

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela de Tecnología Médica



TESIS PROFESIONAL

***Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención
Bioanálisis Clínico, Hematología y Medicina Transfusional***

*“Monitoreo molecular de pacientes reumatológicos inoculados con
esquemas de vacunación heterólogos y homólogos contra SARS-CoV-
2 en la región de Atacama”*

Alumno/a: Javiera Paz Silva Soto

Tutor: Dr. Fernando Valiente

Co-tutora: Dra María José Gallardo

Firmado digitalmente por FERNANDO
VALIENTE ECHEVERRÍA
Fecha: 2023.07.11 16:41:27 -04'00'

Firma

Powered by
 **Firma electrónica avanzada
MARIA JOSE GALLARDO
NELSON**
2023.07.11 10:51:56 -0400

Firma

Fecha: 25/11/2023

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

TESIS PROFESIONAL

Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención

**“MONITOREO MOLECULAR DE PACIENTES REUMATOLÓGICOS INOCULADOS
CON ESQUEMAS DE VACUNACIÓN HETERÓLOGOS Y HOMÓLOGOS CONTRA
SARS-CoV-2 EN LA REGIÓN DE ATACAMA”**

JAVIERA SILVA SOTO

***DIRECTOR/A DE TESIS: Dr. FERNANDO VALIENTE Y Dra. MARIA JOSE GALLARDO.
Universidad de Chile, Universidad de Atacama.***

Duración: un semestre académico (5 meses)

Fechas de inicio y término: 14/03/2023 al 11/07/2023 (Primer semestre 2023)



Santiago, 19 de octubre de 2023

ACTA CURSO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La **Srta. Javiera Paz Silva Soto**, estudiante de Tecnología Médica con Mención en Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional, cumpliendo con los requisitos establecidos en el plan de estudio, realizó durante el noveno semestre de la carrera, la Tesis Profesional titulada: "**MONITOREO CLÍNICO-MOLECULAR DE PACIENTES REUMATOLÓGICOS INOCULADOS CON LA VACUNA CONTRA SARS-CoV-2 EN LA REGIÓN DE ATACAMA**", dirigida por el **Dr. Fernando Valiente-Echeverría** académico de la Universidad de Chile y la **Co-tutora, Dra. María José Gallardo** académica de la Universidad de Atacama.

La Escuela de Tecnología Médica designó para su corrección una Comisión integrada por la **Profa. Claudia Cortés Moncada**, académica del Departamento de Medicina Interna Centro, Facultad de Medicina y la **Profa. Rosana Muñoz Videla**, académica del Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

La calificación obtenida se detalla a continuación:

Correctora 1 Claudia Cortés Moncada	6.46	25%
Correctora 2 Rosana Muñoz Videla	6.28	25%
Tutor(es) Guía:		
Evaluación intermedia	7.00	25%
Nota final tutor	7.00	25%
Nota final tesis profesional	6.69	

En consecuencia la estudiante **Javiera Paz Silva Soto** aprueba satisfactoriamente la asignatura.

Profa. Rosana Muñoz Videla
Coordinador(a) curso
Trabajo de Investigación



Prof. Hernán Torres.
PEC curso
Trabajo de Investigación

DEDICATORIA

Dedico mi tesis con todo mi cariño principalmente a mi familia.

A mi madre Catalina, quien a la distancia me dió siempre una palabra de aliento frente a mis inseguridades y me enviaba a sus angelitos a cuidarme para que todo saliera bien.

A mi padre Osvaldo, quien a la distancia se preocupaba por mi salud mental aún cuando la suya no se encontraba bien, y se daba el tiempo de escucharme y aconsejarme en mis días tristes.

A mi abuelita Hilda Laura Eugenia, quien siempre creyó en mi sabiduría y me amó incondicionalmente, a pesar del poco tiempo que tenía para compartir con ella.

A mis hermanos Nicolás y Martina, quienes sin entender de este proceso aún así me daban una palabra de aliento para luchar por mis metas.

A mis tíos Cristian, Bea y Estefy, quienes me aconsejaron y empatizaron conmigo cuando viví días difíciles, aceptándome siempre en las buenas y en las malas.

A mi Tío Pato, tía Gemita, Isidora y Bárbara, quienes en los últimos años nos hemos acercado un montón, aconsejándome, queriéndome y generando un espacio de confianza para mí.

A mis primas Laura, Antonia, Thiare, Diego, cuyo amor fue tan incondicional que aunque este año no pude compartir mucho con ellos, siempre fueron felices en los pocos tiempos en que sí podía.

A mi familia del campo, mis abuelitos, tías, primos y primas, quienes a pesar de la distancia siempre creyeron en mí y en cada despedida me mandaban buenas vibras, recargándome de amor para seguir adelante.

A mi amigo Felipe, donde cada salida juntos me permitió distraerme, para luego volver recargada de energía a la rutina. A la distancia, gracias por tu amistad incondicional, tus consejos y tu humor característico.

Estoy a un paso de ser profesional y, sin duda, este logro también es de ustedes.

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mis tutores por la paciencia, por creer en mis capacidades, por enseñarme en cada momento y por permitir ser parte de un lindo proyecto que me conectó con la ciencia y la investigación.

ÍNDICE

Resumen.....	7
Introducción.....	8
Hipótesis.....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos.....	15
Materiales y Métodos.....	16
Resultados.....	26
Discusión.....	36
Tablas y Figuras.....	41
Referencias bibliográficas.....	55
Anexos.....	59

I. RESUMEN.

Tras dos años desde el inicio de la pandemia causada por el virus del síndrome respiratorio agudo severo tipo 2 (SARS-CoV-2), varios países han comenzado a utilizar dosis de refuerzos de vacunas contra SARS-CoV-2 debido a que se ha demostrado una disminución de la respuesta inmunitaria humoral después de la vacunación con cualquier vacuna contra SARS-CoV-2, que es dependiente del tiempo. En Chile y otros países, debido al retraso y escasez de suministros de vacunas, se han recomendado las estrategias de vacunación heterólogas contra SARS-CoV-2 que combinan vacunas aprobadas disponibles, sin embargo, hay datos limitados acerca del efecto que esto tiene en la producción de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos. El objetivo principal de este estudio fue comparar los niveles de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos de la región de Atacama inoculados con esquemas homólogos de la vacuna contra COVID-19, respecto a pacientes inoculados con esquemas heterólogos de la vacuna contra COVID-19, en comparación a controles sanos, frente a dos variantes diferentes de SARS-CoV-2. Para lograr este objetivo, se realizó un ensayo de neutralización de virus de acuerdo a una metodología basada en pseudotipos virales, la cuál permitió detectar y cuantificar los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la variante Wuhan y Ómicron BA1.1 de SARS-CoV-2, en el plasma de pacientes reumatológicos y controles sanos. Este estudio mostró que los pacientes reumatológicos que tienen esquemas homólogos de vacunación tienen mayores niveles de anticuerpos neutralizantes que los pacientes reumatológicos que tienen esquemas heterólogos de vacunación, tanto contra la variante Wuhan, como contra la variante Ómicron BA1.1. En conclusión, los pacientes reumatológicos vacunados con esquemas de vacunación homólogos tendrían una mayor protección contra las variantes Wuhan y Ómicron BA1.1.

II. INTRODUCCIÓN.

Tras dos años desde el inicio de la pandemia causada por el virus del síndrome respiratorio agudo severo tipo 2 (SARS-CoV-2), varios países han comenzado a utilizar dosis de refuerzos de vacunas contra SARS-CoV-2 debido a que se ha demostrado una disminución de la respuesta inmunitaria humoral dependiente del tiempo después de la vacunación con las diferentes plataformas vacunales contra SARS-CoV-2³. Es más, Chile comenzó a administrar la primera dosis de refuerzo en agosto de 2021 y, hasta la actualidad, más del 90% de la población se encuentra vacunada con la cuarta dosis de refuerzo, según lo informado por el Departamento de Estadística e Información dependiente del Ministerio de Salud^{3,4}

SARS-CoV-2 pertenece a la familia de los coronavirus, cuya característica principal es que son virus envueltos con un genoma de simple hebra de ARN de polaridad positiva. Estos virus contienen diferentes proteínas, como: glicoproteína de espiga (S), proteína de membrana (M) y proteína de envoltura (E), las cuales se encuentran localizadas en la envoltura viral y además contiene la proteína N, cuya función es proteger el genoma de ARN viral en el núcleo del virus (**Figura 1A**). Cabe destacar que la glicoproteína S contiene el dominio de unión al receptor (RBD) y media la entrada del virus a las células humanas, a través de su unión con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2, la cuál se distribuye ampliamente en las células epiteliales de la tráquea, bronquios y alvéolos, principalmente (**Figura 1B**)²¹

Uno de los objetivos de la eficacia de una vacuna es la inducción de una memoria inmunológica humoral específica. Las vacunas contienen antígenos o permiten la producción de antígenos que, cuando ingresan al organismo, son presentados por las

células dendríticas a los linfocitos T y linfocitos B. Cuando un linfocito B se une a estos antígenos, éste se activa y produce anticuerpos contra estas moléculas que en un inicio son inmunoglobulinas M (IgM) y luego producen inmunoglobulina G (IgG). Esto permitirá que el microorganismo sea fagocitado y destruido por los macrófagos, o que sea neutralizado por anticuerpos del tipo neutralizantes⁵.

Además de los anticuerpos que permiten la destrucción del microorganismo, estos linfocitos B también son capaces de producir anticuerpos neutralizantes, los cuales son anticuerpos de alta afinidad que se definen *in vitro* por su capacidad para bloquear la entrada, fusión o salida del coronavirus, reconociendo epítomos virales específicos⁵. En este caso, el principal blanco de los anticuerpos neutralizantes contra el virus SARS-CoV-2 que son generados por las vacunas es el dominio de unión al receptor (RBD) presente en el dominio S1 de la proteína Spike (S) viral, lo que impide la entrada de este virus a la célula a través del receptor de la enzima convertidora de angiotensina II (ACE 2)¹⁰.

En Chile, actualmente hay cinco plataformas de vacunas que son utilizadas principalmente: Astrazeneca (AZD1222, vector adenoviral), CanSino (Ad5-nCoV, vector adenoviral), CoronaVac (Sinovac, virus inactivado), Pfizer (BNT162b2, ARN mensajero modificado) y Moderna (mRNA-1273, ARN mensajero modificado). Las vacunas con ARN mensajero modificado son capaces de producir en las células del cuerpo la expresión de la glicoproteína de superficie Spike (S) de SARS-CoV-2, mientras que las vacunas inactivadas contienen al virus completo inactivado por métodos físicos o químicos, para evitar su replicación. Por otra parte, las vacunas con vector adenoviral contienen un adenovirus modificado genéticamente para expresar la glicoproteína de superficie Spike (S). En todas estas situaciones, estos componentes servirán de antígeno para estimular la respuesta

Los anticuerpos neutralizantes pueden predecir la protección inmune después de la vacunación contra SARS-CoV-2 debido a que los títulos *in vitro* de neutralización se han sugerido como correlato de la protección contra las variantes de SARS-CoV-2¹¹. Por otra parte, hay evidencia que sugiere que variantes emergentes de SARS-CoV-2, como la variante Omicron (B.1.1.159), podrían evadir la protección inmune que se induce por la vacunación³. Estas variantes se caracterizan por tener la presencia de una o varias mutaciones, particularmente sustituciones en los aminoácidos de la proteína S del virus. Debido a lo anterior, la proteína S del virus adquiere una nueva conformación que no puede ser reconocida por los anticuerpos neutralizantes y estos no pueden ejercer su función¹⁶. En ese sentido, es importante realizar estudios de eficacia de vacunas en poblaciones que son más susceptibles a la enfermedad o que tienen su sistema inmunológico suprimido, como es el caso de pacientes con enfermedades reumatológicas.

La prevalencia de las enfermedades reumatológicas en Chile varía entre un 15% a un 40% según diversos estudios, consideradas una de las causas más frecuentes de morbilidad ²³. La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta aproximadamente al 1% de la población y es causada por la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra las articulaciones, llevando a su destrucción crónica. Por otra parte, el lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune sistémica crónica que afecta entre el 0,01% y el 0,1% de la población y ocurre por presencia de autoanticuerpos dirigidos contra componentes celulares, lo que produce daño en diferentes órganos, como riñón, piel y articulaciones¹³.

Las personas que tienen enfermedades reumatológicas como AR, LES y otras, pertenecen a una población vulnerable donde tienen 1,5 veces más riesgo de tener COVID-19 grave y 1,7 veces más riesgo de muerte por esta enfermedad¹⁹. Lo anterior, se ha relacionado principalmente al tratamiento inmunosupresor que reciben para modular su sistema inmune y evitar la destrucción crónica de sus tejidos¹¹. Las respuestas inmunes inducidas por las vacunas en personas que están inmunocomprometidas podrían depender, entre otros factores, del tipo de vacuna que reciben, por lo que algunas vacunas podrían generar una respuesta atenuada de anticuerpos en comparación con personas sanas, quedando menos protegidos¹³.

La vacunación con esquemas heterólogos se refiere al uso de vacunas de refuerzo con diferentes plataformas, mientras que la vacunación con esquemas homólogos se refiere al uso de vacunas de refuerzo con plataformas iguales. En Chile y otros países, debido al retraso y escasez de suministros de vacunas, se han recomendado las estrategias de vacunación heterólogas contra SARS-CoV-2 que combinan vacunas aprobadas disponibles, con el objetivo de asegurar la continuidad de los programas de vacunación y ampliar la amplitud de la inmunidad contra el SARS-CoV¹⁵. Sin embargo, hay datos limitados acerca del efecto que esto tiene en la producción de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos.

En un estudio realizado en Turquía, entre junio y septiembre del año 2021, se reclutaron pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias que recibieron dos dosis de CoronaVac o dos dosis de Pfizer, junto con controles sanos. Aquí, se observó que la tasa de seroconversión fue ligeramente inferior entre los pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias versus los sujetos controles (84% y 97%, respectivamente). Además, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes fueron

significativamente mayores en pacientes reumatológicos con dosis de Pfizer en comparación con pacientes reumatológicos con dosis de CoronaVac¹⁴.

En un estudio realizado en Tailandia, se reclutaron pacientes con AR y LES que fueron vacunados previamente con un esquema homólogo (con dos dosis de CoronaVac o dos dosis de Astrazeneca) o con un esquema heterólogo (una dosis con Astrazeneca y una dosis de Pfizer). Se midió la actividad neutralizante contra la variante Omicron y se mostró que la administración de la vacuna inactivada (CoronaVac) en las primeras dosis del esquema homólogo se asoció con bajos títulos de IgG anti RBD y baja actividad neutralizante contra esta variante¹⁷.

Por otra parte, en un estudio que se realizó en Hungría publicado en el año 2022, se vacunaron a pacientes con enfermedades autoinmunes reumáticas con tres dosis de BNT162b2 (esquema homólogo), dos dosis de AZD1222 más una dosis de BNT162b2 o dos dosis de mRNA-1273 (esquemas heterólogos). En este estudio, se observó una respuesta de anticuerpos neutralizantes IgG anti-RBD del 95,5% para los esquemas homólogos, versus el 100% de respuesta de anticuerpos neutralizantes para los esquemas heterólogos²⁰.

La estrategia Gold Estándar clásica para detectar y cuantificar anticuerpos neutralizantes es el ensayo de neutralización de virus. Sin embargo, esto tiene una limitación ya que para implementar y realizar esta técnica se requiere trabajar con el virus vivo aislado en un laboratorio de bioseguridad 3, lo cual en Chile tiene un acceso limitado para la investigación académica, debido a que la mayoría de los laboratorios son de bioseguridad 2. En ese sentido, Chile sólo cuenta con 3 laboratorios de bioseguridad 3¹⁰.

En el año 2021, investigadores caracterizaron, implementaron y validaron un pseudotipo de SARS-Cov-2 basado en VIH-1, en un formato de placa de 96 pocillos, que permite tanto detectar cómo cuantificar la presencia de anticuerpos neutralizantes en plasma o suero. Este pseudotipo de SARS-CoV-2 basado en VIH-1 permite recapitular los pasos más relevantes de la entrada celular de este virus mediada por S, que es dependiente del receptor ACE-2¹⁰.

