

ARTÍCULO ORIGINAL

Niveles de anticuerpos IgG contra proteína espiga del virus SARS-CoV-2 por quimioluminiscencia en pacientes vacunados

Levels of IgG antibodies against spike protein of the SARS-CoV-2 virus by chemiluminescence in vaccinated patients

Munive-Lima María del Rocío,* Akle-Fierro David,‡
Mendoza-Franco Hortensia Mayela,§ Akle-Cantú David¶

Palabras clave:
COVID-19, SARS-CoV-2, vacunas, anticuerpos, RNA vacunas.

Keywords:
COVID-19, SARS-CoV-2, vaccines, antibodies, RNA vaccines.

* Director Médico Olarte y Akle Bacteriólogos.
‡ Consejero Olarte y Akle Bacteriólogos.
§ Supervisor del Departamento de Biología Molecular «José Akle Delgadillo» Olarte y Akle Bacteriólogos.
¶ Consejero del Departamento de Biología Molecular Olarte «José Akle Delgadillo» Olarte y Akle Bacteriólogos.

Estudio realizado en Laboratorio Olarte y Akle Bacteriólogos.



RESUMEN

Introducción: una forma de determinar la respuesta a la vacuna contra el SARS-CoV-2 es mediante la cuantificación de los anticuerpos IgG contra la proteína espiga del virus (IgGS). **Objetivos:** determinar si el nivel de anticuerpos generados cambiaba con el tipo de vacuna administrada. **Material y métodos:** se realizó un estudio de tipo descriptivo, transversal y prospectivo, con los pacientes que acudieron al laboratorio, durante el periodo del 1 de agosto de 2021 al 31 de diciembre de 2021, a los que se les haya solicitado el estudio de IgGS por quimioluminiscencia, como parte de su batería de pruebas, además de contar con su esquema completo de vacunación al momento de realizar el estudio. **Resultados:** muestran que en nuestra población predominó la aplicación de vacunas con plataformas de ARNm. El porcentaje de resultados positivos obtenido de manera general fue de 93.7%, la mayor proporción de positivos se encontró con las vacunas Moderna 99.4% (n = 165), Sputnik 96.6% (n = 28) y Pfizer 94.9%. **Conclusiones:** los títulos encontrados no se pueden correlacionar con la eficacia de la vacuna, ya que hace falta analizar otro tipo de variables que pueden interferir en la misma.

ABSTRACT

Introduction: one way to determine the response to the SARS-Cov-2 vaccine can be done by quantifying IgG antibodies against the Spike protein of the virus (IgGS). **Objectives:** the objective of the study was to determine if the level of antibodies generated changed with the type of vaccine administered. **Material and methods:** a descriptive, cross-sectional and prospective study was carried out, with the patients who attended the laboratory, during the period from August 1, 2021 to December 31, 2021, to whom the IgGS study was requested by chemiluminescence, as part of their requested studies, in addition to having their complete vaccination schedule at the time of the study. **Results:** the results show that in our population the application of vaccines with mRNA platforms predominated. The percentage of positive results obtained in general was 93.7%, the highest proportion of positives was found with Moderna 99.4% (n = 165), Sputnik 96.6% (n = 28) and Pfizer 94.9% vaccines. **Conclusions:** the titers found cannot be correlated with the efficacy of the vaccine, since it is necessary to analyze other types of variables that can interfere with it.

INTRODUCCIÓN

La expansión del nuevo coronavirus, denominado síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2), en la población durante el año 2019 rápidamente se convirtió en una pandemia de la enfermedad COVID-19, misma que dio lugar a una respues-

ta de emergencia por parte de la comunidad científica global.¹

El virus SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae*, el cual incluye a virus ARN monocatenarios endémicos para los humanos (HCoV).¹ El ARN del coronavirus codifica cuatro categorías principales de proteínas estructurales, que incluyen membrana, envoltura,

Citar como: Munive-Lima MR, Akle-Fierro D, Mendoza-Franco HM, Akle-Cantú D. Niveles de anticuerpos IgG contra proteína espiga del virus SARS-CoV-2 por quimioluminiscencia en pacientes vacunados. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2022; 69 (1): 6-10. <https://dx.doi.org/10.35366/108002>

Correspondencia:**Dra. María del Rocío Munive**Yucatán Núm. 58,
Col. Roma, 06700,
Alcaldía Cuauhtémoc,
Ciudad de México
E-mail: munive.lima@gmail.com

Recibido: 07/10/2022

Aceptado: 10/10/2022

nucleocápside y espiga (*Spike*), que se denominan M, E, N y S, respectivamente.

