

# Informe Final I (Enero-Marzo 2021)

## Empleo de la vacuna Sputnik V en Argentina: Evaluación de respuesta humoral frente a la vacunación

Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires,  
Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Nación  
Instituto Leloir- CONICET-INBIRS-UNLP

Argentina se encuentra desde enero de 2021 en un proceso de vacunación masiva. Uno de los mayores problemas a nivel mundial en la pandemia causada por SARS-COV-2 es la escasez de vacunas y la disparidad en su distribución. Con el fin diseñar estrategias que ayuden a maximizar el beneficio de las vacunas disponibles, proponemos en este programa evaluar la respuesta inmune de todas las vacunas que se apliquen en nuestro país.

La primera vacuna recibida en Argentina fue Sputnik V. Sobre esta vacuna se han reportado informes sobre la eficacia y seguridad en estudios clínicos de Fase 3 (1). El esquema de vacunación de Sputnik V consta de un régimen de dos dosis con un intervalo de al menos 21 días entre la primera y la segunda dosis. Hasta la fecha no se han reportado estudios sobre la respuesta humoral asociada a una sola dosis de dicha vacuna. Asimismo no existe información disponible sobre la respuesta a la vacunación con Sputnik V en individuos previamente infectados con SARS-CoV-2. Al respecto, es necesario generar esta información local para futuras decisiones sanitarias. Complementariamente, los estudios locales podrán brindar información para mejorar campañas de donación de plasma dirigidas a subpoblaciones de interés.