Esta metodología permite, por un lado, utilizar diferentes variantes de la proteína S para evaluar la habilidad que podrían tener las muestras de plasma de pacientes para neutralizar aquellos pseudotipos que llevan estas variantes de la proteína S. Por otro lado, permite realizar el estudio de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 en países que carecen de acceso a laboratorios de bioseguridad 3¹⁰.

En este estudio local, se trabajará con pacientes de la región de Atacama que han sido diagnosticados con alguna enfermedad reumatoidea, como, por ejemplo: artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, entre otras. Una vez seleccionados los participantes según criterios establecidos, se realizará una medición de anticuerpos neutralizantes a través del ensayo de neutralización basado en partículas pseudovirales y los datos se relacionarán con los diferentes esquemas de vacunación que tienen estos pacientes, comparándolos con sujetos control.

La vacunación en Chile sigue su rumbo tras dos años de pandemia y los pacientes reumatológicos siguen siendo una población prioritaria para la inoculación de las dosis de refuerzo contra SARS-CoV-2. De hecho, en el mes de octubre del año 2022 dos plataformas de vacunas bivalentes que contienen la cepa original y la subvariante

Omicron BA.1 se comenzó a administrar anualmente, tanto para pacientes inmunosuprimidos, como personal de salud y serán incorporada al programa nacional de inmunización¹⁸. Estas vacunas contienen dos ARN mensajeros del virus SARS-CoV-2, correspondientes a la cepa original y al linaje BA.1 de la variante Ómicron, que es la variante de circulación actual más prevalente del mundo.^{24, 25}

Por lo tanto, la medición de anticuerpos neutralizantes, a través de una tecnología confiable y robusta, permitirá obtener información sobre la eficacia y la efectividad de las vacunas frente a dos variantes distintas, en pacientes reumatológicos e inmunosuprimidos provenientes de la región de Atacama del norte de Chile. Este estudio es pionero en el país y aportará evidencia a nivel local, ya que los datos obtenidos de esta investigación permitirán desarrollar recomendaciones sobre los esquemas de vacunación contra SARS-CoV-2 futuros para estos pacientes.

III. **HIPÓTESIS.**

Los pacientes reumatológicos de la región de Atacama inoculados con esquemas de vacunación homólogos contra COVID-19 tienen menores niveles de anticuerpos neutralizantes que los pacientes reumatológicos inoculados con esquemas heterólogos, en comparación a controles, frente a dos variantes de COVID-19 diferentes.

IV. **OBJETIVO GENERAL.**

Comparar los niveles de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos de la región de Atacama inoculados con esquemas homólogos de la vacuna contra COVID-19, respecto a pacientes inoculados con esquemas heterólogos de la vacuna contra COVID-19, en comparación a controles, frente a dos variantes de COVID-19 diferentes.

V. **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

1. Determinar los niveles de anticuerpos neutralizantes de los pacientes reumatológicos y controles frente a dos variantes de SARS-CoV-2 diferentes.
2. Comparar los niveles de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos y controles sanos que tienen diferentes esquemas de vacunación contra SARS-CoV-2.

VI. Materiales y Métodos.

1. *Universo muestral y criterios de exclusión.*

Para este proyecto, se reclutaron un total de 225 pacientes que tenían alguna enfermedad reumatológica (artritis reumatoide, lupus, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, esclerodermia sistémica, vasculitis autoinmune) y 116 voluntarios sanos asignados como controles. Todos los participantes provenían de diferentes comunas de la región de Atacama, como Chañaral, Caldera, Diego de Almagro y Tierra Amarilla.

Los criterios de exclusión fueron: (i) No poseer la cuarta dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2, (ii) Padecer o tener antecedentes de tumores sólidos y/o hematológicos en los últimos 5 años o (iii) Padecer otras enfermedades que comprometan el sistema inmune tales como VIH (infección por el virus de la inmunodeficiencia humana), IDCV (inmunodeficiencia común variable), EMR (esclerosis múltiple refractaria).

2. *Consentimiento informado, ficha clínica y autorización ética.*

Tanto este proyecto como el consentimiento informado fueron analizados y aprobados por el comité de ética de investigación de seres humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Proyecto nº 161 - 2021) (**anexo 3**), donde se estimó que el estudio propuesto está bien justificado y que no significa un riesgo para los sujetos involucrados. A los participantes reclutados para el proyecto se les entregó un consentimiento informado (**anexo 1**) donde se explican los procedimientos a realizar, la confidencialidad y uso potencial de los resultados, además de los riesgos, costos y beneficios para los participantes. En la misma línea, se relleno una ficha clínica (**anexo 2**) para cada participante, donde se recabó información respecto de los datos personales y de contacto, además de información médica relacionada con aspectos de vacunación, tipo de patologías reumatológicas, medicamentos y co - morbilidades de los pacientes.

3. *Toma de muestra, almacenamiento y transporte.*

Los lugares de toma de muestra fueron el hospital de Chañaral, el CESFAM de Tierra Amarilla y 2 sedes sociales en Caldera y Diego de Almagro. Se obtuvieron un total de 227 muestras de sangre, las que fueron procesadas en el laboratorio de biología de la facultad de Medicina de la Universidad de Atacama. Las muestras fueron tomadas en un tubo con Citrato como anticoagulante, luego se centrifugaron a 1300 rpm donde se recuperó el plasma y este se almacenó a -20°C para su posterior análisis. Las muestras se transportaron con unidades refrigerantes, por vía terrestre hasta la facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

4. *Ensayo de neutralización.*

En este proyecto se utilizaron partículas pseudovirales, que se basan en un sistema de dos vectores, los cuales expresan la proteína S de envoltura del virus SARS-CoV-2 y un genoma de un retrovirus (VIH-1) que no se puede replicar y que contiene un gen reportero que codifica para la enzima luciferasa (Luc2). Para realizar este ensayo de neutralización, se llevaron a cabo las siguientes etapas:

4.1 *Generación de partículas virales.*

Las células HEK y HEK-ACE2 fueron mantenidas en medio DMEM suplementado con 10% suero fetal bovino, 1% antibiótico-antimicótico y 1% L-glutamina a 37°C en un incubador con 5% CO_2 . Las células HEK-ACE2 además fueron mantenidas en medio con 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de puromicina.

Se utilizaron dos plásmidos (ver Figura 1):

- a) *VIH-1-ΔEnv-FLuc*: Este plásmido tiene dos características. La primera, es que presenta una mutación en la proteína de la envoltura viral, por lo que carece de la región codificante para la envoltura de la partícula viral. La segunda, es que contiene el gen reportero de la Luciferasa en la secuencia codificante de la proteína accesoria Nef.

- b) *pCMV14-3X-Flag-SARS-CoV-2 Δ19CT*: Este plásmido contiene el gen de la proteína S, pero que posee una deleción de 19 aminoácidos en el extremo C-terminal de la cola citoplasmática, lo que impide su retención en el retículo endoplasmático. Este plásmido se puede modificar para que se expresen variantes de la proteína S.

Para producir estas partículas virales, se realizó una co-transfección de los plásmidos esquematizados en la Figura 1 en células HEK293T. En este estudio se utilizaron plásmidos que codifican para la proteína Spike Wuhan y para la variante Omicron BA.1. Luego, los virus se colectaron 48 horas post-transfección, recuperando el sobrenadante después de centrifugar las células a 3000 rpm durante 5 minutos a 4°C. Finalmente, se diluyeron al 50% en suero fetal bovino, se alicuotaron y almacenaron a -80°C hasta la realización de los ensayos de neutralización.

4.2 Cuantificación de partículas virales.

Para determinar qué título de partículas virales se utilizarían en los ensayos de neutralización, se cuantificaron los niveles de partículas virales en el sobrenadante de las células transfectadas. Para cuantificar la proteína p24 de la cápside de VIH-1, se utilizó un kit de detección HIV - 1 Gag p24 tipo ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante (R&D Systems).

4.3 Ensayos de neutralización y transducción de células HEK-ACE2.

Tres días antes de comenzar los ensayos de neutralización, se realizó un cultivo celular de células HEK- ACE2. Un stock de células HEK-ACE2 congeladas a -80°C se descongelaron a temperatura ambiente y rápidamente se centrifugaron a 3.000 rpm por 5 min, para luego retirar el sobrenadante con una pipeta. En una botella de cultivo T75 se añadió 9 mL de medio DMEM suplementado a temperatura ambiente y 1 mL del stock celular descongelado.

El cultivo se incubó a 37°C y 5% de CO_2 por 24 horas. Al día siguiente, se retiró el medio DMEM con cuidado ocupando con una pipeta serológica de 10 mL y una propipeta. Luego, se añadió 10 mL de medio DMEM a temperatura ambiente, sin tocar la pared de la botella donde estaba la capa celular adherida. Finalmente, se añadió 1 uL de puromicina previamente descongelada, se homogeneizó y se incubó hasta el día de los experimentos.

Las muestras de plasma se inactivaron a 56°C durante 30 minutos. Luego, en una placa de dilución de 96 pocillos autoclavada, se realizaron 8 diluciones seriadas 1:3 para cada una de las muestras de los pacientes en medio DMEM suplementado a temperatura ambiente. Para ello, se realizó una dilución inicial de cada muestra en el pocillo H de la placa, añadiendo 320 uL de DMEM suplementado más 80 uL de muestra.

Una vez que se homogeneizó la mezcla anterior, se tomaron 100 uL del contenido del pocillo H y se mezcló con 200 uL de DMEM suplementado que contenía el pocillo G (y así sucesivamente, donde todos los demás pocillos contenían 200 uL de DMEM suplementado a temperatura ambiente). Por tanto, se generaron las siguientes diluciones: 1:5, 1:15, 1:45, 1:135, 1:405, 1:1215, 1:3645 y 1:10935.

Mientras se realizaban estas diluciones, los pseudovirus se descongelaron con anticipación ya que este proceso se demoró una hora. Una vez que las diluciones seriadas de las muestras estaban listas, se procedió a realizar una dilución de cada uno de los pseudotipos virales en medio DMEM suplementado a temperatura ambiente, ocupando una balsa para pipetas multicanal autoclavada.

Después, en una placa de fondo blanco de 96 pocillos se añadieron 50 uL de cada una de las 8 diluciones seriadas por duplicado con una pipeta multicanal y luego se agregaron 3 ng de p24 en 50 uL de virus Wuhan u Omicron BA.1 previamente descongelado, según corresponda, a cada pocillo (excepto a los pocillos de control negativo), generando una dilución de las muestras tal que finalmente las diluciones del ensayo fueron 1:10, 1:30, 1:90, 1:270, 1:810, 1:2430, 1:7290 hasta 1:21870.

En la misma placa anterior (fondo blanco) se añadieron en los tres primeros pocillos de la primera columna, 100 uL de medio DMEM suplementado para el control negativo, mientras que en los tres primeros pocillos de la segunda columna se añadieron 50 uL de medio DMEM suplementado para el control positivo. Una vez completada esta placa, se incubó durante una hora a 37°C (**Figura 3**).

Pasada esta primera incubación, el cultivo celular de HEK-ACE2 se visualizó en el microscopio para observar la confluencia. Cuando la confluencia celular fue mayor a 80%, se realizó un pasaje celular donde se separó el 90% del contenido de la botella en un tubo cónico de 50 mL. De este tubo cónico, se extrajo 12 uL de suspensión celular para contar células HEK-ACE2 utilizando el contador automático LUNA Dual Fluorescence Cell Counter (Logos Biosystem).

Una vez terminado el recuento de células, se realizó una dilución de células HEK-ACE2 en DMEM suplementado a temperatura ambiente de tal forma que, en cada uno de los pocillos, se pudiese cargar 150.000 células/mL. Cuando la dilución fue realizada, con una pipeta multicanal se cargó 100 uL de dilución celular a cada uno de los pocillos de la placa y se realizó una segunda incubación por 48 hrs, a 37°C y 5% de CO₂.

Finalizada esta segunda incubación, antes de realizar la lectura de las placas, se descongeló previamente el sustrato de la luciferasa. Además, se preparó una dilución del buffer de lisis con agua destilada, ocupando una pipeta serológica de 10 mL con una propipeta, de modo de obtener una dilución al 1X. La dilución del buffer de lisis se dejó en un tubo cónico de 15 mL para evitar su evaporación y, a medida que se fue ocupando, se dispensó en una balsa para pipeta multicanal.

Una vez descongelado el sustrato, con una pipeta multicanal se retiró el sobrenadante de cada pocillo de la placa y se añadieron 25 uL de buffer de lisis con una pipeta multicanal electrónica de 100 uL. Las placas se mantuvieron en agitación por 10 minutos en el equipo Synergy HTX, a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Mientras tanto, se configuró el equipo de lectura Glomax con el protocolo de neutralización y se instaló el sustrato para la luciferasa previamente descongelado.

Pasado el tiempo de agitación, rápidamente se incorporó cada placa de 96 pocillos al equipo de lectura Glomax, el cual añadió automáticamente 25 uL de sustrato de luminiscencia para la luciferasa a cada pocillo y luego realizó la lectura para determinar las unidades relativas de luminiscencia (RLUs), cuyos resultados fueron exportados automáticamente a una planilla de excel adjunta al protocolo de neutralización previamente definido.

5. *Almacenamiento de datos.*

Los datos sobre la identificación, información médica y valores de ID₅₀ de la ficha clínica de pacientes y controles sanos se exportaron y almacenaron en la plataforma web RedCap de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, para su posterior análisis. La confidencialidad se resguardó asignando un número de identificación (ID) a cada uno de los participantes.

6. *Análisis estadístico.*

Los datos obtenidos en el equipo de lectura Glomax fueron procesados en una planilla de construcción personal en Excel, donde se calculó la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación (CV) y el promedio de las réplicas de los controles positivos y negativos del ensayo de neutralización para cada placa.

Para considerar válido el ensayo, se debió cumplir que: (i) el promedio de las réplicas del control negativo debió ser 10 veces mayor al promedio de las réplicas del control positivo, (ii) el coeficiente de variación para cada control debió ser igual o menor a 30% y (iii) R^2 debió ser mayor o igual a 0,8.

En caso de que lo anterior se cumpliera, se procedió a transformar las RLU en porcentajes de neutralización para cada una de las muestras, según una ecuación descrita en el protocolo de análisis de datos. Los porcentajes de neutralización y el logaritmo de las diluciones (4.34, 3.86, 3.39, 2.91, 2.43, 1.95, 1.48 y 1) fueron graficados en tablas XY del software Prism-GraphPad versión 9.5.1 (528). Además, se realizó un ajuste de estos datos a un modelo de inhibición dosis-respuesta, donde se determinaron los valores de ID₅₀ de cada una de las muestras de manera automática.

Los valores de ID₅₀ se graficaron en tablas de columna del software Prism-GraphPad 9.5.1 (528) de acuerdo a las diferentes comparaciones que se mostrarán más adelante. La significancia estadística de la diferencia entre neutralizaciones de pacientes y sujetos control se calculó con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis ya que los datos del estudio fueron no pareados y no se asumió una distribución Gaussiana. El eje Y de cada gráfico se presentó en escala logarítmica (\log_2).

Como prueba de seguimiento, se realizó un análisis de múltiples comparaciones, comparando el rango medio de cada columna con el rango medio de todas las otras columnas. Además, se realizó una corrección para estas múltiples comparaciones controlando la tasa de descubrimiento falso, a través de la prueba de aumento de dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli. Para esta prueba, se determinó un umbral alfa y nivel de confianza de 0.05. Un valor de $P < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

7. Repetición de muestras y modificación del protocolo.

Debido a que el protocolo tenía un límite de detección para aquellas muestras que tenían un ID₅₀ > 21870 o < 10 , se realizó una repetición del ensayo de neutralización para estas muestras, realizando una modificación en una parte de este protocolo. Para estas repeticiones, se ocuparon pseudotipos virales que estaban previamente congelados, por lo que no se realizaron los pasos de generación y cuantificación de partículas virales.

En esta oportunidad, se repitieron 58 muestras que cumplían con la condición de tener un ID₅₀ > 21870 o un ID₅₀ < 10 . Como se quería llegar a un número de ID₅₀ exacto, se realizó una modificación del protocolo a nivel de las diluciones iniciales de las muestras, de tal modo que a través de cálculos se ajustaron tanto las diluciones seriadas, como las cantidades de muestra y DMEM suplementado que se ocuparían.

