correo: [secretaria@prevegen.cl](mailto:secretaria@prevegen.cl) Fono: 41-3132331

**ANTECEDENTES DE LA MUESTRA:**

Fecha de obtención: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_ RT-PCR SARS-COV2      \_\_\_\_ Anticuerpos IgG/IgM anti SARS-COV2

Otros exámenes realizados previamente (ej. IFI): \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES CLÍNICOS/EPIDEMIOLÓGICOS:**

Fecha inicio síntomas: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Fecha primera consulta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
\_\_\_\_ trabajador \_\_\_\_ embarazo \_\_\_\_ semana \_\_\_\_ viajó al extranjero en los últimos 14 días

**SINTOMAS**

|                                                     |                                                                           |                                                       |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Fiebre sobre 38°C          | <input type="checkbox"/> Cefalea                                          | <input type="checkbox"/> T <sup>3</sup> ACTUAL: _____ |
| <input type="checkbox"/> Dolor de garganta          | <input type="checkbox"/> Taquipnea                                        |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Mialgia                    | <input type="checkbox"/> Hipoxia                                          |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Neumonía                   | <input type="checkbox"/> Cianosis                                         |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Encefalitis                | <input type="checkbox"/> Deshidratación o rechazo alimentario (lactantes) |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Tos                        | <input type="checkbox"/> Compromiso hemodinámico                          |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Rinorrea/ congestión nasal | <input type="checkbox"/> Consulta repetida por deterioro respiratorio     |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Dificultad Respiratoria    | <input type="checkbox"/> Enfermedad de base: _____                        |                                                       |
| <input type="checkbox"/> Hipotensión                | <input type="checkbox"/> Otros: _____                                     |                                                       |

**Antecedentes de Vacunación**

|                                                  |                                     |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Vacuna contra influenza | Fecha de vacunación: ____/____/____ |
| <input type="checkbox"/> Vacuna COVID19 _____    | 1 Dosis: _____ 2 Dosis: _____       |
|                                                  | 3 Dosis: _____                      |

**Antecedentes COVID19**

¿Tuvo COVID?: SI NO Fecha: \_\_\_\_\_ ¿Es contacto estrecho? SI NO

**Hospitalización**

Fecha de ingreso: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Fecha de alta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Dg: \_\_\_\_\_

**TOMO CONOCIMIENTO DE REALIZAR AISLAMIENTO PREVENTIVO HASTA OBTENER EL RESULTADO  
(NO INCLUYE A OPERATIVOS DE BUSQUEDA ACTIVA)**

Firma paciente: \_\_\_\_\_ Firma encargado: \_\_\_\_\_

### 13.2 Anexo 2: Fórmula para el cálculo del tamaño muestral de una población infinita

$$n = \frac{Z^2 \frac{\alpha}{2} N p x q}{Z^2 \frac{\alpha}{2} p x q + (N - 1)e^2}$$

n = Tamaño muestral.

$Z^2 \alpha/2$  = Puntuación Z para un nivel de confianza de 95%.

N = Tamaño de la población.

p = Proporción de la población que posee la característica de interés, o sea la población que posee la segunda dosis de las vacunas BNT162B2 o Coronavac que pertenece a la Región del Biobío, Chile.

q = Proporción de la población que no posee la característica de interés.

e = Error máximo tolerable.

### **13.3 Anexo 3: Procedimientos de tratamientos de desechos biológicos o químicos**

En el Laboratorio Clínico PreveGen los desechos biológicos de tipo Patológicos, Contaminados con sangre y Cortopunzantes, son gestionados y eliminados de forma segura a través de la empresa Veolia.