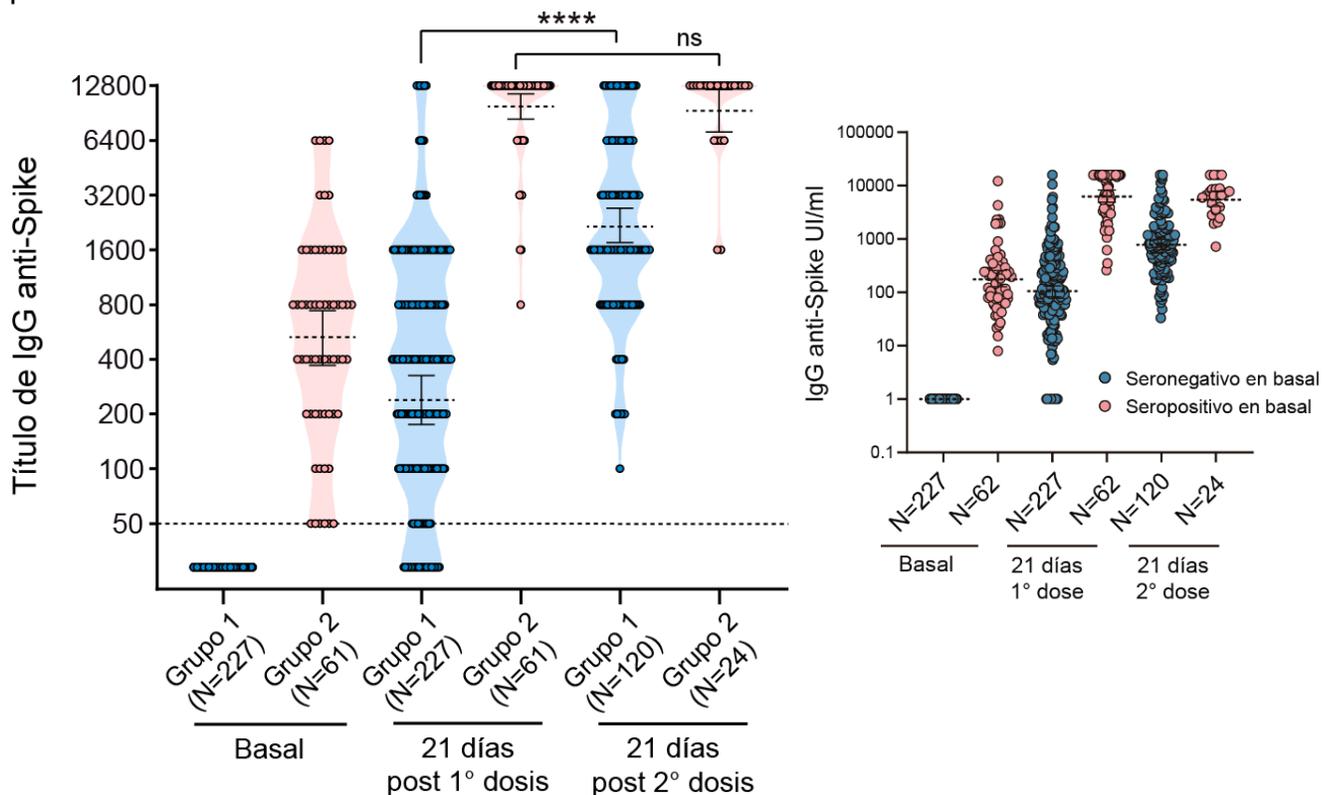
### ESTUDIO

En el presente trabajo se realizó un análisis longitudinal de 288 individuos vacunados, hasta el momento se procesaron 1200 muestras y se realizaron más de 10.000 determinaciones. En el protocolo empleado, se tomaron muestras de plasma previo a la vacunación (**nivel basal**), a los 21 días de aplicarse la primera dosis y a los 21 días de haberse aplicado la segunda dosis. La cohorte empleada en esta etapa está compuesta por personal de salud del subsector público de la Provincia de Buenos Aires de más de 18 años separadas en dos cohortes una de 18 a 59 años y otra de más de 60 años. El estudio continuará por medio de la evaluación de muestras que se obtendrán después de 4 y 6 meses de haberse aplicado la primera dosis.

Para cada muestra de plasma recibido se evaluó el título de anticuerpos de tipo IgG anti-Spike y anti-RBD empleando el test de ELISA COVIDAR (2) y se determinó la funcionalidad de dichos anticuerpos mediante ensayos de neutralización con el virus SARS-CoV-2 cepa salvaje y con el sistema de virus pseudotipado, VSV-GFP, expresando la proteína Spike en su superficie.

## EVALUACIÓN DE NIVELES DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA SARS-CoV-2

La medición de los niveles basales de anticuerpos (previo a la vacunación) permitió dividir a los voluntarios en dos grupos. El **grupo 1** (227 individuos) con anticuerpos de tipo IgG no reactivo a tiempo inicial (muestra basal), sin evidencia de exposición previa a SARS-CoV-2 y el **grupo 2** (61 individuos) con anticuerpos IgG anti-Spike detectables, indicando previa infección. En la Figura 1 se puede observar la comparación de dicha determinación en el **nivel basal** para ambos grupos.



**Figura 1.** Título de IgG anti-Spike en individuos naive y previamente infectados con SARS-CoV-2 previo a la vacunación (Basal) y a los 21 de la administración de la primera y de la segunda dosis de la vacuna Sputnik V (como se muestra en la parte inferior del gráfico). Para cada caso se indica con raya punteada la media geométrica y el IC 95%. En el panel de la derecha se expresan los niveles de anticuerpos en Unidades Internacionales (UI) por ml empleando estándar internacional del OMS.

Los resultados globales indican que a los 21 días después de la primera dosis de la vacuna Sputnik V el 94% de los individuos analizados del **grupo 1** desarrolló anticuerpos IgG específicos anti-Spike, mientras que a los 21 días de la segunda dosis el 100% de los vacunados del **grupo 1** desarrolló dichos anticuerpos.

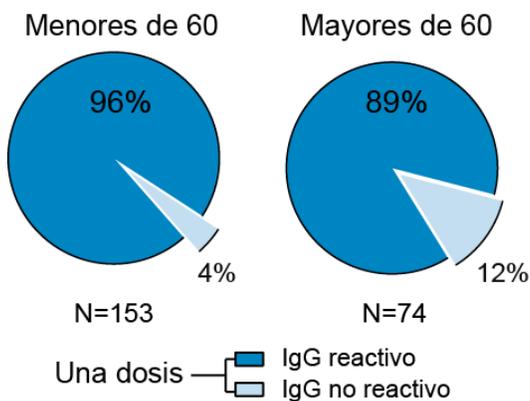
Los datos obtenidos de niveles de anticuerpos fueron también cuantificados empleando un estándar internacional generado por la Organización Mundial de la Salud (Figura 1, panel derecho). Estos datos permitirán realizar comparaciones de concentración de anticuerpos obtenidos en diferentes estudios en distintos laboratorios.

*Primera dosis:* La respuesta inmune observada en individuos del **grupo 1** después de la primera dosis se asoció a títulos con una media geométrica de 244 (IC95%, 180–328). En comparación, los individuos del **grupo 2** (previamente infectados) después de la primera dosis mostraron una

respuesta robusta en todos los casos, alcanzando una media geométrica de títulos de anticuerpos específicos de 9850 (IC95%, 8460–11480) (Figura 1).