Frente a la infección, el sistema inmune adaptativo genera un repertorio de anticuerpos específicos contra el virus, los cuales pueden ser de tipo IgG, IgM o IgA, y están dirigidos a diversos epítomos del virus. Dentro de los anticuerpos generados, existe una variedad denominada anticuerpos neutralizantes, los cuales tienen la capacidad de impedir que el virus infecte a la célula, dichos anticuerpos bloquean regiones del virus necesarias para la infección y cumplen un rol fundamental para frenar la propagación viral. En el caso de la infección por SARS-CoV-2, los anticuerpos neutralizantes están dirigidos principalmente contra la proteína estructural espiga, mismos que se han identificado como los de mayor capacidad neutralizante, ya que bloquean la unión del virus al receptor celular.¹⁻³

La proteína espiga tiene dos dominios o subunidades: la subunidad S1 (que contiene los dominios RBD y el N-Terminal [NTD]) y la subunidad S2 (la cual media la fusión viral de la membrana al huésped). Se ha demostrado que gran parte de los anticuerpos neutralizantes están dirigidos contra RBD, los cuales han sido el foco de vacunas y terapias.^{1,3}

La metodología ideal para poder determinar el nivel de anticuerpos neutralizantes es la de neutralización en placa (NT), la cual cobra relevancia para poder evaluar la magnitud de generación de anticuerpos y medir el nivel de protección conferido. Si bien las pruebas de neutralización proporcionan el punto de referencia reconocido, no son prácticas para la implementación a gran escala debido a los requisitos de contención de alta bioseguridad y la necesidad de personal altamente capacitado para ejecutar protocolos que requieren mucha mano de obra.²

Los ensayos serológicos automatizados cobran relevancia dada su facilidad de implementación y procesamiento, por lo que es una alternativa de aproximación a la estimación de los anticuerpos neutralizantes, los cuales tienen importantes aplicaciones tanto en el control epidemiológico como en el manejo clínico de los pacientes COVID-19.^{4,5}

Entre los ensayos serológicos automatizados disponibles encontramos el LIAISON SARS-

CoV-2 S1/S2 IgG, el cual fue diseñado para detectar anticuerpos IgG contra los sitios antígenicos S1 y S2 del virus SARS-CoV-2 y se realiza en la plataforma LIAISON XL (DiaSorin).² Las perlas magnéticas del ensayo están recubiertas con antígenos recombinantes que representan las subunidades S1 y S2 de la proteína espiga del SARS-CoV-2.⁴

La concentración de anticuerpos en suero/plasma se expresa en UA/mL, la cual es calculada automáticamente por el analizador sobre la base de la RLU y la curva de calibración.⁴

Los resultados de sensibilidad y especificidad reportados son aceptables para identificar muestras con títulos de neutralización positivos. En este caso, si se usan de manera semicuantitativa, las unidades LIAISON más altas son indicativas de títulos de ensayo de NT más altos y proporcionan una herramienta para preseleccionar grandes cantidades de muestras.²

En estudios realizados, con niveles de 40 a 80 UA/mL en este ensayo, las probabilidades de tener títulos de neutralización de $\geq 1:80$ y $\geq 1:160$ fueron 79 y 56%, mientras que con > 80 UA/mL la probabilidad de tener títulos de neutralización $\geq 1:80$ y $\geq 1:160$ aumentó a 92 y 87%, respectivamente.²

Dado el objetivo del ensayo, los anticuerpos potencialmente neutralizantes pueden ser detectados. Al respecto, algunos autores muestran que este ensayo proporcionó la detección de anticuerpos neutralizantes con 94.4% de concordancia positiva y 97.8% de concordancia negativa comparada con la prueba de neutralización de reducción de placa.⁴

