

ARTÍCULO ORIGINAL

Análisis cuantitativo de anticuerpos antispikes contra el SARS-CoV-2 en pacientes vacunados y no vacunados

Quantitative analysis of anti-Spike antibodies against SARS-CoV-2 in vaccinated and non-vaccinated patients.

Peverini, Agustina^{1*}; González, Sabrina¹; Juan, Lara¹; Maciel Ferradás, María Cecilia¹; Aranda, Claudio¹; González, Fernanda¹

¹Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires, TCba Laboratorio. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Peverini, Agustina. Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires, TCba Laboratorio, Salguero 560 2do piso, C1177AEJ; agustinapeverini@gmail.com

Resumen

Introducción: A finales del 2020, comenzó la campaña de vacunación contra el virus SARS-CoV-2. Las primeras vacunas aplicadas fueron Sputnik V, AstraZeneca y Sinopharm, con una eficacia de 97,6 %, 66,7 % y 79,3 %, respectivamente. **Objetivos:** Determinar y comparar las concentraciones de anticuerpos totales *antispikes* en pacientes no vacunados y vacunados con primera y segunda dosis, infectados y no infectados. **Materiales y métodos:** Se analizaron muestras de pacientes que concurren al laboratorio durante el 2021. Se clasificaron en grupos según las dosis, el tipo de vacuna recibida y el estado de infección. **Resultados:** Las medianas de anticuerpos de los no vacunados y vacunados con una sola dosis resultaron las siguientes: 250,0 U/ml para vacunados infectados; 90,6 U/ml para vacunados no infectados; 51,9 U/ml para no vacunados infectados y 0,4 U/ml para no vacunados no infectados. Todos los pacientes vacunados con primeras dosis, infectados alcanzaron una concentración de 250,0 U/ml. Los no infectados presentaron diferencias según el tipo de vacuna recibida [Sputnik V (114,2 U/ml), AstraZeneca (35,4 U/ml), Sinopharm (16,6 U/ml)]. Todos los subgrupos con dos dosis alcanzaron una concentración de 250,0 U/ml, excepto aquellos no infectados vacunados con Sinopharm/Sinopharm (113,4 U/ml). **Conclusión:** Los pacientes vacunados, COVID-19 positivo presentaron mayor concentración de anticuerpos que los no infectados. Aquellos con una sola dosis, no infectados evidenciaron diferencias en la concentración, dependiendo de la vacuna recibida. Los pacientes vacunados con dos dosis, independientemente del estado de infección y del esquema aplicado, alcanzaron la máxima concentración, excepto aquellos que habían recibido Sinopharm/Sinopharm.

Palabras clave: virus SARS-CoV-2, vacunas, concentración de anticuerpos *antispikes*, infectados, no infectados.

Abstract

Introduction: The vaccination campaign against the SARS-CoV-2 virus began at the end of 2020. The first vaccines applied were Sputnik V, AstraZeneca and Sinopharm, with efficacies of 97.6 %, 66.7 % and 79.3 % respectively. **Objectives:** We performed a comparison of total anti-spike antibody concentrations in unvaccinated people and people vaccinated with the first dose and second dose, in both infected and uninfected patients. **Materials and methods:** A total of 1567 samples from patients who attended our laboratory (Laboratorio de Análisis Clínicos Buenos Aires, Argentina) during 2021 were analyzed. Patients were classified into groups according to the dose, type of vaccine received and infection status. **Results:** The median antibodies of the unvaccinated patients and those vaccinated with a single dose were: 250.0 U/ml Vaccinated Infected, 90.6 U/ml Vaccinated Not Infected, 51.9 U/ml Not Vaccinated Infected and 0.4 U/ml Not Vaccinated Not Infected. All patients vaccinated with the first dose and infected reached a concentration of 250.0 U/ml. Those not infected presented differences according to the type of vaccine received [Sputnik V (114.2 U/ml), AstraZeneca (35.4 U/ml), Sinopharm (16.6 U/ml)]. The subgroups with two doses reached a concentration of 250.0 U/ml, except those uninfected vaccinated with Sinopharm/Sinopharm (113.4 U/ml). **Conclusion:** All SARS-CoV-2-infected patients receiving any vaccine showed higher anti-spike antibody levels than the vaccinated uninfected group. Patients immunized with a single dose who did not develop the infection presented significant differences in the concentration of antibodies depending on the vaccine administered. In contrast, the whole population who completed the two-dose schedule, regardless of the infection status and the scheme applied, reached the maximum concentration of antibodies except with the Sinopharm/Sinopharm combination.

