



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ
CENTRO DE INVESTIGACIONES, DIANÓSTICO Y REFERENCIA
DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

**Respuesta Inmune Humoral Posterior a la Reactivación con la Vacuna
SOBERANA 01 en Trabajadores del IPK, 2022.**

Tesis Presentada en opción al Título de Master en Virología

Autora: Lic. María Teresa Lisboa Vega

La Habana Cuba

2022



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ
CENTRO DE INVESTIGACIONES, DIANÓSTICO Y REFERENCIA
DERPATAMIENTO DE VIROLOGÍA

**Respuesta Inmune Humoral Posterior a la Reactivación con la Vacuna
SOBERANA 01 en Trabajadores del IPK, 2022**

Tesis Presentada en Opción al Título de Master en Virología

Autora: Lic. María Teresa Lisboa Vega

Tutoras: Dra. Licel de los Ángeles Rodríguez Lay, DC.
Dra. María Caridad Montalvo Villalba, DC.

Asesoras: Dra. María Guadalupe Guzmán Tirado, DCs.
Lic. Carmen E. Viada González, DC.

La Habana Cuba

2022

*" ... Era como un nuevo mundo abierto para mí, el mundo de la ciencia,
que por fin se me permitió conocer en toda libertad. "*

Marie Curie (1867-1934)

Premio Nobel de Física (1904) y Química (1911)

*A mi familia, a mi madre, a mi esposo,
a mis hijos William y Raúl*

Agradecimientos

Agradezco a todas aquellas personas que hicieron posible el éxito de esta investigación. Les doy las gracias, por su paciencia, preocupación, enseñanzas dándome su apoyo incondicional especialmente a la Dra. Licel de los Ángeles Rodríguez Lay, la Dra. María Caridad Montalvo Villalba y la Dra. María Guadalupe Guzmán Tirado por a ver permitido mi continuación en la maestría en un momento difícil.

Le doy gracias a la Dra. Susel Oropesa por haberme ayudado en la corrección del portugués a español con sus consejos y enseñanzas.

Le doy las gracias a Claudia, Melisa, Dayesi y María Karla por la ayuda que me dieron cuando empecé en el mundo de la ciencia, la preocupación, enseñanza y ayuda en ese mundo nuevo para mí. Les doy las gracias a todos los compañeros de la maestría 2020 por su amistad.

Les doy las gracias a todas profesoras de la maestría de virología especialmente a profesoras Rosita y Mailing por su apoyo sus consejos y enseñanzas.

Resumen

El virus SARS-COV-2 que causa la enfermedad COVID-19 fue declarado pandemia el 11 marzo de 2020. La alta tasa de morbilidad y de mortalidad ha convertido a la COVID-19 en una gran prioridad de salud pública global. Debido a la urgente necesidad de limitar la propagación del virus, se desarrollaron vacunas eficaces, entre ellas las vacunas cubanas SOBERANA 01, 02 y Plus. En marzo de 2021 comenzó un estudio de intervención comenzando por los trabajadores de la Salud, y en noviembre se decidió aplicar una dosis de refuerzo. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la respuesta Inmune humoral posterior a la reactivación con la vacuna SOBERANA 01 en Trabajadores del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK). Se estudiaron 418 muestras de sangre total y suero, colectadas 1 mes después de la reactivación. Para conocer la presencia del anticuerpo anti-SARS-CoV-2 se utilizó un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral, donde el 0,23% fueron positivas a la inmunoglobulina M (IgM) y el 95,7% a la inmunoglobulina G (IgG) y el ensayo UMELISA SARS-COV-2 IgG con el cual se confirmó la presencia de anticuerpos IgG en el 99,5% de las muestras analizadas. Se relacionó la presencia de anticuerpos con variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas. Se correlacionaron la edad, el sexo y el color de la piel, sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$). Los antecedentes patológicos personales y la ingestión de medicamentos tampoco presentaron significación estadística entre los positivos y negativos en cuanto al anticuerpo IgG. En cuanto a los antecedentes de padecer de COVID-19, si encontramos diferencia estadísticamente significativa entre los positivos y los negativos ($p<0,05$) con el ensayo inmunocromatográfico. Los trabajadores del IPK desarrollaron una respuesta inmune humoral adecuada a la reactivación con la vacuna SOBERANA 01 y avalan su uso en esta población de riesgo.

Glosario de términos

IPK: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí

OMS: Organización mundial de la Salud.

FDA: Agencia de Administración de medicamentos y alimentos.

MINSAP: Ministerio de salud pública.

IFV: Instituto Finlay de Vacunas

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

LNRVR-Laboratorio nacional de virus respiratorios

SARS- COV- 2: Coronavirus del tipo 2 causante del síndrome respiratorio severo.

COVID - 19: Enfermedad causada por coronavirus de 2019.

SARS: Síndrome respiratorio severo.

MERS-COV: Coronavirus del síndrome de Oriente Medio.

ARN: Ácido ribonucleico.

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ACE 2: Enzima convertidora de angiotensina 2.

RCP - RT: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

ELISA: Ensayo inmunoenzimático de adsorción.

ME: microscopio electrónico

RBD: Dominio de unión al receptor

ORF: Marco abierto de lectura

ACE2: Enzima convertidora de angiotensina

TMPRSS2: Proteasa transmembrana serina 2

IgM: Inmunoglobulina M.

IgG: Inmunoglobulina G.

IL: Interleuquina.

TNF: factor de necrosis tumoral.

(NFkB): factor nuclear kappa B

INDICE

I.	Introducción	10
II.	Objetivos	13
II.1	Objetivo General	13
II.2	Objetivos Específicos	13
III.1	Revisión Bibliográfica	14
III.1	Características Generales de los coronavirus SARS-CoV-2	14
III.1.1	Taxonomía y Filogenia	14
III.1.2.	Estructura y Composición	16
III.2.	Genoma	17
III.2.1.	Ciclo Replicativo Viral	18
III.3.	Características Clínicas y Epidemiológicas	19
III.3.1	Situación epidemiológica en cuba	21
III.5.	Diagnostico Viroológico del SARS-CoV-2	22
III.6.	Respuesta Inmune al SARS-CoV-2 y Patogénesis	24
III.6.1	Respuesta Inmune Innata	24
III.6.2	Respuesta Inmune Adaptativa	25
III.7.	Vacunas anti-SARS-CoV-2	26
III.7.1	Vacunas Cubanas	27
IV.	Material y Métodos	28
IV.1.	Diseño General del Estudio	28
IV.2.	Universo de Estudio	28
IV.2.1	Muestras	28
IV. 2.2	Operacionalización de las Variables	29
IV.2.3	Métodos e Instrumentos de Recolección de datos	30
IV.4.	Consideraciones Éticas	30
IV.4.1	Medidas de Bioseguridad	31

V.	Metodología	31
V.1	Ensayo Inmunocromatográfico	31
V.2	UMELISA SARS-CoV -2 IgG	33
VI.	Resultados	38
VII.	Conclusiones	54
VIII.	Recomendaciones	55
IX.	Referencias Bibliográficas	56
X.	Anexo1	71
X.1	Anexo 2	72

I. Introducción

Las infecciones virales emergentes y reemergentes constituyen amenazas continuas para la salud del humano a nivel global. Los coronavirus, son un grupo diverso de virus que infectan a muchos animales diferentes y pueden causar infecciones respiratorias de leves a graves en los seres humanos. (1)

En el siglo XXI la emergencia de dos coronavirus altamente patógenos de origen zoonótico, convirtieron a los coronavirus emergentes en una nueva preocupación para la salud pública mundial: en 2002 y 2012, respectivamente, el coronavirus del Síndrome Respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV), emergieron en humanos y causaron enfermedades respiratorias graves, con alta mortalidad. (2)

Un nuevo coronavirus el SARS-CoV-2, surgió a fines de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei en China, provocó un brote de neumonía viral inusual, altamente transmisible y patógeno que amenazó la salud humana y condujo la seguridad pública a una emergencia sanitaria mundial de salud sin precedente, para convertirse en una pandemia. (3,4) Antes del mes de diciembre de 2019 fueron detectados en Wuhan, China grupos de casos de neumonía de etiología desconocida y el 9 de enero de 2020, un nuevo coronavirus, 2019-nCoV (nombre temporal), fue oficialmente identificado como el agente causal de estos brotes de neumonía viral en Wuhan. (5) En las siguientes semanas, el virus se propagó rápidamente dentro de China, y un incremento en el número de casos apareció en otros países. El 30 de enero de 2020, el Comité Internacional de Emergencia de Reglamentaciones de Salud Pública considero suficientes los criterios para considerarlo una Emergencia de Salud Pública Internacional de Preocupación. (6, 7) La Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró la enfermedad COVID-19 el 11 febrero de 2020 (8) y el mismo día el virus fue nombrado SARS-COV-2 por el Comité Internacional en la Taxonomía de Virus (9) Posteriormente, un grupo de virólogos en China sugirió renombrar al virus como SARS-COV-2 y se mantendría el nombre de la OMS a la enfermedad que causa, la COVID-19.(10) El 11 de marzo de 2020, la OMS caracterizó a la COVID-19 como una pandemia.(11) En

Cuba, coincidiendo con esta fecha se reportaron los primeros casos confirmados de COVID-19, informado por el Laboratorio Nacional de Referencia de Virus Respiratorios (LNRVR) del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), correspondiente a tres turistas italianos (Lombardía) que presentaban sintomatología respiratoria (12,13). Fue declarada por autoridades del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) del país el comienzo de la fase de transmisión autóctona limitada el 7 de abril de 2020. (13)

La elevada tasa de morbilidad y mortalidad proporcionó la investigación acelerada del SARS-CoV-2 globalmente, lo que permitió la producción de vacunas acortando los procesos de producción no experimentados en el pasado, y el desarrollo de ensayos clínicos a nivel mundial que permitieran conocer la respuesta de anticuerpos protectores frente a las vacunas desarrolladas. En julio de 2021 eran ya cuatro las vacunas aprobadas para su uso por parte de la OMS, la Agencia Europea de Medicamentos y la Agencia Federal de Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, del inglés, Food and Drug Administration): Comirnaty® de Pfizer BioNTech, Spikevax® de Moderna, Vaxzevria® de AstraZeneca y COVID-19 Vaccine® de Janssen (14)

Cuba desarrollo 5 candidatos vacunales, entre ellos, el instituto Finlay de vacunas (IFV) como titular de las vacunas SOBERANAS, y el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología como titular de la vacuna Abdala (CIGB). El 26 de marzo de 2021 ya se estaban realizando ensayos de fase 3 con SOBERANA 02 y Abdala. (15) El Centro de control estatal de medicamentos y dispositivos médicos (CECMED) debido la alta tasa de incidencia de casos, autorizó el uso de emergencia del candidato vacunal SOBERANA 02 que empezó con los trabajadores de la Salud que estaban en la primera línea de atención al paciente. Ese estudio empezó en la Habana como un estudio de intervención que finalizó en mayo. (15) Actualmente el 90,3% de la población cubana posee el esquema completo de vacunación.

Los niveles o títulos de anticuerpos se utilizan como biomarcadores sustitutos de la eficacia de la vacuna. Se espera una caída en los niveles de anticuerpos

lentamente con el tiempo después de la vacunación. Se han observado hallazgos similares después de la administración de vacunas contra el COVID-19 (16). Sin embargo, no hay datos suficientes para sugerir que esta caída se correlaciona con una disminución en la protección contra el virus SARS-CoV-2 (correlatos de protección). Como resultado, el correlato de protección y un umbral protector de los niveles de anticuerpos para la vacuna COVID-19 es actualmente desconocido (17)

La estimación de la eficacia de las vacunas en los estudios y países ha sido difícil desde que comenzaron a circular variantes. De hecho, la inmunidad debida a las vacunas y/o infección natural, el comportamiento de la población y las políticas de salud pública varían enormemente entre países y las medidas de eficacia se ven afectados por estas variaciones, así como por la disminución de la inmunidad con el tiempo. Esta disminución de la inmunidad ha sido confirmada en varios estudios observacionales que reportan una disminución de la eficacia contra la infección 5-6 meses después de la segunda dosis, aunque esta disminución ha sido menos pronunciada para hospitalizaciones o evolución a una forma grave de la enfermedad. (18)

El 30 de julio de 2021, Israel se convirtió en el primer país en dar una dosis de refuerzo de Pfizer contra COVID-19 a todas las personas mayores de 60 años que habían sido inmunizados al menos 150 días antes. A las 2 semanas después la dosis de refuerzo, hubo una probabilidad 11,4 veces mayor de infección y una probabilidad >10 veces menor de enfermedad grave. Contra la variante Delta, la eficacia de la tercera dosis de Pfizer fue de aproximadamente 95%, valor similar a la eficacia de la vacuna original, que se había reducido de 85% a 75% contra formas severas. (19)

Del mismo modo, los datos de Spikevax 1 (Moderna) mostraron que una dosis de refuerzo aumentó los títulos de neutralización contra el tipo salvaje (3,8 veces), variantes beta (32 veces) y variante delta (42 veces) en comparación con los títulos posteriores a la segunda dosis. (20)

Con la llegada de la variante Ómicron los institutos titulares de las vacunas cubanas concluyeron que la respuesta inmune de las vacunas cubanas también disminuía, en un aproximado de ocho meses después de completado el esquema de vacunación. La estrategia de dosis de refuerzo fue concebida entre el Minsap y BioCubaFarma donde se utilizaría una estratificación por grupos de riesgo: la Prioridad 1 serían los trabajadores de la salud y BioCubaFarma, trabajadores del turismo, aduana (fronteras), transportistas, maestros y profesores, combatientes del Minint y el Minfar.

El IPK comenzó a aplicar la dosis de refuerzo en noviembre-diciembre de 2021. El propósito de esta investigación fue evaluar la respuesta Inmune humoral posterior a la reactivación con la vacuna SOBERANA 01 en Trabajadores del IPK 1 mes después de aplicado el refuerzo.

I.1 Planteamiento del Problema

¿"Cuál será la respuesta inmune humoral de los trabajadores del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí posterior a la reactivación con SOBERANA 01"?

II. Objetivos:

II.1. Objetivo general:

Evaluar la respuesta Inmune humoral posterior a la reactivación con la vacuna SOBERANA 01 en Trabajadores del IPK, 2022.

II.2. Objetivos específicos

1- Determinar la frecuencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 posterior a la reactivación en Trabajadores del IPK, 2022.

2- Relacionar la presencia de anticuerpos con variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicos.