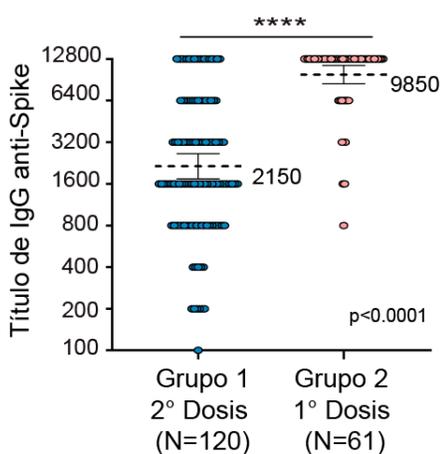
**Segunda dosis:** La respuesta inmune observada 21 días después de la segunda dosis muestra un aumento significativo del título de anticuerpos en todos los voluntarios del **grupo 1**. La media geométrica de los títulos observados después de la primera y segunda dosis fue de 244 y 2150, respectivamente ( $p < 0,001$ ). En el **grupo 2**, por el contrario, no se observaron diferencias significativas cuando se comparan los títulos obtenidos después de una o dos dosis. Al respecto, las medias geométricas obtenidas fueron de 9850 (IC95%, 8460–11480) y 9590 (IC95%, 7410–12408), después de 21 días de la primera y la segunda dosis, respectivamente (Figura 1).

Se realizó un análisis desagregado en función de las edades de menores y mayores de 60 años del grupo 1. Este estudio indica que 21 días después de la administración de 1 dosis de la vacuna el **96%** de los individuos menores de 60 años (N=153) desarrollaron anticuerpos específicos contra la proteína Spike, mientras que el **89%** de los mayores de 60 años (N=74) desarrollaron dichos anticuerpos (Figura 2).



**Figura 2.** Reactividad de IgG anti-Spike segregada por edades luego de la **primera dosis** de Sputnik V. Se indica el porcentaje de reactividad positiva y negativa para el grupo de menores y mayores de 60 años.

Estudios recientes realizados con las vacunas de Pfizer y Moderna han mostrado que la respuesta humoral luego de una dosis en personas con exposición previa al virus es muy elevada y que la segunda dosis no aporta un aumento en dicha respuesta. Sugiriendo que no habría ventaja adicional en aplicar una segunda dosis (3-8). Sin embargo hasta el momento carecemos de información que evalúe las respuestas de individuos vacunados con exposición previa a *SARS-CoV-2* habiendo recibido una o dos dosis de la vacuna Sputnik V. Al respecto, en este estudio observamos que la media geométrica de títulos de anticuerpos en personas previamente infectadas que recibieron una sola dosis de vacuna es **4,6 veces** superior al de aquellos voluntarios sin infección previa que recibieron el protocolo completo de vacunación de dos dosis (Figura 3). Estos resultados muestran que la respuesta humoral de memoria de personas previamente expuestas al virus es robusta y significativamente superior a la respuesta observada con dos dosis de vacuna Sputnik V en personas naive ( $p < 0,0001$ , Mann-Whitney test). Las medias geométricas de títulos de IgG observadas en el **grupo 2** con una dosis y en el **grupo 1** con dos dosis, fueron 9850 (IC95%, 8460–11480) y 2150 (IC95% 1742–2649), respectivamente (Figura 3).