Key words: SARS-CoV-2 virus, vaccines, concentration of anti-Spike antibodies, infected, uninfected.

Introducción

A fines de diciembre de 2019, en la ciudad de Wuhan, en China, fue detectado un alto número de cuadros de “neumonía de causa desconocida”. Con el aumento exponencial de los mismos y su distribución a otras regiones, el 11 de febrero de 2020 la Organización Mundial de la Salud designa dicha afección como *Enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19)* y comienza a considerarla como pandemia.

El agente causal de la COVID-19 es el virus del SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*, por comparación con su antecesor, SARS-CoV) con el que la mayoría de las personas infectadas experimenta una enfermedad respiratoria leve a moderada y se recupera sin necesidad de un tratamiento especial. Sin embargo, existen formas graves que requieren de atención médica inmediata e incluso internación, a las que son más susceptibles las personas mayores y aquellas con afecciones médicas subyacentes como enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades respiratorias crónicas o cáncer. Los síntomas más frecuentes incluyen fiebre, tos, cansancio, pérdida del gusto u olfato, dolor de garganta, dolor de cabeza, diarrea y ojos rojos o irritados. En los cuadros clínicos más graves, se suma la dificultad para respirar o falta de aire, neumonía, pérdida del habla o movilidad, confusión y dolor de pecho.¹

Desde el inicio de la pandemia a la actualidad, se ha avanzado en el conocimiento sobre las características del virus, su comportamiento, evolución y manejo clínico de la infección. Si bien se encuentran en desarrollo medicamentos específicos para el tratamiento de la enfermedad, e incluso algunos han sido recientemente aprobados en ciertos países, la solución efectiva basada en la evidencia por comparación con otras enfermedades es la vacunación a través de la cual no solo se reduce el número de contagios, sino también se disminuyen significativamente la morbilidad y la mortalidad.

Argentina dio inicio a la Campaña Nacional de Vacunación contra la COVID-19 el 29 de diciembre de 2020. El propósito de la misma fue vacunar al 100 % de la población objetivo en forma escalonada y progresiva, de acuerdo con la disponibilidad de vacunas y la priorización de riesgo para disminuir la morbimortalidad y el impacto socioeconómico ocasionados por el SARS-CoV-2 en el país. La definición de la población objetivo a vacunar se ha considerado en un marco bioético, adoptando criterios basados en el riesgo de desarrollar una enfermedad grave y/o complicaciones por COVID-19 y la probabilidad de mayor exposición no evitable al virus como estrategia para incidir en la cadena de transmisión.²

Las primeras vacunas en administrarse fueron Sputnik V (Sp), AstraZeneca (Az) y Sinopharm (Sn). Con el tiempo, se fueron incorporando el resto de las vacunas actualmente disponibles [Moderna (Md), CanSino, Pfizer-BioNTech]. Luego de tres meses de iniciada la campaña de vacunación, se continuó con la aplicación de una segunda dosis. La eficacia reportada con ambas dosis fue de 97,6 % [Sp], 66,7 % [Az] y 79,3 % [Sn].

Alternativamente, el Ministerio de Salud admitió el uso de esquemas vacunales con las combinaciones Sp/Az, Sp/Md, Az/Md, teniendo en cuenta estudios sobre inmunogenicidad y seguridad de los esquemas heterólogos de vacunación contra COVID-19.³

Los objetivos de este estudio son: [a] determinar y comparar la concentración de anticuerpos totales *antispikes* [Ac] en pacientes ambulatorios vacunados con primera dosis y no infectados (VNI), vacunados con primera dosis e infectados (VI), no vacunados no infectados (NVNI) y no vacunados infectados (NVI); [b] evaluar la diferencia de Ac en pacientes ambulatorios infectados y no infectados que recibieron dos dosis.

Materiales y métodos

Se analizaron muestras individuales de suero de pacientes que concurren al Laboratorio de análisis clínicos Buenos Aires (LACba) en los períodos abril - junio (no vacunados y vacunados con una sola dosis) y octubre - diciembre (vacunados con dos dosis) del año 2021.

En el momento de la admisión, los pacientes completaron un cuestionario con antecedentes de contacto estrecho, síntomas relacionados con COVID-19, resultado de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o test de antígeno, tipo de vacuna recibida, número de dosis y fechas en las que fueron administradas.

Se confeccionó una base de datos y se los clasificó según estado de infección y vacunación (cantidad de dosis, tipo de vacuna y esquema recibido).