III. Revisión bibliográfica:

III.1. Características generales de los coronavirus: SARS-COV-2

III. 1.1. Taxonomía y Filogenia

Los Coronavirus pertenecen a la subfamilia *Orthocoronavirinae*, comúnmente conocidos como coronavirus, pertenecen al Grupo IV de virus monocatenario positivo, al Phylum Ribovira, Orden *Nidovirales*, y suborden *Coronidovirineae*, familia *Coronaviridae*, y la principal subfamilia *Coronavirinae* que se subdivide sobre la base del análisis filogenético en los géneros Alphacoronavirus (α CoV), Betacoronavirus (β -CoV), subgénero Sarbecovirus, especie virus SARS, Gammacoronavirus (γ -CoV) y Deltacoronavirus (δ -CoV) que contienen 17, 12, 2 y 7 especies únicas, respectivamente (ICTV 2020). (21)

Los coronavirus en general, reciben su nombre del latín *cōrōna*, que significa corona, debido a que la superficie del virus presenta proyecciones en su envoltura observadas al microscopio electrónico (ME) en forma de anillo que les confiere el aspecto de una corona solar. (22)

El análisis filogenético de todo el genoma muestra que el SARS-CoV-2 está agrupado con el SARS-CoV y los coronavirus relacionados con el SARS (SARSr-CoV), que se encuentran en los murciélagos, lo que lo coloca en el subgénero Sarbecovirus del género Betacoronavirus (linaje B). Dentro de este clado, el SARS-CoV-2 se agrupa en un linaje distinto junto con cuatro coronavirus aislados de murciélago herradura (RaTG13, RmYN02, ZC45 y ZXC21), así como un nuevo coronavirus identificado recientemente en pangolines, que se agrupan en paralelo al SARS-COV-2. (23) En figura 1 se puede observar el árbol filogenético de coronavirus.

III. 1.2. Estructura y composición

Los coronavirus (CoVs) son partículas envueltas, con simetría icosaédrica y un diámetro aproximado entre 80 a 220 nm, constituidos por una sola cadena de ARN (ácido ribonucleico), de sentido positivo, monocatenario, no segmentado (+ssRNA) de aproximadamente 26 a 32 kDa de tamaño, con 29 903 nucleótidos, uno de los genomas de mayor tamaño conocidos. El virión de los coronavirus tiene un nucleocápside compuesta por ácido ribonucleico y la nucleocápside, proteína fosforilada (N), la cual se inserta en la bicapa fosforilada al amparo de las espículas de proteína. La proteína de la membrana (M), es una glicoproteína transmembrana, tipo III de 20 a 35 kDa, que forma la matriz en contacto con la nucleocápside y la proteína de envoltura (E) ubicadas entre la proteína de la espícula (S) (del inglés, *spike*) de 180 a 220 kDa. Esta es responsable de la unión al receptor y facilita su fusión con la membrana célula huésped. Los CoVs son nombrados así, basados en su apariencia característica de corona (Figura 2). (25)

Algunos CoVs específicamente los miembros de Betacoronavirus subgrupo A, también llamado subgénero Embecovirus; tienen también en la superficie una proteína adicional más corta llamada esterasa-hemaglutinina. (26,27)

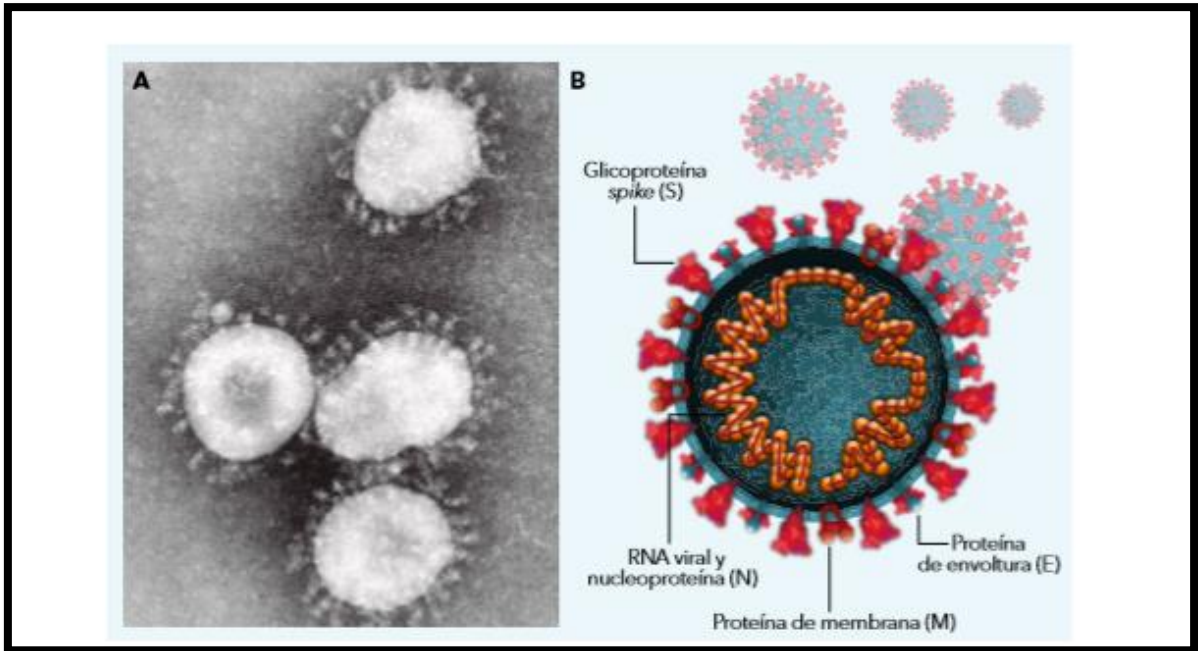


Figura 2. (A) Microfotografía del virión del CoVs. (B) Esquema de la estructura del SARS-CoV-2, donde se destacan las proteínas estructurales S, E, M al interior de la envoltura esta la nucleocápside viral. (24)

III.2. Genoma:

El genoma del SARS-CoV-2 está constituido por ARN monocatenario no segmentado de cadena sencilla, con polaridad positiva, (+ssRNA) y con una longitud aproximada de 30000 ribonucleótidos (30kb). El genoma del SARS-CoV-2 consta de dos regiones, las no codificantes (UTR, de inglés *untranslated region*) en los extremos 5' y 3' y 12 marcos de lectura abiertos (ORF, de inglés, *Open Reading Frames*) que codifican para 27 proteínas. La mayoría de las proteínas codificadas en dichos ORFs (16 proteínas) no forman parte de la estructura del virión, y por lo tanto se denominan no estructurales (NS) (Figura 3). La mayoría de estas proteínas NS del SARS-CoV-2, tienen una identidad de secuencia de aminoácidos superior al 85% con el SARS-CoV. El genoma cuenta con un extremo 5' no codificante, el cual tiene un gorro o *cap* (capuchón metilado) y un

extremo 3' con una cola de poli (A), que le permiten actuar como ARN mensajero (ARNm) (28,29).

La otra tercera parte del genoma, hacia el extremo 3', contiene los ORFs correspondientes a las proteínas estructurales (S, E, M y N) y otras nueve proteínas pequeñas, las proteínas accesorias.

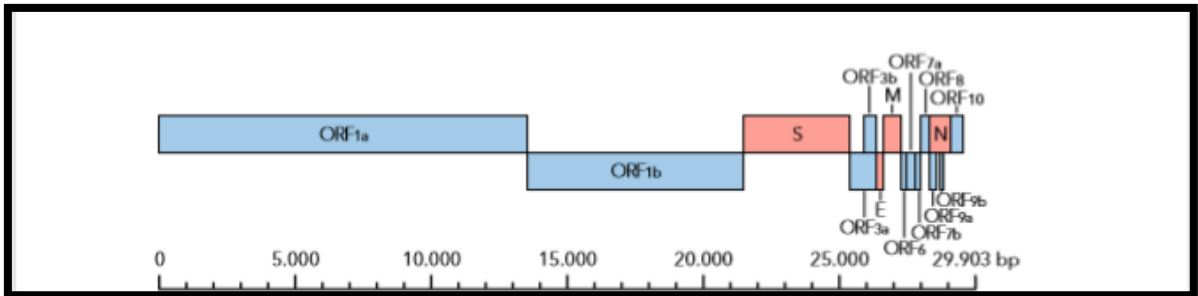


Figura 3. Estructura del genoma del SARS-CoV-2; dos tercios del ARN viral, ubicados en el extremo 5' (ORF1a y ORF 1b), generan dos poliproteínas NS 1a y 1ab. La parte restante del genoma del virus codifica para otras proteínas de función desconocida, y para las cuatro proteínas estructurales: la S (spike), la E (envoltura), la M (membrana) y la N (nucleocápside). (24)

III.2.1 Ciclo Replicativo Viral

Para iniciar la infección, la proteína S se une al receptor en la célula, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) para unirse a las células del hospedero en las células epiteliales. La proteína S es encendida por una serina proteasa celular (TMPRSS2), en dos subunidades, S1 y S2. La subunidad S1 contiene el dominio de unión al receptor (RBD, del n inglés *Receptor Binding Domain*), y la subunidad S2 contiene una molécula que determina la fusión a la membrana celular (30). Luego de su entrada a la célula, mediante la formación de una endosoma, el virus es desenvuelto y el ARN viral es liberado al citoplasma, para iniciarse en los ribosomas la traducción. De los genes ORF 1a y 1b, codifican proteínas, las cuales realizan la replicación del genoma viral (Figura 4). (24) Las proteínas estructurales codificadas hacia el extremo 3' son traducidas a partir de ARNms

transcritos desde la hebra de polaridad negativa, que se forma durante la replicación del genoma viral. Estas proteínas estructurales son posteriormente ensambladas con el genoma viral, en las membranas celulares internas del retículo endoplasmático y aparato de Golgi, formándose las nuevas partículas virales. Finalmente, las vesículas que contienen los nuevos viriones se fusionan con la membrana celular para liberar los virus al exterior de la célula, proceso llamado exocitosis. (30)

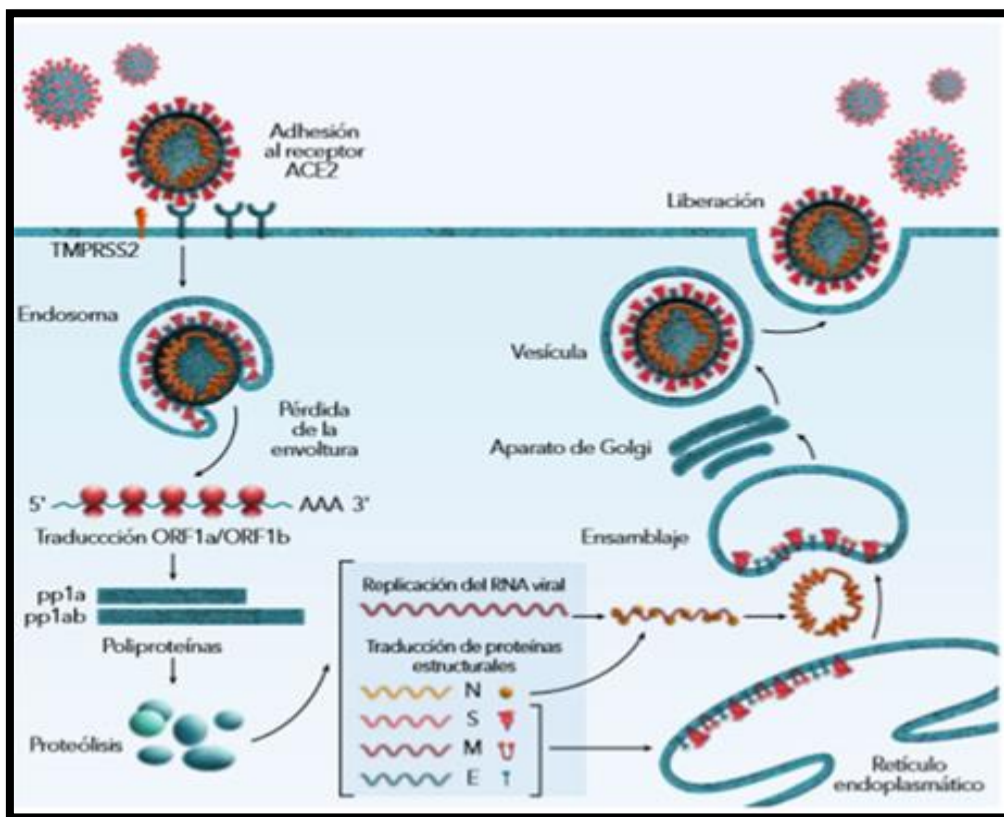


Figura 4. Ciclo replicativo del SARS-CoV-2. (24)

III.3. Características clínicas y epidemiológicas.

El curso de la COVID-19 es variable y va desde la infección asintomática, hasta la neumonía grave que requiere ventilación asistida y es frecuentemente fatal. La forma asintomática y las presentaciones leves son más comunes en niños,

adolescentes y adultos jóvenes. En tanto que las formas graves se observan más en los adultos mayores de 65 años con antecedentes patológicos personales tales como la diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hipertensión, enfermedades cardiovasculares, entre otras; y el fenómeno senescencia que afecta las personas mayores.(31) Los síntomas más comunes son fiebre, tos seca, mialgia, cefalea, fatiga, disnea y otros síntomas de afectación del tracto respiratorio alto, como dolor de garganta, congestión nasal y rinorrea, se presentan en menos del 15% de los casos. Estos síntomas digestivos se correlacionan con una frecuencia de detección y carga viral mayor en la materia fecal, así como las alteraciones de los sentidos del gusto (ageusia) y del olfato (anosmia). (32)

Entre las complicaciones más comunes de la COVID-19 se menciona la neumonía, presente virtualmente en todos los casos graves, el síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), la miocarditis, el daño renal agudo y las sobreinfecciones bacterianas, frecuentemente en la forma de choque séptico. (33)

El nuevo coronavirus SARS-CoV-2, surgió a fines de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei en China, provocó un brote de neumonía viral inusual, altamente transmisible y patógeno que amenazó la salud humana y condujo la seguridad pública a una emergencia sanitaria mundial de salud sin precedente, para convertirse en una pandemia. (3,4)

Antes del mes de diciembre de 2019 fueron detectados en Wuhan, China grupos de casos de neumonía de etiología desconocida y el 9 de enero de 2020, un nuevo coronavirus, 2019-nCoV (nombre temporal), fue oficialmente identificado como el agente causal de estos brotes de neumonía viral en Wuhan. (5)

El 11 de febrero de ese mismo año el comité de taxonomía lo nombro SARS-CoV-2 y la OMS lo renombró la enfermedad COVID-19, producida por el SARS-CoV-2. El virus es adquirido de una persona a otra, a través de la tos o el estornudo; y las gotas flugge pueden alcanzar hasta 90 cm de distancia. Otra vía de gran importancia, es el contacto directo de personas sanas con las mucosas o secreciones de pacientes con fómites. (34) La transmisión puede ocurrir por vía

aérea a distancia mediante góticas de pequeño tamaño con capacidad para llegar al alveolo pulmonar, que pueden alcanzar hasta docenas de metros en pacientes hospitalizados a los que se les realiza aspiración de secreciones respiratorias. La vía fecal-oral podría ser otra ruta de transmisión, pero aún no se disponen estudios sobre impacto esta ruta de contagio. (35) La COVID-19 afecta a todas las edades se presenta de forma leve en niños, adolescentes y adultos jóvenes. No obstante, puede ser severa en personas con antecedentes patológicos personales, y el periodo de incubación es de 4 días con un rango de 2 a 14 días. (36)

III.4. Situación epidemiológica y circulación de variantes del SARS-CoV-2 en Cuba.

