

INMUNOVIGILANCIA: Evaluación de la inmunogenicidad de las vacunas anti-COVID-19 en el marco de la farmacovigilancia intensiva -Protocolo Bogotá, Distrito Capital- Formulación Pfizer/BioNTech

Gabriela Delgado¹, Liliana Lesmes¹, Martha Soler¹, Mary Luz Gómez¹, Sandra Velásquez², Daniel Blanco², Omar Perilla² y Alejandro Gómez¹

1. Laboratorio de Salud Pública, Secretaría Distrital de Salud
2. Subred Integrada de Servicios de Salud-Sur Occidente, E.S.E.

RESUMEN EJECUTIVO

Las autorizaciones de emergencia mediante las cuales se están empleando, en el mundo, las vacunas anti-COVID-19, conllevan al fortalecimiento de la farmacovigilancia, la que no sólo incluye la identificación y la caracterización de Eventos Supuestamente Atribuidos a la Vacunación o Inmunización-ESAVI. Analizar el efecto esperado en poblaciones inmunizadas, además de aportar al necesario conocimiento, apoyará las decisiones que se pretendan tomar por parte de las autoridades sanitarias. La Secretaría Distrital de Salud-SDS ha establecido un protocolo de evaluación de la inmunogenicidad de las distintas formulaciones usadas en la población del Distrito Capital. Monitorear la respuesta inmune mediada por anticuerpos totales e inmunoglobulina G-IgG específicas para la proteína de la espícula-proteína-S del SARS-CoV-2 (antígeno RBD, del inglés, *Receptor Binding Domain*), antes y después de las inmunizaciones, permitirá: (i) Colectar evidencia local acerca de la eficacia de las vacunas adquiridas para el proceso de inmunización anti-COVID-19 en Colombia; (ii) Realizar valoraciones comparativas de las distintas vacunas; (iii) Establecer correlatos comparativos con protección; (iv) Confirmar, de manera indirecta, la calidad del proceso almacenamiento, transporte y distribución de las vacunas, en especial, de las que requieren menos 70 °C para su conservación y (v) Evidenciar la respuesta en individuos con previa infección (positivos para anticuerpos antes de la vacunación) a fin de aportar en la discusión sobre la posibilidad de emplear una sola dosis (para vacunas de dos dosis) en individuos con diagnóstico positivo para COVID-19 (por RT-PCR, del inglés, *Reverse Transcription, Polymerase Chain Reaction*).

PROTOCOLO:

1. Se incorporaron doscientos cuarenta y un (**241**) voluntarios antes de ser inmunizados con la vacuna **Pfizer/BioNTech**. Todos aceptaron participar en

la evaluación, previo a recibir la primera dosis, firmando el debido “Consentimiento Informado”. De los 241 voluntarios incorporados en la fase pre-inmune, a cuarenta y uno (41) no les fue tomada la muestra post-primeras dosis (por haber sido inmunizados previamente). Doscientos (**200**) voluntarios cuentan con resultados pre-inmune y post-primeras dosis, con los cuales se realizan los respectivos análisis.

2. Los individuos hacen parte del personal sanitario de primera línea del Hospital de Kennedy.
3. A los voluntarios les fue tomada una muestra de sangre venosa, en tubo seco (sin anticoagulante), en los dos momentos (pre-vacunación y tres semanas post-primeras dosis).
4. Las 241 muestras tomadas en la jornada del 18 de febrero de 2021, y las 200 muestras tomadas en las jornadas del 11 y 12 de marzo de 2021, fueron llevadas al Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría Distrital de Salud para su separación y procesamiento.
5. El análisis de anticuerpos IgG e inmunoglobulinas totales, se llevó a cabo mediante quimioluminiscencia, utilizando la plataforma COV2 Advia Centaur de Siemens.