Cabe destacar que los pacientes seleccionados concurren al laboratorio luego de 21 días de la vacunación, ya fuera de la primera o de la segunda dosis. Además, se descartaron pacientes que recibieron una dosis de CanSino, Johnson & Johnson, Pfizer-BioNTech, CureVac y Sinovac, ya que no eran poblaciones representativas.

La cuantificación de anticuerpos de los distintos grupos y subgrupos se realizó por electroquimioluminiscencia (Cobas E600 Roche). El valor de corte utilizado fue de 0,8 U/ml y el intervalo de cuantificación empleado, 0,8 - 250,0 U/ml, ambos indicados por el fabricante. Se realizó un análisis estadístico mediante el *software GraphPad Prism 8.0.2*, basado en las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Kruskal-Wallis.

Se compararon los niveles de Ac determinados en VNI, VI, NVNI y NVI. Luego, la comparación de medianas de Ac se realizó en los subgrupos obtenidos según tipo y dosis de vacunas. Se calcularon las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los distintos grupos y subgrupos, ya que no presentaban distribución normal por la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Los autores declaramos que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni animales y hemos seguido los protocolos de nuestro centro de trabajo sobre la publicación y confidencialidad de los datos de pacientes.

Tabla I. Subclasificación de los grupos VNI y VI según vacuna recibida.

Vacuna	Dosis	VNI	VI
AstraZeneca	1	Az - (n=42)	Az + (n=16)
Sinopharm	1	Sn - (n=97)	Sn + (n=28)
Sputnik V	1	Sp - (n=236)	Sp + (n=66)

► VNI, vacunados no infectados; VI, vacunados infectados; Az-, AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az+, AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn-, Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn+, Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp-, Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp+, Sputnik V, COVID-19 positivo.

Resultados

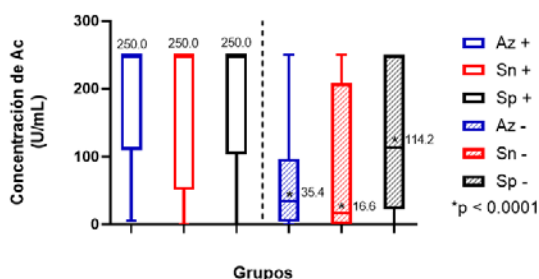
De las 1567 muestras totales analizadas, 848 pertenecían a pacientes no vacunados, 572, a vacunados con una sola dosis y 147, a pacientes vacunados con dos dosis. Las mismas se clasificaron en los grupos VNI (n: 450), VI (n: 122), NVNI (n: 304) y NVI (n: 544). Los grupos VNI y VI fueron subclasificados según el tipo de vacunas recibidas [Tabla I]. Además, se clasificaron los pacientes que recibieron dos dosis según el esquema recibido y el estado de infección [Tabla II].

Las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los grupos VNI, VI, NVNI y NVI resultaron significativamente ($p<0,0001$) distintas, según Kruskal-Wallis [Tabla III].

Las medianas de Ac para los subgrupos definidos según vacuna recibida y estado de infección fueron significativamente ($p<0,0001$) diferentes para Az-, Sn-, Sp-; mientras que para Az+, Sn+, Sp+ no presentaron diferencias significativas [Figura 1].

De las medianas de las concentraciones de anticuerpos de los grupos Az Az -, Sn Sn -, Sp Sp -, Sp Md -, Az Az +, Sn Sn +, Sp Sp+, Sp Md +, solo resultó significativamente inferior ($p<0,001$) el valor determinado para Sn Sn - respecto de los otros grupos COVID-19 negativos [Az Az -, Sp Sp -, Sp Md -] [Figura 2].

Figura 1. Niveles de anticuerpos (medianas) en los subgrupos definidos según vacuna recibida e infección.



► Az-, AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az+, AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn-, Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn+, Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp-, Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp+, Sputnik V, COVID-19 positivo; Ac, anticuerpos antispike; * $p<0,0001$.

Tabla II. Grupos de pacientes vacunados con dos dosis según el esquema recibido.