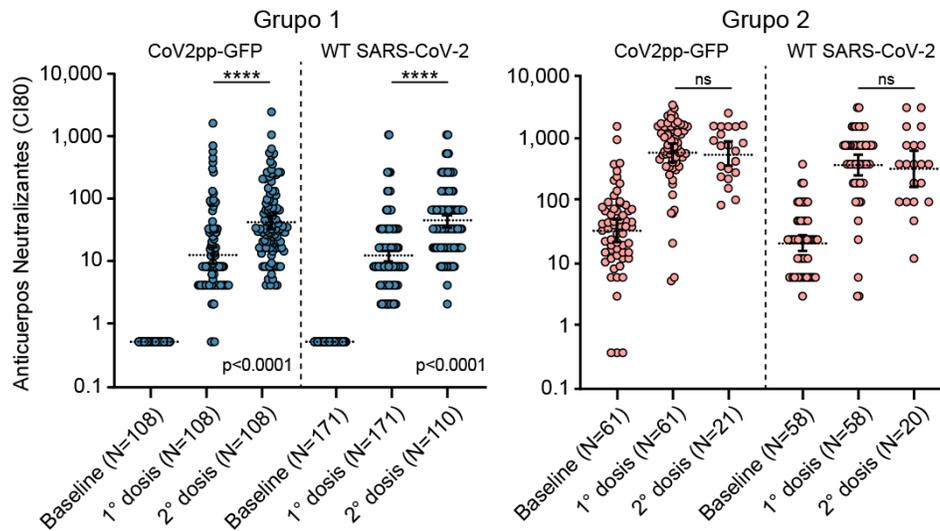


**Figura 3.** Individuos previamente infectados desarrollan una respuesta humoral robusta frente una única dosis de Sputnik V. Comparación de los títulos de IgG entre los individuos naive que recibieron dos dosis de la vacuna Sputnik V y los individuos previamente infectados y vacunados con una sola dosis, ( $p < 0,0001$ , Mann-Whitney test). Las medias geométricas y los IC95% de los títulos se encuentran indicadas en cada caso.

**EVALUACIÓN DE NIVELES DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES PARA LA INFECCIÓN POR SARS-CoV-2 EN CÉLULAS EN CULTIVO**

Con el fin de extender la evaluación de la respuesta humoral generada por la vacunación con Sputnik V, se realizó la cuantificación de anticuerpos neutralizantes en las muestras obtenidas. Para ello se cuantificaron los anticuerpos capaces de neutralizar el proceso de infección viral en células en cultivo empleando un sistema de virus pseudotipados con la proteína Spike o un sistema empleando un virus de cepa salvaje de SARS-CoV-2.

Los títulos de anticuerpos necesarios para neutralizar el 80% de la infección (concentración inhibitoria del 80%, CI80) fueron evaluados para los dos sistemas. El estudio en muestras del **grupo 1** mostró la presencia de anticuerpos neutralizantes después de la primera dosis y un aumento significativo al administrarse la segunda dosis (Figura 4, panel izquierdo). Dicho aumento fue de 4.5 y 4.7 veces cuando se cuantificaron los anticuerpos neutralizantes empleando el sistema de virus pseudotipados o el virus cepa salvaje, respectivamente. Las medias geométricas ascendieron entre la primera y la segunda dosis de 12 a 41 en mediciones con pseudovirus y de 12 a 42 con la cepa salvaje (Figura 4). Cabe resaltar la alta correlación entre los dos sistemas empleados para la evaluación de anticuerpos neutralizantes específicos, lo que confirma la robustez del análisis realizado.



**Figura 4.** Títulos de anticuerpos neutralizantes en individuos naive (Grupo 1, panel izquierdo) y previamente infectados con SARS-CoV-2 (Grupo 2, panel derecho) 21 días después de la administración de una o dos dosis de la vacuna Sputnik V. En cada gráfico se muestra la concentración inhibitoria 80 (CI80) para la infección de SARS CoV-2 cepa salvaje y virus pseudotipado (VSV S SARS-GFP) como se indica en cada panel. En el Grupo 1 la diferencia en CI80 entre una y dos dosis es significativa ( $p < 0,0001$ , Mann-Whitney test).

En el caso del análisis de presencia de anticuerpos neutralizantes en muestras de individuos del **grupo 2** (individuos previamente infectados) se observa un gran aumento en los IC80 al

comparar el nivel basal con aquel medido en muestras tomadas después de la primera dosis (Figura 4, panel derecho). Las medias geométricas ascienden de 44 en el nivel basal a 782 después de la primera dosis empleando el sistema del pseudovirus, mostrando un aumento de **18 veces** ( $p < 0,0001$ , Mann-Whitney test)). La evaluación de anticuerpos neutralizantes empleando el virus cepa salvaje revela también un aumento significativo de magnitud similar de **17 veces** ( $p < 0,0001$ , Mann-Whitney test), con medias geométricas de IC80 de 28 y 500 para las muestras del nivel basal y de la primera dosis, respectivamente. Por otra parte cuando se comparan los niveles de anticuerpos neutralizantes observados después de 1 o 2 dosis en muestras de voluntarios del grupo 2, no se detectan diferencias significativas tanto cuando se emplea el sistema de virus pseudotipado como el virus de cepa salvaje. Mientras que empleando el sistema del pseudovirus se observan IC80s con medias geométricas de 782 y 763 (para una o dos dosis), empleando el virus cepa salvaje se detectan IC80 de 500 y 431 (para una o dos dosis). Este análisis indica que los niveles de anticuerpos neutralizantes presentes en pacientes previamente infectados no cambian significativamente al recibir una segunda dosis.