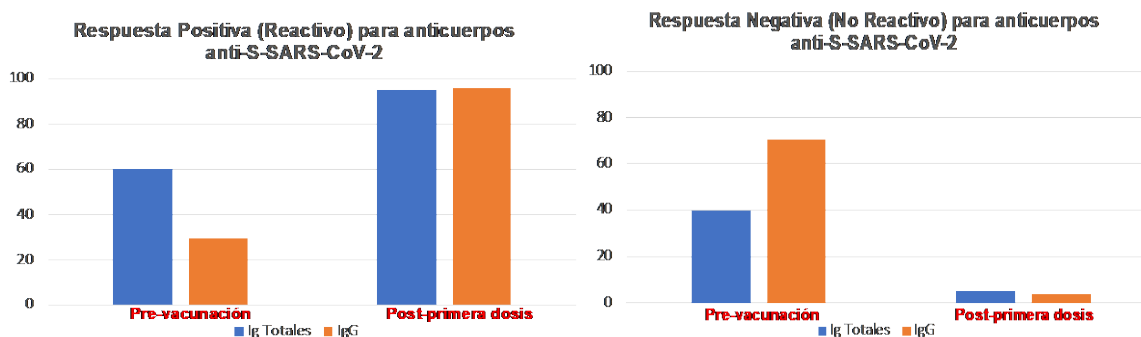
RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Varias consideraciones para el análisis de los resultados. La primera es que, a pesar de que la prueba usada, permite la identificación de anticuerpos anti-S (RBD) totales (IgA, IgG e IgM) e IgG y, de que existe evidencia que los anticuerpos contra esta región de la proteína viral tienen actividad neutralizante, sólo hasta cuando se realicen los ensayos de neutralización, se puede afirmar que los anticuerpos detectados, neutralizan el virus y confieren protección. La segunda consideración, se asocia con la característica semi-cuantitativa de la medición. Por cuestión de costos, se realizó una única medida por voluntario, en cada punto-tiempo, la cual arroja un resultado que se interpreta como positivo (reactivo) o negativo (no reactivo) en el marco de los límites de detección de la técnica (Reactivo: Inmunoglobulinas totales-Ig Totales, de 1 a 10 Unidades Relativas de Luz-URL; Inmunoglobulina G-IgG, de 1 a 20 URL). Por encima del valor superior se pierde la linealidad de la técnica y procedería dilución. Basados en esta consideración, en el resultado del proceso en semi-cuantitativo, que se informa como cualitativo (reactivo o no reactivo), se obtienen -como lectura del quimioluminómetro- las URL, que fueron utilizadas como un criterio arbitrario relacionado con la concentración de anticuerpo detectado. Para los análisis a continuación, una URL elevada, se interpreta como mayor concentración de anticuerpos y viceversa; lo anterior, considerando la linealidad de la técnica, en el marco de los límites inferior y superior de detección para cada medición.

1.

Anticuerpos anti-Espícula (S)-SARS-CoV-2. n=200	Reactivo (Positivo)		No Reactivo (Negativo)	
	Pre-vacuna	Post-primera dosis	Pre-vacuna	Post-primera dosis
Ig Totales	120	190	80	10
IgG	59	192	141	8

De la respuesta de anticuerpos de los 200 voluntarios incorporados en esta evaluación, se puede observar que el **60 %** fueron reactivos para **Ig totales** y un **29,5 %** para **IgG**, representando este dato la respuesta a una probable infección natural previa, confirmada o no previamente a través de la prueba estándar de oro para el diagnóstico de SARS-CoV-2, el RT-PCR. Tres semanas después de la aplicación de la primera dosis, el **95 %** y **96 %** de los individuos inmunizados, presentan reactividad para **Ig totales** e **IgG**, anti-S, respectivamente. Lo anterior, equivale a un 5 % y a un 4 % de individuos que no exhiben seroconversión (totales e IgG, respectivamente) después de la primera dosis, con el RNAm-Pfizer/BioNTech.



2. Acorde con la base de datos disponible, de los 200 individuos incorporados en esta evaluación, **45** contaban con antecedentes de **RT-PCR positivo**, **129** con **RT-PCR negativo** y **6** sin registro de resultado previo de prueba molecular para diagnóstico de COVID-19.

3.