El ensayo se ha propuesto como una alternativa automatizada, específica y altamente sensible para la detección de anticuerpos específicos de la proteína espiga del virus SARS-CoV-2 con potencial neutralizante para ser utilizado en estudios diagnósticos, epidemiológicos y de evaluación de vacunas. Específicamente, se prevé que la prueba se pueda usar: 1) para detectar a trabajadores de la salud infectados, población en general en recuperación y/o con exposición pasada; 2) en estudios epidemiológicos que caracterizan la demografía de la propagación viral y la eficacia de medidas de contención dirigidas al SARS-CoV-2 a nivel local, nacional e internacional; 3) para examinar sueros en fase convaleciente para uso tanto

terapéutico como profiláctico; y 4) para evaluar la eficacia de la vacuna en estudios clínicos.²

A este respecto, las vacunas jugaron un papel fundamental para la contención de la enfermedad COVID-19 y sirvieron para disminuir el impacto de enfermedad grave entre la población. Desde su aparición y al momento de redactar este artículo, se han aplicado más de 12.4 billones de dosis a nivel mundial y el avance de vacunación global supera ya a 67.2% de la población, que ha recibido al menos una dosis.⁶

Las vacunas se consideran un producto biológico desarrollado para inducir de forma segura una respuesta inmunitaria que protegerá contra infecciones y enfermedades tras la exposición posterior a un patógeno. Un aspecto fundamental es que las vacunas tienen como objetivo la inmunidad colectiva.⁷

El número actual de vacunas contra el SARS-CoV-2 se puede reducir a tres categorías. Las vacunas de primera generación (FGV), que emplean todo el microorganismo patógeno como virus y bacterias, para evitar la posibilidad de infección, el virus se ve atenuado o debilitado al crecer en un tipo diferente. Las vacunas de segunda generación (SGV), o vacunas recombinantes, utilizan la biología molecular para incorporar segmentos o subunidades de proteínas *SubUnit Vaccines* (SUV), o proteínas virales enteras extraídas del patógeno, las cuales carecen de material genético en su interior, lo que impide la replicación, como partículas similares a virus (VLP). Alternativamente, las vacunas de tercera generación (TGV) o vacunas genéticas, están basadas en material genético ADN o ARN y son la primera línea para desarrollar la vacuna COVID-19. En lugar de producir proteínas virales o virus a gran escala en condiciones de laboratorio, esta plataforma inyecta plásmidos directamente en el receptor, al codificar la proteína viral objetivo (*Spike*) que es la responsable de la entrada celular en el caso de SARS-CoV-2 con la finalidad de brindar las instrucciones a la célula para elaborar la proteína, lo que produce el antígeno *in vivo* y que provoca una respuesta inmunitaria.⁷

Durante los tiempos previos a la pandemia, el diseño de una nueva vacuna tomaría entre 12 y 18 meses, incluidas las pruebas clínicas y el consentimiento regulatorio, pero crear una vacuna para prevenir el COVID-19 se ha convertido en una carrera global entre los científicos y el virus. El rápido progreso en la fabricación de vacunas se ha facilitado en un tiempo récord mediante la identificación del genoma, la información estructural del SARS-CoV-2, los avances fundamentales en el mapeo de epítomos y la bioinformática, mismos que han ampliado el conocimiento más allá del diseño tradicional de vacunas.⁷ Muchas de estas nuevas plataformas no se han utilizado ampliamente,

pero se han demostrado pruebas de eficacia para algunas de ellas. Actualmente sigue siendo desconocido cuál es el título mínimo de anticuerpos neutralizantes que pueden proveer protección efectiva contra el virus SARS-CoV-2. Se considera que, a mayor cantidad de anticuerpos neutralizantes inducidos por la vacuna, mayor será el efecto protector que puede conferir. Esto es consistente con la observación de que en la mayoría de los casos de reinfección de COVID-19 que sólo experimentaron síntomas moderados o nulos durante su primera infección, no fue suficiente la estimulación inmunológica para inducir anticuerpos neutralizantes. Por lo tanto, es de gran importancia que más estudios caractericen la correlación entre el anticuerpo neutralizante y el efecto protector para guiar el desarrollo de las vacunas.⁸