Cabe destacar que si comparamos los títulos de anticuerpos neutralizantes de voluntarios del **grupo 1** que recibieron dos dosis con aquellos del **grupo 2** que recibieron una dosis, se observan medias geométricas de CI80 significativamente diferentes (42 y 500,  $p < 0.0001$  Mann-Whitney test), confirmando una robusta respuesta humoral con una dosis de vacuna en individuos previamente expuestos al SARS-CoV-2.

## CONCLUSIONES

En conjunto los resultados aquí presentados muestran que la vacuna Sputnik V induce una respuesta humoral contra la proteína Spike de SARS CoV-2 **en el 100% de los individuos analizados en esta cohorte 21 después de la segunda dosis**. Por otro lado, un análisis global indica que el 94% de los individuos mostraron presencia de anticuerpos específicos tras recibir **una sola dosis** de la vacuna. En relación a la respuesta humoral en función de las edades empleando **una dosis**, el **96%** de individuos menores de 60 años tuvieron anticuerpos reactivos mientras que la reactividad fue detectada en el **89%** de individuos mayores de 60 años.

Cabe destacar que el aumento en el título de anticuerpos IgG totales contra Spike y de anticuerpos neutralizantes en individuos con previa exposición al virus que recibieron una sola dosis de la vacuna fue superior a la observada en individuos naive con las dos dosis. Estos resultados indican que la infección previa genera memoria inmunológica y que la reactivación de las células de memoria frente a una dosis de vacuna da lugar a niveles de anticuerpos muy superiores a aquellos producidos en individuos que no registran infección previa. Asimismo no se detectó un aumento significativo en el título de anticuerpos al aplicar la segunda dosis en individuos previamente infectados, sugiriendo que esta población no recibiría un beneficio adicional al recibir una segunda dosis en los tiempos analizados.

En este estudio se evaluó la respuesta después de 21 días de aplicada la primera y la segunda dosis. Estudios más prolongados en el tiempo, incluyendo distintos intervalos entre dosis, podrían revelar una ventana temporal más favorable para la administración de una segunda dosis.

Es importante mencionar que la información aquí generada puede emplearse para mejorar las campañas de donación de plasmas (9). La guía sobre el uso apropiado de plasmas de pacientes recuperados con fecha de enero de 2021 del Ministerio de Salud de la Nación sugiere emplear

títulos superiores a 1/1000 obtenido por el método COVIDAR para la selección de plasmas. Los resultados aquí presentados muestran que individuos vacunados con dos dosis o vacunados con una dosis (previamente infectados) cumplen con este requisito como potenciales donantes.

Esperamos que la información aquí presentada sea de utilidad como guía para la toma de decisiones y diseño de estrategias de vacunación que ayuden a maximizar el beneficio de las mismas e impacte positivamente en el control de la pandemia.