El 11 de marzo en Cuba fueron detectados los primeros casos, se trataba de 3 turistas italianos provenientes de la ciudad de Lombardía, Italia. El diagnóstico fue realizado por el Laboratorio Nacional de Referencia de Virus Respiratorios (LNRVR) del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK). El 7 de abril 2020 fue declarada por autoridades del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) del país el comienzo de la fase de transmisión autóctona limitada. (13) Con la llegada de la variante delta, se produjo un aumento sostenido de pacientes infectados con el SARS-CoV-2 y de fallecidos. Cuba presentaba la situación más compleja debido al incumplimiento de las medidas sanitarias, la movilidad de la población y la presencia de la variante delta considerada como la más transmisible. El MINSAP pasó a ejecutar el plan intersectorial, que había elaborado dos meses antes junto con la Defensa Civil, aprobado por las autoridades centrales del gobierno a finales de enero 2021. En este plan, denominado Plan de Enfrentamiento a la COVID-19, se estableció entre las principales prioridades el fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica nacional para una identificación temprana de los casos. Así, se procedió a la investigación y seguimiento de todos los contactos familiares, vecinos con la colaboración de los estudiantes de medicina que hacían la pesquisa casa por casa y participaron también diferentes organizaciones masas, los centros de trabajo seguían el protocolo establecido por el MINSAP. Se incluyó su seguimiento en centros de aislamiento y hospitales previamente identificados

en el territorio nacional. (37) También mediante los medios de difusión informando los casos y las medidas a seguir personalmente por el director de epidemiología. A todas las personas que pudieron haber contraído la COVID-19, y a sus contactos, se les realiza la prueba molecular de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT), que identifica la presencia del virus en muestras de secreción orofaríngea. El IPK coordinó y entrenó a los profesionales de la red de laboratorios de salud pública en el país, a través de los cuales se encuentra descentralizada la capacidad de diagnóstico de la COVID-19. (37,38)

En Cuba se presentaron tres olas epidémicas, la primera desde el 11 de marzo hasta el 19 de julio del 2020, con un pico de 847 casos activos. La segunda desde principios de septiembre hasta el 19 de noviembre, con un pico de 676 casos activos y la tercera desde esa fecha hasta julio del 2021 que tuvo los peores indicadores. Se incrementaron notablemente las pruebas diagnósticas y las muestras en los laboratorios de biología molecular de las provincias más afectadas. (38)

A nivel mundial, se han identificado cinco variantes de preocupación: alfa, beta, gamma, delta, y Omicrón; adicionalmente, existen actualmente dos variantes de interés (VOI): Lambda y Mu. En febrero de 2020, Cuba estableció la vigilancia de laboratorio para el SARS CoV-2, incluida la vigilancia genómica, la que permitió determinar la presencia de la variante D614G en los primeros casos importados y autóctonos. Este variante viral siguió circulando en 2020. La distribución de las variantes cambió con el tiempo según el surgimiento y expansión de aquellos con la mayor ventaja evolutiva. A fines de diciembre de 2020, cuatro variantes, D614G, Alfa, Beta y A.2.5, fueron detectados en el país, con predominio de D614G. En enero de 2021, se detectaron seis variantes más incluyendo la cepa original de Wuhan, B.1.575.1, Zeta/P2, así como los patrones mutacionales 1, 2 y 3. La D614G aumentó siendo del 82,3% en enero. Dos nuevas variantes (patrón 4 y B.1.623) se detectaron en febrero, acompañadas de un aumento en la detección de la variante beta (14,9%). Aunque la variante D614G fue aun circulando ampliamente, su detección disminuyó en ese período. (38, 39)

En marzo, se detectó la variante B.1.1.519 y en este momento, Beta y D614G circularon con similar frecuencia. De abril a mayo se observó un aumento en la circulación de Beta. Además, se detectaron las variantes Gamma/P1, B.1.1.523 y Delta (B.1.617.2) por primera vez en abril. Delta aumentó rápidamente y ya para septiembre, el 100% de las muestras estudiadas se clasificaron como Delta. En paralelo, la variante Beta disminuyó del 60,58% en mayo a 5,93% en agosto. (38, 39)

Se informaron múltiples variantes en la mayoría de las provincias cubanas; sin embargo, Beta, detectada inicialmente en La Habana a finales de diciembre fue progresivamente extendiéndose a otras provincias. Por otro lado, Delta, primero detectado en la provincia de Matanzas, en dos meses se extendió rápidamente al resto de las provincias. La introducción de ambas variantes Beta y Delta en una provincia se llevó a cabo acompañado por un rápido aumento en la incidencia de casos. La variante Alfa fue primero detectada en diciembre, en febrero se detectó nuevamente en La Habana y un mes después en Santiago de Cuba y no es hasta abril que se registran casos con esta variante se reportaron en otras provincias. Sin embargo, esta variante no fue asociada a un brote en ninguna de estas provincias. La variante A.2.5, descrita originalmente en California, EE. UU. fue identificada en Cuba a finales de diciembre de 2020. (38, 39).

El primer caso de COVID-19 atribuido a la variante ómicron fue detectado en Cuba durante la epísemana 48 de 2021, solo unos días después que la OMS declaró esta variante como de preocupación. Inicialmente, esta variante fue detectada en viajeros, provenientes principalmente de países africanos o los EE. UU. donde esta variante ya había sido reportada. Todos los aislamientos cubanos fueron clasificados como BA.1. Como en otros países, ómicron surgió en Cuba cuando delta era la variante circulante predominante y lo desplazó rápidamente, debido a su mayor tasa de transmisión, infectividad y evasión de la inmunidad inducida por vacunas. En ese momento, Cuba estaba en una situación y contexto epidemiológico favorable con bajas cifras de nuevos casos y número extremadamente bajo de muertes principalmente debido a los altos niveles de

inmunidad atribuible a la alta cobertura de vacunación y a la inmunidad natural adquirida como consecuencia de una infección previa durante la ola delta. Cuando se detectó ómicron en Cuba el 91,1% de las personas en Cuba habían recibido al menos una dosis de las vacunas cubanas Abdala o SOBERANA y el 83% de ellos habían completado el calendario de vacunación de 3 dosis. Sólo el 3,9% tenía recibió una cuarta dosis (de refuerzo).

Un resumen del parte del cierre del 18 de noviembre de 2022 en Cuba concluye que se han diagnosticado 1 millón 111 mil 345 pacientes con la enfermedad, se acumulan 8 mil 530 fallecidos con una letalidad de 0,77% vs 1,03% en el mundo y 1,58% en las Américas; (40)

III.5. Diagnóstico Viroológico del SARS-COV-2

En la práctica diaria, la sospecha de infección respiratoria por SARS-CoV-2 está basada en la incidencia alta, los datos epidemiológicos, así como las manifestaciones clínicas y radiológicas. El diagnóstico para la confirmación de la infección viral está basado en el uso de las herramientas de biología molecular. (41) El aislamiento viral en cultivos celulares puede realizarse utilizando las líneas Vero y Huh7, seguido de la identificación mediante inmunofluorescencia empleando anticuerpos específicos contra la NP. (42)

El empleo de los ensayos serológicos podría ser útil para conocer los casos asintomáticos y para los estudios de seroprevalencia dentro de una población determinada. Inicialmente, se desarrolló una prueba de ELISA para detectar IgM e IgG contra la proteína NP del SARS-CoV-2. Este tenía el inconveniente de que podía informar resultados falsos positivos, debido a la reactividad cruzada contra otros CoVs que causan resfriado común. En la actualidad el diagnóstico serológico (ELISA para IgG e IgM) se diseñó utilizando la NP del coronavirus del murciélago que presenta una identidad genética del 92% y no muestra reactividad cruzada con la del resto de los CoVs (43,44,45). En general, los estudios realizados hasta ahora, con los estuches comerciales disponibles y las pruebas de ELISA, muestran que la seroconversión (IgM e IgG) ocurre en los primeros 7 días de iniciados los síntomas en el 40% a 50% de los pacientes, y para el día 15 en casi

el 100% de ellos, aunque los resultados informan gran variabilidad en cuanto al momento de aparición de los anticuerpos y en cuanto a la sensibilidad y especificidad. (45,46)

Esta prueba molecular demuestra ser la ideal en la fase temprana, en tanto que la serológica tiene mayor utilidad en la fase más avanzada. Sin embargo, debido a que en muchas ocasiones es difícil determinar en qué fase se encuentra el paciente, la combinación de ambas pruebas mejoraría la probabilidad de un diagnóstico eficaz y oportuno de la infección. (46)

Desde el comienzo del brote epidémico se utilizó la secuenciación del genoma viral como método para conocer las variantes virales circulantes. Esta técnica permitió identificar tempranamente la circulación y diseminación de las variantes D614G, Beta, Delta y finalmente Ómicron. Esta técnica requiere de un equipamiento costoso. (47)

También se ha desarrollado pruebas serológicas rápidas con sensibilidades y especificidades variables. Las pruebas rápidas basada en el análisis inmunocromatográfico con flujo lateral en fase sólida, para la detección rápida y diferenciada de los anticuerpos IgG y IgM contra el nuevo CoVs en sangre, plasma o suero sanguíneo. La inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico, cuyas principales ventajas son la simplicidad y rapidez de la prueba, estudios epidemiológicos, desventajas menor sensibilidad y falsos negativos. (48)

Un año después de la detención de los primeros casos de COVID-19 en Cuba, el centro de inmunoensayo (CIE) obtuvo el registro sanitario del UMELISA SARS-CoV-2 IgG, esta prueba es basada en la tecnología SUMA un sistema ultramicroanalítico de ELISA modificado, una prueba de diagnóstico de la enfermedad, con materiales biológicos nacionales. Por tanto, se desarrollaron estuches dirigidos a determinar IgM, IgG y anticuerpos totales, además de evaluar la respuesta a los candidatos vacunales cubanos y a las vacunas. (14)

III.6. Respuesta Inmune al SARS-CoV-2 y patogénesis

La respuesta inmune es la primera línea de defensa contra los patógenos y eliminación viral, pero para el SARS-CoV-2 la cinética de la respuesta antiviral en los infectados es uno de los elementos esenciales, que condicionan la severidad de la enfermedad con la aparición de la tormenta de citocinas. Esto se debe a una desregularización inmune como uno de los mecanismos para el daño a nivel de órganos. (49,50)

III.6.1. Respuesta Inmune innata

Los receptores celulares (de reconocimiento de patógenos) reconocen algunos componentes virales para generar una respuesta antiviral, esta interacción induce la activación de la vía de los interferones como el factor regulador del interferón 3 (IRF3) y el factor regulador del interferón 7 (IRF7); con su consecuente translocación del factor nuclear kappa B (NFkB) y la proteína activadora (AP-1). Estos estimulan la expresión de genes, que codifican muchas de las proteínas necesarias para la inflamación, tales como factor de necrosis tumoral (TNF), citoquinas (IL-1, IL-6 e IL-12) y quimioquinas (CCL2 y CXCL8), las que promueven la producción de interferón tipo I (IFN-a e IFN-b) (49). Estos limitan la replicación viral, promoviendo la fagocitosis por los macrófagos, y facilitando la protección de células no infectadas. Los CoVs están particularmente adaptados para evadir la respuesta inmune. Los patrones moleculares asociados a patógenos (PMAP) están asociados a la proteína "S" que se une al receptor ACE2 de la célula huésped, y se fusiona con la membrana celular. Así se forma una endosoma, donde el virus ingresa junto con su ARN a la célula infectada. Los PAMPs son reconocidos por receptores tipo toll (TLR) presentes en endosomas como TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9. (50) Este evento de reconocimiento lleva a la activación de varias vías de señalización y de factores de transcripción, como el NFkB y la AP-1. La activación excesiva del sistema inmune innato causa la denominada "tormenta de citoquinas" y ocasiona daño del sistema microvascular y activa el sistema de coagulación y la inhibición de la fibrinólisis. La coagulación intravascular diseminada, conduce a un trastorno generalizado de la microcirculación que conlleva al fallo multiorgánico y muerte. (51)

III.6.2. Respuesta inmune adaptativa

Cuando la inmunidad innata no puede contener la infección, se pone en marcha la inmunidad adaptativa que genera 2 tipos de respuesta: la respuesta inmunitaria celular, mediada por linfocitos T y la respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos (linfocitos B). (52)

En la respuesta inmune humoral los antígenos virales son reconocidos por los anticuerpos contra la proteína S (o sus subunidades: S1 y el fragmento que incluye la RBD), y la proteína N. Los anticuerpos totales o los diferentes isotipos IgM suelen aparecer entre los días 5-7 tras la infección, mientras que los de tipo IgG son detectables a las dos semanas tras la infección, con un valor máximo al día 21. (52,53) Los de tipo IgA tienen una cinética de aparición similar a la IgM, pero pueden detectarse durante un periodo de tiempo más largo. Sin embargo, una de las características de la infección por el SARS-CoV-2 es que los anticuerpos IgM, IgA e IgG pueden ser detectados tanto de forma secuencial como simultánea. En cuanto al momento y duración de la seroconversión (cambio de IgM a IgG), depende sobre todo del tiempo transcurrido tras la infección, de su gravedad y del antígeno utilizado para la determinación, pudiendo detectarse la presencia de IgM en ocasiones hasta dos meses tras el comienzo de los síntomas. (53)

La respuesta inmune específica celular consiste en la activación de linfocitos T específicos frente al SARS-CoV-2, y está constituida por diferentes componentes celulares en los que se encuentran: Linfocitos TCD3+ CD4+, linfocitos TCD3+ CD8+y linfocitos B. En un subgrupo de enfermos con infección por SARS-CoV-2 la activación de ambos tipos de linfocitos, parece ser desproporcionada siendo esta mayor en aquellos con manifestaciones clínicas graves, la linfopenia es una de las características común en estos pacientes. (54)

III.7. Vacunas anti-SARS-CoV- 2.

En el año 2020 con la emergencia del nuevo CoVs la elevada tasa de morbilidad y mortalidad proporcionó líneas de investigación aceleradas a nivel mundial, lo que permitió la producción de vacunas acortando los procesos de producción no

experimentados en el pasado. Igualmente, se desarrollaron ensayos clínicos que permitieran conocer la respuesta de anticuerpos protectores frente a las vacunas desarrolladas. A finales de 2020 comenzaron las campañas masivas de vacunación, priorizando a los más vulnerables en varios países. En julio de 2021 eran ya cuatro las vacunas aprobadas para su uso por parte de la OMS y la Agencia Europea de Medicamentos, y la Agencia Federal de Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, del inglés, Food and Drug Administration) Comirnaty® de la PfizerBionTech, Spikevax® de Moderna, Vaxzevria® de AstraZeneca y COVID-19 Vaccine® de Janssen (55). Existen otras 16, que fueron aprobadas en diferentes países fuera de la Unión Europea (UE). De las 29 vacunas en fase III, cinco utilizan una plataforma de vectores de adenovirus no replicativas, diez utilizan la tecnología clásica de la inactivación vírica, cuatro de ARN mensajero envuelto en una cobertura lipídica, nueve están basadas en subunidades proteicas y la última es una vacuna ADN. En estos estudios se ha medido la inmunidad humoral y celular, que ha sido satisfactoria (56).