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva) n=45	No Reactivo- NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 10	NR a URL mayor de 10	URL de 1 a 3	URL de 5 a mayor de 10	URL de 1 a 3	URL mayor a 10	
Ig Totales	1	1	2	1	5	1	32	2

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva) n=45	No Reactivo- NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 20	NR a URL mayor de 20	URL de 1 a 5	URL de 1 a mayor de 20	URL de 1 a 3	URL mayor a 2	
IgG	1	4	9	0	22	0	7	2

Dado que algunos argumentos señalan que los individuos con RT-PCR positiva previa debieron activar la respuesta inmune, se analizó la reactividad comparativa (pre-inmune y post-primera dosis de vacuna RNAm- Pfizer/BioNTech) de los 45 individuos con dicho antecedente. A nivel de las Ig totales, el **2,2 %** de los individuos **no presentaron anticuerpos detectables** por esta técnica, ni antes ni después de la primera dosis, el **6,7 %** tuvieron **seroconversión (negativos en el pre-inmune y positivos luego de la primera inmunización)**, un **13,3 %** **incretaron las URL** (aumento de concentración de anticuerpos) y un **73,3 %** **presentaron niveles altos de anticuerpos** (equiparables a los detectados antes de la vacunación). A nivel de la IgG que se considera el anticuerpo de memoria más específico, en un **2,2 % de los individuos no fue detectada**, un **28,9 %** hicieron franca **seroconversión** post-primera dosis, un **48,9 %** **incretaron la reactividad**, respecto a la muestra pre-inmune -también positiva- y un **15 %** mantuvieron aparentemente, **niveles equiparables de este anticuerpo**, respecto a la muestra pre-inmune. Dado que 41 y 31 de los 45 individuos con antecedentes RT-PCR positiva, mostraron reactividad para Ig totales e IgG, respectivamente (91 % y 69 %), se pueden sugerir que la exposición previa al virus deriva en una respuesta humoral relativamente duradera y detectable por medio de esta técnica (memoria IgG).

4.

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva-Sintomas) n=29	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 10	NR a URL mayor de 10	URL de 1 a 3	URL de 5 a mayor de 10	URL de 1 a 3	URL mayor a 10	
Ig Totales	1	1	0	0	4	0	21	2

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva-Sintomas) n=29	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 20	NR a URL mayor de 20	URL de 1 a 5	URL de 1 a mayor de 20	URL de 1 a 3	URL mayor a 2	
IgG	1	0	7	0	14	0	5	2

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva-Sin síntomas) n=16	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 10	NR a URL mayor de 10	URL de 1 a 3	URL de 5 a mayor de 10	URL de 1 a 3	URL mayor a 10	
Ig Totales	0	1	1	1	1	1	11	0

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Positiva-Sin síntomas) n=16	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 20	NR a URL mayor de 20	URL de 1 a 5	URL de 1 a mayor de 20	URL de 1 a 3	URL mayor a 2	
IgG	0	3	3	0	8	0	2	0

Considerando las discusiones en torno a la posibilidad de aplicar una sola dosis en individuos con antecedentes de RT-PCR positiva, surgen consideraciones adicionales que señalan que no bastaría el antecedente de positividad, si éste, no se acompaña de un cuadro de COVID-19 sintomático. Lo anterior, en razón a que los individuos sintomáticos poseen mayor carga viral respecto a que quienes cursan con COVID-19 asintomático. La carga viral, como en otras enfermedades infecciosas, es determinante en la activación (por carga antigénica) de la respuesta inmune. Por lo anterior, luego de revisar las fichas epidemiológicas de los 45