## Referencias

1. Logunov DY, Dolzhikova I V, Shcheblyakov D V, Tukhvatulin AI, Zubkova O V, Dzharullaeva AS, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397: 671–681. doi:10.1016/s0140-6736(21)00234-8
2. Ojeda DS, Gonzalez Lopez Ledesma MM, Pallarés HM, Costa Navarro GS, Sanchez L, Perazzi B, et al. Emergency response for evaluating SARS-CoV-2 immune status, seroprevalence and convalescent plasma in Argentina. *PLOS Pathog*. 2021;17: e1009161. doi:10.1371/journal.ppat.1009161
3. Krammer F, Srivastava K, Team P, Simon V, Alshammery H, Amoako A, et al. Robust spike antibody responses and increased reactogenicity in seropositive individuals after a 1 single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. [cited 25 Feb 2021]. doi:10.1101/2021.01.29.21250653
4. Zaytsev P, Hasaneini SJ, Ruina A. Immunogenicity after the First Dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: Real-World Evidence from Greek Healthcare Workers. 2015.
5. Samanovic MI, Cornelius AR, Wilson JP, Karmacharya T, Gray-Gaillard SL, Allen JR, et al. Poor antigen-specific responses to the second BNT162b2 mRNA vaccine dose in SARS-CoV-2-experienced individuals. *medRxiv Prepr Serv Heal Sci*. 2021 [cited 25 Feb 2021]. doi:10.1101/2021.02.07.21251311
6. Saadat S, Zahra ;, Tehrani R, Logue J, Newman M, Frieman MB, et al. Single Dose Vaccination in Healthcare Workers Previously Infected with SARS-CoV-2. *medRxiv*. 2021; 2021.01.30.21250843. doi:10.1101/2021.01.30.21250843
7. Levi R, Azzolini E, Pozzi C, Ubaldi L, Lagioia M, Mantovani A, et al. A cautionary note on recall vaccination in ex-COVID-19 subjects. *medRxiv*. 2021; 4. doi:10.1101/2021.02.01.21250923
8. Abu Jabal K, Ben-Amram H, Beiruti K, Batheesh Y, Sussan C, Zarka S, et al. Impact of age, ethnicity, sex and prior infection status on immunogenicity following a single dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: real-world evidence from healthcare workers, Israel, December 2020 to January 2021. *Eurosurveillance*. 2021;26: 1–5. doi:10.2807/1560-7917.es.2021.26.6.2100096
9. Libster R, Pérez Marc G, Wappner D, Coviello S, Bianchi A, Braem V, y col ; Fundación INFANT–COVID-19 Group. Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults. *N Engl J Med*. 2021 Feb 18;384(7):610-618. doi: 10.1056/NEJMoa2033700. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33406353; PMCID: PMC7793608.
10. Molly A. Vickers , Alan Sariol , Judith Leon , Alexandra Ehlers , Aaron V. Locher , Kerry A. Dubay , Laura Collins , Dena Voss , Abby E. Odle , Myrl Holida , Anna E. Merrill , Stanley Perlman , C. Michael Knudson. Exponential increase in neutralizing and spike specific antibodies following vaccination of COVID-19 convalescent plasma donors. *medRxiv* 2021.02.02.21250836; doi:<https://doi.org/10.1101/2021.02.02.21250836>

## **El trabajo fue realizado por:**

Andres Rossi, Diego Ojeda, Lautaro Sanchez, Maria Mora Gonzalez Lopez Ledesma, Anabel Alvarez Juliá, Santiago Oviedo Rouco, Horacio Pallarés, Guadalupe Costa Navarro, Natali Rasetto, Corina Garcia, Shirley Wenker, Lila Ramis, Magali Bialer, Maria Jose de Leone, Esteban Hernando, Santiago Sosa, Luciana Bianchimano, Maria Soledad Treffinger, Julio Caramelo, Marcelo Yanovsky, Diego Alvarez y Andrea Gamarnik (**Fundación Instituto Leloir-IIBBA CONICET**)

Augusto Varese, Ignacio Mazzitelli, Jorge Geffner (**INBIRS- Biobanco de Enfermedades infecciosas**)

Guillermo Docena (IIFP, FCE UNLP) Alejandro Aliello, Alejandro Orlowsky (**CIC-Medicina UNLP**)

Marina Pifano, Soledad González, Enio García, Lorena Regairaz, Nicolás Kreplak **Min Sal Provincia de Bs As**

## **Hospitales:**

HIEAC “San Juan de Dios”: Regina Ercole, Andrea Gatelli, Sofia Di Bella, Agustina Martinez, Martina Ferioli, Francisco Echeverria, Ramiro Agüero, Ana Caproli, Karina Gil

HIGA “Dr. Rodolfo Rossi”: Cecilia Etchegoyen, Claudia Varela, Ángeles Baridon, Soledad Ocampo, Emanuel Zapata, Melina Cancela y Verónica Forneris

HIGA “San Martín”: Susana Marchetti, Sebastián Gutiérrez, María Maxwell, Rosario Marcó, Cecilia Zolorzano, Micaela Nieva, Claudia Conta

HIGA “Evita”: Alejandra Rima, Silvina Olivera, Isabel Desimone, Alejandra Musto

HIGA “Dr. Pedro Fiorito”: Aime Balanzino, Dariana Pedrozza, Katherina Prost, Miriam Pereiro, Eliana Correa, Noelia Portillo, Cynthia Leguizamon, Alicia Quetglas

HIGA “San Roque”: Mariana Artazcoz, Paula Gelpi, Agustina Venturi Grossi, Rosana Toro, Anabella Masci, Sofía Padín

HAC “El Cruce- Néstor Kirchner”: Martín Zubieta, Mabel Skrypnik, Blanca Guevara, Virginia Aniasi, Alan Estigarribia