Vacuna	Dosis	No infectados	Infectados
AstraZeneca	2	Az Az - (n=36)	Az Az + (n=10)
Sinopharm	2	Sn Sn - (n=12)	Sn Sn + (n=10)
Sputnik V	2	Sp Sp - (n=39)	Sp Sp + (n=13)
Sputnik V	1	Sp Md - (n=17)	Sp Md + (n=10)
Moderna	2		

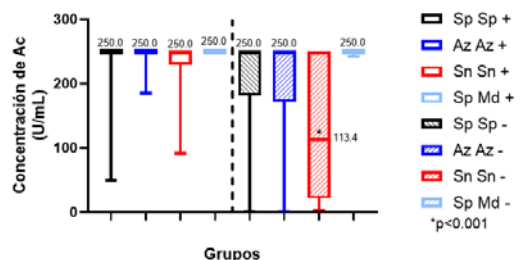
► Az Az-, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az Az+, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn Sn-, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn Sn+, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp Sp-, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp Sp+, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 positivo; Sp Md-, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 negativo; Sp Md+: Una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 positivo.

Discusión

La pandemia de COVID-19 llevó a un aumento y a una aceleración en la velocidad de desarrollos científicos que puedan servir como herramienta para reducir su impacto, con la atención centrada en las vacunas, los medicamentos específicos y los métodos de laboratorio tanto para la detección de SARS-CoV-2 como para la medición de la respuesta inmune generada.

La respuesta humoral a la infección por SARS-CoV-2 comienza a evidenciarse entre 1 y 3 semanas posteriores al inicio de los síntomas. En personas con infección moderada y severa, se cree que se alcanza una respuesta inmune humoral más robusta, con altos títulos y persistencia. En pacientes leves o asintomáticos, los niveles de Ac circulantes son frecuentemente bajos e incluso puede no detectarse la presencia de anticuerpos con posterioridad a la infección. En general, luego del reconocimiento antigénico de los componentes virales, ambas inmunoglobulinas (IgM e IgG) aumentan casi simultáneamente.

Figura 2. Medianas de la concentración de anticuerpos en los diferentes subgrupos.



► Az Az-, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 negativo; Az Az+, dos dosis de AstraZeneca, COVID-19 positivo; Sn Sn-, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 negativo; Sn Sn+, dos dosis de Sinopharm, COVID-19 positivo; Sp Sp-, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 negativo; Sp Sp+, dos dosis de Sputnik V, COVID-19 positivo; Sp Md-, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 negativo; Sp Md+, una dosis de Sputnik V y una dosis de Moderna, COVID-19 positivo; Ac, anticuerpos antispike; * $p<0,001$.

Tabla III. Medianas de las concentraciones de anticuerpos.

	VNI (n:450)	VI (n:122)	NVNI (n:304)	NVI (n:544)
Anticuerpos [U/ml] (percentilos 2,5-97,5%)	90,6* (10,3 - 250,0)	250,0* (100,6 - 250,0)	0,4* (0,4 - 45,6)	51,9* (7,66 - 169,2)

► *p<0,0001; VNI, vacunados no infectados; VI, vacunados infectados; NVNI, no vacunados no infectados; NVI, no vacunados infectados.

te; IgM decae más rápidamente, en promedio, luego de las tres primeras semanas; IgG alcanza su punto máximo entre las 3 y 7 semanas después del inicio de los síntomas y se mantiene por al menos 8 semanas.⁴

El tiempo de persistencia de los anticuerpos generados en respuesta al SARS-CoV-2 sigue siendo objeto de estudio y puede variar según el método utilizado para su detección y cuantificación. Algunos autores indican que sería de por lo menos 6 a 8 meses con posterioridad a la infección mientras que otros reportan que entre el 5 y 10% de las personas no desarrollan niveles de IgG detectables luego de haber cursado la enfermedad.^{5,6} Además, diversos estudios señalan que las personas vacunadas producen anticuerpos con una cinética similar a la alcanzada en la infección natural por el virus.⁷ Es por ello que aquí hemos seleccionado solo a aquellos pacientes que fueron vacunados al menos 21 días antes de la toma de muestra tanto para la primera como para la segunda dosis.

Luego de la infección, se desarrollan anticuerpos dirigidos principalmente contra la proteína de la nucleocápside (N) y la proteína *spike* (S) del virus SARS-CoV-2. Ambas estimulan una respuesta humoral temprana.