III.7.1. Vacunas Cubanas

Con la llegada del SARS-CoV-2 que causa la COVID-19, Cuba puso en práctica la producción de sus propias vacunas. Décadas de experiencia e inversión en los sectores biotecnológico y farmacéutico, que en sus primeras etapas contó con el apoyo de la Organización de las Naciones Unidas y otras organizaciones internacionales. Esto permitió a la industria dirigir recursos de forma rápida y eficaz hacia el desarrollo de vacunas de emergencia. El Instituto Finlay de vacunas (IFV) ante la situación de emergencia global, la experiencia en la investigación de vacunas profilácticas y la revisión de diseños de ensayos clínicos internacionales en vacunas específicas anti-SARS-CoV-2, desarrolló de manera acelerada los candidatos vacúnales cubanos SOBERANAS (SOBERANA 01, 02 y Plus). (57,58) Las vacunas SOBERANA Plus y 01 han sido concebidas como vacuna de refuerzo con capacidad de reactivar la respuesta inmune preexistente y con potencial protección a la reinfección a nuevas cepas, tanto en convalecientes y personas inmunizadas con otras vacunas. (59) En la evaluación los resultados

de la reactogenicidad y la inmunogenicidad de cada vacuna fueron satisfactorios. El 20 de agosto 2021 el Centro Estatal de control de Medicamentos (CECMED), autorizo los ensayos clínicos de emergencia a las vacunas SOBERANAS. (60)

El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) es la entidad titular de la vacuna Abdala. El candidato vacunal tiene como principio activo la proteína recombinante, molécula que ha sido expresada en la levadura *Pichia pastoris* y adyuvada en hidróxido de aluminio. En estudios clínicos Fase I/II en 792 voluntarios ABDALA, generó un elevado nivel de seroconversión de anticuerpos anti-RBD en más del 90% de los individuos vacunados, con edades entre 19 y 80 años de edad, tan solo 14 días luego de la última inmunización. Además, se ha evidenciado la funcionalidad de los anticuerpos inducidos, existiendo una correlación positiva en ensayos de inhibición de la unión al receptor del virus SARS-CoV-2 y en estudios de neutralización viral. La vacuna Abdala demostró una eficacia de 92.28% en la reducción del riesgo de padecer enfermedad sintomática por COVID-19, en comparación con el grupo placebo, esta vacuna es eficaz y cumple con los requisitos exigidos por la OMS. (61) El candidato vacunal Mambisa es un candidato que se administra de forma intranasal como aerosol, y forma parte de un proyecto de investigación China-Cuba denominado pan-corona, que busca una vacuna recombinante que incluya los antígenos conservados en los CoVs de modo que induzca una respuesta inmune frente a este reto viral. (61)

Un cuadro describiendo las principales vacunas internacionales y cubanas se muestra en anexo 1.

IV. Materiales y métodos

IV.1. Diseño general del estudio

Se realizó un estudio descriptivo con componente analítico para evaluar la respuesta Inmune humoral posterior a la reactivación con la vacuna SOBERANA 01 en Trabajadores del IPK, 2022.

IV.2. Universo de estudio

El universo del estudio estuvo conformado por trabajadores del IPK vacunados con una dosis de refuerzo en el periodo noviembre y diciembre 2021. La muestra fue colectada 1 mes después de la reactivación. Se incluyeron en el estudio 418 individuos. Se invitó a todos los trabajadores del IPK a participar de forma voluntaria, entregando su consentimiento informado. (Anexo 2)

IV.2.1 Muestras

Se colectaron muestras de sangre total y suero de 418 individuos mediante punción venosa.

Criterio de inclusión: Todos los trabajadores que dieron su consentimiento informado para la colecta de muestra un mes posterior a la reactivación.

Criterio de exclusión: Los trabajadores con enfermedades crónicas no compensadas, o enfermedad aguda en el momento de la reactivación o los que no dieron su consentimiento informado.

IV.2.2 Operacionalización de las variables

Se tomaron las variables identificadas en la base de datos del IPK, descritas a continuación:

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variables.	Operacionalización		
	Tipo de variable	Escala	Descripción
Edad	Cuantitativa continua	– 19 a 30años – 31 a 40 años – 41 a 50 años – 51 a 60 años – 61 a 70 años – 71 a 80 años	Según edad años cumplido
Sexo	Cualitativa nominal	– Masculino – Femenino	Según constitución genética Biológica
	Dicotómica		
Color de piel	Cualitativa nominal politómica	– Blanco – Negro – Mestizo	Según la raza
APP	Cualitativa nominal Politómica	– HTA – Asma bronquial – Diabetes Mellitus – Alergia – Enfermedad de la glándula tiroidea – Cáncer – Enfermedad cardiaca	Según padecimiento
Tratamiento	Cualitativa nominal Politómica	– Enalapril – Hidroclorotiazida – Amlodipino – Captopril – Salbutamol – Metformina – Insulina – Loratadina – Benadrilina – Levotiroxina – Ácido fólico	Según el medicamento
Antecedentes de COVID-19 entre la vacunación y la dosis de refuerzo	Cualitativa nominal Dicotómica	– Si – No	Según enfermedad
Respuesta inmune en vacunados prueba inmunocromatográfica(IgG)	Cualitativa nominal Dicotómica	– Positivo – Negativo	Según los resultados
Respuesta inmune en vacunados UMELISA SARS-COV-2 IgG	Cualitativa nominal Dicotómica	– Positivo – Negativo	Según los resultados

IV.2.3 Métodos e instrumentos de recolección de datos

La recolección de la información se realizó a partir de encuestas del personal de salud del IPK. Se crearon bases de datos en formato Microsoft Excel 97-2003 con la información de las variables, que se declaran en operacionalización de las variables.

Para el análisis de los datos y dar respuesta a los objetivos de esta investigación se crearon tablas de frecuencia absoluta y relativa para las variables cualitativas y gráficos de barra. Se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Versión 25 para Windows. Para la relación entre variables se empleó la prueba Chi- cuadrado de Pearson con el nivel de significación ≤ 0.05 .

IV.4. Consideraciones éticas

Toda la información utilizada en el estudio se conservó bajo los principios de máxima confiabilidad, y en ningún caso se reflejó la identidad de las personas. El uso de la misma fue únicamente con fines científicos. Todos los procedimientos serán realizados según lo aprobado por los Comités Internacionales para ensayos en humanos, como la Declaración de Helsinki y la Asamblea Médica Mundial, 2000 (62), así como a las normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y regulaciones legales vigentes en Cuba, y forma parte de la investigación “Estudio clínico, epidemiológico e inmunológico en vacunados con SOBERANA 02 o Abdala ” (CEI-IPK 22-21).

IV.4.1 Medidas de bioseguridad

Las muestras fueron recolectadas por personal especializado cumpliendo las normas de bioseguridad, el uso de batas sanitarias, gorro, guantes protectores oculares, (gafas) protectores faciales (careta), higiene de las manos con soluciones desinfectantes (hipoclorito y alcohol), etc. (63). Las muestras fueron transportadas y guardadas en empaques cumpliendo las normas de bioseguridad establecidas (64), los ensayos inmunocromatográficos y el UMELISA SARS-COV-2 IgG fueron realizados por personal calificado, siguiendo las normas de bioseguridad.

IV.5. Metodología:

IV.5.1. Ensayo inmunocromatográfico

El ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral es una prueba diagnóstica para detección cualitativa de anticuerpos. De la firma REALY TECH, China contiene una almohadilla coloreada, que contiene antígenos recombinantes de SARS-CoV-2 y un anticuerpo de control, ambos conjugados con oro coloidal. Además, contiene una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de prueba (líneas M y G) y una línea de control (línea C). La línea M está recubierta previamente con anticuerpos para la detección de IgM anti-SARS-CoV-2, la línea G está recubierta previamente con anticuerpos para la detección de IgG anti-SARS-CoV-2, y la línea C está recubierta previamente con un anticuerpo de la línea de control.

La muestra es colocada en el casete, 1 gota de suero y una gota de tampón. La IgM anti-SARS-CoV-2, si está presente en la muestra, se unirá a los conjugados SARS-CoV-2, formando una línea M coloreada y la IgG anti-SARS-CoV-2, si está presente en la muestra, se unirá a los conjugados SARS-CoV-2, formando una línea G coloreada.

Interpretación de los resultados

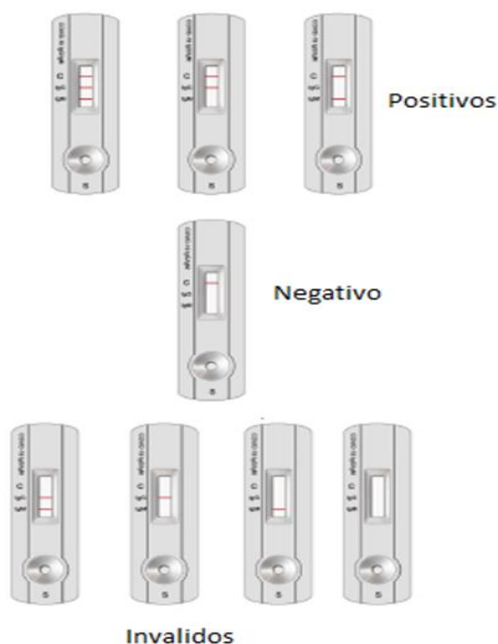
1- POSITIVO IgM: aparece la línea de color en la región de línea de control (C) y una línea de color aparece en la línea de prueba de la región IgM. El resultado es positivo para los anticuerpos COVID-19-IgM y es indicativo de infección primaria por SARS-CoV-2.

2-POSITIVO IgG: aparece la línea de color en la región de línea de control (C) y una línea de color aparece en la región de la línea de prueba IgG. El resultado es positivo para los anticuerpos COVID-19-IgG.

3- POSITIVO IgG e IgM aparece la línea de color en la región de línea de control (C), aparecerán líneas de dos colores en las regiones de línea de prueba IgG y IgM.

4- **NEGATIVO:** aparece la línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la prueba en regiones de línea IgG o IgM.

5- **NO VÁLIDO:** No aparece una línea en la región C.



(A)

Presentación:
Kit de 25 Pruebas



Componentes del Kit de Prueba:
25 cassetes de prueba
25 lancetas
25 pipetas de plástico
25 almohadillas de alcohol
1 buffer (reactivo)
1 manual de instrucciones



(B)

Figura 5: (A) Interpretación de los resultados de los ensayos inmunocromatográficos. (B) Ensayo inmunocromatográfico de la firma la REALY TECH, CHINA.

IV.5.2. UMELISA SARS-CoV-2 IgG

Es un ensayo inmunoenzimático indirecto, para la detección cualitativa anticuerpo IgG al SARS-COV-2 en suero o plasma. Usa como fase sólida placas de ultramicroELISA revestidas con una proteína recombinante y péptidos sintéticos representativos de las regiones inmunodominantes de las proteínas S y N del SARS-CoV-2.

En el UMELISA SARS-COV-2 IgG las muestras se incuban en los pocillos de las tiras y, si contienen anticuerpos específicos, estos se fijan a los antígenos del recubrimiento. La realización de lavados posteriores elimina los componentes de la muestra no fijados. Posteriormente se añade el conjugado anti-IgG humana / fosfatasa alcalina, el cual se unirá a los anticuerpos fijados en la reacción anterior, un nuevo lavado eliminará el conjugado en exceso al añadir un sustrato fluorogénico (4-metilumbeliferil fosfato), este será hidrolizado y la intensidad de la fluorescencia emitida permitirá detectar la presencia de anticuerpos al virus SARS-COV-2 en las muestras.

Procedimiento técnico:

1.- Preparación de las muestras y controles. Los controles se presentan en el estuche listo para el uso. Las muestras de suero o plasma se diluyen 1:21 con la solución de trabajo R2 (5 µL de suero o plasma + 100 µL de la solución).

2.- Adición de las muestras y controles a la tira de reacción. Coloque 10 µL de las muestras previamente diluidas y de los controles sobre los pocillos de la placa de reacción, de acuerdo con el siguiente esquema de distribución:

El Control Positivo (P) y el Control Negativo (N) deben añadirse de forma manual con una pipeta de precisión. Como Blanco (B) utilice la solución R2 de trabajo.

Se recomienda evaluar las muestras por duplicado. Si utiliza el programa UMELISA SARS-CoV-2 IgG para la interpretación automática de los resultados, debe colocar en las posiciones 1 y 2 la primera muestra, en las posiciones 3 y 4 la segunda y así sucesivamente.

3.- Incubación de las muestras y controles.

Incube las tiras durante 30 minutos a 37 °C en cámara húmeda previamente equilibrada a esa temperatura.

4.- Lavado.

Utilice un lavador de la tecnología SUMA. Lave las tiras de reacción 4 veces. Verifique el llenado total del pocillo con la solución R1 de trabajo (28 ó 30 µL). La

solución debe permanecer como mínimo 30 segundos en los pocillos en cada lavado. Después de la última aspiración seque las tiras sobre papel absorbente.

5.- Adición del conjugado.

Con una punta nueva extraiga del frasco de conjugado el volumen necesario a emplear según el número de tiras del ensayo y deposítelo en un recipiente limpio. Añada 10 µL del conjugado en cada pocillo de las tiras de reacción.

6.- Incubación del conjugado.

Incube las tiras de reacción 30 minutos a 37°C en cámara húmeda previamente equilibrada a esa temperatura.

7.- Lavado.

Lave las tiras de reacción según se describe en el acápite 4.

8.- Adición del sustrato.

Coloque 10 µL de sustrato convenientemente diluido en cada pocillo de las tiras de reacción.

9.- Incubación del sustrato.

Incube 30 minutos en cámara húmeda a temperatura entre 20 - 25°C. En estas condiciones se garantiza una señal de fluorescencia del Control Positivo entre 100 y 180 unidades. Sin embargo, debido a las variaciones de temperatura se recomienda que cada laboratorio establezca su propio tiempo de incubación óptimo.

10- Lectura.

Realice la lectura de la intensidad de la fluorescencia emitida en cada determinación utilizando un lector de la serie SUMA.

La validación, interpretación de resultados y su impresión, son efectuados automáticamente por el lector SUMA con el programa UMELISA SARS-CoV-2 IgG

o pueden hacerse manualmente por el operador siguiendo las instrucciones que se describen a continuación.

Control de la calidad

Las condiciones mínimas requeridas para asegurar la calidad del ensayo son las siguientes:

a) Al menos uno de los duplicados del Blanco (B1 o B2) debe tener un valor de fluorescencia menor de 10 unidades.

b) Al menos uno de los duplicados del Control Negativo (N1 o N2) debe presentar una fluorescencia que no supere en más de 10 unidades a la media del Blanco.

c) Al menos uno de los duplicados del Control Positivo (P1 o P2) debe tener un valor de fluorescencia entre 100 y 180 unidades.

d) $(NN - BB) / (P - BB) < 0,1$ Donde:

NN: Valor promedio del Control Negativo.

BB: Valor promedio del Blanco.

P: Menor valor de fluorescencia de los duplicados del Control Positivo que se encuentre dentro de los límites de calidad.

Nivel de corte

Las muestras se consideran positivas cuando:

$$((F_i - BB) / (P - BB)) > 0,180$$

F_i = Fluorescencia de la muestra.

Para definir de una forma rápida el nivel de corte cuando no se dispone del programa automático, se calcula el valor de fluorescencia correspondiente empleando para ello la siguiente fórmula:

$$F_{NC} = 0,180 (P - BB) + BB$$

Donde:

F_{NC} = Valor de fluorescencia correspondiente al nivel de corte.