individuos con antecedentes de RT-PCR positivo, se analizó la reactividad humoral, disgregando entre individuos con reporte o no, de síntomas de COVID-19. Así, de los 29 individuos RT-PCR positivos sintomáticos, un **3,4 % no presentó anticuerpos, ni totales ni IgG** frente al RBD de la proteína S; un **3,4 % hizo seroconversión para Ig totales**, mientras que para **IgG** fue del **24,1 %**. Para el grupo de individuos con antecedentes de RT-PCR y anticuerpos totales e IgG positivos, en la muestra pre-inmune, un **13,8 %** presentó un aumento de **Ig totales** y un **48,3 %** de **IgG**, respecto al pre-inmune. Un **72,4 %** de los individuos mostraron niveles fuera del rango superior de detección de la técnica, para **Ig totales, similar al nivel detectado en la muestra pre-inmune**, mientras que, para la **IgG, también equiparable al pre-inmune**, fue del **17,2 %**. Referente a los 16 individuos que no reportaron síntomas de COVID-19, aun con antecedente de RT-PCR positivo, un **12,5 %** tuvieron **seroconversión a nivel de las Ig totales** y un **37,5 %** para **IgG**. Algunas de las muestras con reactividad en el suero pre-inmune, mostraron en un **12,5 %** aumento de las Ig totales, mientras que un **50 % incrementaron** los niveles de **IgG**. Los niveles altos, fuera del límite de detección de la técnica, fueron sostenidos en un **75 %** para los **anticuerpos totales** y en un **12,5 %** para **IgG**, comparativamente, entre el pre-inmune y la muestra tomada tres semanas luego de la primera dosis de vacuna RNAm- Pfizer/BioNTech.

5.

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Negativa) n=149	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 10	NR a URL mayor de 10	URL de 1 a 3	URL de 5 a mayor de 10	URL de 1 a 3	URL mayor a 10	
Ig Totales	7	37	32	8	35	6	21	3

Pre inmune/Post Primera (Antecedentes RT-PCR Negativa) n=149	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 20	NR a URL mayor de 20	URL de 1 a 5	URL de 1 a mayor de 20	URL de 1 a 3	URL mayor a 2	
IgG	7	71	46	1	19	0	5	0

Al analizar el comportamiento de los individuos sin antecedentes clínicos o de diagnóstico por el laboratorio (RT-PCR negativa) de COVID-19, respecto a la producción de anticuerpos antes y después de la primera dosis de la vacuna Pfizer/BioNTech, se puede indicar que 73 de 149 mostraron reactividad para Ig

totales y 59 de 149, para la IgG anti-S. Lo anterior indica que un antecedente negativo de RT-PCR no implica un sistema inmune naïve para SARS-CoV-2; que este antecedente de negatividad quizá se relaciona con un curso asintomático o presintomático para COVID-19. Así las cosas, y comparando la reactividad humoral pre y post-vacunación, se encontró que en el grupo de los individuos con antecedentes de RT-PCR negativo, un **4,7 % no muestran producción de anticuerpos**, que un **46,3 %** y un **78,5 %** hicieron franca **seroconversión** (por encima del nivel de detección superior de la técnica) para **Ig totales e IgG, respectivamente**. Un **28,9 % incrementaron el nivel de anticuerpos totales anti-S** y un **13,4 % para IgG**, respecto al nivel pre-vacuna. Finalmente, un **18,1 %** de los individuos con RT-PCR negativa, mostraron **niveles equiparables de anticuerpos totales** entre el pre-inmune y la post-primera dosis, y un **3,4 % para IgG**, para ambos puntos-tiempo.

6.

Pre inmune/Post Primera (Sin antecedentes RT-PCR) n=6	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 10	NR a URL mayor de 10	URL de 1 a 3	URL de 5 a mayor de 10	URL de 1 a 3	URL mayor a 10	
Ig Totales	0	0	0	1	2	0	3	0

Pre inmune/Post Primera (Sin antecedentes RT-PCR) n=6	No Reactivo-NR (post primera)	Reactivo-R (post primera)						
	NR	NR a R		R bajo a R alto		R Igual pre y post		R alto a R bajo
		NR a URL menor de 20	NR a URL mayor de 20	URL de 1 a 5	URL de 1 a mayor de 20	URL de 1 a 3	URL mayor a 2	
IgG	0	1	2	0	2	0	1	0

Para el grupo de individuos sin antecedentes de COVID-19 positivo o negativo, sin dato clínico ni de diagnóstico molecular, el número limitado de muestras no permite ninguna inferencia o tendencia, que amerite ser analizada.