Actualmente, se considera que se alcanza una protección efectiva contra la COVID-19 cuando se logra generar una potente respuesta inmune dirigida a la proteína viral S. Si bien el estudio de neutralización es el indicado para evidenciar su efecto sobre la replicación viral, los anticuerpos dirigidos contra la proteína S suelen denominarse comúnmente *anticuerpos neutralizantes*, ya que su unión al RBD (*receptor binding domain*) en la proteína *spike* bloquearía el acoplamiento del virus con el receptor celular y, por lo tanto, sería capaz de neutralizar la infectividad viral.⁸

Por lo mencionado anteriormente, el método que utilizamos para la cuantificación de los anticuerpos es un inmunoensayo que permite la detección selectiva de anticuerpos totales contra la proteína *spike* del SARS-CoV-2 (Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S, Roche). El mismo reporta una especificidad del 99,98 % y una sensibilidad de 98,30 % a los 21 días del hisopado positivo, que asciende a 100 % al día 28.⁹

Analizando los resultados obtenidos, pudimos observar que aquellos pacientes inmunizados con una dosis y que no cursaron la infección, presentaron diferencias significativas en la concentración de anticuerpos en función de la vacuna recibida: mayor para la vacuna Sputnik V, seguida por AstraZeneca y, por último, Sinopharm.

Por otra parte, se verifica que la totalidad de los pacientes vacunados con una sola dosis que cursan infección por SARS-

CoV-2 presenta mayores concentraciones de anticuerpos respecto de los no infectados. Esto mismo fue evidenciado en el trabajo de Rajat Ujjainia y col¹⁰, quienes evaluaron el porcentaje de anticuerpos neutralizantes en pacientes seropositivos y seronegativos de COVID-19, vacunados y no vacunados con AstraZeneca, a lo largo del tiempo. Además, describieron que los pacientes previamente infectados alcanzaron el máximo título de anticuerpos a la cuarta semana luego de la primera dosis, mientras que los pacientes que no padecieron la enfermedad alcanzaron la máxima respuesta a los 28 días después de la segunda dosis. En nuestro caso, todos los pacientes con segunda dosis, independientemente del estado de infección, alcanzaron la máxima concentración de anticuerpos capaz de ser detectada por el método utilizado, excepto aquellos no infectados inmunizados con dos dosis de Sinopharm.

Se concluye que todos los pacientes vacunados que cursaron la infección por SARS-CoV-2 presentaron una mayor concentración de anticuerpos *antispike* que los que no la cursaron. Aquellos pacientes inmunizados con una sola dosis que no cursaron la infección presentaron diferencias significativas en la concentración de anticuerpos, dependiendo de la vacuna recibida. En cambio, todos los pacientes vacunados con dos dosis, independientemente del estado de infección y del esquema aplicado, alcanzaron la máxima concentración de anticuerpos, excepto con el esquema Sinopharm/Sinopharm. Destacamos la importancia de cumplir con el esquema de vacunación sugerido por los especialistas para lograr inmunogenicidad.

Conflictos de interés

Los/as autores/as declaran no tener conflictos de interés.

Referencias bibliográficas

1. Coronavirus disease (COVID-19). World Health Organization (WHO). [Internet]. [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>
2. Dosis adicional al esquema primario y dosis de refuerzo (booster). Campaña Nacional de Vacunación contra la COVID-19. [Internet]. 10 nov 2021. [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2021-11/lineamientos-tecnicos-COVID-19-booster.pdf>
3. UK Health Security Agency, COVID-19 vaccination programme Information for healthcare practitioners.
4. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV2. JAMA. 2020;323(22):2249-51.
5. Petersen LR, Sami S, Vuong N, Pathela P, Weiss D, Morgenthau BM. Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons. Clin Infect Dis. 2021;73(9):e3066-73
6. Kaufman HW, Chen Z, Meyer WA 3rd, Wohlgenuth JG. Insights from patterns of SARS-CoV-2 immunoglobulin G serology test results from

- a national clinical laboratory, United States, March-July 2020. *Popul Health Manag.* 2021;24(S1):S35-42.
7. Collier AY, Yu J, McMahan K, Liu J, Chandrashekar A, Maron JS et al. Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by Covid-19 Vaccines. *N Engl J Med.* 2021;385(21):2010-2012.
 8. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid generation of neutralizing antibody responses in COVID-19 patients. *Cell Rep Med.* 2020;23;1(3):100040.
 9. Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 S [Internet]. Diagnostics. [Consultado 5 dic 2022]. Disponible en: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/elecsys-anti-sars-cov-2-s.html>
 10. Ujjainiya R, Tyagi A, Sardana V, Naushin S, Bhatheja N, Kumar K. Effect Monitoring and Insights from Vaccination program of Healthcare Workforce from a tertiary level hospital in India against SARS-CoV-2. New Delhi. 2021;medRxiv. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019-ncov/resource/pt/ppmedrxiv-21252621>