Interpretación de los resultados

- Si se obtienen valores menores que el nivel de corte la muestra se considera no reactiva ("NEGATIVA").
- Si una muestra presenta valores mayores o iguales que el nivel de corte se considera reactiva ("POSITIVA").

Se recomienda que toda muestra con resultado "POSITIVO" se repita antes de realizar una interpretación, utilizando la fuente original.

Las muestras que hayan sido encontradas repetidamente reactivas tienen una alta probabilidad de contener anticuerpos al SARS-CoV-2, especialmente si provienen de población que ha estado en contacto con pacientes infectados con el virus o reside en zonas con circulación del mismo, o ha viajado a estas.

Flujograma:

Para una mejor comprensión de la investigación se muestra un diagrama de flujo que resume la estrategia seguida.



Figura 6. Flujograma de trabajo.

V. Resultados

Los trabajadores de salud pública entraron en la fase III de los ensayos clínicos de las vacunas SOBERANAS, y fueron los primeros en ser vacunados en la estrategia de intervención. Los trabajadores del IPK estuvieron en la primera línea de enfrentamiento al virus en los laboratorios y en la atención al paciente, por tanto, fueron el grupo de mayor exposición al virus. La vacunación de los trabajadores del IPK se realizó casi en su totalidad con el esquema de tres dosis (0-28-56 días) de los candidatos vacunales SOBERANA 02 y SOBERANA plus, y como refuerzo a los 6 meses con SOBERANA 01. Esta investigación es una necesidad para los servicios de salud, ya que se necesita conocer la inmunogenicidad y efectividad de las vacunas cubanas después del refuerzo, y así evitar las complicaciones, entrada a las unidades de terapia intensiva y muerte.

De esta forma se incorporaron al estudio todos los individuos con un esquema completo de vacunación. El estudio estuvo conformado por 418 muestras de sangre total y suero agrupados según los ensayos. La toma de muestra sanguínea post reactivación se efectuó tras 1 mes de haber recibido la dosis de reactivación. En este estudio se determinó la frecuencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en individuos vacunados (con esquema completo de vacunación y una dosis de refuerzo) y se relacionó la presencia de anticuerpos con variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas.

Descripción de la población de estudio

En la Tabla 2 se muestran los vacunados por variables sociodemográficas, se observa que la mayor proporción es de personas que están entre 51 y 60 años de edad: 141 (33,7%), que predominan las mujeres: 312 (75%) y el color de piel blanca: 208 (50,5%).

Tabla 2. Distribución de los trabajadores del IPK según las variables sociodemográficas, 2022.

Variable	Categorías	Numero	Frecuencia (%)
Sexo	Masculino	104	25,0
	Femenino	312	75,0
Color de la piel	Blanca	208	50,5
	Negra	77	18,7
	Mestiza	127	30,8
Grupo de Edad	19-30	67	16,0
	31-40	64	15,3
	41-50	99	23,7
	51-60	141	33,7
	61-70	35	8,4
	71-80	12	2,9
Total		418	100

En la Tabla 3 se muestran los antecedentes patológicos personales (APP) más frecuentes, entre ellos se encuentra la hipertensión arterial (HTA) 140 (33,5%), asma bronquial 46 (11,0%), diabetes mellitus 34 (8,1%), alergia 28 (6,7%) y enfermedades de la glándula tiroides 18 (4,3%). Otros APP que se encontraron en menor frecuencia (entre 2 y 0.5%) fueron migraña (2,1%), gastritis (1,9%), hernias (1,2%), enfermedad renal crónica, VIH positivo y artritis (0,9%), obesidad, sicklemia, lupus, ulcera duodenal, epilepsia (0,7%) y Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) y glaucoma (0,5%). Ciento setenta y uno (40,3%) de los trabajadores de la salud no presentaron APP.

Tabla 3. Distribución de Antecedentes Patológicos Personales en Trabajadores del IPK, 2022.

APP		Frecuencia	%
HTA	Si	140	33,5
	No	278	66,5
Asma Bronquial	Si	46	11,0
	No	372	89,0
Diabetes Mellitus	Si	34	8,1
	No	384	91,9
Alergia	Si	28	6,7
	No	390	93,3
Enfermedad de la glándula tiroidea	Si	18	4,3
	No	400	95,7
Cáncer	Si	9	2,2
	No	409	97,8
Enfermedad Cardíaca	Si	8	1,9
	No	410	98,1
	Total	418	100,0

En la Figura 7 se observan que la ingestión de medicamentos más frecuentes se corresponde igualmente con los antecedentes patológicos personales más frecuentes de la población de estudio. Para la HTA la enalapril 19.1%, hidroclorotiazida 11,1%, amlodipino 6,6% y captopril 2.6%, para el asma bronquial el salbutamol 4%, para la diabetes mellitus la metformina 4.7% y la insulina 0,9%, para la alergia la benadrilina 0.5% y la loratadina 2.6%, y para la enfermedad tiroidea la levotiroxina sódica 2.6%

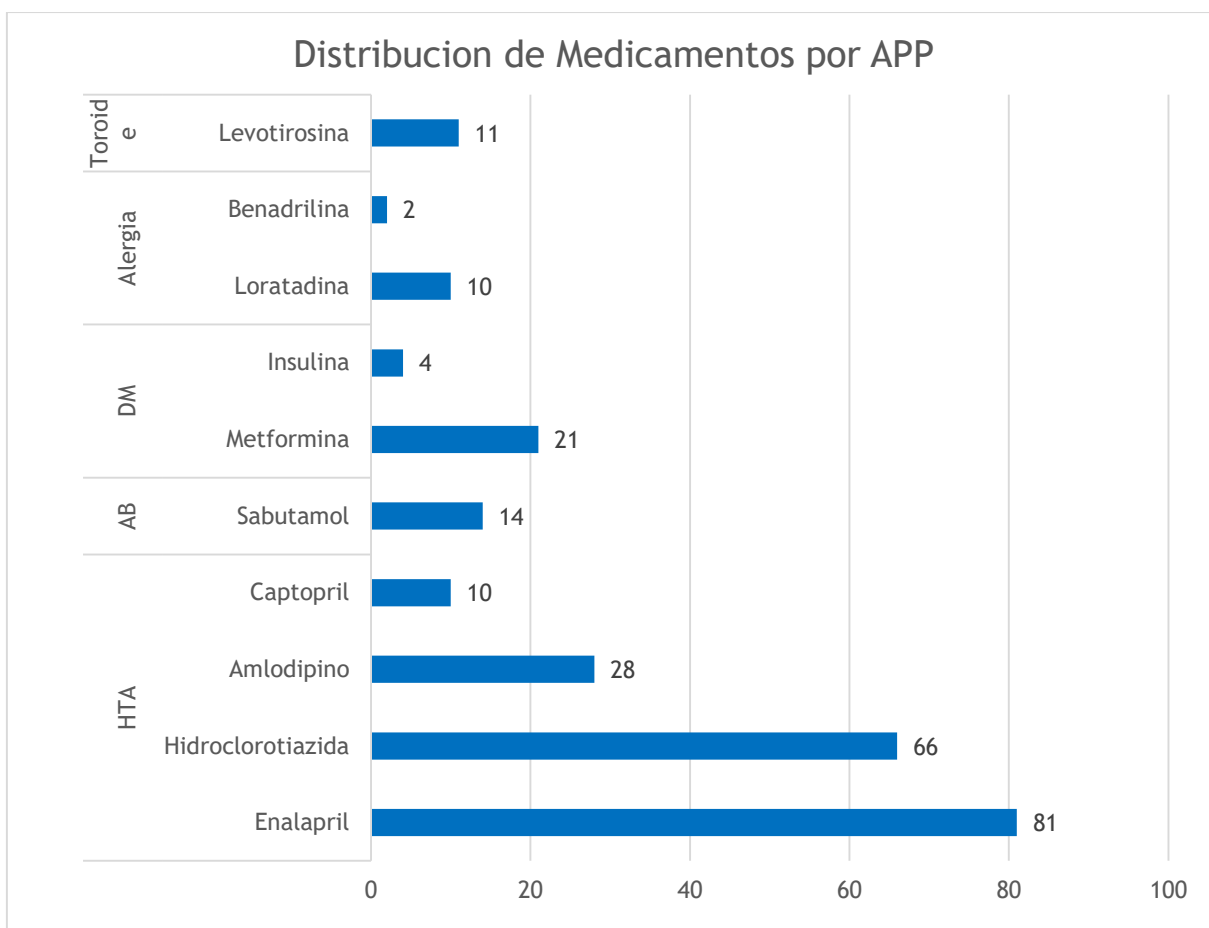


Figura 7. Distribución de ingestión de Medicamentos en Trabajadores del IPK según APP, 2022.

En la Tabla 4 se muestra la frecuencia de trabajadores 75 (18%) que se enfermaron de COVID-19 entre la vacunación primaria y el refuerzo.

Tabla 4. Antecedentes de COVID-19 entre las primeras dosis de vacuna y la reactivación.

Antecedentes de COVID-19	Frecuencia	(%)
Si	75	18
No	343	82,0
Total	418	100

En la Tabla 5 se muestra la frecuencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en trabajadores del IPK posterior a la reactivación. Mediante el ensayo

inmunocromatográfico se obtuvo que la IgM solo fue positiva en 1 caso, el cual no va a ser objeto de análisis en este estudio, por el contrario, la IgG tuvo más resultados positivos 400/418 (95,7%) al igual que el UMELISA SARS-COV-2 IgG, 404/406 (99,5%).

Tabla 5. Frecuencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 posterior a la reactivación en Trabajadores del IPK, 2022.

Método		Negativo		Positivo		Total	
		N	%	N	%	N	%
Ensayo inmunocromatográfico	IgM	417	99,8	1	0,2	418	100,0
	IgG	18	4,3	400	95,7	418	100,0
UMELISA SARS-COV-2 IgG		2	0,5	404	99,5	406	100,0

Relacionar la presencia de anticuerpos con variables sociodemográficas y clínico- epidemiológicas.

Como se observa en la Tabla 6 con el ensayo inmunocromatográfico, 301 (75,6%) fueron mujeres que resultaron positivas al ensayo de anticuerpo IgG, la mayoría de trabajadores fueron de color de la piel blanca 197 (49,9%), y 132 (33,0%) presentaron edades comprendidas entre 51 y 60 años ($p>0,05$), no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los positivos y negativos con el anticuerpo IgG.

Con el ensayo UMELISA SARS-COV-2 IgG, 304 (76%) mujeres fueron positivas a IgG, 199 (50%) fueron de color de piel blanca, predominio de 51 a 60 años 138 (34,2%) ($p>0,05$) sin significación estadística entre positivos y negativos con el anticuerpo IgG.

Tabla 6. Correlación de las variables sociodemográficas y los resultados con los ensayos inmunocromatográfico y UMELISA SARS-COV-2 IgG.

		Ensayos						Chi-cuadrado p-valor	
		Inmunocromatográfico			UMELISA			Inmunocromatográfico	UMELISA
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total		
Sexo	Masculino	97	7	104	98	0	98	0,164	0,422
	Femenino	301	11	312	304	2	306		
Color de piel	Blanca	197	11	208	199	1	200	0,423	0,749
	Negra	74	3	77	73	0	73		
	Mestiza	124	3	127	126	1	127		
Grupo de Edad	19-30	66	1	67	63	0	63	0,282	0,314
	31-40	62	2	64	62	0	62		
	41-50	97	2	99	96	1	97		
	51-60	132	9	141	138	0	138		
	61-70	32	3	35	34	1	35		
	71-80	11	1	12	11	0	11		
	Total	400	18	418	404	2	406		

Fuente: Modelo de recogida de datos. p*Chi-Cuadrado.

En la tabla 7 se muestra que los antecedentes patológicos personales analizados con los ensayos inmunocromatográfico y el UMELISA SARS-COV-2 ($P>0,05$) no hay diferencia entre los que dieron positivos y los negativos en cuanto al anticuerpo IgG.

Tabla 7. Correlación de los APP y los resultados con los ensayos inmunocromatográfico y UMELISA SARS-COV-2 IgG.

		Ensayos						Chi-cuadrado p-valor	
		Inmunocromatográfico			UMELISA			Inmunocromatográfico	UMELISA
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total		
HTA	Si	133	7	140	137	0	137	0,620	0,312
	No	267	11	278	267	2	269		
Asma Bronquial	Si	44	2	46	43	0	43	0,988	0,626
	No	356	16	372	361	2	363		
Diabetes Mellitus	Si	32	2	34	34	0	34	0,637	0,668
	No	368	16	384	370	2	372		
Alergia	Si	27	1	28	27	0	27	0,843	0,705
	No	373	17	390	377	2	379		
Enfermedad de la glándula tiroidea	Si	16	2	18	18	0	18	0,146	0,760
	No	384	16	400	386	2	388		
Cáncer	Si	9	0	9	9	0	9	0,520	0,831
	No	391	18	409	395	2	397		
Enfermedad Cardíaca	Si	7	1	8	8	0	8	0,249	0,841
Total		400	100,0%	18	100,0%	418	100,0%		

Fuente: Modelo de recogida de datos. p*Chi-Cuadrado.

En la tabla 8 se muestra la distribución de la ingestión de medicamentos y su correlación con el ensayo inmunocromatográfico y UMELISA SARS-COV-2 IgG, se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los que dieron positivos y los que dieron negativos al anticuerpo IgG ($p>0,05$).

Tabla 8. Correlación de la ingestión de medicamentos y los resultados con los ensayos inmunocromatográfico y el UMELISA SARS-COV-2 IgG.

		Ensayo						Chi-cuadrado p-valor	
		Inmunocromatográfico			UMELISA			Inmunocromatográfico	UMELISA
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total		
Enalapril	Si	75	5	80	78	0	78	0,341	0,489
	No	325	13	338	326	2	328		
Hidroclorotiazida	Si	64	2	66	66	0	66	0,578	0,532
	No	336	16	352	338	2	340		
Amlodipino	Si	27	1	28	28	0	28	0,843	0,700
	No	373	17	390	376	2	378		
Captopril	Si	9	1	10	10	0	10	0,369	0,822
	No	391	17	408	394	2	396		
Salbutamol	Si	14	0	14	14	0	14	0,419	0,789
	No	386	18	404	390	2	392		
Metformina	Si	19	2	21	20	0	20	0,227	0,747
	No	381	16	397	384	2	386		
Insulina	Si	4	0	4	4	0	4	0,670	0,888
	No	396	18	414	400	2	402		
Loratadina	Si	10	0	10	10	0	10	0,497	0,822
	No	390	18	408	394	2	396		
Benadrilina	Si	2	0	2	2	0	2	0,764	0,921
	No	398	18	416	402	2	404		
Levotiroxina	Si	10	1	11	11	0	11	0,428	0,813
	No	390	17	407	393	2	395		
Ácido Fólico	Si	9	0	9	8	0	8	0,520	0,841
	No	391	18	409	396	2	398		
	Total	400	18	418	404	2	406		

Fuente: Modelo de recogida de datos. p^* Chi-Cuadrado

En tabla 9 se muestra la correlación entre el antecedente de padecer COVID-19 entre la primo vacunación y el refuerzo. Con el ensayo inmunocromatográfico 75 (18,5%) fueron positivas, se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los positivos y los negativos en cuanto al anticuerpo IgG. ($p<0,05$). Con el UMELISA SARS-COV-2, 74 (18,2%) fueron positivas, y no se encontró significación estadística ($p>0,05$).