Dado que los anticuerpos específicos de antígeno son símbolos de la inmunidad inducida por la vacuna y ante las diferentes opciones de vacunación en nuestro país, la estimación de los anticuerpos neutralizantes séricos proporcionará información importante sobre la eficacia de la vacuna en la seroconversión y el estado de inmunización de la comunidad en general. Hace falta conocer en la población el nivel de generación de anticuerpos postvacunación como parte del monitoreo epidemiológico para la toma de decisiones.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se pretende comparar los niveles de generación de anticuerpos tipo IgG contra proteína espiga del virus SARS-CoV-2 por metodología de quimioluminiscencia, según el tipo de vacuna administrada; para ello se realizó un estudio de tipo descriptivo, transversal y prospectivo, con los pacientes que acudieron al Laboratorio Olarte y Akle, durante el periodo del 1 de agosto de 2021 al 31 de diciembre de 2021, a los que se les haya solicitado estudio de determinación de anticuerpo anti-*Spike* IgG como parte de su batería de estudios para monitorear respuesta a la vacunación, además debían contar con su esquema completo de vacunación al momento de realizar el estudio y aceptar el uso de sus datos mediante consentimiento informado.

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron categorizados según el género, la edad, tipo de vacuna administrada y los resultados de la determinación de los anticuerpos. Con el fin de realizar el estudio se tomaron muestras sanguíneas para la obtención de suero y éstas se procesaron en el equipo automatizado LIAISON® SARS-CoV2 S1/S2 IgG CLIA (DiaSorin), el cual emplea la metodología de quimioluminiscencia y tiene una linealidad de 0 a 400 UA/mL, se tomaron los valores de

referencia dados por el proveedor, considerando valores 15 UA/mL como positivo. Los resultados positivos a su vez se categorizaron según la asociación a probabilidad de títulos de neutralización considerando rangos de 40-80 UA/mL y > 80 UA/mL.

La información se recabo en el sistema informático de laboratorio y se utilizó la plataforma Excel para llevar a cabo el análisis.

RESULTADOS

El total de pacientes analizados que contaban con información completa fue de 825, se descartaron 316 por no contar con los criterios de inclusión al estudio. El tipo de vacuna que refirieron los pacientes al momento de realizar el estudio de monitoreo de niveles de anticuerpos IgG contra proteína espiga del SARS-CoV-2 fueron los siguientes: Pfizer (n = 413, 50.1%), Moderna (n = 166, 20.1%), AstraZeneca (n = 94, 11.4%), Johnson & Johnson (n = 53, 6.4%), Sinovac (n = 41, 5%), Sputnik (n = 29, 3.5%) y Cansino (n = 29, 3.5%). Como se puede observar, predominan las vacunas con tecnología de ARNm (Pfizer más Moderna) con 579 pacientes (70.2%). Le siguen la tecnología de vector viral replicante (AstraZeneca, Johnson & Johnson, Sputnik, Cansino) con un total de 205 pacientes (24.8%) y la vacuna de virus inactivados con 41 (5%).

Como se puede apreciar en la *Figura 1*, predominan pacientes del género masculino con 416 casos (50.4%), seguido del femenino con 409 (49.6%), p = 0.77 (IC 95%). En la distribución por grupos de edad, como se puede observar en la *Figura 1*, la mayor parte de la población estudiada se encontró en el grupo de pacientes mayores a 60 años, que comprende 35.3% (n = 291) de los pacientes analizados, seguido por el grupo de edad de 40-49 años con 21.8% (n = 180).

En cuanto a la distribución de niveles de anticuerpos IgG, para el análisis se agruparon los resultados tomando

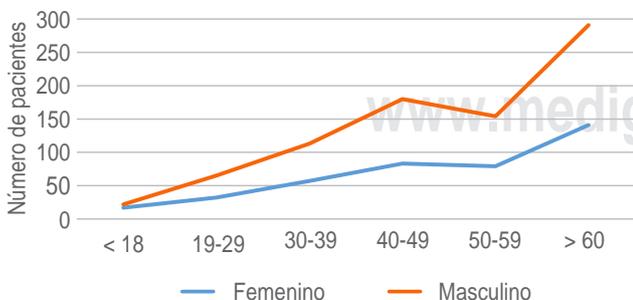


Figura 1: Distribución de pacientes por género y grupo de edad.