CONSIDERACIONES PRELIMINARES:

1. El presente análisis tiene como limitación, el no haber titulado los sueros que exhibieron reactividad por fuera del límite superior de detección de la técnica. No obstante, se permiten inferencias respecto a la variable URL, las que, en el rango

de linealidad, pueden asociarse con niveles o concentraciones de anticuerpos totales o IgG, antígeno-específicos circulantes.

2. Considerando que la sensibilidad y especificidad de la técnica usada (Quimioluminiscencia, Advia Centaur de Siemens) es del 100 % y superior al 99 %, respectivamente, los resultados obtenidos permiten asociaciones con la antigenicidad del SARS-CoV-2 y con la inmunogenicidad de la vacuna analizada (RNAm-Pfizer/BioNTech).

3. Un antecedente de RT-PCR positivo, sintomático o no, **no es suficiente** para sugerir que la infección previa, permitió estimular apropiadamente el sistema inmune. Lo anterior, considerando que de los 45 individuos con antecedente de RT-PCR positivo, el 6,7 % y el 28,9 % presentaron seroconversión para anticuerpos totales e IgG, respectivamente, mientras que un 46,3 % y un 78,5 % mostraron dicha seroconversión, en el grupo de los 149 individuos sin antecedentes de RT-PCR positivo.

4. Comprendiendo que esta evaluación no muestra resultados concluyentes en el mismo sentido que cohortes estudiadas recientemente en otros países, para formulaciones basadas en RNAm (marzo 10 de 2021, <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2101667>) se debe aclarar que ese análisis no se hizo con personal sanitario de primera línea, pero que lo más relevante es que se valoró previamente el título de anticuerpos, permitiendo sugerir, que los individuos seropositivos antes de la vacunación, generan mayores títulos de anticuerpos, respecto a quienes fueron seronegativos. También se concluye en dicho estudio y en reporte previo (febrero 25 de 2021, [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00501-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00501-8/fulltext)) que, aun cuando parece ser suficiente una sola dosis, en los individuos previamente expuestos (con o sin antecedente de RT-PCR positivo) se debe asegurar la seropositividad. El estudio concluye que “es necesario investigar si una sola dosis de la vacuna de ARNm proporciona una protección eficaz en personas seropositivas”. Derivado del más reciente estudio, aunque con adultos mayores (cuya respuesta está condicionada por la inmunosenescencia), se recomienda la aplicación del esquema completo (dos dosis) en razón a limitada efectividad reportada con una sola dosis de la formulación de Pfizer/BioNTech (marzo 15 de 2021, <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/wr/mm7011e3.htm#contribAff>).

En otras palabras, no hay evidencia concluyente que permita determinar que la formulación de Pfizer/BioNTech induzca inmunidad protectora con una sola dosis y no con dos, conforme los estudios clínicos que permitieron las autorizaciones de emergencia.

5. Si se tiene en cuenta que en esta muestra representativa de personal sanitario (n=200) vacunado con la formulación del Pfizer/BioNTech, un 3 % no exhibió

seroconversión (ni anticuerpos totales, ni IgG , anti-RBD de la proteína S del SARS-CoV-2) es posible, que de tomarse la medida de no aplicar segunda dosis en este grupo, cerca de 2700 individuos de los 91396 identificados como primera línea en el Distrito Capital, no logren la respuesta humoral necesaria (¿anticuerpos neutralizantes?) que les confiera la inmunidad protectora subsecuente a la vacunación. Si la decisión sólo fuera sobre el grupo que tiene antecedentes de RT-PCR positiva, cerca de 450 personas no generarían la respuesta inmune apropiada, asociada con protección. Lo anterior sin contar, con los niveles insuficientes (bajos o medios respondedores) de anticuerpos que se pueden alcanzar con una inmunización parcial (una sola dosis). Por ende, se recomienda que, ante la falta de evidencia, no se altere el esquema de vacunación (dosis e intervalo) para cada una de las formulaciones que se usan o usarán en Colombia, para el control del COVID-19.