Tabla 9. Correlación de los Antecedentes de COVID-19 y los resultados con los ensayos inmunocromatográfico y UMELISA SARS-COV-2 IgG.

		Inmunocromatográfico			UMELISA			Chi-cuadrado p-valor	
		Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total	Inmunocromatográfico	UMELISA
Padeció COVID-19 entre la primo vacunación y el refuerzo	Si	75	0	75	74	0	74	0,043	0,503
	No	325	18	343	330	2	332		
	Total	400	18	418	404	2	406		

Fuente: Modelo de recogida de datos. p*Chi-Cuadrado

VI. Discusión

Las infecciones virales emergentes y reemergentes constituyen amenazas continuas para la salud del humano a nivel global. En el siglo XXI la emergencia de coronavirus altamente patógenos de origen zoonótico, los convirtieron en una nueva preocupación para la salud pública mundial. (1)

La elevada tasa de morbilidad y mortalidad proporcionó la investigación acelerada del SARS-CoV-2 globalmente, que permitió la producción de vacunas acortando los procesos de producción no experimentados en el pasado. Además, se desarrollaron ensayos clínicos a nivel mundial, que permitieran conocer la respuesta de anticuerpos protectores frente a las vacunas. (14)

Tan temprano como julio de 2021, cuatro vacunas fueron aprobadas para su uso por parte de la OMS, la Agencia Europea de Medicamentos y la FDA: Comirnaty® de la Pfizer BionTech, Spikevax® de Moderna, Vaxzevria® de AstraZeneca y COVID-19 Vaccine® de Janssen. (15) Posteriormente, fueron aprobadas nuevas vacunas entre ellas Sputnik V, CoronaVac, Sinopharm, Cansino Biológicos, EpiVacCorona, entre otras.

Cuba desarrollo 5 candidatos vacunales: SOBERANA 01, 02 y Plus, Abdala y Mambisa. A fines de marzo ya se estaban realizando ensayos de fase III con SOBERANA 02 y Abdala. (16) Debido a la alta tasa de incidencia de casos, el CECMED autorizó el uso de emergencia de los candidatos vacunales SOBERANA 02, que empezó con los trabajadores de la Salud que estaban en la primera línea de atención al paciente.

Los trabajadores de la salud pertenecen a grupos de alto riesgo, por ejemplo, el riesgo de ser positivo para SARS-CoV-2 fue mayor entre los trabajadores de primera línea (definidos como aquellos con contacto directo con el paciente), que entre la comunidad en general, y el riesgo de ingreso hospitalario entre los trabajadores de la puerta de entrada (definidos como paramédicos o trabajadores en otras especialidades de recepción aguda) y personal expuesto a

procedimientos generadores de aerosoles, fue mayor que entre otros trabajadores de atención médica de primera línea. (66)

Los adultos que trabajan en los entornos de alto riesgo, incluidos los trabajadores de la salud, son actualmente elegibles para un refuerzo de la vacuna COVID-19 en algunos países, incluidos los EE.UU., Reino Unido, Alemania e Italia. Sin embargo, la evidencia que respalda esta política es controversial. (66)

Los trabajadores de la salud deben vacunarse, ya que ellos tienen el deber ético general de proteger a los demás y a la vez cuidarse, para poder brindar ayuda a los demás. Este precepto no es nuevo, ya que muchos trabajadores de la salud se les exige estar vacunados contra la influenza, hepatitis B, y otras enfermedades infecciosas. (67)

La aplicación de las vacunas a nivel global significó la realización de estudios de seguimiento de la inmunidad inducida por las vacunas y su efectividad. Se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes disminuyeron con el tiempo para ambos tipos: Vacunas de ARNm y vacunas de vectores virales como la Ad26.CO2- Vacuna S (J&J/Janssen). Otros estudios, por el contrario, observaron que la inmunidad mediada por células se mantuvo 6 meses, después de la segunda dosis. Por lo tanto, la cuestión de una tercera la dosis o el refuerzo cobró fuerzas. (68)

Esta disminución de la inmunidad ha sido confirmada en varios estudios observacionales que reportan una disminución de la eficacia contra la infección 5-6 meses después de la segunda dosis, aunque esta disminución ha sido menos pronunciada para hospitalizaciones o evolución a una forma grave de la enfermedad. ¿Cuál sería entonces la eficacia de una dosis de refuerzo? Los primeros datos inmunológicos mostraron que una inyección de refuerzo de vacuna ARNm, induciría títulos de anticuerpos neutralizantes sustancialmente más altos contra el virus SARS-CoV-2 de tipo salvaje, así como contra las variantes Beta y Delta, en comparación con los niveles informados después de la segunda dosis de vacuna. De hecho, la media geométrica de los títulos de neutralización después de la dosis 3 de la vacuna Comirnaty (Pfizer-BioNTech) aumentó 5 veces más (en

personas de 18 a 55 años) y a más de 7 veces (en personas de 65 a 85 años) contra el virus de tipo salvaje. Así mismo, más de 15 veces mayor (en personas de 18 a 55 años) y a más de 20 veces (en personas de 65 a 85 años) frente a las variantes Beta; y más de 5 veces mayor (en personas de 18 a 55 años) y a más de 12 veces mayor (en personas de 65 a 85 años) contra la variante Delta. (69)

En este estudio se evaluaron las respuestas de anticuerpos IgG en trabajadores del IPK. Un mes posterior a la reactivación, se encontró una positividad del 95,7% de anticuerpos IgG con el ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral Realy Tech. En un estudio similar realizado en los Estados Unidos, utilizando la vacuna Pfizer, en trabajadores de la salud, se obtuvo con el ensayo EASY CHECK COVID-19 IgM/IgG una positividad de un 95% en cuanto al anticuerpo IgG. (70). En un estudio análogo al nuestro en la ciudad de Pretoria, Sudáfrica y utilizando el ensayo inmunocromatográfico ORIENT GENE COVID-19, se obtuvo que el 82,3% de trabajadores de la salud de la universidad de Pretoria fueron positivos a anticuerpos IgG. Los trabajadores fueron vacunados con las vacunas Johnson & Johnson, Pfizer y AstraZeneca. Se decidió poner una dosis de refuerzo por la llegada de la variante Ómicron, que se convirtió rápidamente en la variante infecciosa dominante en ese país. (71) Ambos estudios internacionales muestran resultados similares a los obtenidos en el presente estudio.

En la presente investigación con el ensayo UMELISA SARS-COV-2 IgG, se encontró una positividad del 99,5%, más elevado que con el ensayo inmunocromatográfico. Esto se explica ya que las técnicas inmunoenzimáticas son más sensibles que las de flujo lateral. Si bien los ensayos inmunocromatográficos poseen múltiples ventajas: son rápidos y sencillos (resultados en 15 minutos), pueden realizarse en variedad de muestras clínicas (plasma, suero, sangre), son ensayos no instrumentales, que no necesitan equipamiento o infraestructuras costosas y personal mínimamente calificado, son menos sensibles que los inmunoenzimáticos. En tanto, los sistemas UMELISA por su parte utilizan las ventajas de la reacción de afinidad alta, entre la estreptavidina y la biotina que amplifican la fluorescencia, son altamente sensibles y específicos,

semiautomáticos, y poseen un equipamiento instrumental que permite el cálculo, validación e interpretación de los resultados de forma automática. A esto se une que la técnica SUMA es de factura nacional, lo cual hace más atrayente su uso a nivel de la red nacional de salud.

Un reporte previo en Italia, en el hospital Peschiera del Garda usando el inmunoensayo Diasorin Trimeric spike IgG Liaison XL (Diasorin Saluggia, Italia) y la vacuna BNT162b2 de Pfizer/BioNtech, se alcanzó un 100% de positividad a los anticuerpos IgG después del refuerzo. Estos resultados son similares a los obtenidos en nuestro estudio y ambos constituyen garantías del uso de dichas vacunas en la protección de los trabajadores de la salud, que están en la primera línea de atención a pacientes afectados de COVID-19. (72)

En un estudio de cohorte prospectivo en trabajadores de la salud en un centro médico terciario de Tel Aviv, Israel, con el ensayo ADVIA Centaur SARS-Cov-2 IgG (Siemens), se detectó una positividad a los 42 días después de la dosis de refuerzo con BNT162b2 de Pfizer/BioNtech del 98,6% al anticuerpo IgG anti-S1-RBD medible por el ensayo. (73)

En Turquía, los trabajadores de la salud del Hospital Universitario Dokus Eylu, recibieron Coronavac como esquema de vacunación primaria. La dosis de refuerzo se realizó en dos grupos: Coronavac o BNT162b2 de Pfizer/BioNtech (esquema de vacunación heterólogo). Se alcanzó una positividad del 99% en los trabajadores vacunados. El ensayo para medir los anticuerpos fue el SARS-CoV-2 IgG II QUANT (Abbot, Diagnostis) usando el analizador Architect. (74)

Resultados preliminares de un estudio clínico en curso sobre la eficacia de una dosis de refuerzo de la vacuna de ARNm de Pfizer, entre los trabajadores de la salud en el Hospital de Enfermedades Infecciosas en Varsovia, mostró un incremento estadísticamente significativo en el porcentaje de individuos que tenían títulos altos de anticuerpos S-RBD (de 23, 21% to 109, 99%; $p = 0.00001$), independientemente del contacto previo con el virus. Esto puede indicar una mayor protección tanto frente a la enfermedad, como al curso severo de la misma. (75)

Los estudios en trabajadores de la salud en Italia, Israel, Turquía y Polonia mencionados anteriormente, muestran resultados similares a los obtenidos en el presente estudio. Los mismos se realizaron con vacunas reconocidas internacionalmente lo cual constituye un aval a las vacunas cubanas SOBERANA.

Dos trabajadores del IPK fueron negativos a anticuerpos UMELISA SARS-CoV-2 IgG, es decir, un mes después de la reactivación no desarrollaron anticuerpos. Ambos tenían más de 40 años y el análisis de los APP arrojó que uno de los no respondedores era hipertenso y el otro no tenía APP. Las personas mayores de 40 años tienen los títulos de anticuerpos más bajos, en comparación con adultos jóvenes. Este hallazgo puede explicarse en parte por la inmunosenescencia, que es un término definido como la capacidad reducida de combatir infecciones que se produce a medida que envejecemos. (76)

En el ensayo inmunocromatográfico y el ensayo UMELISA SARS-CoV-2 IgG predominó el sexo femenino en la positividad, la mayoría de trabajadores con resultados positivos fueron de color de piel blanca, y presentaron edades comprendidas entre 51 y 60 años. Una cantidad significativa de evidencias, demuestran que las diferencias fisiológicas basadas en el sexo influyen en la respuesta inmunitaria del hospedador a las infecciones. Se plantea que los genes ligados al cromosoma X y las hormonas sexuales, controlan los aspectos de las respuestas innatas y adaptativas a la infección. (77) Similar experiencia en cuanto al sexo, ha sido observada con otras vacunas cubanas de igual diseño, por ejemplo, con la vacuna anti-hepatitis B. (78)

En un estudio de trabajadores de la salud de Japón con el ensayo de electroquimioluminiscencia Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Elecsys, Roche Diagnostics KK, Tokio, Japón) y usando dos vacunas: el esquema homólogo BNT162b2, y el refuerzo con protocolo heterólogo BNT162b2 o mRNA-1273, se observó que la positividad predominó en el sexo femenino (66,6% y 58%) con el esquema homólogo y heterólogo respectivamente. El color de la piel no se destacó, ya que todos los participantes eran asiáticos y con rango de edad de 41,4-42 años respectivamente. (79)

En otro estudio de trabajadores de la salud en la Universidad de Medicina de Estambul-Cerrahpasa, Turquía, con las vacunas Coronavac y BNT162b2 y con la metodología electroquimioluminescencia (CMIA), predominaron las mujeres (58%) con una edad media de 40 años. Se observó que después del refuerzo, hubo un aumento de la seropositividad de un 99%, lo que significa que las mujeres tienen mayor respuesta de IgG a la vacuna que los hombres. (80)

En la presente investigación, analizando los APP con los ensayos inmunocromatográfico y UMELISA SARS-Cov-2 IgG, se observó que predominó la HTA, el asma bronquial y la diabetes mellitus. Las vacunas cubanas estimulan una respuesta inmune independientemente de los APP, ya que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los positivos y los negativos; en cuanto al anticuerpo IgG.

En un estudio en Polonia en trabajadores de la salud del Hospital de Enfermedades Infecciosas de Varsovia, los anticuerpos se midieron utilizando el ensayo Maglumi SARS-CoV-2 IgG (contra la proteína N, indicativo de la enfermedad) y el ensayo Maglumi SARS-CoV-2 S-RBD-IgG (RBD indicativo a la vacuna). Los aspectos patológicos personales que más se destacaron fueron: HTA, asma bronquial, diabetes mellitus tipo II, hipertiroidismo y obesidad. Estos tuvieron un 99% de positividad en cuanto al anticuerpo IgG con la vacuna de refuerzo BNT162b2, no hubo significación estadística en cuanto a los resultados positivos y negativos, similar a los obtenidos en la presente investigación. (75)

En una investigación en Indonesia en trabajadores del Hospital General Dr. Soetemo en Surabaya, y usando la metodología Elecsys Anti-SARS-CoV S, de Roche Diagnostics, Alemania; se determinó que los APP estaban asociados a la respuesta de IgG. Se constató que había una fuerte tendencia a la disminución de la respuesta inmune en aquellos trabajadores con APP de HTA. Aquí se plantea que son determinantes importantes de respuesta de anticuerpo más baja y son recurrentes de la enfermedad. En este estudio la vacuna inactivada Coronavac fue la empleada. Sin embargo, el asma, alergia, la diabetes mellitus, el cáncer,

enfermedad pulmonar y la incidencia de enfermedad recurrente no presentaron diferencias significativas en cuanto a la presencia de anticuerpos. (81)

En un estudio en Israel con la vacuna BNT162b2 de refuerzo en trabajadores del Hospital Ramban Health Care Campus, Haifa, con el ensayo LIAISON SARS-CoV-2 Trimeric S IgG (DiaSorin, Saluggia, Italia), encontraron una positividad del 95% de anticuerpos IgG en los trabajadores con APP (enfermedades cardíacas y tabaquismo), no se detectaron títulos bajos y en los vacunados no se encontró el APP de HTA (81,82) En la presente investigación la ingestión de medicamentos no se correlacionó con la positividad en cuanto al anticuerpo IgG con los ensayos inmunocromatográficos y UMELISA SARS-CoV-2 IgG. Los medicamentos para la presión arterial: enalapril, hidroclorotiazida, amlodipino y captopril no influyeron significativamente en la presencia de anticuerpos.