Vacuna	Positividad %	Total
AstraZeneca	92.6	94
Pfizer	94.9	413
Cansino	82.8	29
Sputnik	96.6	29
Moderna	99.4	166
Sinovac	73.2	41
Johnson & Johnson	88.7	53
Total		825

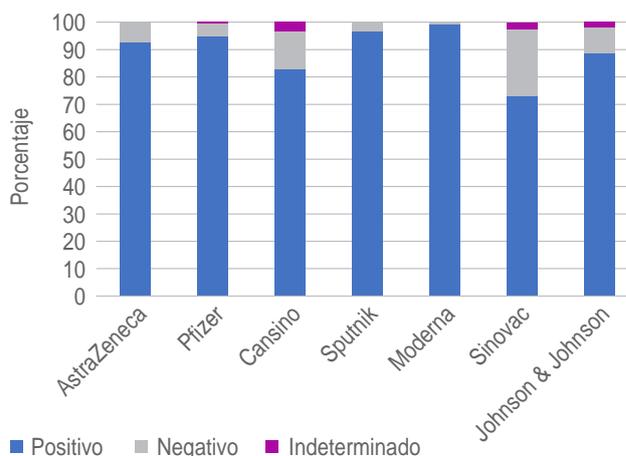


Figura 2: Distribución por resultado y tipo de vacuna administrada, los rangos de referencia se tomaron como indica el proveedor considerando un resultado negativo menor a 12 UA/mL, indeterminado 12 a 15 UA/mL y positivo mayor a 15 UA/mL.

como referencia los rangos definidos por el proveedor (negativo menor a 12 UA/mL, indeterminado entre 12 y 15 UA/mL y positivo mayor a 15 UA/mL) (*Figura 2*). El porcentaje de resultados positivos, obtenido de manera general, fue de 93.7% (n = 773), negativos 5.7% (n = 47) e indeterminados 0.6% (n = 5). Como se puede observar en la *Tabla 1*, la mayor proporción de resultados positivos se encontró en los pacientes que recibieron la vacuna Moderna con 99.4% (n = 166), seguido de la vacuna Sputnik con 96.6% (n = 29) y Pfizer con 94.9% (n = 413). La conclusión de la categorización de los resultados positivos se puede observar en la *Figura 3*, los cuales se categorizaron según la asociación a probabilidad de títulos de neutralización, al considerar rangos de 40-80 UA/mL y >80 UA/mL. Se encontraron concentraciones

> 80 UA/mL con mayor proporción en las vacunas de Moderna y Pfizer.

DISCUSIÓN

En la distribución de vacunas por tipo predominan vacunas con tecnología de ARNm con una población analizada de 579 pacientes (Pfizer más Moderna), que equivalen a 70.2% de la muestra; le siguen la tecnología de vector viral replicante (AstraZeneca, Johnson & Johnson, Sputnik y Cansino) con un total de 205 pacientes (24.8%) y la vacuna de virus inactivados con 41 (5%). En cuanto a la distribución de la población, no encontramos diferencia estadísticamente significativa entre pacientes masculinos y femeninos, por lo que la población analizada cubre ambos géneros de manera equitativa. En cuanto a la edad, se encontraron pacientes ubicados entre rangos de edad mayores a 60 años y entre los 40-49 años. El porcentaje de resultados positivos obtenido de manera general para todas las vacunas fue de 93.7%, con esto podemos concluir que las vacunas generan una respuesta humoral medible a través de los anticuerpos IgG anti-espiga, que pueden ser determinados en plataformas automatizadas. Los resultados positivos se obtuvieron en mayor proporción en vacunas como Moderna (99.4%), Sputnik (96.6%) y Pfizer (94.9%). De éstos, los títulos positivos mayores a 80 UA/mL se encontraron en vacunas de Moderna y Pfizer que comparten la tecnología de ARNm. El presente estudio nos permitió conocer el nivel de generación de anticuerpos por tipo de vacuna, para darnos una idea de lo que se puede alcanzar dependiendo de la tecnología. Debido a que los niveles de anticuerpos no se pueden correlacionar