7.1 Muestras con $ID_{50} > 21870$.

Para estas muestras, lo que se hizo fue preparar una dilución inicial de la muestra mayor. Para ello, se partió de una dilución inicial 1:75, donde en el pocillo H de la placa de dilución de 96 pocillos autoclavada se añadió, con una pipeta multicanal, 481 uL de DMEM suplementado a temperatura ambiente, más 6,5 uL de muestra. Luego, se tomaron 140 uL del contenido del pocillo H y se mezclaron con 280 uL de DMEM suplementado a temperatura ambiente del pocillo G y así, sucesivamente.

Por tanto, se generaron las siguientes diluciones de la muestra: 1:75, 1:225, 1:675, 1:2025, 1:6075, 1: 18225, 1:54675, 1:164025. Cuando en la placa con fondo blanco se añadieron los 50 uL de cada dilución seriada de las muestras y se mezclaron con 50 uL de la dilución viral, se generaron las siguientes diluciones finales: 1:150, 1:450, 1:1350, 1:4050, 1:12150, 1:36450, 1:109350, 1:328050. Las diluciones 1:3 se mantuvieron.

7.2 Muestras con $ID_{50} < 10$.

Para estas muestras, lo que se hizo fue preparar una dilución inicial de la muestra menor y más concentrada. Para ello, en el pocillo H de la placa de dilución de 96 pocillos autoclavada se añadieron 350 uL de muestra directa. Luego, se tomó 100 uL del pocillo H y se mezcló con 200 uL de DMEM suplementado a temperatura ambiente del pocillo G y así, sucesivamente, manteniendo la dilución 1:3.

Por tanto, se generaron las siguientes diluciones de la muestra: 1, 1:3, 1:9, 1:27, 1:81, 1:243, 1:729, 1:2187. Cuando en la placa de fondo blanco se añadieron los 50 uL de cada dilución seriada de las muestras y se mezclaron con 50 uL de la dilución viral, se

generaron las siguientes diluciones finales: 1:2, 1:6, 1:18, 1:54, 1:162, 1:486, 1:1458, 1:4374.

Los pasos siguientes se realizaron sin cambios, siguiendo el protocolo inicial. Cuando se procedió a calcularlos ID50 en Prism Graph, se ocuparon los nuevos logaritmos de dilución: 5.52, 5.04, 4.56, 4.08, 3.61, 3.13, 2.65 y 2.18 (muestras con ID50 > 21870); 3.16, 2.69, 2.21, 1.73, 1.26, 0.78, 0.30 y 0 (muestras con ID50 <10).

VII. RESULTADOS.

i. Caracterización de la población en estudio.

En este estudio, se incluyeron inicialmente 342 participantes, de los cuales fueron 226 pacientes reumatológicos y 116 sujetos controles. Al momento de revisar la base de datos en RedCap, se excluyó de este estudio a un paciente por no poseer la cuarta dosis (criterio de exclusión), quedando 225 pacientes (**Figura 4**).

De los 225 pacientes reumatológicos, 69 participantes contaban con un esquema homólogo y 156 participantes contaban con un esquema heterólogo. De los 116 sujetos controles, 67 participantes contaban con un esquema homólogo y 49 participantes contaban con un esquema heterólogo. La media de los días entre la primera y segunda dosis (28, IQR: 117-17), entre la segunda y tercera dosis (182, IQR: 347-167), entre la tercera y cuarta dosis (180, IQR: 295-146) y entre la cuarta dosis y la toma de muestra (35, IQR: 55 - 23) de los participantes se esquematizan en la línea de tiempo de la **Figura 4**.

De los 116 sujetos sanos, se registraron 71 participantes femeninos (61%) y 45 participantes masculinos (39%), con una media de edad de 39 años (IQR: 51-24). Además, se registró una media de 31 días (IQR: 51-24) entre la cuarta dosis y la toma de muestra. Por otra parte, de los 225 pacientes reumatológicos, se registraron 192 participantes femeninos (85%) y 33 participantes masculinos (15%), con una media de edad de 58 años (IQR: 64-48). Además, se registró una media de 58 días (IQR: 64 - 48) entre la cuarta dosis y la toma de muestra (**Tabla 1**).

Se registraron 170 pacientes con Artritis Reumatoide (76%), 23 pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (10%), 9 pacientes con Artritis Psoriática (4%), 4 pacientes con Espondilitis Anquilosante (1.8%), 1 paciente con vasculitis autoinmune (0.4%), 4

pacientes con Esclerodermia Sistémica (1.8%) y 4 pacientes con otras enfermedades (1.8%). Además, se registraron 8 pacientes con más de una enfermedad reumatológica (3.4%).

En cuanto a los tratamientos inmunosupresores, se registraron 62 pacientes con agentes biológicos (29%), 1 paciente con inhibidor de la calcineurina (0.4%), 156 pacientes con glucocorticoides (69%), 200 pacientes con inhibidores de la síntesis de nucleótidos (89%), 65 pacientes con agentes alquilantes e intercaladores (29%) y 24 pacientes con Sulfasalazina (11%). Además, el 100% de los pacientes reumatológicos contaban con terapia combinada, como se muestra en la **tabla 1**. En la **tabla suplementaria 1**, se muestra el detalle de los niveles de inmunosupresión recibidos.

Se determinaron los títulos de anticuerpos neutralizantes de todos los participantes, los cuales se midieron como la media geométrica del valor de ID50. Debido al límite de detección de la técnica, se realizó una repetición del ensayo de neutralización a un total de 58 muestras, de las cuales 38 fueron muestras de pacientes reumatológicos (color azul) y 20 muestras fueron de sujetos control (color amarillo), como se muestra en la **Tabla 2**. Del total de las muestras, 2 muestras tenían un ID50 <10, mientras que 56 muestras tenían un ID50 > 21870.

En cuanto a los esquemas de vacunación, estos se agruparon en función del contenido de las plataformas de vacunas, es decir, si la vacuna era en base a ARNm, virus inactivado o adenovirus. De los 225 pacientes reumatológicos, se registraron 69 (31%) y 156 (69%) pacientes reumatológicos con esquemas homólogos y heterólogos, respectivamente. De los 69 pacientes con esquemas homólogos, 55 pacientes (80%) tenían el esquema 4D Pfizer, mientras que 14 pacientes (20%) tenían el esquema 3D Pfizer + 1D Moderna. Por otra parte, de los 156 pacientes con esquemas heterólogos, 90

pacientes (58%) tenían el esquema 2D Sinovac + 2D Pfizer, 41 pacientes (26%) tenían el esquema 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1 D Pfizer y 17 (11%) pacientes tenían el esquema 2D Sinovac + 1 D Pfizer + 1D Moderna (**Tabla 3**).

En la misma línea, de los 116 sujetos control, se registraron 67 (58%) y 49 (42%) sujetos control con esquemas homólogos y heterólogos, respectivamente. De los 67 sujetos control con esquemas homólogos, 59 (88%) sujetos control tenían el esquema 4D Pfizer, mientras que 8 (12%) sujetos control tenían el esquema 4D Pfizer + 1D Moderna. Por otra parte, de los 49 sujetos control con esquemas heterólogos, 31 (63%) tenían el esquema 2D Sinovac + 2D Pfizer, 11 (22%) tenían el esquema 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer y 7 (14%) tenían el esquema 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna. Sumado a esto, se registraron 8 (5%) pacientes y 0 (0%) controles que tenían otros esquemas heterólogos, por lo que estos no fueron considerados para el análisis de múltiples variables (**Tabla 3**).

ii. Comparación de títulos de anticuerpos neutralizantes (ID50) de participantes con esquemas homólogos versus heterólogos totales.

En primer lugar, se realizaron comparaciones entre los títulos de anticuerpos neutralizantes producidos por pacientes y controles vacunados con esquemas homólogos u heterólogos totales (**Figura 5**). Los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos con esquemas homólogos (n = 69) fueron 1.1 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles con esquemas homólogos (n = 67) ($P < 0.8484$), mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos con esquemas heterólogos (n = 156) fueron 1.3 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas heterólogos (n = 49) ($P < 0.5434$), contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 5A**). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Cuando se realizaron comparaciones entre los participantes con esquemas heterólogos u homólogos de vacunación, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de sujetos control vacunados con esquemas heterólogos ($n = 49$) fueron 1.3 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas homólogos ($n = 67$) ($P < 0.8484$), mientras que, de manera similar, los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con esquemas de vacunación heterólogos ($n = 156$) fueron 1.6 veces más bajos que aquellos pacientes vacunados con esquemas homólogos ($n = 69$) ($P < 0.1156$), contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 5B**). Nuevamente, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Luego, se realizaron las mismas comparaciones anteriores, pero ahora respecto del pseudotipo Ómicron. Se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con esquemas homólogos ($n = 69$) fueron 1.4 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas homólogos ($n = 67$) ($P < 0.2768$), mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con esquemas heterólogos ($n = 156$) fueron 1.7 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas heterólogos ($n = 49$) ($P < 0.0873$), cuya diferencia no fue estadísticamente significativa (**Figura 5C**).

Por otra parte, los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas heterólogos ($n = 49$) fueron 1.7 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con esquemas homólogos ($n = 67$) ($P < 0.0873$), mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos

vacunados con esquemas heterólogos (n = 156) fueron 2.1 veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con esquemas homólogos (n = 69) ($P < 0.0032$), contra el pseudotipo Omicron (**Figura 5D**), siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

iii. Comparación de títulos de anticuerpos neutralizantes (ID50) entre participantes con esquemas heterólogos y homólogos particulares.

En segundo lugar, se realizaron comparaciones entre los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes y controles vacunados con esquemas homólogos y heterólogos particulares contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 6**). Los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] y [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 90)] fueron 1.7 ($P < 0.0561$) y 1.4 ($P < 0.1454$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 55)], mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con el esquema heterólogo [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 17)] fueron 1.8 ($P < 0.2007$) veces más altos que aquellos pacientes con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 55)], contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 6A**). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa.

De manera similar, los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] y [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 31)] fueron 2.6 ($P < 0.1579$) y 1.2 ($P < 0.8056$) veces más bajos que aquellos controles vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 59)], mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema heterólogo [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7)] fueron 1.2 ($P < 0.3995$)

veces más altos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 59)], contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 6B**). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativas.

Por otra parte, los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] y [2D Sinovac + 2D Pfizer fueron(n = 90)] fueron 3.2 ($P < 0.0053$) y 2.6 ($P < 0.0084$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos de pacientes reumatológicos vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14)] contra el pseudotipo Wuhan, siendo ambas diferencias estadísticamente significativas. En contraste, los títulos de anticuerpos neutralizantes de los pacientes reumatológicos vacunados con el esquema [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 17)] fueron 1.1 ($P < 0.3224$) veces más altos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14)], contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 6C**). Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Cuando se realizaron las comparaciones entre controles, los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 31)] y [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7)] fueron 1.4 ($P < 0.7720$) y 2 ($P < 0.3491$) veces más altos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 8)], mientras que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema heterólogo [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] fueron 1.6 ($P < 3845$) veces más bajos que los anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna(n = 8)] , contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 6D**). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

En relación a lo anterior, se realizaron las mismas comparaciones respecto a la capacidad de neutralización con el pseudotipo Ómicron (**Figura 7**). Los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer fueron (n = 90)] y [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] fueron 2 ($P < 0.0107$) y 2.2 ($P < 0.0107$) veces más bajos que aquellos pacientes reumatológicos vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 55)], siendo estas diferencias estadísticamente significativas. En contraste, los títulos de anticuerpos neutralizantes de los pacientes reumatológicos vacunados con el esquema [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7)] fueron 1.3 ($P < 0.2070$) veces más altos que aquellos pacientes vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 55)], pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa (**Figura 7A**).

De manera similar, los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 31)], [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] y [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7)] fueron 1.5 ($P < 0.5298$), 2.8 ($P < 0.2398$) y 1.7 ($P < 0.6099$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema homólogo [4D Pfizer (n = 59)], contra el pseudotipo Ómicron (**Figura 7B**). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

Por otra parte, los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 90)] y [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] fueron 3.6 ($P < 0.0065$) y 3.9 ($P < 0.0065$) veces más bajos que aquellos pacientes reumatológicos vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14)], contra el pseudotipo Omicron, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Además los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con el esquema heterólogo [2D

Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 17)] también fueron 1.4 ($P < 0.2637$) veces más bajos que los pacientes vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14)] contra el pseudotipo Ómicron, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa (**Figura 7C**).

De manera similar, los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 31)], [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] y [2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7)] fueron 1.5 ($P < 0.7711$), 2.9 ($P < 0.6019$) y 1.8 ($P < 0.7711$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con el esquema homólogo [3D Pfizer + 1D Moderna (n = 8)], contra el pseudotipo Omicron (**Figura 7D**). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa.

iv. Comparación de títulos de anticuerpos neutralizantes (ID50) de participantes con esquemas homólogos y heterólogos con homologación de plataformas.

Finalmente, se realizaron comparaciones entre esquemas homólogos y heterólogos de pacientes y controles, luego de realizar una homologación de plataformas (**Figura 8**). De acuerdo a esto, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con el esquema heterólogo [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] fueron 1.9 ($P < 0.0166$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con los esquemas homólogos [4D Pfizer; 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 69)], contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 8A**), siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Similarmente, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con el esquema heterólogo [2D Sinovac + 2D Pfizer; 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 107)] fueron 1.4 ($P < 0.0991$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con los esquemas homólogos [4D Pfizer; 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 69), contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 8A**), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

De manera similar, se observó que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer; 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 38)] y [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] fueron 1.1 ($P < 0.8650$) y 2.4 ($P < 0.0866$) veces más bajos que los anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas homólogos [4D Pfizer; 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 67)], contra el pseudotipo Wuhan (**Figura 8B**). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Por otra parte, cuando se realizó la comparación de la capacidad de neutralización contra el pseudotipo Ómicron, se vió que Los títulos de anticuerpos neutralizantes de pacientes vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer; 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 107)] y [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41)] fueron 2 ($P < 0.0036$) y 2.5 ($P < 0.0036$) veces más bajos que aquellos pacientes vacunados con los esquemas homólogos [4D Pfizer; 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 69)], siendo ambas diferencias estadísticamente significativas (**Figura 8C**).

Similarmente, Los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas heterólogos [2D Sinovac + 2D Pfizer; 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 38)] y [2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11)] fueron 1.5 ($P <$

0.2541) y 2.8 ($P < 0.1225$) veces más bajos que los títulos de anticuerpos neutralizantes de controles vacunados con los esquemas homólogos [4D Pfizer; 3D Pfizer + 1D Moderna ($n = 67$)] contra el pseudotipo Ómicron (**Figura 8D**). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

VIII. DISCUSIÓN.

En la presente investigación, se informaron los resultados de este estudio pionero en el país, realizado con el fin de investigar la respuesta inmune humoral, específicamente la producción de anticuerpos neutralizantes, de pacientes reumatológicos y controles sanos vacunados con diferentes esquemas de vacunación contra el COVID-19, provenientes de la Región de Atacama. Con la ayuda de una metodología basada en pseudovirus que permite trabajar en laboratorios de bioseguridad tipo 2, se mostró que los pacientes reumatológicos vacunados con esquemas heterólogos tienen bajos títulos de anticuerpos neutralizantes, comparados con aquellos pacientes reumatológicos y controles sanos vacunados con esquemas homólogos, tanto para la variante Wuhan, como para la variante Ómicron BA.1.

En cuanto a las características de la población en estudio, se observó que el grupo control no tuvo una distribución de sexos similar al grupo de pacientes. Esto se puede explicar debido a que más del 80% de los pacientes reclutados tenían Artritis Reumatoide y Lupus Eritematoso Sistémico, que son enfermedades que afectan principalmente a las mujeres. Es por ello que fue complejo contar con un grupo control que tenga una distribución similar al grupo de casos.