El antecedente de padecer COVID-19 entre la primo vacunación y el refuerzo, se identificó en los trabajadores estudiados, utilizando el ensayo inmunocromatográfico, 75 trabajadores (18.9%) fueron positivas encontrando diferencias estadísticamente significativa entre los positivos y los negativos en cuanto al anticuerpo IgG. ($p < 0,05$). En tanto, con el UMELISA SARS-CoV-2, 74 (18.2%) fueron positivas sin significación estadística ($p > 0,05$). Este resultado se debe que en la diagonal principal de cada tabla, es donde se reflejan las diferencias. En la tabla 9 hacia la izquierda los valores 75 y 18, son los que hacen la diferencia. Sin embargo, en la misma tabla hacia la derecha, prácticamente todos los individuos son positivos lo que significa que no hay diferencia.

En un estudio en los trabajadores del Hospital Niguarda en Milán, Italia, que recibieron una dosis de refuerzo con BNT162b2, se empleó el ensayo SARS-CoV-2 II QUANT quimioluminescentes (CMIA). En el mismo, el 19% de los trabajadores se enfermaron de COVID-19 entre la primovacuna y el refuerzo; la positividad del anticuerpo IgG fue de 99% y se encontró que la positividad se asoció con un riesgo menor de enfermedad sintomática. (83)

En otra investigación realizada en trabajadores de un Hospital en el Centro Médico de Universitario Hamburg-Eppendorf Alemania, con el ensayo Elecys Roche,

después de las dos dosis, hubo trabajadores que padecieron COVID-19 después de la primovacunación con AstraZeneca. Los autores consideraron que los individuos vacunados con dos dosis, tuvieron una disminución de la protección a los 6 meses. Estos individuos después de 6 meses se vacunaron con una dosis de refuerzo, con las vacunas BNT162b2 y mRNA12 o sea con un régimen de vacunación heteróloga; logrando niveles de anticuerpo anti-S1-RBD-SARS-CoV-2 más altos; alcanzando un 98% de positividad al anticuerpo IgG. No se observó diferencias significativas con las vacunas empleadas en el refuerzo ($P>0.05$). (84)

VI.1. Consideraciones generales

Una característica importante del momento donde transcurrió este estudio fue el escenario epidémico y la capacidad de los servicios de salud: saliendo de la ola de la variante Delta, la cual ocasionó un incremento de casos confirmados y, por tanto, de la enfermedad severa y fallecimiento. La situación puso en tensión los servicios de salud y los recursos disponibles tanto materiales como humanos, expresados en déficit de medicamentos, entre ellos el oxígeno medicinal e insumos médicos. Luego en marzo 2022, se produjo una ola epidémica mucho más pequeña debido a la entrada de la variante Ómicron al país, pero las condiciones de los servicios de salud fueron más favorables, en medio de una población vacunada y con dosis de refuerzo. Otra característica importante fue el establecimiento de medidas no farmacológicas implementadas en todo el período analizado. Durante la ola de Delta se mantuvo el cierre de instituciones como las escuelas, centros recreativos, entre otros. El período de la ola de Ómicron tuvo como característica, la reapertura de todos los servicios y flexibilización en el control de viajeros provenientes del exterior.

Es importante también mencionar que, dentro de las características de la población cubana, se encuentra la confianza en los productos biotecnológicos de producción nacional. Un conjunto de acciones permitió que el MINSAP acometiera con éxito el estudio de intervención en trabajadores de la salud, y luego en los meses de noviembre-diciembre aplicara la dosis de refuerzo con igual éxito.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, marcada por la elevada positividad a los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2, en muestras colectadas 1 mes después del refuerzo, aumenta aún más la confianza de nuestro pueblo y confirma que la estrategia llevada a cabo en el estudio de intervención en los trabajadores de la salud fue acertada. Además, se confirmó que las vacunas cubanas SOBERANA 01, 02 y Plus son capaces de inducir una respuesta inmune adecuada, comparable con las vacunas disponibles comercialmente en la actualidad. El presente trabajo constituye un aval del uso de las vacunas cubanas en personal de riesgo.

VII. Conclusiones

- En la población estudiada predominó el sexo femenino, el color de piel blanca y el rango la edad entre 51 a 60 años.
- Los APP más frecuentes fueron la HTA, Asma bronquial, diabetes mellitus, alergia y las enfermedades de la glándula tiroidea.
- La primera vacunación con SOBERANA, probablemente indujo inmunidad protectora ya que la mayoría de los trabajadores no refirió antecedentes de COVID-19 antes del refuerzo.
- Se demuestra la inmunogenicidad del esquema de vacunación y el refuerzo en los trabajadores estudiados, ya que en la mayoría se detectaron anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 tanto por el ensayo inmunocromatográfico como por UMELISA SARS-CoV-IgG.
- La respuesta de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 en los trabajadores con refuerzo se indujo independientemente de las características socio-demográficas, los APP y la ingestión de los medicamentos estudiados.
- El antecedente de COVID-19 podría influir positivamente en los títulos de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 detectados por el ensayo inmunocromatográfico IgG.

VIII. Recomendaciones

- Cuantificar los anticuerpos presentes en las muestras estudiadas, para establecer los correlatos de protección contra el SARS-CoV-2.
- Identificar las clases o subclases de anticuerpos neutralizantes a las diferentes variantes de SARS-CoV-2, que estén relacionados con una respuesta inmune efectiva y prolongada.
- Profundizar acerca de la respuesta inmune celular al virus SARS-COV-2.

IX. Referencias Bibliográficas

1_Cui, J., Li, F. & Shi, ZL Origen y evolución de coronavirus patógenos. Nat. Rev. Microbiol. 17, 181-192 (2019). Wu, JT, Leung, K. &Leung, GM Pronosticando y pronosticando la posible propagación nacional e internacional del brote de 2019-nCoV que se originó en Wuhan, China: un estudio de modelado. Lanceta 395, 689–697 (2020).

2_Hui, DS y col. La continua amenaza epidémica de 2019nCoV de nuevos coronavirus para la salud mundial: el último brote de nuevo coronavirus de 2019 en Wuhan, China. Intl. J. Infect. Dis. 91, 264–266 (2020). Deng, SQ &Peng

3- Hung LS. The SARS epidemic in Hong Kong : what lessons have we learned ? J R Soc Med [Internet]. Agosto de 2003 [citado 6 de febrero de 2020];96(8):374-8. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC539564/>

4_Deng, SQ & Peng, HJ Características y respuestas de salud pública al brote de coronavirus de 2019 en China. J. Clin. Medicine. 9, 575 (2020).

5_WHO Statement regarding cluster of pneumonia cases in Wuhan, China (<https://www.who.int/china/news/detail/09-01-2020-who-statement-regarding-cluster-of-pneumonia-cases-inwuhan-china>).

6_ Emergencies: International health regulations and emergency committees (del inglés, International Health Regulations Emergency Committee (2005) ([https://www.who.int/news-room/30-01-2020-statement-on-the-second-meet-of-the-internationalhealth-regulations-\(2005\)](https://www.who.int/news-room/30-01-2020-statement-on-the-second-meet-of-the-internationalhealth-regulations-(2005))),

7_The Statement on the second meeting of International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV) del inglés, Public Health Emergency of International Concern) .([https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-internationalhealth-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-internationalhealth-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))).

8_ WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020 (<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-directorgeneral-s-remark-at-the-media-media-brief-on-2019-ncov-on-11-February-2020>),

9_Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 5, 536-544 (2020). (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses Nat Microbiol 2020)

10_ Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, Fan Y, Zheng C. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Feb 24. pii: S1473-3099(20)30086-4.

11_An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time Ensheng Dong, Hongru Lauren Gardner Published: February 19, 2020. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30120-](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1)

1_ [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(20\)30086-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30086-4/fulltext) (<https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-s-opening-remarks-remark-at-the-media-media-brief-on-covid-19-11-march-2020>).

12_ MINSAP. Cuba reporta como positivos a la COVID-19 a tres turistas italianos que se alojaban en Trinidad Cubadebate2020 [Disponible en: www.cubadebate.cu/noticias/2020/03/11/cuba-reporta-como-positivos-a-la-COVID-19-a-tresturistas-italianos-que-se-alojaban-en-Trinidad].

13_ Cuba divulga el Protocolo de Actuación Nacional para la COVID-19 (MINSAP). Boletín Epidemiológico Semanal: Protocolo de actuación nacional para la covid-19. Infomed: IPK, 2020, 11 de mayo de 2020.

14_ Picazo JJ. Vacuna frente al COVID-19. Sociedad Española de Quimioterapia. 2021 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

15_Registro Público Cubano de Ensayos Clínicos. Soberana 02A ,2021 [Disponible en: <https://rpcec.sld.cu/en/ensayos/RPCEC00000347Sp>. 294. Valdes-Balbin Y, Santana-Mederos D, Quintero L, Fernández S, Rodríguez L, Sánchez Ramírez B, et al. SARS-CoV-2 RBD-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine Induces a Strong Neutralizing Immunity in Preclinical Studies. ACS Chem Biol. 2021;16(7):1223-33. DOI: 10.1021/acschembio.1c00272.

16_ Shrotri, M.; Navaratnam, A.M.; Nguyen, V.; Byrne, T.; Geismar, C.; Fragaszy, E.; Beale, S.; Fong, W.L.E.; Patel, P.; Kovar, J. Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. Lancet 2021, 398, 385–387.

17_ Shekhar R.; Garg, I.; Pal, S.; Kottewar, S.; Sheikh, A.B. COVID-19 Vaccine Booster: To Boost or Not to Boost. Infect. Dis. Rep. 2021, 13, 924–929. <https://doi.org/10.3390/idr13040084>.

18_ Goldberg Y, Mandel M, Bar-On YM, Bodenheimer O, Freedman L, Haas EJ, et al. Waning immunity of the BNT162b2 vaccine: a nationwide study from Israel. Infect Dis)2021; (August) [citado 27 sept 2022]. Disponible en: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.08.24.21262423>.

19_ Bar-On, Y.M.; Goldberg, Y.; Mandel, M.; Bodenheimer, O.; Freedman, L.; Kalkstein, N.; Mizrahi, B.; Alroy-Preis, S.; Ash, N.; Milo, R.; et al. BNT162b2 Vaccine Booster Dose Protection: A Nationwide Study from Israel. N. Engl. J. Med. 2021.

20_ Choi A, Koch M, Wu K, Chu L, Ma L, Hill A, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 variant mRNA vaccine boosters in healthy adults: an interim analysis. Nat Med 2021 [cite´ 2021 sept 24]; Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-021-01527-y>

21_ International Committee on Taxonomy of Viruses Executive on Taxonomy of Viruses (ICTV) 2020) (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>) Consultado el 6 de febrero de 2022.

22_The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature microbiology*. 2020;5(4):536-44.

23_Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *Journal of clinical medicine*. 2020;9

24_ Díaz-Castrillón FJ y Toro-Montoya AI. SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia. *Medicina&Laboratorio* 2020; 24:18367.

25_ Li, Fang, et. al. (2005). Structure of SARS Coronavirus Spike Receptor-Binding Domain Complexed with Receptor. *Science* 309: 1864-1868.

26_ Zhao Y, Wei Y, Shen S, Zhang M, Chen F. Appealing for efficient, well organized clinical trials on COVID-19. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(10):632.

27_ Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*. 2020;94.

28_ Chen, Y.; Liu, Q. & Guo, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.*, 92:41823, 2020.

29_Eakachai, P.; Chutitorn, K. & Tanapat, P. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 38:1-9, 2020.

30_ Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-80. e8.

31_ Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2

Infections. Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology. 2020;15(3):359-86.

32_ Mahdi, A.; Parham, M.; Ehsaneh, K.; Sükran, K.; Esposito, I.; Khudaverdi, G.; Sounkalo, D.; Esposito, S.; Tuba, D.; Elham, Z. & Hossein, S. Clinical manifestation, diagnosis, prevention and control of SARS-CoV-2 (COVID-19) during the outbreak period. Infez. Med., 2:153-65, 2020.

33_ Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. Nature medicine. 2020;26(7):101732. 34- Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. BMJ (Clinical research ed). 2020;371:m3862.

35_ Nishiyama N, Kobara H, Tada N, Matsui T, Fujihara S, Nishiyama A, et al. Novel technique using an echo probe cover prevents oral-fecal transmission of SARS-CoV-2 during urgent colonoscopies. Endoscopy. 2020;52(9): E349-e50.

36_ Salzberger B, Buder F, Lampl B, Ehrenstein B, Hitztenbichler F, Holzmann T, et al. Epidemiology of SARS-CoV-2. Infection. 2021;49(2):233-9.

37_ Castro M, Jiménez N y Cabrera M. Capacitación para la COVID-19: experiencias del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 2020; 57: e669.

38_ Guzmán MG, Pérez L, Tejero Y, et al. Emergence and evolution of SARS-CoV-2 genetic variants during the Cuban epidemic. J Clin Virol Plus. 2022;2(4):100104. doi:10.1016/j.jcvp.2022.100104

39_ Beldarrain Chaple E, Más Bermejo P, Alfonso Sánchez IR. Sixteen Months of the COVID-19 Pandemic in Cuba. Revista de Información científica para la Dirección en Salud. INFODIR. URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/445/4453347002/>

40_ Información oficial del Minsap Cuba <https://salud.msp.gov.cu> Coronavirus Cuba

- 41_Kevadiya BD, Machhi J, Herskovitz J, Oleynikov M, Blomberg W, Bajwa N, et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat. Mater.* 2021; 20:593–605 <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00906-z>.
- 42_Chan PK, Ng K, Chan RC, Lam RK, Chow VC, Hui M, et al. Immunofluorescence Assay for Serologic Diagnosis of SARS. *Emerging Infectious Diseases.* 2004; 10(3),530-532. <https://doi.org/10.3201/eid1003.030493>.
- 43_Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet.* 2020; 395(10224): 565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20).
- 44_Ni W, Wah C, Foo R, Zheng A, Peng Y, Sivalingam V, et al. Serological differentiation between COVID-19 and SARS infections. 2020; 1497-1505. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1780951>.
- 45_World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) technical guidance. 2020; <https://www.who.int/emergencies/diseases/novelcoronavirus-2019/technical-guidance>.
- 45_Jin Y, Wang M, Zuo Z, Fan C, Ye F, Cai Z, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis.* 2020; <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.065>.
- 46_Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
- 47_Wang Y, Wang Y, Chen Y, Qin Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J Med Virol* 2020. [Epub ahead of print] 5 de marzo de 2020. <https://doi.org/10.1002/>
- 48_Chen Z, Zhang Z, Zhai X, Li Y, Lin L, Zhao H, et al. Rapid and sensitive detection of anti-SARS-CoV-2 IgG using lanthanide-doped nanoparticles-based

lateral flow immunoassay. Anal Chem 2020. [Epub ahead of print] 23 de abril de 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00784>.

49_ Li, G.; Fan, Y.; Lai, Y.; Han, T.; Li, Z.; Zhou, P.; Pan, P.; Wang, W.; Hua D.; Liu, X.; Zhang, Q. & Wu, J. Coronavirus infections and immune responses. J. Med. Virol., 92(4):424-32, 2020.

50_ Rokni, M.; Ghasemi, V. &Tavakoli, Z. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. Rev. Med. Virol., 1-6, 2020.