con la eficacia de la vacuna, no podemos hacer inferencias de qué plataforma es mejor que otra, ya que sólo vemos una parte de la inmunidad que se genera sin asumir otras variables que pueden interferir con la eficacia. Debido a que la muestra es pequeña para analizar y es dirigida a una población muy específica, el estudio se ve limitado para poder hacer inferencias de otras plataformas diferentes al ARNm; ya que se tendría que contar con una «n» mayor, así como hacer estudios multicéntricos que repliquen estos resultados en otros laboratorios.

CONCLUSIÓN

En general, nuestro análisis respalda la mayor parte de la literatura disponible sobre la alta tasa de seroconversión después de la administración de la vacuna COVID-19. Los ensayos clínicos y las primeras investigaciones también han demostrado una buena eficacia de la vacuna con suficiente producción de anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, muchos estudios han informado una disminución del título de anticuerpos con el tiempo y su importancia en la seroprotección necesita una evaluación adicional.

REFERENCIAS

1. Roltgen K, Boyd SD. Antibody and B cell responses to SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Host Microbe*. 2021; 29 (7): 1063-1075.
2. Bonelli F, Sarasini A, Zierold C, Calleri M, Bonetti A, Vismara C et al. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies S1/S2-neutralizing IgG in COVID-19 patients semiquantitatively. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (9): e01224-01220.
3. Piccoli L, Park YJ, Tortorici MA, Czudnochowski N, Walls AC, Beltramello M et al. Mapping neutralizing and immunodominant sites on the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain by structure-guided high-resolution serology. *Cell*. 2020; 183 (4): 1024-1042.e21.
4. Chiereghin A, Zagari RM, Galli S, Moroni A, Gabrielli L, Venturoli S et al. Recent Advances in the Evaluation of Serological Assays for the Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection and COVID-19. *Front Public Health*. 2021; 8: 620222.
5. Mishra SK, Pradhan SK, Pati S, Panda BK, Bhattacharya D, Sahu SK et al. Anti-SARS-CoV-2 antibodies among vaccinated healthcare workers: repeated cross-sectional study. *J Family Med Prim Care*. 2022; 11 (5): 1883-1889.
6. Ritchie H, Mathieu E, Rodés-Guirao L, Appel C, Giattino C, Ortiz-Ospina E et al. Coronavirus pandemic (COVID-19). (2020). Available in: Data. https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=OWID_WRL
7. Acosta-Coley I, Cervantes-Ceballos L, Tejeda-Benítez L, Sierra-Márquez L, Cabarcas-Montalvo M, García-Espiñeira M et al. Vaccines platforms and COVID-19: what you need to know. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*. 2022; 8 (1): 1-19.
8. Li YD, Chi WY, Su JH, Ferrall L, Hung CF, Wu TC. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. *J Biomed Sci*. 2020; 27 (1): 1-23.

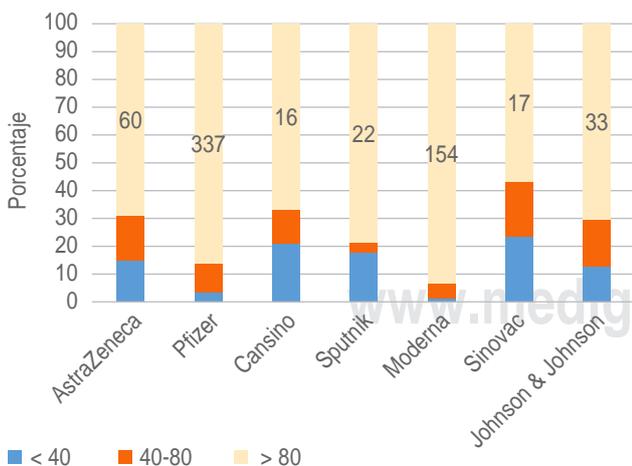


Figura 3: Distribución de resultados positivos por concentración, éstos se clasificaron según el tipo de vacuna administrada.