Respecto a la hipótesis planteada con la información de la literatura, se puede señalar que no se cumplió. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se encontró que los pacientes reumatológicos inoculados con esquemas de vacunación homólogos tuvieran menores niveles de anticuerpos neutralizantes que los pacientes reumatológicos inoculados con esquemas heterólogos, contra ninguna de las dos variantes descritas anteriormente. Esto podría explicarse debido a que los esquemas homólogos estaban compuestos sólo de vacunas basadas en RNAm (Pfizer y Moderna) y las dos primeras dosis de todos los esquemas heterólogos fueron con vacunas basadas

en virus inactivado (Sinovac). En ese sentido, en la literatura se ha mostrado que los títulos de anticuerpos neutralizantes han sido mayores en pacientes reumatológicos que son vacunados con dosis de Pfizer, en comparación con pacientes reumatológicos vacunados con dosis de Sinovac^{14, 17}.

Es interesante que los resultados de Honfi *et. Al* escritos en la introducción de este trabajo observó un 100% de respuesta de anticuerpos neutralizantes en pacientes reumatológicos inoculados con esquemas heterólogos, mientras que en pacientes reumatológicos inoculados con el esquema homólogo con tres dosis de Pfizer sólo se observó un 95% de respuesta. Esta diferencia podría explicarse ya que en este estudio se utilizó una tecnología de inmunoensayo (ensayo Siemens Healthineers SARS-CoV-2 IgG) para detectar títulos de anticuerpos de tipo IgG contra S1. Además, en esta cohorte proveniente de Hungría, hubo participantes que fueron inoculados con las plataformas Gam-COVID-Vac (Sputnik) y BBIBP-CorV (Sinopharm), mientras que en la cohorte del presente estudio ningún participante contaba con la inoculación de estas plataformas.

Los resultados mostrados en este estudio sugieren, en primer lugar, que los pacientes reumatológicos inoculados con esquemas heterólogos tienen 1.5 veces menores niveles de anticuerpos neutralizantes que pacientes reumatológicos inoculados con esquemas homólogos, respecto de la variante Wuhan. Incluso, esta diferencia es aún mayor cuando se realiza la medición contra la variante Ómicron, teniendo los pacientes reumatológicos inoculados con esquemas heterólogos niveles de anticuerpos neutralizantes 2.2 veces más bajos. Esto se explica en relación a la estrategia de vacunación inicial implementada en Chile y el mundo, donde todas las plataformas de vacunas estaban diseñadas para inducir la inmunidad humoral neutralizante solo contra la variante Ancestral Wuhan, por lo que el suero de los pacientes sin infección por COVID-

19 no han sido estimulados para producir anticuerpos neutralizantes contra la variante Ómicron BA.1.1^{6, 7, 8, 9, 22}.

Otro aspecto interesante es que los pacientes reumatológicos pertenecientes a esta cohorte elicitaron altos niveles de anticuerpos neutralizantes respecto de lo esperado, llegando incluso a tener valores de ID50 > 300.000, lo que se contrasta con lo reportado en Gaete *et. al*, donde la mayoría de pacientes receptores de trasplantes de órgano sólido elicitaron títulos de anticuerpos neutralizantes muy cercanos al límite de detección de la técnica (ID50 < 10), lo que se relaciona con el estado de inmunosupresión. Esta diferencia podría explicarse debido a que en el presente estudio, se aceptaron pacientes reumatológicos y sujetos controles con historial de infección por SARS-CoV-2, induciendo una respuesta inmunitaria híbrida. Esto se observó también en Honfi *et. al*, donde se evidenció que los niveles de anticuerpos IgG específicos neutralizantes del virus fueron más altos en pacientes reumatológicos que se infectaron con SARS-CoV-2 después del protocolo de vacunación primaria completa.

Cuando se realizaron comparaciones entre los esquemas de vacunación de forma particular, se mostró que aquellos pacientes que fueron inoculados con el esquema heterólogo que contenía dos dosis de CoronaVac (virus inactivado), una dosis de AstraZeneca (vector adenoviral) y una dosis de Pfizer (ARNm) elicitaron los menores títulos de anticuerpos neutralizantes que los otros esquemas heterólogos, cuando se compararon con los pacientes que tenían esquemas homólogos. Frommert *et. al* observaron que, en una cohorte de pacientes reumatológicos vacunados con dos dosis de AstraZeneca mostraron una capacidad de neutralización significativamente más baja que aquellos pacientes vacunados con vacunas basadas en RNAm, concluyendo que la administración de la vacuna AstraZeneca es uno de los factores que influyen negativamente en la inmunidad de los pacientes inmunosuprimidos.

Una de las limitaciones de este estudio fue que la toma de muestra sólo se realizó una vez tras la administración de la cuarta dosis. Esto limita a realizar un seguimiento de los títulos de anticuerpos neutralizantes de los pacientes en el tiempo, el cuál es un aspecto importante a considerar debido a que la inmunidad humoral provocadas por las vacunas va disminuyendo en el tiempo y la administración constante de vacunas de refuerzo juega un papel importante en mantener esta protección. Por tanto, se sugiere fuertemente continuar con estudios en que se analice la inmunidad humoral de estos pacientes en el tiempo, una vez comenzada la vacunación anual con las vacunas bivalentes.

Otra limitante de este estudio fue la inexistencia de estudios acerca de la inmunidad celular de células B y T de los pacientes y controles sanos. Estos estudios pueden proporcionar información importante respecto de la inmunidad que es independiente de anticuerpos, logrando aportar evidencia sobre la capacidad total inmunitaria de pacientes inmunosuprimidos ya que estudios han demostrado que, si bien las variantes preocupantes de SARS-CoV-2 pueden evadir la respuesta inmune neutralizante, la respuesta inmune celular juega un papel importante respondiendo ante estas variantes, además de conferir protección resistente contra enfermedades graves a medida que los títulos de anticuerpos disminuyen en el tiempo¹⁷. En ese sentido, se sugiere también continuar con estudios que incluyan el análisis de la inmunidad celular con las vacunas bivalentes.

Por el contrario, una de las fortalezas de este estudio fue la obtención de una cohorte robusta de participantes que tuvieron diferentes combinaciones de vacunas y que dieron lugar a diferentes esquemas de vacunación. Esto permitió realizar un análisis de qué es lo que ocurre con la inmunidad humoral de pacientes reumatólogos frente a varios escenarios.

Los resultados de esta investigación proveen evidencia respecto a la mayor efectividad que tienen los esquemas homólogos de vacunación (basados en ARNm), respecto de los esquemas heterólogos, en la producción de anticuerpos neutralizantes de pacientes reumatológicos. Además, los resultados confirman la necesidad de realizar una monitorización constante de la producción de anticuerpos neutralizantes en pacientes que están inmunocomprometidos y que los resultados de esta monitorización deben ser considerados al momento de planificar los programas de vacunación a nivel nacional.

IX. TABLAS Y FIGURAS.

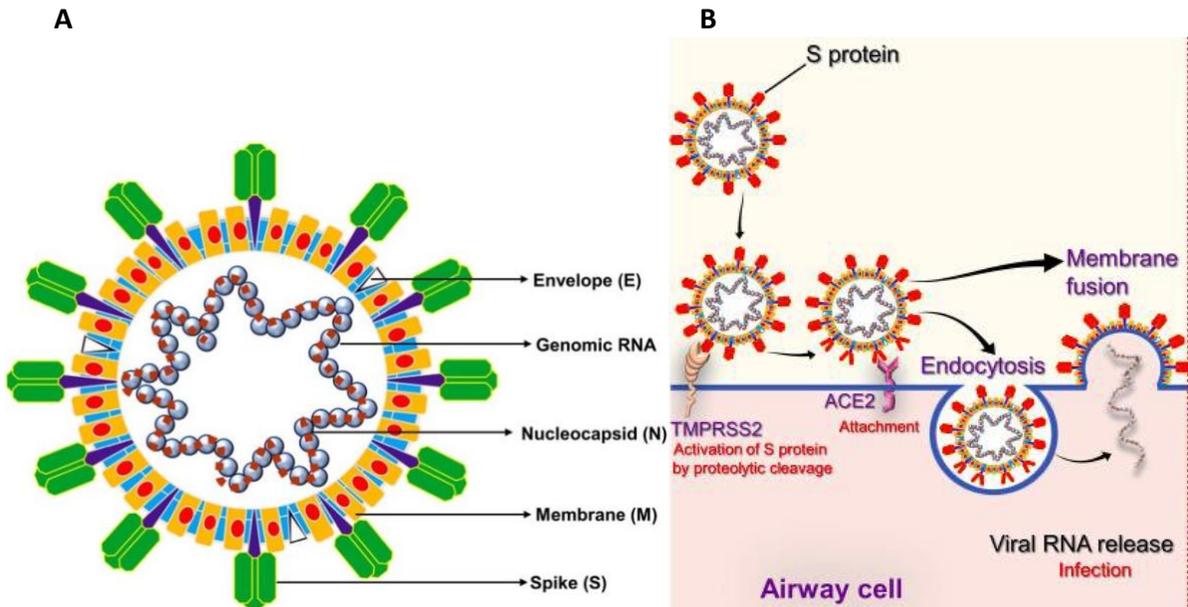


Figura 1: Estructura, unión y entrada de SARS-CoV-2 a las células de vías respiratorias humanas.

(A) Esquema de la estructura de SARS-CoV-2, donde se muestran las proteínas estructurales E, N, M y S. (B) Esquema de la unión de SARS-CoV-2 al receptor ACE2 y entrada del virus a las células de vías respiratorias humanas. (Kirtipal N. *et al*, 2020)

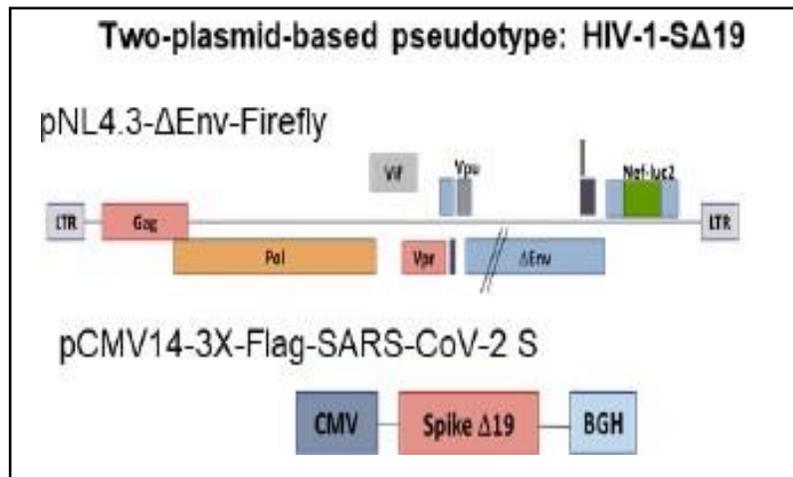


Figura 2: Esquemización de los plásmidos que componen el pseudotipo VIH-1- Δ S Δ 19 (Beltrán-Pavez C. *et al*, 2021)

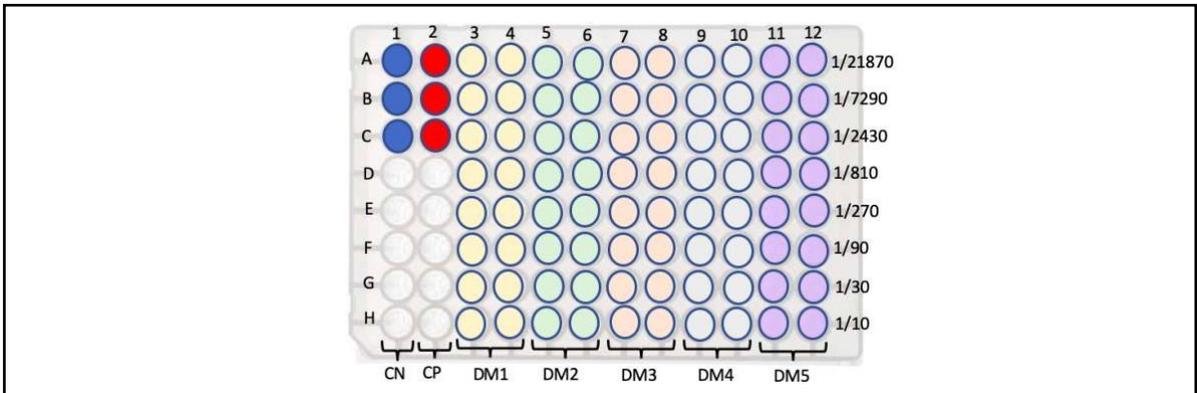


Figura 3: Distribución de muestras, controles y diluciones en placa de 96 pocillos. CN: Control negativo de ensayo de infectividad; CP: Control positivo de ensayo de infectividad; DM: Muestra en duplicado. Figura de elaboración propia.

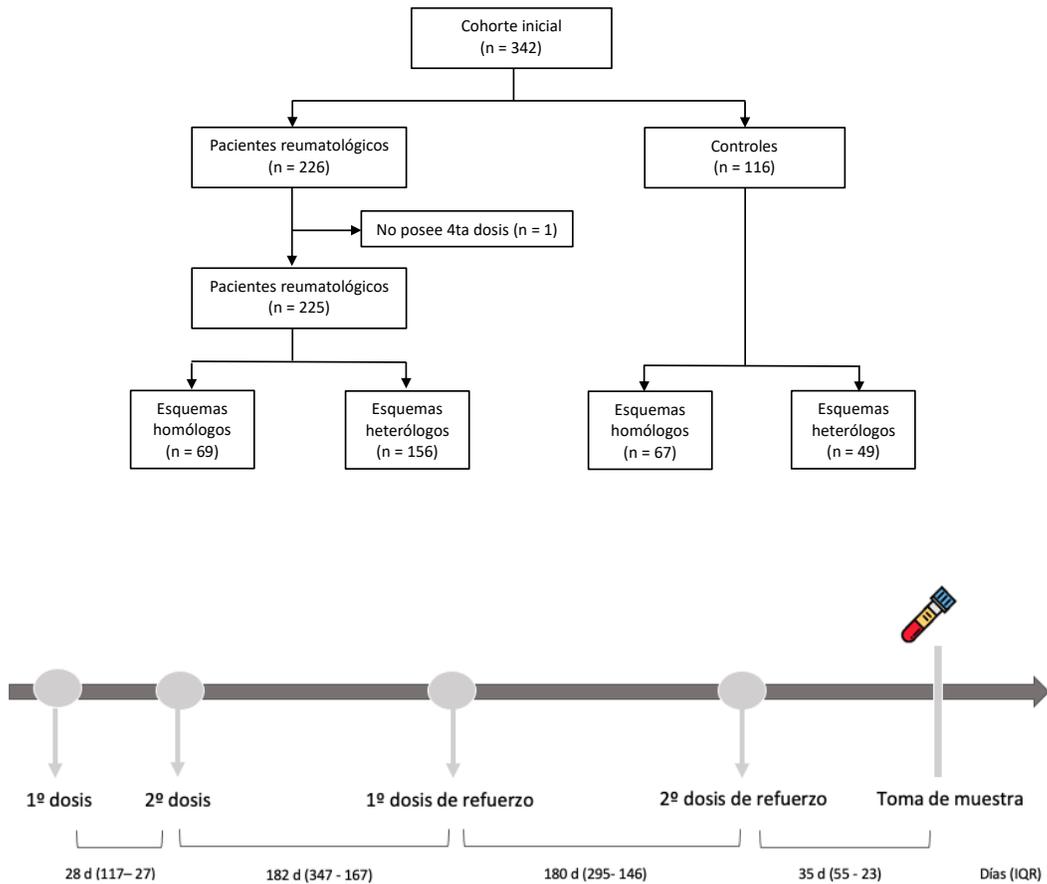
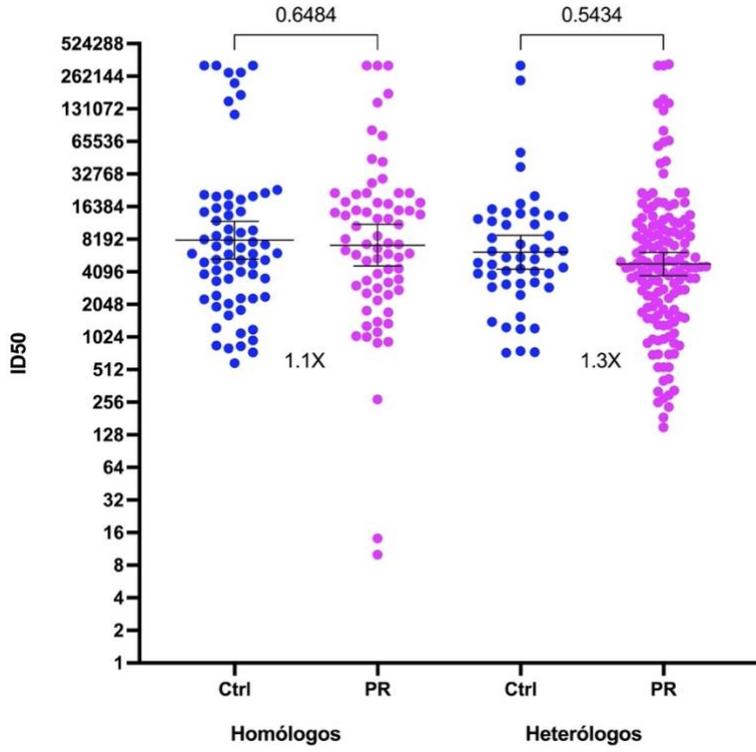
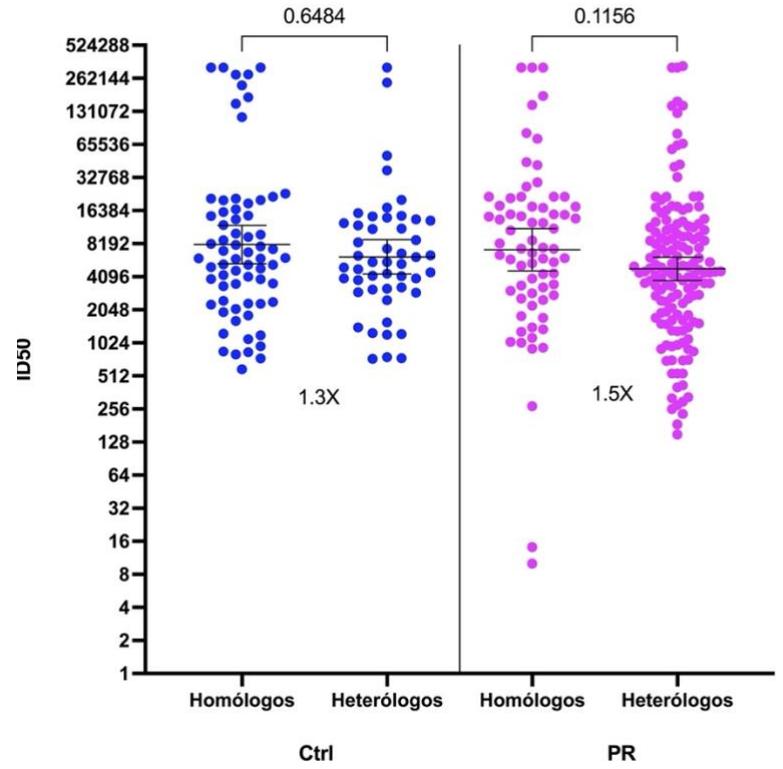


Figura 4: Flujo de trabajo del estudio.

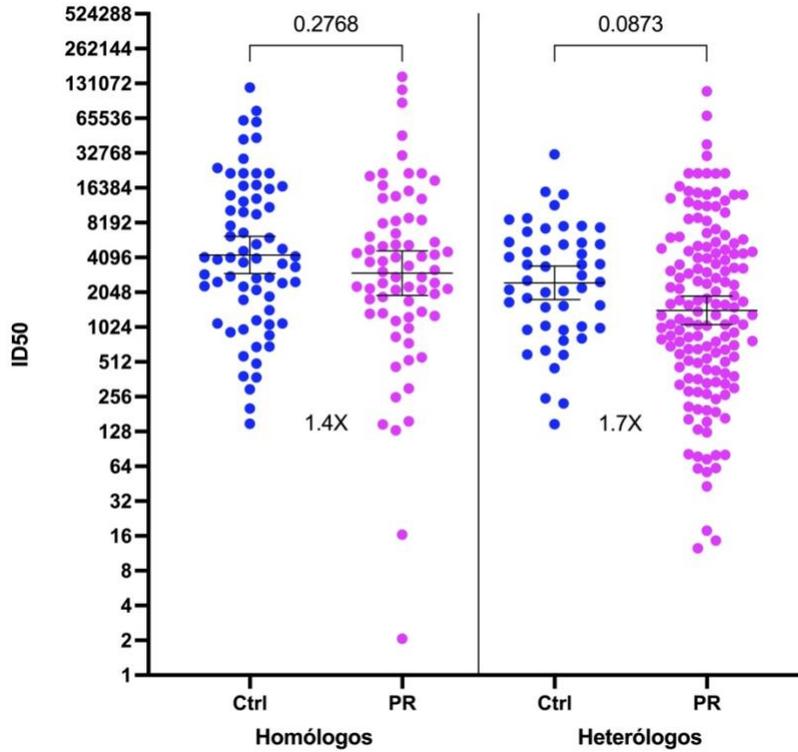
A



B



C



D

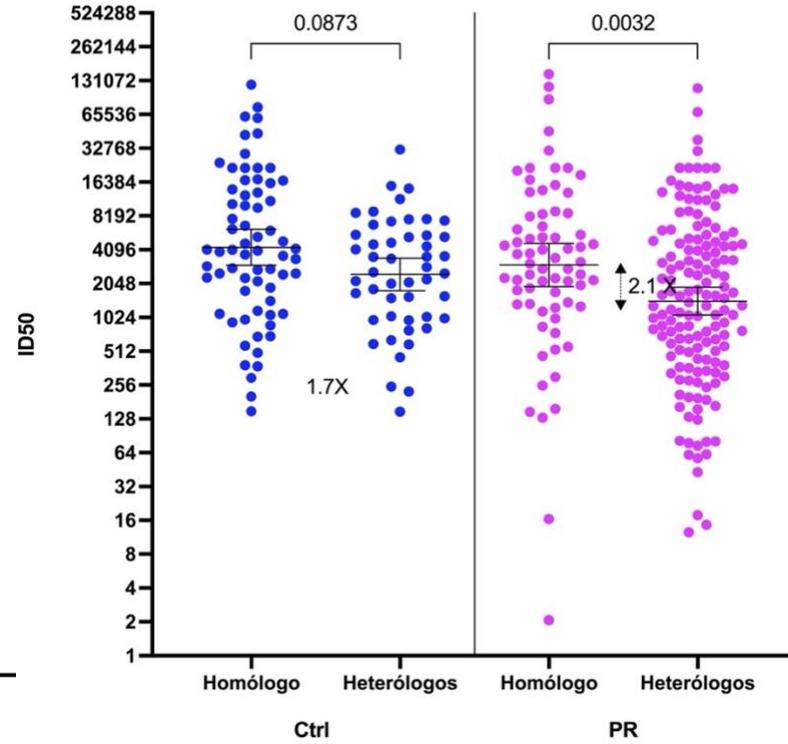


Figura 5: Títulos de anticuerpos neutralizantes de suero de pacientes reumatológicos (PR) y controles (Ctrl) vacunados con esquemas heterólogos u homólogos totales. ID50 de pacientes reumatológicos (rosado) con esquemas de vacunación homólogos (n = 69) o heterólogos (n=156) e ID50 de controles sanos(azul) con esquemas de vacunación homólogos (n = 67) o heterólogos (n=49), contra pseudotipo Wuhan (A,B) y pseudotipo Ómicron (C,D). La significancia estadística de la diferencia entre neutralizaciones fue calculada con la prueba de Kruskal-Wallis. Se corrigió el valor de P controlando la tasa de descubrimiento falso con la prueba de aumento de dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli. El valor de P ajustado y los cambios de factor están indicados. $P < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. El eje Y del gráfico está presentado en escala logarítmica (Log_2).

	Pacientes reumatológicos	Controles sanos
Nº total	225	116
nº participantes femeninos (%)	192 (85%)	71 (61%)
nº participantes masculinos (%)	33 (15%)	45 (39%)
Edad (IQR)	58 (64 - 48)	39 (51 - 24)
Días entre toma de muestra y cuarta dosis (IQR)	38 (57.2 - 24)	31 (51 - 22)
Nº Enfermedad reumatológica (%)		
Artritis Reumatoide (AR)	170 (76%)	
Lupus Eritematoso Sistémico (LES)	23 (10%)	
Artritis Psoriática (AP)	9 (4%)	
Espondilitis Anquilosante (EA)	4 (1.8%)	



Vasculitis (V)	1 (0.4%)	
Esclerodermia Sistémica (ES)	4 (1.8%)	
Otros	4 (1.8%)	
AR + LES	3 (1.3%)	
AR + V	1 (0.4%)	
AR + Otros	2 (0.9%)	
LES + V	1 (0.4%)	
AP + EA	1 (0.4%)	
Nº Terapia inmunosupresora (%)		
Agentes biológicos		
Inhibidores de la calcineurina	65 (29%)	
Glucocorticoides	1 (0.4%)	
Inhibidores de la síntesis de nucleótidos	156 (69%)	
Agentes alquilantes e intercaladores del DNA	200 (89%)	
Sulfasalazina	65 (29%)	
Terapia combinada	24 (11%)	

Tabla 1: Características demográficas de los participantes del estudio.



Valores de ID50					Valores de ID50				
Datos iniciales		Post – Repetición			Datos iniciales		Post - Repetición		
ID	Wuhan	Omicron	Wuhan	Omicron	ID	Wuhan	Omicron	Wuhan	Omicron
1	<10	<10	10	2,07	154	>21870	6194	328050	-
21	>21870	18977	328050	-	155	>21870	>21870	81896	21870
22	>21870	>21870	283057	62650	158	>21870	6857	62836	-
25	>21870	>21870	328050	21870	178	>21870	11404	59371	-
30	21082	>21870	-	44375	191	>21870	>21870	51790	31993
34	>21870	>21870	328050	>21870	196	>21870	>21870	29611	89019
36	>21870	>21870	328050	>21870	240	>21870	5553	42431	-
43	>21870	14119	283973	-	251	>21870	>21870	153716	43052
46	>21870	15170	239640	-	260	>21870	>21870	126459	111861
47	>21870	4024	328050	-	272	20390	>21870	-	60894
48	>21870	6081	66844	-	281	31098	>21870	-	149787
49	>21870	3643	99356	-	288	>21870	13887	73860	-
50	>21870	429,7	22090	-	292	>21870	763,4	21993	-
71	>21870	>21870	147810	68845	293	>21870	4761	21870	-
74	>21870	>21870	176240	75790	294	>21870	17222	45259	-
76	>21870	>21870	226524	24370	295	>21870	>21870	41020	21870
80	12630	>21870	-	46268	296	501,7	<10	-	9,275
103	3576	>21870	-	38841	297	>21870	>21870	27041	21870
119	>21870	4638	147228	-	299	>21870	>21870	149473	31207
120	>21870	>21870	328050	21870	300	>21870	>21870	33045	30916
121	7290	>21870	-	29189	318	>21870	2428	43077	-
123	9898	>21870	-	21870	319	>21870	450,7	38077	-
126	>21870	>21870	116065	120689	329	>21870	>21870	181133	115339

128	>21870	>21870	23340	21870	336	>21870	4077	161471	-
129	17789	>21870	-	21870	337	>21870	4591	328050	-
131	>21870	20675	>21870	-	339	>21870	16868	328050	-
141	>21870	13166	83316	-	340	>21870	4337	21870	-
144	>21870	14267	64479	-	341	>21870	15071	21870	-
152	>21870	14334	328050	-	342	>21870	>21870	21870	21870

Tabla 2: Resultados de repeticiones de muestras con ID50 > 21870 e ID50 < 10, para la variante Wuhan y Ómicron. (Amarillo) Resultados de sujetos control, (Azul) resultados de pacientes reumatológicos. El signo '-' corresponde a aquellos valores que no se consideraron en la repetición.

				Nº Pacientes reumatológicos n = 225	Nº Sujetos Control n = 116
nº Esquemas homólogos (%)				69 (31%)	67 (58%)
nº Esquemas heterólogos (%)				156 (69%)	49 (42%)
<i>nº Total (%)</i>				225 (100%)	116 (100%)
nº Esquemas homólogos (%)					
<i>1º dosis</i>	<i>2º dosis</i>	<i>3º dosis</i>	<i>4º dosis</i>		
Pfizer	Pfizer	Pfizer	Pfizer	55 (80%)	59 (88%)
Pfizer	Pfizer	Pfizer	Moderna	14 (20%)	8 (12%)



nº Total (%)				69 (100%)	67 (100%)
nº Esquemas heterólogos (%)					
<i>1º dosis</i>	<i>2º dosis</i>	<i>3º dosis</i>	<i>4º dosis</i>		
Sinovac	Sinovac	Pfizer	Pfizer	90 (58%)	31 (63%)
Sinovac	Sinovac	AstraZeneca	Pfizer	41 (26%)	11 (22%)
Sinovac	Sinovac	Pfizer	Moderna	17 (11%)	7 (14%)
Otros				8 (5%)	0 (0%)
nº Total (%)				156 (100%)	49 (100%)

Tabla 3: Características de los esquemas de vacunación de los participantes del estudio.

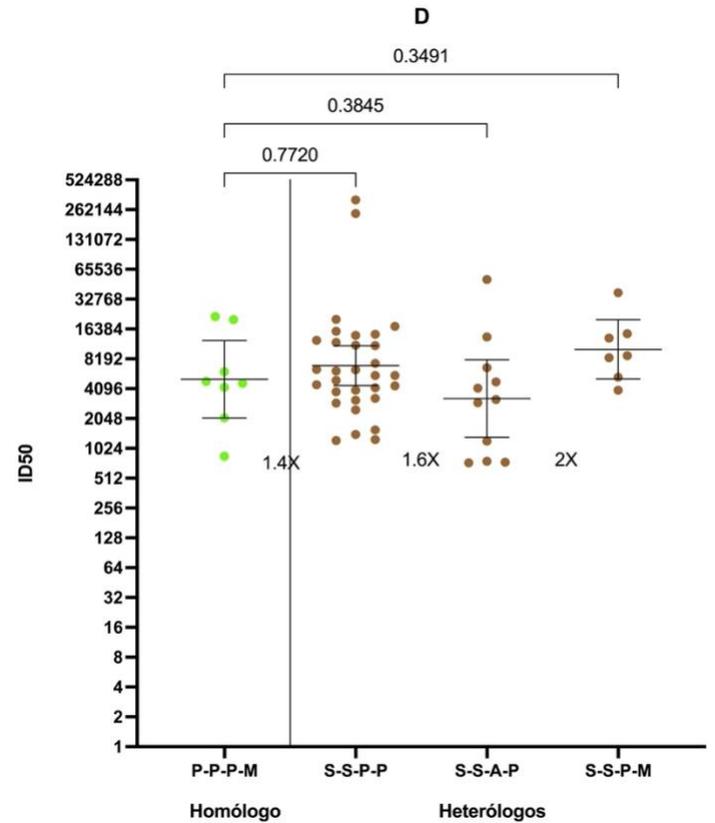
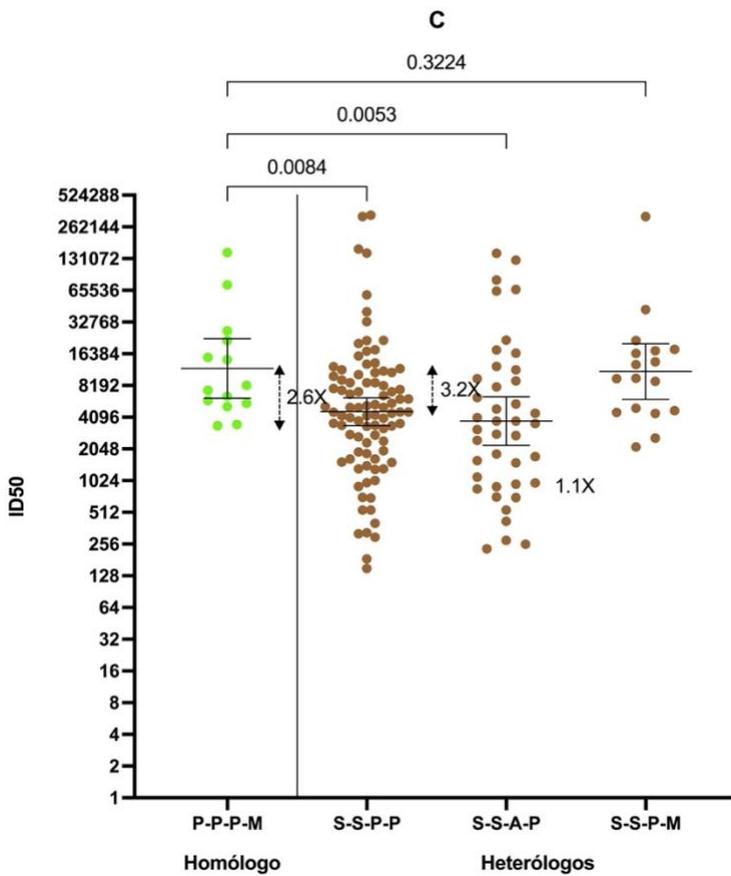
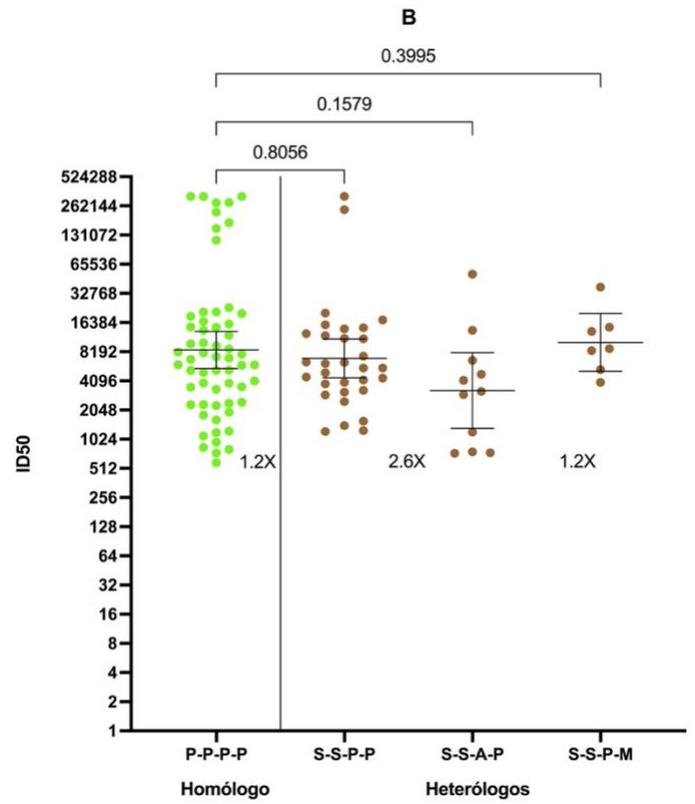
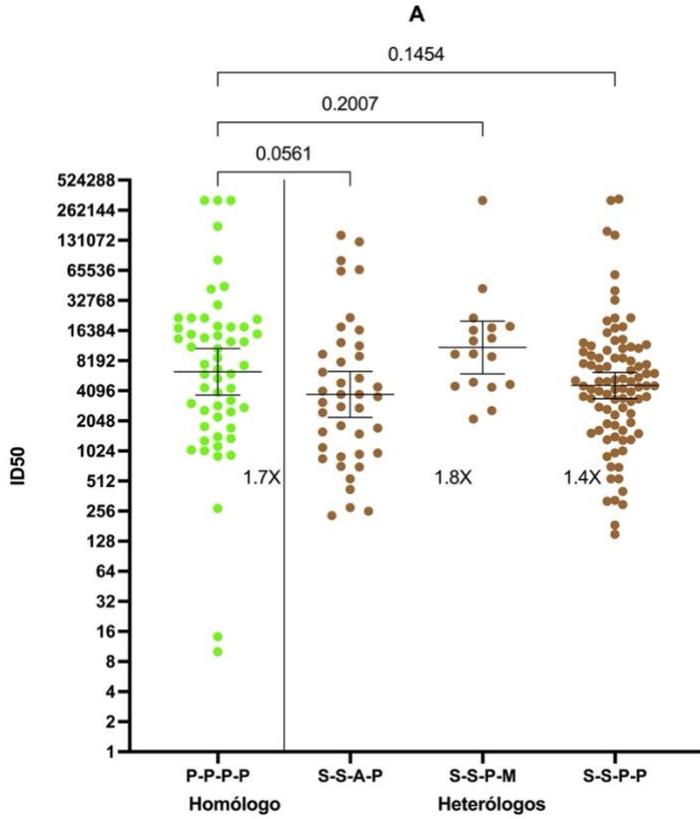


Figura 6: Títulos de anticuerpos neutralizantes de suero de pacientes reumatológicos y controles vacunados con esquemas homólogos y heterólogos particulares, contra variante Wuhan. (A, C) ID50 de pacientes reumatológicos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer (n = 55) y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14), respectivamente, y con los esquemas heterólogos 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41), 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 17) y 2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 90). (B, D) ID50 de controles sanos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer (n = 59) y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 8), respectivamente, y con los esquemas heterólogos 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11), 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7) y Sinovac + 2D Pfizer (n = 31). La significancia estadística de la diferencia entre neutralizaciones fue calculada con la prueba de Kruskal-Wallis. Se corrigió el valor de P controlando la tasa de descubrimiento falso con la prueba de aumento de dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli. El valor de P ajustado y los cambios de factor están indicados. $P < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. El eje Y del gráfico está presentado en escala logarítmica (\log_2).

Terapia (n)	Dosis (n)
Prednisona (n = 157)	10 mg/día (n = 4) 7.5 mg/día (n = 3) 5 mg/día (n = 96) 2.5 mg/día (n = 46) NI (n = 8)
Rituximab (n = 11)	2 mg/día (n = 6) 1 mg/día (n = 5)
Metotrexato (n = 99)	20 mg/semana (n = 39) 17.5 mg/semana (n = 7) 15 mg/semana (n = 31) 12.5mg/semana (n = 5) 7mg/semana (n = 7) 7.5mg/semana (n = 1) 6mg/semana (n = 2) 2.5 mg/semana (n = 1) NI (n = 6)
Abatacept (n = 6)	125 mg/semanal (n = 2)



	NI (n = 4)
Hidroxicloroquina (n = 66)	200 mg/día (n = 15) 400 mg/día (n = 4) NI (n = 47)
Micofenolato (n = 1)	3 tabletas de 500 mg (1) 1 g/12 hrs (3) NI (n = 2)
Azatioprina (n = 1)	50mg/día (1) NI (n = 2)
Tocilizumab (n = 1)	NI (n = 1)
Secukinumab (n = 6)	300 mg/mes (n = 1) 150 mg/mes (n = 1) NI (n = 4)
Tofacitinib (n = 3)	5mg/cada dos días (n = 1) NI (n = 2)
Adalimumab (n = 10)	NI (n = 6) 40 mg/cada 21 días (n = 1) 40 mg/cada 15 días (n = 3)
Etanercept (n = 14)	NI (n = 11) 50 mg/semana (n = 3)
Leflunomida (n = 12)	20 mg/día (n = 2) NI (n = 10)
Golimumab (n = 10)	50 mg mensual (n = 7) NI (n = 3)
Ciclosporina (n = 1)	NI (n = 1)
Sulfasalazina (n = 1)	NI (n = 1)

Tabla suplementaria 1: Niveles de inmunosupresión por tipo de medicamento. NI: No informado

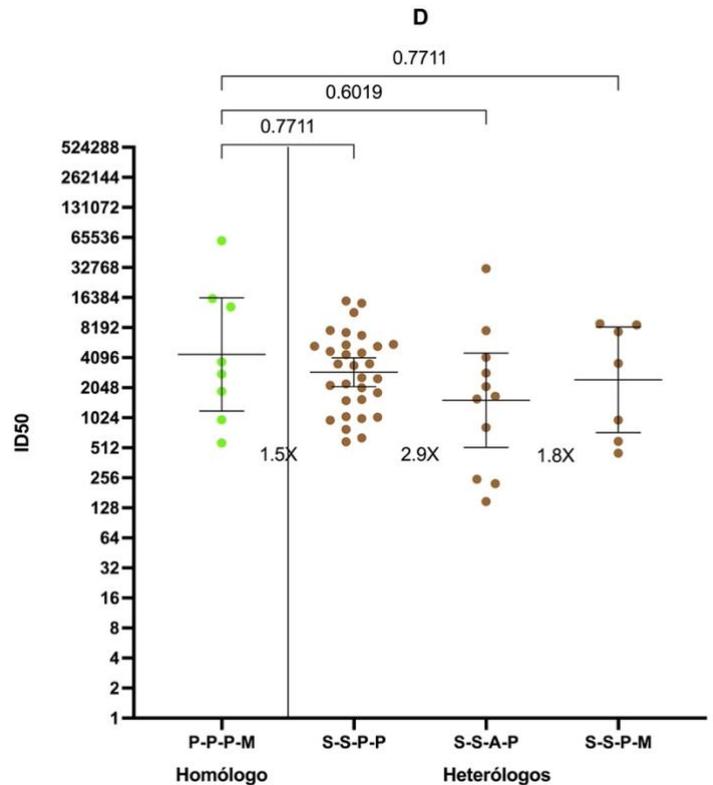
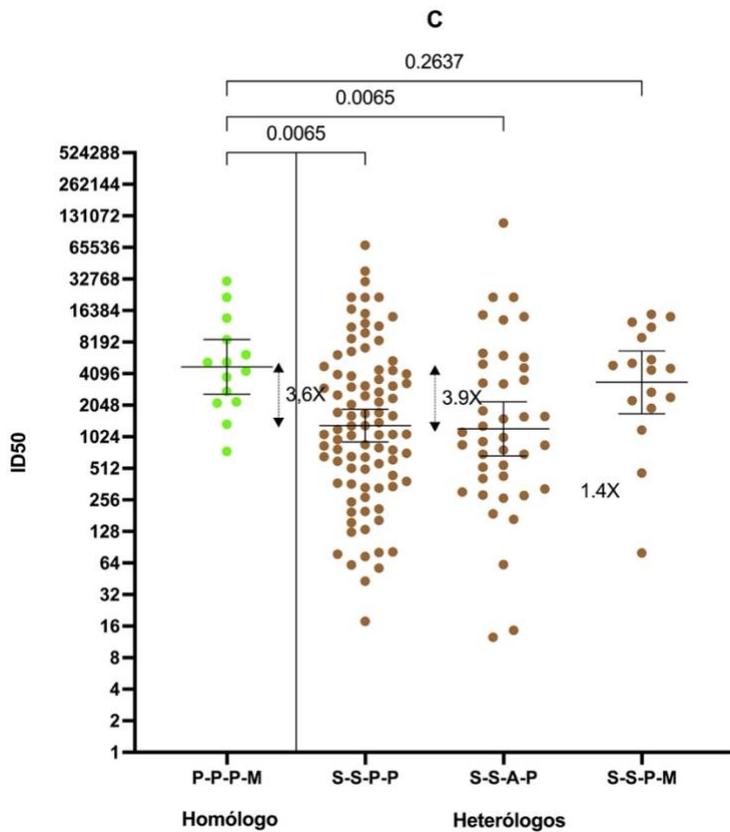
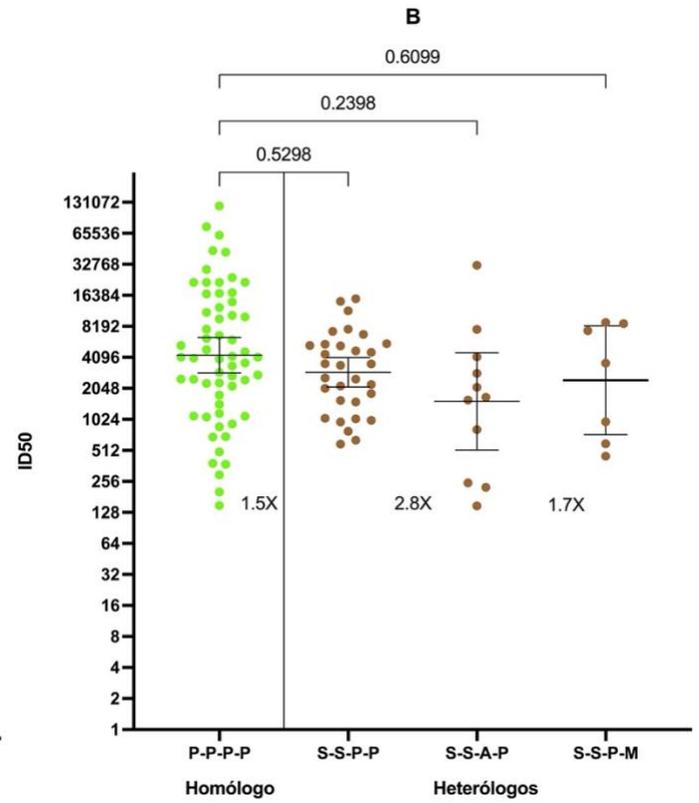
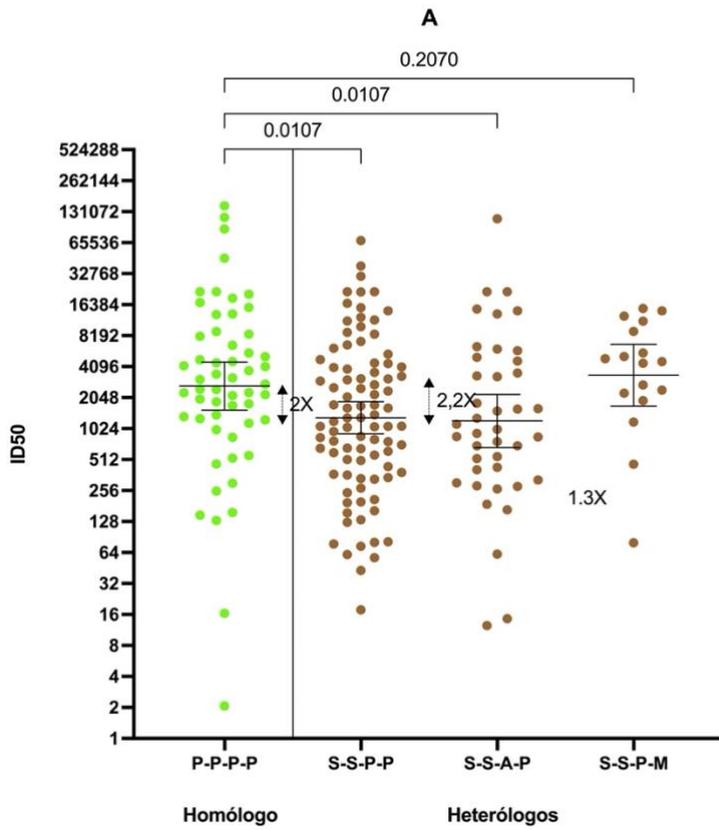
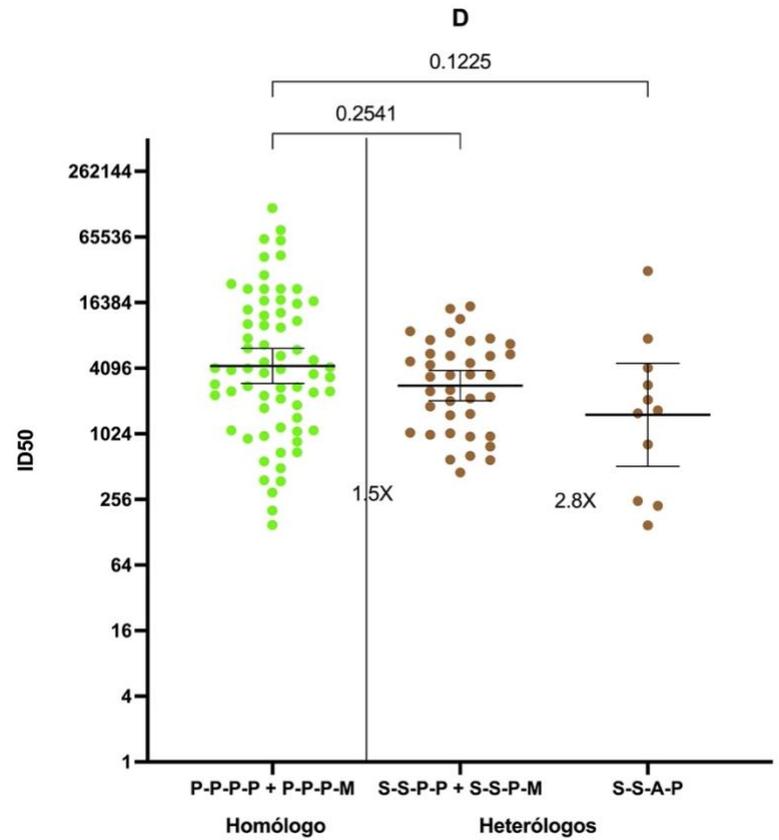
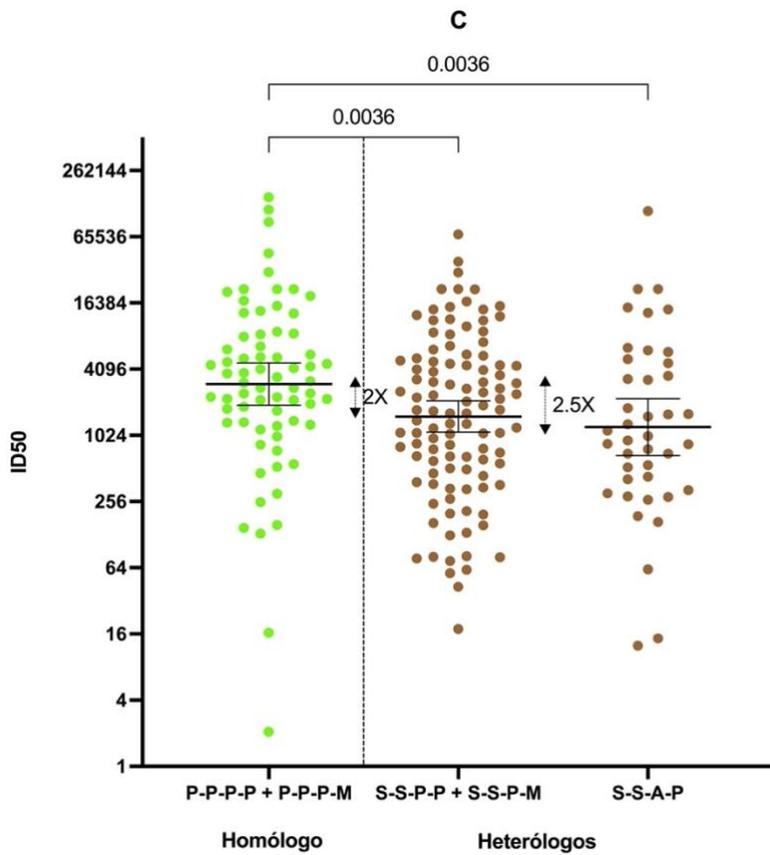
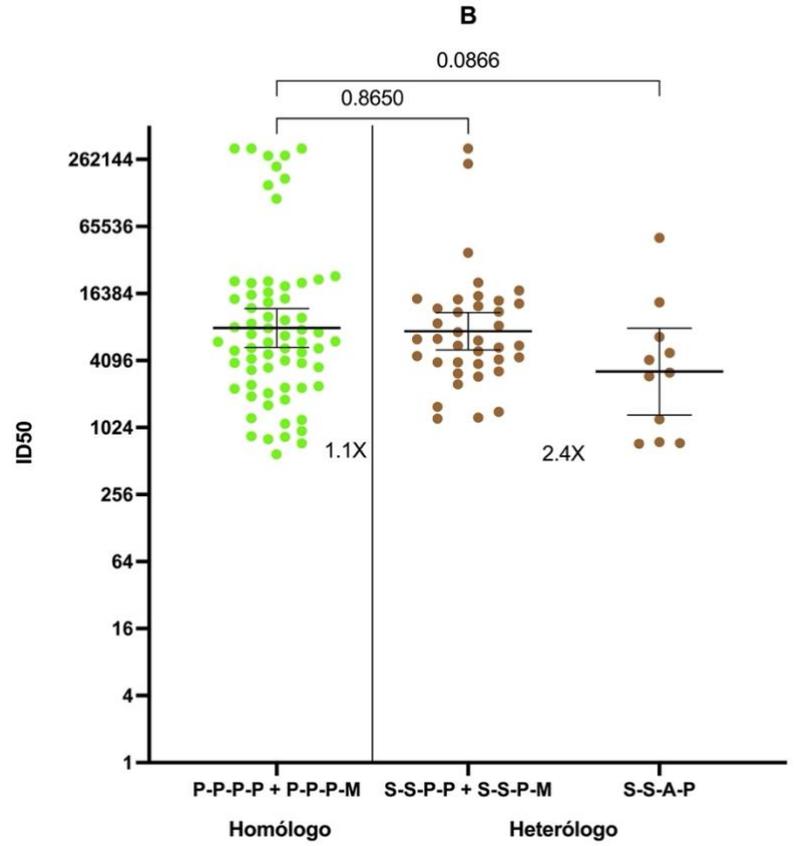
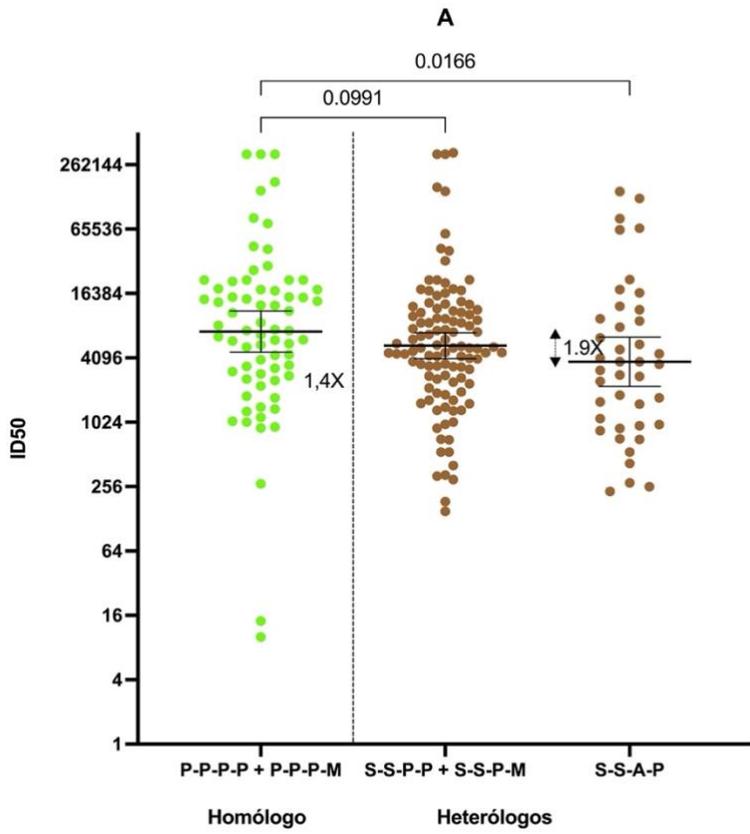


Figura 7: Títulos de anticuerpos neutralizantes de suero de pacientes reumatológicos y controles vacunados con esquemas homólogos y heterólogos particulares contra variante Ómicron. (A, C) ID₅₀ de pacientes reumatológicos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer (n = 55) y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 14), respectivamente, y con los esquemas heterólogos 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41), 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 17) y 2D Sinovac + 2D Pfizer (n = 90). (B, D) ID₅₀ de controles sanos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer (n = 59) y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 8), respectivamente, y con los esquemas heterólogos 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11), 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 7) y Sinovac + 2D Pfizer (n = 31). La significancia estadística de la diferencia entre neutralizaciones fue calculada con la prueba de Kruskal-Wallis. Se corrigió el valor de P controlando la tasa de descubrimiento falso con la prueba de aumento de dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli. El valor de P ajustado y los cambios de factor están indicados. $P < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. El eje Y del gráfico está presentado en escala logarítmica (\log_2).

Figura 8: Títulos de anticuerpos neutralizantes de suero de pacientes reumatológicos y controles sanos inoculados con esquema de vacunación homólogos y heterólogos; homologación de plataformas. (A, C) ID₅₀ de la suma de pacientes reumatológicos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 69), con el esquema heterólogo 2D Sinovac + 2D Pfizer y 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 107) y con el esquema heterólogo 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 41) contra el pseudotipo Wuhan y Ómicron, respectivamente. ID₅₀ de la suma de controles sanos inoculados con el esquema homólogo 4D Pfizer y 3D Pfizer + 1D Moderna (n = 67), con el esquema heterólogo 2D Sinovac + 2D Pfizer y 2D Sinovac + 1D Pfizer + 1D Moderna (n = 38) y con el esquema heterólogo 2D Sinovac + 1D AstraZeneca + 1D Pfizer (n = 11) contra el pseudotipo Wuhan y Ómicron, respectivamente. La significancia estadística de la diferencia entre neutralizaciones fue calculada con la prueba de Kruskal-Wallis. Se corrigió el valor de P controlando la tasa de descubrimiento falso con la prueba de aumento de dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli. El valor de P ajustado y los cambios de factor están indicados. $P < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. El eje Y del gráfico está presentado en escala logarítmica (\log_2).



X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Li Q, Liu Q, Huang W, Li X, Wang Y, 2017, Current status on the development of pseudoviruses forenveloped viruses, Rev Med Virol, Vol 28, pág 1.
2. Díaz P, 2015, Determinación de la eficiencia de transfección de un plásmido portador del gen de proteína de fluorescencia verde en células madres mesenquimales bovinas obtenidas desde médula ósea fetal, pág. 5.
3. Jara A, Undurraga E, Zubizarreta J, González C, Pizarro A, Acevedo J, Leo K, Paredes F, Bralic T, Vergara V, Mosso M, Leon F, Parot I, Leighton P, Suárez P, Rios J, García H, Araos R, 2022, Effectiveness of homologous and heterologous booster doses for an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: a large-scale prospective cohort study, Lancet Glob Health, Vol 10, pág. 798-806.
4. Vacunación campaña SARS-CoV-2. Total país [Internet], 2022, Lugar de publicación: Departamentode estadística e información en salud, disponible en:
https://informesdeis.minsal.cl/SASVisualAnalytics/?reportUri=%2Freports%2Freports%2F9037e283-1278-422c-84c4-16e42a7026c8§ionIndex=0&sso_guest=true&reportViewOnly=true&reportContextBar=false&sas-welcome=false.
5. Figueroa L, 2022, Anticuerpos neutralizantes, nuevas pruebas de laboratorio contra el SARS-CoV-2, Acta méd. Peru, vol. 38, pág. 295-304.
6. Ficha informativa de vacuna: Vacuna Vaxzevria solución inyectable (ChAdOx1-S, recombinante)(Vacuna Covid-19 Astrazeneca), año 2022, Instituto de Salud Pública.
7. Ficha informativa de vacuna: CoronaVac suspensión inyectable (Vacuna SARS-CoV-2 adsorbida, virión inactivado), año 2022, Instituto de Salud Pública.

8. Ficha informativa de vacuna: Vacuna COVID-19 Moderna Spikevax Suspensión Inyectable (mRNA-1273), año 2022, Instituto de Salud Pública.
9. Ficha informativa de vacuna: Vacuna COVID-19 Pfizer-BioNTech, año 2022, Instituto de Salud Pública.
10. Beltrán C, Riquelme S, Oyarzún A, Gaete A, González R, Cereceda K, Aguirre A, Travisany D, Palma R, Barriga G, Gaggero A, Martínez C, Le Corre N, Ferrés M, Balcells M, Fernandez J, Ramírez E, Villarroel F, Valiente F, Soto R, 2021, Insights into neutralizing antibody responses in individuals exposed to SARS-CoV-2 in Chile, *Sci. Adv.*, vol. 7, pág. 1-2.
11. Balcells M, Le Corre N, Durán J, Ceballos M, Vizcaya C, Mondaca S, Dib M, Rabagliati R, Sarmiento M, Burgos P, Espinoza M, Ferrés M, Martínez C, Ruiz C, Ortiz C, Ross P, Budnik S, Solari S, Vizcaya M, Lembach H, Berríos R, Melo F, Ríos M, Kalergis A, Bueno S, Nervi B, 2022, Reduced Immune Response to Inactivated Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccine in a Cohort of Immunocompromised Patients in Chile, *CID*, vol. 1, pág. 594-602.
12. Dijkstra D, Joeloem Singh J, Bajema I, Trouw Leendert, 2019, Complement activation and regulation in rheumatic disease, *Seminars in Immunology*, vol. 45, pág. 1-9.
13. Raptis C, Berger C, Ciurea A, Andrey D, Polysopoulos C, Lescuyer P, Maletic T, Riek M, Scherer A, Von Loga I, Safford J, Lauper K, Möller B, Vuilleumier N, Finckh A, Rubbert A, 2022, Type of mRNA COVID-19 vaccine and immunomodulatory treatment influence humoral immunogenicity in patients with inflammatory rheumatic diseases, *Front Immunol*, vol. 13, pág. 1-11.
14. Batibay S, Kocak R, Günendi Z, Fildan I, Bozdayi G, Nur F, 2022, Immunogenicity and safety of the CoronaVac and BNT162b2 Covid-19 vaccine in patients with inflammatory rheumatic diseases and healthy adults: comparison of different vaccines, *Inflammopharmacology*, pág. 1-8.

15. Blanco S, Spinsanti L, Aguilar J, Diaz A, Rivarola M, Beranek M, Fernández E, Mangeaud A, Salomé B, Gallego S, 2022, Neutralizing response elicited by homologous and heterologous prime boostervaccination against ancestral SARS-CoV-2 B.1, P.1, C.37 and B.1.617.2 variants, *Vaccine*, vol. 40, pág. 6706-6710.
16. Laiton K, Franco C, Álvarez D, Ruiz H, Usme J, Prada D, Reales J, Corchuelo S, Herrera M, Naizaque J, Santamaría G, Rivera J, Rojas P, Hernández J, Cardona A, Malo D, Prieto F, Ruiz F, Wiesner M, Ospina M, Mercado M, 2021, Characterization of the emerging B.1.621 variant of interest of SARS-CoV-2, *Infect Genet Evol*, vol. 95, pág. 1-6.
17. Assawasaksakul T, Sathitratanaheewin S, Vichaiwattana P, Wanlapakorn N, Poovorawan Y, Avihingsanon Y, Assawasaksakul N, Kittanamongkolchai W, 2022, Immunogenicity of the third and fourth BNT162b2 mRNA COVID-19 boosters and factors associated with immune response in patients with SLE and rheumatoid arthritis, *Lupus Science & Medicine*, vol. 9, pág. 1-9.
18. Minsal, 2022, Próxima semana se inicia vacunación anual contra COVID-19 en personal de salud y personas inmunocomprometidas [Internet], disponible en:
<https://www.minsal.cl/proxima-semana-se-inicia-vacunacion-anual-contr-covid-19-en-personal-de-salud-y-personas-inmunocomprometidas/>.
19. Conway R, Grimshaw A, König M, Putman M, Duarte-García A, Yingzhijie L, Cabrera D, Eugenia Y, Berk H, Duff E, Han B, Graef E, Gupta A, Harkins P, Hoyer B, Jayatilleke A, Jin S, Kasia C, Khilnani A, Kilian A, Kim A, Alice C, Low C, Proulx L, Sattui S, Singh N, Sparks J, Tam H, Ugarte M, Ung N, Wang K, Wise L, Yang Z, Young K, Liew J, Grainger R, Wallace Z, Hsieh, 2022, SARS-CoV-2 infection and COVID-19 Outcomes in Rheumatic Diseases: A Systematic Literature Review And Meta Analysis, *Arthritis & Rheumatology*, vol 5, pág 766-775.