51_ Amor S, Fernández Blanco L, Baker D. Innate immunity during SARS-CoV-2: evasion strategies and activation trigger hypoxia and vascular damage. Clinical and experimental immunology [Internet]. noviembre de 2020 [citado 29 de abril de 2021];202(2):193-209. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32978971/>

52_ Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell. 18 de febrero de 2021;184(4):861-80.

53_ Eakachai, P.; Chutitorn, K. &Tanapat, P. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. Asian Pac. J. Allergy Immunol., 38:1-9, 2020.

54_ Farber DL.T Lymphocytes and Cell_Mediated immunity. En: Bellanti JA, ed. IMMUNOLOGY IV. Clinical Applications in health and disease.4th ed. Bethesda: CARE PRESS,2012

55_ Glanville D. Treatments and vaccines for COVID-19: authorised medicines [Internet]. European Medicines Agency. 2021 [citado 15 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-healththreats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/treatments-vaccines-covid-19authorised-medicines>.

55_ Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature [Internet]. octubre de 2020 [citado 6 de noviembre de 2020];586(7830):516-27. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2798-3>

56_ Registro Público Cubano de Ensayos Clínicos. Soberana 02A ,2021 [Disponible en: <https://rpcec.sld.cu/en/ensayos/RPCEC00000347S> p. 294.

57_ Valdes-Balbin Y, Santana-Mederos D, Quintero L, Fernández S, Rodríguez L, Sánchez Ramírez B, et al. SARS-CoV-2 RBD-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine Induces a Strong Neutralizing Immunity in Preclinical Studies. ACS Chem Biol. 2021;16(7):1223-33. DOI: 10.1021/acschembio.1c00272

58_ Estudio Fase I/II, aleatorizado, controlado, adaptativo, a doble ciego y multicéntrico para evaluar la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad del candidato vacunal profiláctico FINLAY-FR-1 anti SARS-CoV-2 en un esquema de dos dosis. Promotor Instituto Finlay de Vacunas. IFV/COR/04

59_ Registro Público Cubano de Ensayos Clínicos. Soberana Plus, 2021 [Disponible en: <https://rpcec.sld.cu/trials/RPCEC00000366-En>. 296. Instituto Finlay de Vacunas. Soberana Plus ,2021 [Disponible en: <https://www.finlay.edu.cu/blog/wp-content/uploads/2021/06/Ficha-SOBERANA-Plus-Esp.pdf>.

60_Burki T. Behind Cuba's successful pandemic response. Lancet Infect Dis. 2021;21(4):465-6. DOI: 10.1016/s1473-3099(21)00159-6.

61_ Vela Valdés J. How relevant are the five Cuban vaccine candidates against COVID-19? Editorial Rev Cubana Salud Pública 46 (Supl 1) 05 Feb 20212020.

62_Association (WMA) WM. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA cardiology. 2013;310(20):2191±4

63_ PAHO/WHO. Requirements and technical specifications of personal protective equipment (PPE) for the novel coronavirus (2019-nCoV) in healthcare settings, Interim recommendations. Washington, DC: 2020.

64_ Salud OMdl. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019–2020. Ginebra, Suiza: 2019 Contract No.: WHO/WHE/CPI/2019.20.

65_ Castro M, Jiménez N y Cabrera M. Capacitación para la COVID-19: experiencias del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 2020; 57: e669.

66_ Cirillo N. Do health-care workers need a COVID-19 vaccine booster? www.thelancet.com/infection Vol 22 January 2022

67_ Emanuel EJ, Skorton DJ. Mandating COVID-19 Vaccination for Health Care Workers. *Ann Intern Med.* 2021 Sep;174(9): 1308-1310.doi: 10.7326/M21-3150

68_ Pegu A, O’Connell SE, Schmidt SD, O’Dell S, Talana CA, Lai L, et al. Durability of mRNA-1273 vaccine–induced antibodies against SARS-CoV-2 variants. *Science* 2021;373(September (6561)):1372–7.

69_ Falsey AR, Fenwick RW, Walsh EE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. SARS-CoV-2 Neutralization with BNT162b2 Vaccine Dose 3. *N Engl J Med* 2021

70_ Higgins RI, Rawlings S, Case J, Lee FY, Chan CW, Barrick B (2021) Estudio longitudinal de anticuerpo contra el SARS-CoV-2 en el ensayo de flujo lateral EASY CHECK *Plosone* 16(3): e 02447797doi 10.1371/journal.pone 02477.

71_ Worsley CM, VAN der Mescht MA, Hoffman D, Meyer PWA: Decline in antibody responses to SARS-CoV2 post-vaccination poses a risk to health care workers. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.06.008>.

72_ Salvagno GL, Henry Brandon MP, De Nitto S, Gianluca G and Lippi G. Effect of BNT162b2 booster dose on antiSARS-CoV-2 spike trimeric IgG antibodies in seronegative individuals <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0212> Received March 8, 2022; accepted March 9, 2022; published online March 18, 2022.

73_ Spitzer A, Angel Y, Muradi O, Zeltser D, Hanoch S, Gold E, Goldiner S. Association of a Third Dose of BNT162b2 Vaccine with Incidence of SARS-CoV-2 Infection Among Health Care Workers in Israel 341-349 doi:10.100/jama.2021.23641.

74_Caglayand D, Suner AF, Siyen N, Guzeli, IrmakC, andoder. An analysis of antibody response following the second dose Coronavac and humoral response after booster dose with BNT162b2 or Coronavac among healthcare workers in Turkey J. med virol .2022 May;94(5) :2212-2221.doi:10.1002/Jmv.27620.Epub 2022feb3.PMID:35075655;PMC9015267.

75_ Skrzat-Klapaczynska, A.; Bienkowski, C.; Kowalska, J.; Paciorek, M.; Puła, J.; Krogulec, D.; Stengiel, J.; Pawelczyk, A.; Perlejewski, K.; Osuch, S.; et al. The Beneficial Effect of the COVID-19 Vaccine Booster Dose among Healthcare Workers in an Infectious Diseases Center. Vaccines 2022, 10, 552. <https://doi.org/10.3390/vaccines10040552>.

76_Bartleson JM. Radenkovich, D. Covarrubias AJ et.al y envejecimiento del sistema inmunológico <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00114-7>.

77_Pedreáñez A, Subarón Mosquera J, et al. The disadvantage of men against COVID-19. Analysis of the influence of sex on the immune response to SARS-CoV-2 infection.doi:10.32457/ijmas. v8i3.1572

78_Zumaeta Villena E, González Griego A, Ramírez Albajes V, Figueroa Barrios R. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana Contra la hepatitis b en trabajadores de la salud peruanos. Rev Cubana Invest Biomed 2000;19(1):43-9)

79_ Hibino M, et al. Antibody Response to the BNT162B2 mRNA vaccine in healthcare workers in hospital in Japan (comparison of two assays for anti spike protein immunoglobulin G) International Medicine The Japanese Society of internal Medicine Doi: <https://doi.org/10.2169/Internalmedicine8704-21>,

80_ Satoglu N, Oyku Dinç H, Nanç Balkan I, Gunay Can, Ozbey D, Nur Beytur A, et al. Heterologous booster COVID-19 vaccination elicited potent immune responses in HCWs <https://doi.org/10.1016/j.daigmicrobio.2022.115758>

81_ Soegiarto G, Wulandari L, Purnomosari D, Dhia Fahmita K, Ikhwan Gautama H, Hadmoko ST et al. La hipertensión se asocia con la respuesta de anticuerpos y la infección progresiva a trabajadores de la salud con después de la vacunación con SARS-Cov-2 inactivado, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.05.059>.

82_ Hussein K, Dabaja-Younis H, Szwarcwort-Cohen M, Almog R, Leiba R, Weissman A, et al. Tercera dosis de refuerzo de la vacuna BNT162b2 contra la repuesta de anticuerpos inducida por SARS-CoV-2 entre trabajadores de la salud. Doi 10.3390/vaccines10101741

83_ Pani A, Romandini A, Schianchi A, Senatore M, Gagliardi OM, Gazzanica G, et al. Respuesta de anticuerpos a la vacunación de refuerzo contra la COVID19 en trabajadores de la salud. doi.10.3389/fimmu.2022.872667

84_ Brehm TT, Ullrich F, Thompson M, Kuchen J et al. Tree Separate Spike Antigen Exposures by COVID-19 Vaccination or SARS-CoV-2 infection Elicit Strong Humoral Immune Response in Healthcare Workers <https://doi.org/10.3390/vaccines10071086>

ANEXO 1.

Algunas características de las principales vacunas internacionales y cubanas.

Vacuna	País	Tipo	Intervalo Dosis por días
Oxford University/AstraZeneca AZD1222	Uk/Suiza	Adenovirus de chimpancé modificado o ChAdOx1	21
Moderna mRNA-1273	USA	2RNAs mensajeros de proteínas virales S	21
Pfizer/BioNTech BNT162b2	USA/Alemania	1RNA mensajero de viral S	21
Gamaleya Sputnik V	Russia	2 adenovirus Vectoriales de la proteína viral s /AD26 y AD5	15
Sinovac Biotech.Ltda Coronavac	China	Virus inactivado Cepa Czo cultivada en Células Vero	21
Sinopharm	China	Virus inactivado	21
Johnson & Johnson JNJ-78436735 Ad26.COV2. S	USA/Belgica	Adenovirus no replicante	21
CanSino Biologics Ad5-nCoV/Convidicea	China/Canada	Adenovirus no replicante	15
SOBERANA 01 Instituto Finlay de vacunas	Cuba	Dominio de unión al receptor ACE2 (RBD)S1 (VME) de meningococo serogrupo B	21
SOBERANA 02 Instituto Finlay de vacunas	Cuba	Dominio de unión al receptor ACE2 (RBD) de la proteína conjugado covalentemente al toxóide tetánico (RBD-TT)	21
SOBERANA Plus Instituto Finlay de vacunas	Cuba	Dominio de unión al receptor ACE2 (RBD) de la proteína	21
ABDALA Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología	Cuba	Dominio de unión al receptor ACE2 (RBD) de la proteína expresada en la levadura Pichia pastoris y adyuvada en hidróxido de aluminio.	14

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

Por la presente otorgo voluntariamente mi consentimiento a la participación en el **ESTUDIO CLINICO, EPIDEMIOLOGICO E INMUNOLOGICO EN VACUNADOS CON SOBERANA 02 O ABDALA.**

Sé que mi consentimiento puede ser retirado en cualquier momento sin necesidad de explicar, que el médico del estudio podrá detener mi participación si mi salud pudiera verse afectada por mi participación en el estudio y que cualquier causa de retiro no perjudicará mi derecho a la asistencia médica que necesite.

Comprendo los beneficios, las incomodidades y los riesgos del estudio. Tengo el derecho de ser notificado de cualquier nueva información que pueda ser de importancia para mi continuación en el estudio. Si tengo cualquier preocupación puedo ponerme en contacto con el médico en cualquier momento.

Me comprometo a seguir las instrucciones de los médicos del estudio. Le informaré inmediatamente de cualquier alteración que observe o sienta durante todo el tiempo que dure el estudio. Debo consultar con el médico antes de recibir cualquier otro tratamiento médico (excepto en casos de emergencia en que debo acudir inmediatamente a los servicios de urgencia hospitalarios).

Convengo que las muestras de sangre y mis datos podrán utilizarse en el estudio. Los resultados de la investigación pueden ser publicados sin que se me identifique.

Declaración sobre el registro y la transmisión de la información médica y sobre la inspección del informe médico:

Otorgo mi consentimiento para que la información médica sobre mi persona se pueda registrar confidencialmente por el IPK y el personal del estudio. El IPK puede utilizar los datos solamente en una forma anónima en la cual no sea posible identificarme.

Nombre y Apellidos del Voluntario

Firma

Fecha

Nombre y Apellidos del Médico

Firma

Fecha



INFORMACIÓN AL VOLUNTARIO

Los coronavirus son una familia grande de virus alguno de los cuales producen enfermedad en el hombre (catarro común). Recientemente se describió la COVID-19 causada por el virus SARS CoV-2 el cual se clasifica como un nuevo coronavirus que se ha extendido por todas las regiones geográficas incluyendo nuestro país donde se reportan casos incluyendo fallecidos. Hoy se reconocen diferentes versiones del virus asociadas a mayor transmisión y severidad clínica

Frente a esta emergencia, el Ministerio de Salud Pública de Cuba trabaja intensamente por controlar su diseminación y ha favorecido el desarrollo de varias vacunas que se están aplicando en campañas de vacunación masivas a la población

Al ser la Covid-19 una entidad nueva, se requiere profundizar en la respuesta de anticuerpos que se produce por una infección natural o por vacuna frente a varias variantes del virus. Por otra parte, se requiere medir cuan efectivas son las vacunas en la prevención y control de COVID-19

El Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK) es Centro de Referencia Nacional y Regional para el estudio de virus respiratorios y entre ellos SARS CoV-2 y ha estado desarrollando estudios de importancia científica y social sobre estas enfermedades.

La investigación **“ESTUDIO CLINICO, EPIDEMIOLOGICO E INMUNOLOGICO EN VACUNADOS CON SOBERANA 02 O ABDALA”** tiene como objetivo principal profundizar en el conocimiento de COVID-19 en Cuba para su mejor manejo clínico, diagnóstico y vigilancia de laboratorio. Particularmente, la investigación se dirige a profundizar en el impacto de la vacunación con las vacunas Abdala y Soberana 02 para conocer el desarrollo de anticuerpos anti SARS CoV-2 en los vacunados. En una muestra de los participantes se estudiará la capacidad de los anticuerpos de neutralizar varias variantes de preocupación del virus.

Esta investigación es de gran importancia ya que permitirá fortalecer las acciones para un mejor enfrentamiento de la enfermedad, su control y prevención logrando además un mejor conocimiento de la misma y del impacto de la vacunación.

Para ello se requiere la colecta de 2 muestras de sangre de 5ml cada una que no representa un riesgo para su salud ni la de su familia.

Estas muestras serán utilizadas para estudiar la presencia de anticuerpos al virus SARS CoV-2. En un grupo de los voluntarios participantes del estudio se determinará además la capacidad neutralizante de sus anticuerpos a las variantes D614G, Beta y Delta del virus. Esta selección se realizará aleatoriamente por lo que puede que su muestra no quede incluida en el segundo estudio.

Así mismo, sus muestras formarán parte de un banco de sueros para estudios posteriores de evaluación de pruebas diagnósticas y estudios para conocer los mecanismos patogénicos de la enfermedad. En este caso se le contactará de nuevo para recibir de Ud. su consentimiento.

Usted puede retirarse del estudio en cualquier momento sin que esto tenga repercusión en la atención de salud que recibe. Por otra parte, garantizamos la confidencialidad de sus datos y la confidencialidad en su identidad.

Contactos para mayor información:

Los médicos cuyos nombres se indican abajo estarán a cargo de Ud. en este estudio. Si usted tiene cualquier preocupación o pregunta, no dude en contactar a uno/a de los doctores.

Investigadores principales: Dra. Maria G. Guzmán Tirado, Dra. Mayling Alvarez, Dr Jorge Fraga, Dra. Vivian Kouri, Dra. Licel Rodríguez, Dra. Ana B. Pérez, Dra. Niurka Molina

Teléfonos: 7255-3161 y 7255-3556

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK) y Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP)