

Seropositividad al SARS-CoV-2 y riesgo de infección subsiguiente en adultos jóvenes sanos: un estudio de cohorte prospectivo

Publicado: 15 de abril de 2021 DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00158-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00158-2)

Resumen

No se sabe con certeza si los adultos jóvenes infectados con el SARS-CoV-2 corren el riesgo de una infección posterior. Investigamos el riesgo de infección posterior por SARS-CoV-2 entre adultos jóvenes seropositivos para una infección previa.

Métodos

Este análisis se realizó como parte del estudio COVID-19 Health Action Response for Marines (CHARM). CHARM incluyó a reclutas predominantemente masculinos de la Marina de los EE. UU., De entre 18 y 20 años, después de una cuarentena de 2 semanas sin supervisión en el hogar. Después del período de cuarentena domiciliaria, al llegar a una instalación de cuarentena de 2 semanas supervisada por la Marina (campus universitario u hotel), los participantes se inscribieron y se evaluaron para determinar la seropositividad basal de IgG para SARS-CoV-2, definida como una dilución de 1: 150 o más sobre el dominio de unión al receptor y ELISA de proteína de pico de longitud completa. Los participantes también completaron un cuestionario que constaba de información demográfica, factores de riesgo, informes de 14 síntomas específicos relacionados con COVID-19 o cualquier otro síntoma no especificado, y un breve historial médico. La infección por SARS-CoV-2 se evaluó mediante PCR en las semanas 0, 1, y 2 de cuarentena y los participantes completaron un cuestionario de seguimiento, que incluía preguntas sobre los mismos síntomas relacionados con COVID-19 desde la última visita del estudio. Los participantes fueron excluidos en esta etapa si tenían una prueba de PCR positiva durante la cuarentena. Los participantes que tuvieron tres resultados de PCR negativos durante la cuarentena y una prueba de serología sérica de referencia al comienzo de

la cuarentena supervisada que los identificó como seronegativos o seropositivos para el SARS-CoV-2 luego pasaron a la capacitación básica en Marine Corps Recruit Depot, Parris Island . Se realizaron tres pruebas de PCR en las semanas 2, 4 y 6 en los grupos seropositivo y seronegativo, junto con el cuestionario de síntomas de seguimiento y los títulos de anticuerpos neutralizantes de referencia en todos los participantes seropositivos y seropositivos seleccionados no infectados posteriormente infectados (período de estudio prospectivo).

Recomendaciones

Entre el 11 de mayo de 2020 y el 2 de noviembre de 2020, inscribimos a 3249 participantes, de los cuales 3168 (98%) continuaron en el período de cuarentena de 2 semanas. 3076 (95%) participantes, 2825 (92%) de los cuales eran hombres, fueron seguidos durante el período de estudio prospectivo después de la cuarentena durante 6 semanas. Entre 189 participantes seropositivos, 19 (10%) tuvieron al menos una prueba de PCR positiva para SARS-CoV-2 durante el seguimiento de 6 semanas (1 · 1 casos por persona-año). En contraste, 1079 (48%) de 2247 participantes seronegativos dieron positivo (6,2 casos por persona-año). La razón de la tasa de incidencia fue 0 · 18 (95% CI 0 · 11–0 · 28; $p < 0 · 001$). Entre los reclutas seropositivos, la infección fue más probable con títulos de IgG de proteína de pico de longitud completa más bajos que en aquellos con títulos de IgG de proteína de pico de longitud completa más altos (cociente de riesgo 0 · 45 [IC 95% 0 · 32–0 · 65]; $p < 0,001$). Los participantes seropositivos infectados tenían cargas virales que eran aproximadamente 10 veces más bajas que las de los participantes seronegativos infectados (diferencia del umbral del ciclo del gen ORF1ab 3 · 95 [IC 95% 1 · 23–6 · 67]; $p = 0 · 004$). Entre los participantes seropositivos, los títulos neutralizantes iniciales se detectaron en 45 (83%) de 54 no infectados y en seis (32%) de 19 participantes infectados durante las 6 semanas de observación (diferencia ID50 $p < 0 · 0001$).

Interpretación Los adultos jóvenes seropositivos tenían aproximadamente una quinta parte del riesgo de infección posterior en comparación con los individuos seronegativos. Aunque los anticuerpos inducidos por la infección inicial son en gran medida protectores, no garantizan una actividad de neutralización eficaz del SARS-CoV-2 o inmunidad contra la infección posterior. Estos hallazgos podrían ser relevantes para la optimización de las estrategias de vacunación masiva.

Fondos

Agencia de Defensa de la Salud y Agencia de Proyectos de Investigación Avanzada de Defensa.

Introducción

A mediados de diciembre de 2020, se habían diagnosticado más de 72 millones de infecciones por SARS-CoV-2 en todo el mundo. Las encuestas serológicas indican que el número real de infecciones ha sido muchas veces mayor que la incidencia acumulada de casos diagnosticados, con tasas de seropositividad cercanas al 10% en algunos países y más del 40% en la Amazonía brasileña. Con el inicio de los programas de vacunación masiva contra el SARS-CoV-2 y la proporción cada vez mayor de individuos previamente infectados, el riesgo de reinfección después de una infección natural es una cuestión importante para modelar la pandemia, estimar la inmunidad colectiva y orientar las e estimar la inmunidad colectiva y orientar las estrategias de vacunación. La mayoría de las personas presentan una respuesta serológica sostenida después de la infección inicial. De manera similar a la respuesta a otros coronavirus, la producción de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 alcanza su punto máximo varias semanas después de la infección, pasa por una fase de declive y luego se estabiliza. La respuesta humoral general al SARS-CoV-2 es muy variable entre los individuos. Los anticuerpos IgG específicos del SARS-CoV-2 se pueden detectar en el suero de la mayoría de las personas varios meses después de la infección. Sin embargo, una proporción de pacientes infectados, que oscila entre el 2,5% y el 28% en diferentes estudios, no mantiene anticuerpos circulantes detectables o actividad neutralizante, en puntos de tiempo posteriores. Aproximadamente el 10% de los individuos que desarrollaron anticuerpos contra el SARS-CoV-2, todos los cuales tenían títulos de anticuerpos IgG específicos de proteína de pico de longitud completa inferiores a 1: 320, no desarrollaron una actividad neutralizante medible.

Los informes han establecido que la reinfección por SARS-CoV-2 ocurre después de una infección previa, incluso en individuos seropositivos.

Varios estudios han informado que los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 y anticuerpos neutralizantes proporcionan protección contra

infecciones posteriores. Los resultados del ensayo inicial de la vacuna contra el SARS-CoV-2 basada en vectores adenovirales, ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222), señalaron que entre los 373 participantes que eran seropositivos al inicio del estudio, tres (0,8%) tuvieron pruebas de PCR posteriores positivas con hisopo. En comparación, entre 11 263 participantes seronegativos de referencia en todos los grupos del mismo estudio, 218 (1,9%) desarrollaron una prueba positiva. Un estudio del estado serológico del SARS-CoV-2 y la infección entre los trabajadores de la salud identificó dos (0 · 16%) participantes infectados de 1265 participantes seropositivos y 223 (20%) participantes infectados entre 11 364 que eran seronegativos. Adultos jóvenes, de los cuales una alta proporción están infectados asintóticamente y se vuelven seropositivos en ausencia de una infección conocida, puede ser una fuente importante de transmisión a poblaciones más vulnerables. La evaluación de la protección contra la posterior infección por SARS-CoV-2 conferida por la seropositividad en adultos jóvenes es importante para determinar la necesidad de vacunar a los individuos previamente infectados en este grupo de edad.

Utilizamos el estudio COVID-19 Health Action Response for Marines (CHARM), un estudio de cohorte prospectivo longitudinal, para examinar el efecto de la seropositividad del SARS-CoV-2 sobre el riesgo de desarrollar la infección por el SARS-CoV-2 en reclutas marinos adultos jóvenes (18-20 años) sanos.

Métodos

Diseño del estudio y participantes

El estudio CHARM fue un estudio longitudinal prospectivo diseñado para identificar la infección por SARS-CoV-2 independientemente de la presencia o ausencia de síntomas y para evaluar la respuesta inmune del huésped en el momento de la infección aguda. Como parte del estudio CHARM, hicimos un estudio de cohorte prospectivo con un período de observación que comenzaba 2 semanas después de la inscripción cuando los reclutas de la Marina llegaban al Depósito de Reclutamiento del Cuerpo de Infantería de Marina — Parris Island (MCRDPI) para comenzar el entrenamiento básico. Para mitigar la propagación del SARS-CoV-2, justo antes de la transferencia a MCRDPI, el Cuerpo de Marines de los Estados Unidos (USMC) implementó dos protocolos de cuarentena separados. La

primera fue una cuarentena domiciliaria de 2 semanas. Después de eso, los reclutas viajaron, mientras usaban máscaras faciales y se adherieron al distanciamiento físico, a una segunda cuarentena supervisada por el USMC ubicada en un campus universitario del 11 de mayo al 29 de julio de 2020, que los instructores de la Marina de los EE. UU. hicieron cumplir estrictamente en todo momento. Se prohibió la salida de los reclutas y el personal, y no se permitió la entrada a las instalaciones a ningún visitante, salvo la entrega de suministros y alimentos junto con los trabajadores locales esenciales y el personal del estudio. Al final de este período de cuarentena, el USMC requirió que todos los reclutas dieran negativo en la prueba del SARS-CoV-2 por PCR antes de proceder a MCRDPI para iniciar la capacitación básica.

Dentro de las 48 h de llegar al lugar de cuarentena supervisado, se ofreció a los reclutas la oportunidad de ofrecerse como voluntarios para CHARM. Los reclutas eran elegibles si tenían 18 años o más. Dado que los reclutas son una población vulnerable y en riesgo de coerción, se tomaron medidas especiales, que incluyeron tener informantes de estudio que eran personal de la Marina en servicio activo que vestían ropa de civil, no revelaron los rangos militares, no tenían miembros en la cadena de mando del recluta presentes. y aseguró que la participación no afectaría la atención médica de un recluta ni influiría en la calificación del desempeño militar de un recluta por parte de los superiores.

En el momento de la inscripción, los participantes completaron un cuestionario que constaba de información demográfica, factores de riesgo, informes de 14 síntomas específicos relacionados con COVID-19 o cualquier otro síntoma no especificado, y un breve historial médico. En las semanas 0, 1 y 2 de la cuarentena, se obtuvo un hisopo de las fosas nasales de los cornetes medios para la prueba de PCR del SARS-CoV-2 y sueros, y los participantes completaron un cuestionario de seguimiento, que incluía preguntas sobre el mismo virus relacionado con COVID-19. síntomas desde la última visita del estudio.

Participantes que tuvieron tres resultados negativos de PCR con hisopo en las semanas 0, 1 y 2 de cuarentena y una prueba de serología sérica de referencia al comienzo de la cuarentena supervisada que los identificó como seronegativos o seropositivos para el SARS-CoV-2, de acuerdo con los criterios descritos a continuación, fueron seguidos prospectivamente durante 6 semanas después de la transferencia desde el lugar de cuarentena al MCRDPI. En las semanas 2, 4 y 6 después de la transferencia, se obtuvo un hisopo de las fosas nasales del cornete medio

para la prueba de PCR del SARS-CoV-2 y sueros y se administró el cuestionario de síntomas de seguimiento. Cuando estaba clínicamente indicado, es decir, debido al desarrollo de síntomas de COVID-19, algunos participantes fueron evaluados en la clínica MCRDPI y diagnosticados mediante pruebas rápidas. Si es positivo, fueron al cuartel de aislamiento, donde el equipo de estudio pudo realizar un seguimiento y repetir las pruebas de PCR fuera de los encuentros de seguimiento longitudinales programados. Los participantes sin resultados de PCR obtenidos durante el período de estudio MCRDPI fueron excluidos del análisis.

La aprobación de la Junta de Revisión Institucional se obtuvo del Centro de Investigación Médica Naval (número de protocolo NMRC.2020.0006) de conformidad con todas las regulaciones federales de EE. UU. Aplicables que rigen la protección de sujetos humanos. Todos los participantes proporcionaron su consentimiento informado por escrito.

Procedimientos

Para las pruebas de PCR cuantitativa de SARS-CoV-2, todos los hisopos en medios de transporte viral se mantuvieron a 4 ° C. Todos los ensayos se realizaron dentro de las 48 h posteriores a la recolección de la muestra en laboratorios certificados por Enmiendas de Mejora de Laboratorio Clínico de alta complejidad utilizando el kit combinado Thermo Fisher TaqPath COVID-19 autorizado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. Lab24Inc (Boca Raton, FL, EE. UU.) Realizó pruebas de PCR desde el inicio del estudio (11 de mayo de 2020) hasta el 24 de agosto de 2020, y el Centro de Investigación Médica Naval (Silver Spring, MD, EE. UU.) Desde el 24 de agosto de 2020 hasta la conclusión del estudio (2 de noviembre de 2020).

La presencia y concentraciones de anticuerpos específicos de IgG SARS-CoV-2 en suero se determinaron usando un ELISA como se describió previamente.²⁵Brevemente, placas Immulon 4 HBX de 384 pocillos (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, UA), o placas Microlon de área media de 96 pocillos (Greiner Bio-One, Monroe, NC, EE. UU.), Se recubrieron durante la noche a 4 ° C con dominio de unión al receptor de pico marcado con His recombinante (S-RBD) (Sino Biological, Beijing, China) o proteína de pico de longitud completa (LakePharma, Irving, TX, EE. UU.) a una concentración de 2 µg / ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Las placas se lavaron tres veces con Tween-20 al 0,1% (Thermo Fisher Scientific) en PBS (PBS-T) utilizando un lavador de placas ELISA automatizado (AquaMax 4000, Molecular Devices, San Jose, CA, EE. UU.), Y se bloquearon durante 1 h a temperatura ambiente con leche al

3% (Bio-Rad, Hercules, CA, EE. UU.) PBS-T. Se eliminó la solución de bloqueo y se dispensaron muestras de suero diluidas en leche PBS-T al 1% en los pocillos. Al menos dos controles positivos (sueros con presencia conocida de IgG), En cada ensayo se incluyeron ocho controles negativos (sueros recolectados antes del 14 de julio de 2019) y cuatro blancos (sin suero). Las placas se incubaron durante 2 ha temperatura ambiente y luego se lavaron tres veces con PBS-T. A continuación, se añadió IgG antihumano F (ab ') 2 de cabra conjugado con peroxidasa (Abcam, Cambridge, Reino Unido) en diluciones 1: 5000-1: 10000 (determinadas después de la optimización para cada lote de anticuerpos) en leche PBS-T al 1% , y las placas se incubaron durante 1 ha temperatura ambiente. Las placas se lavaron seis veces con PBS-T, se revelaron usando o-fenilendiamina (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE. UU.) Y la reacción se detuvo después de 10 min con HCl 3M. Se midió la densidad óptica (DO) a 492 nm usando un lector de microplacas (SpectraMax M2, Molecular Devices). Todas las muestras de suero se examinaron a una dilución 1:50 con S-RBD. Aquellas muestras con un valor de DO 492 nm mayor que el promedio de los controles negativos más tres veces su DE en el ensayo de selección se sometieron a un ensayo de titulación (seis diluciones de suero en serie 1: 3 comenzando en 1:50) usando tanto S-RBD como completo-proteína de pico de longitud. Las muestras de suero se consideraron positivas para cada ensayo cuando al menos dos diluciones consecutivas mostraron una DO 492 nm más alta que el promedio de los controles negativos más tres veces su DE en la dilución correspondiente o una DO 0.15 de 492 nm. La especificidad fue del 100% tanto en S-RBD como en ELISA de proteína de pico de longitud completa utilizando 70 sueros de control obtenidos antes del 14 de julio de 2019. Los participantes solo se consideraron seropositivos para SARS-CoV-2 si las valoraciones de IgG para ambos ELISA dieron un resultado positivo a dilución mínima de 1: 150.

Para determinar la actividad neutralizante del virus en suero, se prepararon diluciones en serie dobles de suero inactivado por calor a una dilución inicial de 1:20 en medio sin suero (Medio Esencial Mínimo; Thermo Fisher Scientific, Cat No. 11095080 que contenía HEPES 25 mM y 0,05 g / L de sulfato de gentamicina) y se incubó con un volumen igual de mNeonGreen SARS-CoV-2 durante 1 ha 37 ° C a una concentración final de 200 unidades formadoras de placa en CO₂ al 5% humidificado . A continuación, se añadieron mezclas de virus y suero a monocapas de Vero-E6 en placas negras ópticas de 96 pocillos y se incubaron a 37 ° C. Las placas se

leyeron usando el lector de placas BioTek Cytation 5 (BioTek, Winooski, VT, EE. UU.; EX 485 nm, EM 528 nm) a las 24 h después de la infección. Después de la corrección de la señal de fondo, se determinaron los títulos de neutralización en un punto final fluorescente de 50% de reducción de virus (ID₅₀).

Análisis estadístico

La raza se clasificó como blancos no hispanos, negros no hispanos, otros no hispanos e hispanos. Cochran-Armitage χ^2 para la tendencia se utilizó para comparar las proporciones que dieron positivo para el SARS-CoV-2 aumentando los títulos, determinados como se describe en los procedimientos. Las tasas de incidencia acumuladas calculadas por el método de Kaplan-Meier se utilizaron para estimar el riesgo de infección por SARS-CoV-2 entre participantes seropositivos y seronegativos y también entre diferentes títulos entre los participantes seropositivos. El seguimiento observacional comenzó al llegar al MCRDPI y los participantes fueron censurados en la primera PCR positiva observada, en el último momento con un ensayo de PCR válido o al final del estudio (6 semanas de observación). El modelo de riesgos proporcionales de Cox controló por edad, sexo y raza. Los valores p de las curvas de incidencia acumulada se determinaron mediante la prueba de rango logarítmico y el valor p y los IC del 95% para el modelo de riesgo proporcional de Cox se calcularon mediante la función R `coxph`. Los valores del umbral de ciclo (Ct) de los genes virales se normalizaron por cuantiles para eliminar los efectos del lote entre Lab24Inc y los ensayos de laboratorio del Centro de Investigación Médica Naval. Los IC del 95% y los valores de p para comparar la media de los valores de Ct para dos grupos se calculan sobre la base de los valores de dos muestras. prueba t . Los análisis, figuras y tablas se generaron utilizando R 3.6.3.

Papel de la fuente de financiación

Los patrocinadores no tuvieron ningún papel en el diseño del protocolo, la recopilación de datos, la gestión de datos, el análisis de datos, la interpretación de datos o la redacción del informe.

Resultados

Desde el 11 de mayo de 2020 hasta el 2 de noviembre de 2020, 3249 (70%) de 4657 participantes elegibles se inscribieron en CHARM. Después de excluir a 28 participantes que resultaron positivos en la PCR para el SARS-CoV-2 al inicio del estudio y 53 que carecían de resultados serológicos de referencia, 3168 (98%) se sometieron a una cuarentena supervisada de 2 semanas. 45 participantes que dieron positivo por PCR al

SARS-CoV-2 en al menos una de las dos pruebas de PCR realizadas durante la cuarentena, y 47 que se perdieron durante el seguimiento, fueron además excluidos del estudio antes del período de estudio prospectivo ([figura 1](#)).

De los 3076 participantes restantes, 225 (7%) eran seropositivos al inicio, con títulos de IgG de SARS-CoV-2 en muestras de suero obtenidas al comienzo de la cuarentena que eran superiores a 1: 150 tanto con S-RBD como con pico de longitud completa ELISA de proteínas, y 2851 (93%) fueron seronegativos en la línea de base. Entre los participantes seropositivos, 36 (16%) fueron excluidos del análisis porque se perdieron durante el seguimiento (n = 34) o tuvieron resultados de PCR no concluyentes durante el período de estudio (n = 2). En el grupo seronegativo, se excluyeron 604 (21%) participantes porque se perdieron durante el seguimiento (n = 532) o tenían resultados de PCR no concluyentes (n = 72; [figura 1](#)). Los participantes se perdieron durante el seguimiento por razones específicas desconocidas para el equipo del estudio, incluido el abandono del estudio, la separación de los marines o la expulsión de la base por razones médicas o administrativas. La mayoría de los participantes tenían entre 18 y 20 años y eran hombres ([tabla 1](#)). Los dos grupos estaban bien equilibrados, excepto el de una mayor proporción de participantes que se autoidentificaron como hispanos o negros en el grupo seropositivo. Un total de 19 (10%) de 189 participantes seropositivos (1 · 1 casos por persona-año) y 1079 (48%) de 2247 participantes seronegativos (6 · 2 casos por persona-año) tuvieron al menos un SRAS-CoV positivo -2 resultado de la PCR durante el período de estudio de 6 semanas, que representa una tasa de incidencia de 0 · 18 (95% CI 0 · 11–0 · 28; p <0,001) para las infecciones por SARS-CoV-2 en el grupo seropositivo ([tabla 2](#)). La incidencia temporal de infección en el grupo seronegativo fue mucho mayor que en el grupo seropositivo (log-rank p <0,001; [figura 2A](#)). Después de ajustar los efectos de la raza, la edad y el sexo en las infecciones por SARS-CoV-2, el cociente de riesgos instantáneos (HR) comparando los participantes seropositivos y los participantes seronegativos fue 0 · 16 (IC del 95%: 0 · 10–0 · 25; p < 0 · 001; [apéndice p 2](#)).

Los datos son n (%) o media (DE). Se excluyó a un total de 173 participantes porque se perdieron durante el seguimiento, no tenían una IgG de referencia válida o se volvieron positivos para la PCR durante el

período de cuarentena. La tabla incluye a los 3076 participantes que ingresaron a la capacitación y fueron seguidos de manera prospectiva, incluidos los 640 participantes que luego fueron excluidos de un análisis adicional ([figura 1](#)). N / A = no aplica.

El análisis se basa en los 2436 participantes que tenían datos de PCR válidos obtenidos durante el período de seguimiento prospectivo. MCRDPI = Depósito de reclutamiento del Cuerpo de Marines — Parris Island.

En comparación con los participantes blancos no hispanos, los participantes negros no hispanos parecían estar protegidos contra las infecciones por SARS-CoV-2 en un análisis univariado de raza (HR 0 · 75 [95% CI 0 · 62–0 · 91]; $p = 0 · 004$; [apéndice p 2](#)). Sin embargo, este efecto no fue significativo cuando se ajustó por la seropositividad inicial en el análisis multivariado (HR 0 · 86 [0 · 70–1 · 04]; $p = 0 · 12$). Este fuerte efecto en el análisis univariado se debe principalmente a una mayor proporción de participantes negros no hispanos que son seropositivos. Para examinar más a fondo la relación de la raza y el origen étnico con el riesgo de infección, analizamos los datos con la estratificación de la seropositividad inicial para eliminar sus efectos de confusión. En el análisis estratificado para el modelo de regresión de Cox, los participantes no hispanos que identificaron su raza como otros y los participantes hispanos tuvieron una tasa más alta de pruebas positivas de PCR (43% y 41%, respectivamente) en comparación con los participantes blancos no hispanos (37%), pero las razones de riesgo no fueron significativas ([apéndice p 3](#)).

Dentro del grupo seropositivo, evaluamos la asociación entre los títulos basales de IgG de SARS-CoV-2 y el riesgo de infección. Encontramos una fuerte asociación entre la posterior infección positiva por PCR y títulos más bajos de anticuerpos IgG dirigidos a la proteína de pico de longitud completa (rango logarítmico $p < 0 · 001$) así como a S-RBD (rango logarítmico $p = 0 · 0019$; [figura 2B](#) ; [tabla 3](#) ; [apéndice p 5](#)). El análisis detallado de riesgos proporcionales de Cox da un HR de 0 · 45 (95% CI 0 · 32–0 · 65; $p < 0 · 001$) y 0 · 67 (0 · 47–0 · 96; $p = 0 · 028$) para el título de proteína de pico de longitud completa y el título de S-RBD, ambos transformados logarítmicamente, respectivamente ([apéndice p 2](#)).

Los datos son el número de participantes (%), a menos que se especifique lo contrario. Los títulos de S-RBD e ID50 se determinaron como se describe en los procedimientos. S-RBD = dominio de unión al receptor de pico.

Examinamos la actividad del anticuerpo neutralizante IgG del SARS-CoV-2 basal en todos los participantes seropositivos que resultaron positivos para la PCR durante el período de observación y en los primeros 54 participantes que fueron seropositivos pero siguieron siendo negativos para la PCR. La actividad neutralizante estuvo por encima del límite de detección en 45 (83%) de 54 participantes seropositivos que nunca resultaron positivos por PCR, y en seis (32%) de 19 participantes infectados durante las 6 semanas de observación. La actividad neutralizante evaluada como dosis inhibidora del 50% (ID50) fue significativamente mayor en los participantes que no resultaron positivos para la PCR durante el estudio (tendencia $p < 0.0001$; [tabla 3](#) ; [apéndice p 6](#)).

También comparamos la carga viral, estimada por los valores de PCR Ct, entre los grupos infectados por PCR seronegativos y seropositivos y encontramos que los individuos seronegativos tenían un promedio de 3.95 valores de ciclo más bajos para el gen ORF1ab (95% CI 1.23 a 6.67 ; $p = 0.004$), 2.60 ciclos inferiores para el gen S (-0.58 a 5.77 ; $p = 0.11$), y 3.30 ciclos inferiores para el gen N (0.27 a 6.33 ; $p = 0.033$) que los individuos seropositivos. Los valores más bajos de Ct sugieren una carga viral aproximadamente 10 veces mayor en las muestras de participantes seronegativos ([tabla 4](#)). Se observó positividad por PCR durante más de 7 días en seis (32%) de 19 participantes seropositivos y posteriormente infectados en comparación con 510 (47%) de 1079 participantes seronegativos y posteriormente infectados (diferencia -0.16 [-0.38 a 0.07]; $p = 0.18$). La infección sintomática ocurrió en tres (16%) de 19 participantes versus 347 (32%) de 1079 participantes (diferencia -0.16 [-0.38 a 0.05]; $p = 0.13$), respectivamente. Los síntomas específicos informados por los participantes seropositivos y seronegativos posteriormente infectados se presentan en el [apéndice \(pág. 4\)](#) .

Discusión

Este estudio de reclutas marinos principalmente jóvenes y masculinos encontró que la presencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 confería una tasa de incidencia reducida del 82% de la infección por el SARS-CoV-2. El porcentaje de infecciones sintomáticas en los participantes seropositivos fue la mitad que en los que fueron seronegativos, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. Entre el grupo seropositivo, los participantes que se infectaron tenían

títulos de anticuerpos más bajos que los que no estaban infectados, y era más probable que carecieran de actividad de anticuerpos neutralizantes de línea de base detectable. Nuestros resultados indican que aunque los anticuerpos inducidos por la infección son en gran medida protectores, no garantizan una inmunidad eficaz contra la infección posterior.

Este estudio aprovechó un período de cuarentena de 2 semanas exigido por el USMC durante el cual se estableció el estado de referencia del anticuerpo SARS-CoV-2 a la llegada. En el estudio prospectivo, solo se incluyeron en el estudio prospectivo los participantes seronegativos o seropositivos iniciales que tenían múltiples pruebas de PCR negativas para el SARS-CoV-2 durante la cuarentena supervisada. Las tres pruebas de PCR negativas durante la cuarentena ayudaron a garantizar que las infecciones diagnosticadas durante la capacitación básica no fueran infecciones persistentes, sino infecciones incidentes que ocurrieron durante el período prospectivo. La cuarentena domiciliar de 2 semanas que precede a la cuarentena supervisada, así como la frecuencia relativamente baja de infecciones diagnosticadas a la llegada y durante la cuarentena, indican además que en nuestros análisis solo se incluyeron infecciones incidentes. La tasa de infección agregada en ambos grupos durante las 6 semanas de observación en MCRDPI fue 1098 (45%) de 2436 participantes. Por el contrario, solo 28 (0,9%) de 3249 participantes dieron positivo por PCR al llegar a la cuarentena supervisada y menos del 2% de los participantes se volvieron positivos por PCR durante el período de cuarentena de 2 semanas. A los reclutas no se les permitió salir de MCRDPI y no se permitieron visitantes. Las infecciones podrían haber sido introducidas por personal permanente que interactuó con los reclutas. En vista de los dos períodos consecutivos de cuarentena, la tasa relativamente baja de infección durante la cuarentena y las tres pruebas consecutivas de PCR negativas, es poco probable que se haya incluido en el estudio prospectivo a ningún participante con infección persistente antes de su llegada al MCRDPI. Incluso si esto ocurriera, Es poco probable que estos casos afecten a los cálculos de riesgo relativo comparando los grupos seropositivos y seronegativos. Esta metodología permitió la creación de dos grupos bien definidos que ingresaron al entrenamiento básico sin infección activa y se diferenciaron principalmente por la serología inicial.

La alta tasa de infección en MCRDPI se puede atribuir a las condiciones de vida hacinadas, el régimen exigente y la necesidad de contacto personal durante el entrenamiento básico a pesar de las pistas

pandémicas, que se sabe que contribuyen a un mayor riesgo de epidemias respiratorias. La cercanía y el contacto constante entre los reclutas que se necesitan para la formación de equipos permiten que una infección viral prolifere rápidamente dentro de una unidad. El entorno de entrenamiento exigente física y mentalmente también puede suprimir la inmunidad. Estos factores no suelen estar presentes en la comunidad civil. Por lo tanto, el entorno del estudio limita la posibilidad de generalizar nuestros hallazgos a otros entornos donde la frecuencia e intensidad de la exposición y la susceptibilidad del huésped podrían diferir.

Los dos grupos tenían perfiles demográficos similares, con la excepción de una mayor prevalencia de participantes hispanos y negros no hispanos autoidentificados en el grupo seropositivo. El grupo seropositivo incluyó a casi el 50% de participantes hispanos y el 22% de negros no hispanos en comparación con el 22% y el 12%, respectivamente, en el grupo seronegativo. Esto probablemente se deba a que las poblaciones minoritarias tienen tasas de seroprevalencia más altas durante la pandemia de COVID-19 en general y entre los adultos jóvenes en particular.²⁶

Las tasas de infección y la reducción del riesgo proporcionada por la seropositividad son importantes para comprender la dinámica de transmisión de COVID-19, para el modelado epidemiológico y para estimar y alcanzar los niveles de inmunidad colectiva, un objetivo principal de las estrategias de vacunación masiva. La inmunidad colectiva es difícil de predecir si se desconoce el riesgo de infección después de la inmunidad natural e inducida por la vacuna. Dado que es posible que las vacunas contra el SARS-CoV-2 no proporcionen inmunidad estéril, es posible que tanto las personas previamente infectadas como las vacunadas se infecten más tarde. No se sabe si alguno de los dos puede contribuir a los eventos de transmisión. Encontramos solo una disminución modesta, en la carga viral de las fosas nasales según lo estimado por los niveles de Ct de PCR con hisopo en los participantes seropositivos en comparación con los participantes infectados seronegativos. Este hallazgo sugiere que algunos individuos reinfectados podrían tener una capacidad similar para transmitir la infección que aquellos que se infectan por primera vez. La tasa de reinfección después de las vacunas y la inmunidad natural es importante para estimar la proporción de la población que necesita ser vacunada para reprimir la pandemia.

Los resultados clínicos entre los grupos seropositivos y seronegativos fueron similares, siendo la mayoría (84% y 68%, respectivamente)

asintomáticos. Ambos grupos no mostraron una diferencia significativa en la duración de la positividad de la PCR. Ningún participante en ninguno de los grupos necesitó atención hospitalaria. Aunque nuestros hallazgos se limitan a adultos jóvenes sanos, el estudio de esta población tiene la ventaja de reducir los factores de confusión de la edad y las enfermedades comórbidas. La infección en participantes seropositivos se asoció con títulos más bajos de IgG de SARS-CoV-2 y niveles más bajos o nulos de actividad de anticuerpos neutralizantes. Los adultos jóvenes tienen altas tasas de infección asintomática y pauci-sintomática, que se ha asociado con niveles más bajos de anticuerpos y potencialmente una respuesta de memoria inmune menos robusta. Esto podría conducir a tasas generales de reinfección más altas entre esta población que en otras poblaciones. No examinamos el papel de la inmunidad mediada por células o del huésped, el medio ambiente y los factores virales que conducen a la reinfección. Dado que la población del estudio es una representación bastante precisa de las razas y etnias en la población de EE. UU. Entre los jóvenes de 18 a 20 años, los resultados son más aplicables a los hombres adultos jóvenes. El riesgo relativo de infección puede ser diferente en mujeres seropositivas y en adultos de otras edades o estado de salud, que pueden diferir en las respuestas inmunológicas a la infección por SARS-CoV-2.³² En particular, un estudio de la infección posterior por SARS-CoV-2 en trabajadores de la salud británicos seropositivos en comparación con seronegativos encontró una razón de probabilidades ajustada casi idéntica de reinfección (0 · 17 [IC del 95%: 0 · 13–0 · 24]) a esa informado en reclutas marinos. La coincidencia de estos estudios sugiere que el riesgo de reinfección podría ser similar para los adultos jóvenes y la población en general. Otras limitaciones de nuestro estudio incluyen no poder investigar el evento de exposición durante la infección inicial de un participante seropositivo antes de llegar a la cuarentena, la ausencia de información sobre los síntomas y la gravedad del primer episodio, la incapacidad para confirmar la infección inicial por SARS-CoV-2. por PCR en el grupo seropositivo, y las infecciones detectables potencialmente pérdidas que ocurrieron entre muestreos cada 2 semanas. Un total del 18% de los participantes del estudio (15% de los participantes seropositivos en la línea de base y 19% de los participantes seronegativos en la línea de base) que comenzaron el entrenamiento básico en MCRDPI no informaron para el seguimiento 2 semanas después ([figura 1](#)). Esta no es una pérdida habitual durante el seguimiento dentro de un estudio, sino más bien una combinación de personas que abandonan el estudio, que se transfieren de la base por

razones médicas o que se separan del USMC. Los investigadores desconocen la razón por la que algún recluta no regresó para el seguimiento.

Es probable que nuestra investigación subestime el riesgo de infección por SARS-CoV-2 en individuos previamente infectados porque el grupo seronegativo incluía un número desconocido de participantes previamente infectados que no tenían títulos de IgG significativos en su muestra de suero basal. A pesar de esta subestimación, encontramos que los participantes previamente infectados identificados por seropositividad son susceptibles a la repetición de la infección, con casi una quinta parte de la tasa de incidencia de aquellos sin evidencia de infección previa. Esto sugiere que la vacuna COVID-19 podría ser necesaria para el control de la pandemia en adultos jóvenes previamente infectados.