20. Honfi D, Gémes N, Szabó E, Neuperger P, Balog J, Nagy L, Toldi G, Puskás L, Szebeni G, Balog A, 2022, Comparison of Homologous And Heterologous Booster SARS-CoV-2 Vaccination in Autoimmune Rheumatic and Musculoskeletal Patients, International Journal of molecular sciences, pág. 1-15.
21. Kirtipal N, Bharadwaj S, Gu Kang S, From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, 2020, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses, Infection, Genetics and Evolution, vol 85, pág 104502.
22. Ficha informativa de vacuna: Vacuna COVID-19 Convidecia suspensión inyectable (CanSino), año 2022, Instituto de Salud Pública.
23. Guzmán A, Donaire L, 2021, Visión general de la reumatología en Chile, Revista Médica Clínica LasCondes, vol 23, pág 365 - 368.
24. Ficha informativa de vacuna: Vacuna COVID-19 Moderna Spikevax Bivalente, año 2022, Instituto de Salud Pública.
25. Ficha informativa de vacuna: Vacuna COVID-19 Pfizer - BioNTech Original/Ómicron BA.1 (Bivalente), año 2022, Instituto de Salud Pública.
26. Gaete A, Saavedra V, Sauré D, Palomares L, Acevedo M, Alarcón M, Bueno S, Kalergis A, Soto R, Valiente F, Cortés C, 2023, Impact of homologous and heterologous boosters in neutralizing antibodies titers against SARS-CoV-2 Omicron in solid - organ transplant recipients, Frontiers in immunology, vol 14, pág 1-8.
27. Frommert L, Arumahandi A, Zernicke J, Scholz V, Braun T, Jeworowski L, Schwarz T, Tober P, Hagen A, Habermann E, Kurth F, Sander L, Corman V, Burmester G, Biesen R, Albach F, Klotsche J, 2022, RMD Open, Type of vaccine and immunosuppressive therapy but not diagnosis critically influence antibody response after COVID-19 vaccination in patients with rheumatic disease, vol 8, pág 1-11.

XI. **ANEXOS.**

1) CONSENTIMIENTO INFORMADO:



Consentimiento informado

Patrocinante: Facultad de Medicina, Universidad de Atacama.

Investigador Principal: María José Gallardo

R.U.T.: 15.426.313-6

Institución: Facultad de Medicina, Universidad de Atacama.

Teléfonos: +56985022719

Email: mariajose.gallardo@uda.cl

Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación **monitoreo clínico-molecular de pacientes reumatológicos inoculados con vacunas para SARS-CoV-2**, debido a que es de suma importancia estudiar la detección de anticuerpos neutralizantes posterior a la vacunación contra el virus SARS-CoV-2, la causa del COVID-19.

Procedimientos: Usted debe primero entender el estudio al cual le estamos invitando y este consentimiento, y decidir participar en forma absolutamente voluntaria. Si decide aceptar, obtendremos información directamente a través de preguntas que le haremos a usted o revisando sus registros médicos relacionado con su edad, sexo, lugar de residencia, tipo de trabajo, enfermedades que Usted tenga, tipo de sangre, estado de vacunación y fechas de vacunación, si tuvo o no COVID19 y cuándo, así como si tiene algún test diagnóstico realizado y su resultado.

Se procederá luego a obtener una muestra de sangre venosa de 10 ml, equivalente a una cucharada sopera, mediante una punción venosa al inicio del proyecto y luego a los 6 y 12 meses. Usaremos esta sangre para la detección de anticuerpos neutralizantes. El resto del suero será mantenido congelado a -80°C por si se debe repetir alguna prueba posteriormente. El suero recolectado será utilizado solamente para los fines de este estudio y una vez terminado el estudio será descartado.

Durante los próximos meses lo estaremos contactando para consultar si se ha mantenido sin infección, o bien, si se ha infectado con el virus y desarrollado COVID19. En caso de que haya

desarrollado COVID19, le solicitaremos la siguiente información: fecha de inicio de síntomas, fecha de realización de prueba diagnóstica, tipo de test diagnóstico, resultado y fecha de test diagnóstico, presencia de hipoxemia si/no, necesidad de oxígeno suplementario si/no, necesidad de hospitalización si/no, necesidad de ventilación mecánica si/no, situación de egreso médico una vez finalizado el episodio de COVID19.

Riesgos: Su participación en el estudio consiste en proporcionar y permitir la obtención de información sobre Ud. como se explica más arriba, y una muestra de sangre por punción venosa en tres ocasiones (3 muestras en total). Su participación por ello no tiene un riesgo mayor para Ud. más que la molestia y leve dolor asociado a la punción venosa. Es posible que la punción le deje un moretón que pueda durar un par de semanas. En muy raras ocasiones, la punción venosa puede causar una infección, pero tomaremos todas las precauciones para que ello no ocurra. La toma de muestra la realizará personal de salud competente y con experiencia.

Costos: Su participación no tiene costo alguno para Usted. La toma de la muestra sanguínea y su procesamiento será costeadada en su totalidad por el estudio.

Beneficios: Los beneficios de este estudio serán para la sociedad y para pacientes reumatológicos afectados directa o indirectamente por la pandemia de COVID-19. Específicamente se estudiará la respuesta inmunológica de pacientes reumatológicos y no reumatológicos frente al proceso de vacunación realizado en el país. Para este estudio es fundamental contar con la participación de voluntarios y voluntarias que permitirán dar curso al proyecto, y a la obtención de resultados que permitan realizar recomendaciones clínicas según los resultados obtenidos.

Confidencialidad y uso potencial de los resultados: Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores y eventualmente otros investigadores a futuro en caso de abrirse la base de datos para el beneficio de la investigación a nivel mundial (esto se denomina actualmente "acceso abierto" a los datos). Todos los datos que usted nos proporcione o se obtengan de Ud. serán manejados en forma anónima y no habrá posibilidad alguna que lo identifiquen por participar en este estudio.

Voluntariedad: Es importante que comprenda a cabalidad que su participación en la investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento sin que ello signifique perjuicio alguno para Usted.

Derechos del participante: Usted recibirá una copia íntegra y escrita de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio o bien conocer los

resultados puede comunicarse con: Autoridad de la institución: María José Gallardo Nelson, +56985022719.

Otros Derechos del participante

En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el presidente del "Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos", Dr. Manuel Oyarzún G., Teléfono: +5629789536, Email: comiteceish@med.uchile.cl, cuya oficina se encuentra ubicada a un costado de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile en Av. Independencia 1027, Comuna de Independencia.

Conclusión

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto "Seguimiento y monitoreo clínico-molecular de pacientes reumatológicos inoculados con vacunas para SARS-CoV-2 en la región de Atacama",

Nombre del participante:

RUT:

Firma:

Fecha:

Nombre del investigador:

RUT:

Firma:

Fecha:

2) FICHA CLÍNICA:



FICHA CLÍNICA

Nº Registro: _____

Previo a llegar la siguiente ficha clínica, se debe tener en cuenta que se seleccionarán aquellos paciente que no posean ninguno de los criterios de exclusión que se mencionarán a continuación.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No poseer la cuarta dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2
- Padecer o tener antecedentes de tumores sólidos y/o hematológicos en los últimos 5 años
- Padecer otras enfermedades que comprometan el sistema inmune tales como VIH (infección por el virus de la inmunodeficiencia humana), IDCV (inmunodeficiencia común variable), EMR (esclerosis múltiple refractaria)

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Grupo	Policlínico de reumatología	Control sano
Apellido (s)		
Nombre (s)		
RUT		
Sexo	Masculino	Femenino
Edad (años cumplidos)		

Fecha de nacimiento	/ /
Nacionalidad	
Origen étnico o Pueblo originario	
Residencia	
Teléfono	

INFORMACIÓN MÉDICA

¿Está vacunado contra el SARS-CoV-2?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	N° dosis	
¿Con qué vacuna? (Consignar carnet de vacunación o pase de movilidad)	Primera dosis			
	Segunda dosis			
	Tercera dosis (refuerzo)			
	Cuarta dosis (refuerzo)			
¿Cuándo se vacunó? (Consignar carnet de vacunación o pase de movilidad)	Primera dosis	/	/	
	Segunda dosis	/	/	
	Tercera dosis (refuerzo)	/	/	
	Cuarta dosis (refuerzo)	/	/	
¿En las 2 semanas posteriores a la vacunación con la cuarta dosis presentó alguno de los siguientes signos y/o síntomas?	Dolor	<input type="checkbox"/>	Sensación de malestar	<input type="checkbox"/>
	Eritema (enrojecimiento de piel)	<input type="checkbox"/>	Rinorrea (escurrimiento nasal)	<input type="checkbox"/>
	Sensación de hormigueo	<input type="checkbox"/>	Mialgia (dolor muscular)	<input type="checkbox"/>
	Cefalea (dolor de cabeza)	<input type="checkbox"/>	Fiebre	<input type="checkbox"/>

	Artritis (inflamación articular)	<input type="checkbox"/>	Artralgias (dolor articular)	<input type="checkbox"/>
	Lesiones cutáneas	<input type="checkbox"/>	Rigidez matinal	<input type="checkbox"/>
	Otro (Especifique)			

¿Usted tuvo COVID-19?	Si	No	Fecha: / /	
¿El diagnóstico fue mediante PCR o un test de antígeno)	Prueba PCR <input type="checkbox"/>		Test de antígenos <input type="checkbox"/>	
¿Tuvo síntomas?	Si	No		
¿Qué síntomas tuvo?	Fiebre	<input type="checkbox"/>	Tos	<input type="checkbox"/>
	Dificultad para respirar	<input type="checkbox"/>	Fatiga	<input type="checkbox"/>
	Dolor de cuerpo	<input type="checkbox"/>	Cefalea	<input type="checkbox"/>
	Pérdida del olfato/gusto	<input type="checkbox"/>	Dolor de garganta	<input type="checkbox"/>
	Otro (especifique)			



¿Fue hospitalizada/o a causa del COVID-19?	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Fecha: / /
Patología (s) reumatológicas y tiempo de evolución	Artritis reumatoidea	<input type="checkbox"/>	
	Lupus eritematoso sistémico	<input type="checkbox"/>	
	Artritis Psoriática	<input type="checkbox"/>	
	Espondilitis anquilosante	<input type="checkbox"/>	
	Vasculitis	<input type="checkbox"/>	
	Esclerodermia Sistémica	<input type="checkbox"/>	
Medicamentos (Nombre y dosis)	Glucocorticoides <input type="checkbox"/> (Prednisona, Betametasona, Hidrocortisona, etc.) Nombre: Dosis: _____		
	Rituximab <input type="checkbox"/> Dosis: _____ Fecha de última administración: / /		
	Ciclofosfamida <input type="checkbox"/> Dosis: _____ Fecha de última administración: / /		

	<p><i>Anti-CD80/Anti-CD86</i></p> <p>Abatacept <input type="checkbox"/></p> <p>Dosis: _____</p>
	<p>Hidroxicloroquina <input type="checkbox"/></p> <p>Dosis: _____</p>

	<p><i>Inhibidores de IL-6</i></p> <p>Tocilizumab <input type="checkbox"/></p> <p>Dosis: _____</p>
	<p><i>Inhibidor IL-17</i></p> <p>Secukinumab <input type="checkbox"/></p> <p>Dosis: _____</p>
	<p><i>Inhibidores JAK</i></p> <p>Tofacitinib <input type="checkbox"/></p>
	<p>Dosis: _____</p>
	<p>Leflunomida <input type="checkbox"/></p> <p>Dosis: _____</p>
	<p>Metotrexato <input type="checkbox"/></p>



	Dosis: _____									
	<i>Inhibidores TNF</i>									
	Adalimumab <input type="checkbox"/>									
	Dosis: _____									
	Etanercept <input type="checkbox"/>									
	Dosis: _____									
Golimumab <input type="checkbox"/>										
Dosis: _____										
Mycophenolato <input type="checkbox"/>										
Dosis: _____										
Azatioprina <input type="checkbox"/>										
Dosis: _____										
Patologías crónicas (diferentes)	Hipertensión arterial	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	¿En tratamiento?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>
	Diabetes Mellitus	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	¿En tratamiento?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>

reum atológ icas) Y tiempo de evolu ción	Cáncer	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	¿En trata mient o?	Si		No	
		¿Qué tipo?								

Anticuerpos neutralizantes	Fecha toma muestra	Título (IC50)	95% CI ID50	R ²	Resultado

3) COMITÉ DE ÉTICA:



ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO

(Documento en versión 3.1 corregida 17.11.2020)

Con fecha 16 de Noviembre de 2021, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dr. Manuel Oyarzún G., Médico Neumólogo, Profesor Titular, Presidente
 Dra. Lucia Cifuentes O., Médico Genetista, Profesor Titular, Vicepresidente Subrogante Sra.
 Claudia Marshall F., Educadora, Representante de la comunidad
 Dra. Grisel Orellana, Médico Neuropsiquiatra, Profesor Asociado
 Prof. Julieta González B., Bióloga Celular, Profesor Asociado
 Dra. María Angela Delucchi Bicocchi, Médico Pediatra Nefrólogo, Profesor Titular
 Dr. Miguel O’Ryan, Médico Infectólogo, Profesor Titular
 Dra. María Luz Bascuñán Psicóloga PhD, Profesor Asociado
 Sra. Karima Yarmuch G., Abogada, Dirección Jurídica, Facultad de Medicina Srta.
 Javiera Cobo R. Nutricionista, Secretaria Ejecutiva
 Prof. Verónica Aliaga C., Kinesióloga, Magister en Bioética, Profesor Asociado
 Dr. Dante Cáceres L., Médico Veterinario, Doctor en Salud Pública, Profesor Asociado

Ha revisado el Proyecto de Investigación titulado: "**SEGUIMIENTO Y MONITOREO CLÍNICO-MOLECULAR DE PACIENTES REUMATOLÓGICO INOCULADOS CON VACUNAS PARA SARS-COV-2 EN LA REGIÓN DE ATACAMA**". Cuyo investigador responsable es la Dra. María José Gallardo, quien desempeña funciones en el Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Atacama.

El Comité revisó los siguientes documentos del estudio:

- Proyecto Concursable FONIS 2021
- Curriculum Vitae de los investigadores
- Consentimiento Informado
- Carta Compromiso del investigador

El proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos CIOMS 2016, y de las Guías de Buena Práctica Clínica de ICH 1996.

15/NOV/20



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD
DE MEDICINA

COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

Sobre la base de esta información el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile se ha pronunciado de la siguiente manera sobre los aspectos del proyecto que a continuación se señalan:

- Carácter de la población a estudiar: Población cautiva, Investigación no terapéutica.
- Utilidad del proyecto: Determinar si hay una diferencia en la respuesta a vacuna Coronavac de personas con artritis reumatoide y Lupus eritematoso sistémico en comparación con controles sanos pareados.
- Riesgos y beneficios: Bajo riesgo, solo punción venosa.
- Protección de los participantes (asegurada por el consentimiento informado): Asegurada
- Notificación oportuna de reacciones adversas: No aplica
- Compromiso del investigador responsable en la notificación de los resultados del estudio al finalizar el proyecto: Sí.
- Requiere seguimiento o visita en terreno: Si ____ No ____
N.º de visitas: ____

Por lo tanto, el comité estima que el estudio propuesto está bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores que mínimos.

Este comité también analizó y aprobó los correspondientes documentos de Consentimiento Informado en su versión modificada recibida el 11 de noviembre de 2021, que se adjunta firmado, fechado y timbrado por este CEISH.

Sin perjuicio de lo anterior, según lo establecido en el artículo 10 bis del D.S N° 114 de 2011, del Ministerio de Salud que aprueba el reglamento de la ley N° 20.120; es preciso recordar que toda investigación científica en seres humanos deberá contar con la autorización expresa del o de los directores de los establecimientos dentro de los cuales se efectúe, la que deberá ser evacuada dentro del plazo de 20 días hábiles contados desde la evaluación conforme del CEISH, siendo de responsabilidad del investigador enviar a este Comité una copia de la misma dentro del plazo señalado.

En virtud de las consideraciones anteriores el Comité otorga la aprobación ética para la realización del estudio propuesto, dentro de las especificaciones del protocolo.

15/NOV/20



Se extiende este documento por el periodo de 01 año a contar desde la fecha de aprobación prorrogable según informe de avance y seguimiento bioético.