

# Estudio piloto: análisis y detección de anticuerpos IgM e IgG específicos contra el dominio de unión al receptor de la proteína de la espiga del SARS-CoV-2

Pilot study: Analysis and detection of specific IgM and IgG antibodies against the receptor binding domain of the spike protein of SARS-CoV-2

Soriuska Mayora<sup>1,\*,\*\*</sup>, Wendy Martínez<sup>2\*</sup>, Mery Guerrero<sup>3\*</sup>, Inirida Belisario<sup>4\*</sup>, Juan Bautista De Sanctis<sup>5\*,\*\*</sup>, Alexis García<sup>6\*</sup>

## RESUMEN

*Desde el inicio de la pandemia causada por el SARS-CoV-2, se han realizado numerosos estudios sobre métodos diagnósticos específicos, rápidos y económicos que permitieran identificar a los individuos que ha sufrido la infección natural o han sido vacunados. Esto con el objetivo de poder cortar la cadena de transmisión del virus de forma eficiente. Sin embargo, se requieren de controles sanos que no hayan sido expuestos al virus u otros coronavirus para establecer el rango basal de anticuerpos neutralizantes anti-SARS-CoV-2. Por ello, se evaluaron los niveles de anticuerpos neutralizantes contra la glicoproteína de la espiga, específicamente contra el dominio de unión al receptor (RBD) del SARS-CoV-2 presentes*

*en muestras séricas de controles sanos pre-pandemia. Con el primer kit evaluado se estableció un rango de 0-2,9 ng/mL para IgM y 0-1,6 ng/mL para IgG anti-RBD, con el segundo kit, el rango establecido fue de 0-34 UI/mL para IgG anti-glicoproteína de la espiga. Posteriormente, se compararon los datos obtenidos con muestras séricas de individuos con cumplimiento del esquema completo de la vacuna Sinopharm. Adicionalmente, se correlacionaron los valores de anticuerpos obtenidos en los individuos vacunados para ambos ensayos. Se concluyó que el rango obtenido usando sueros controles pre-pandemia facilita la interpretación del reporte de valores de anticuerpos en individuos infectados o vacunados contra SARS-CoV-2.*

**Palabras clave:** Anticuerpos neutralizantes, proteína de la espiga, anticuerpos IgM, anticuerpos IgG.

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.1.10>

ORCID: 0000-0002-7194-7264<sup>1</sup>  
ORCID: 0000-0002-6598-3509<sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0002-1571-5186<sup>3</sup>  
ORCID: 0000-0002-1183-3927<sup>4</sup>  
ORCID: 0000-0002-5480-4608<sup>5</sup>  
ORCID: 0000-0002-2354-0160<sup>6</sup>

\*Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

Recibido: 28 de enero 2022  
Aceptado: 24 de febrero 2022

\*\*Unidad de Biotecnología, Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

\*\*Institute of Molecular and Translational Medicine. Faculty of Medicine and Dentistry. Palacky University. Olomouc. The Czech Republic.

**Correspondencia:** Dr. Alexis García. Profesor Asistente. Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. E-mail: alexisgarcia27@gmail.com

## SUMMARY

*Since the beginning of the pandemic caused by SARS-CoV-2, numerous studies have been carried out on specific, rapid, and inexpensive diagnostic methods to identify individuals who have been naturally infected or vaccinated. The aim is to be able to break the chain of virus transmission efficiently. However, healthy controls that have not been exposed to the virus or other coronaviruses are required to establish the basal range of neutralizing anti-SARS-CoV-2 antibodies. Therefore, we evaluated the levels of neutralizing antibodies against the spike glycoprotein, specifically against the receptor-binding domain (RBD) of SARS-CoV-2 present in serum samples from pre-pandemic healthy controls. With the first kit evaluated, we established a range of 0-2.9 ng/mL for IgM and 0-1.6 ng/mL, with the second kit, the established range was 0-34 IU/mL for anti-spike IgG glycoprotein. Subsequently, the data obtained were compared with serum samples from individuals with compliance with the complete Sinopharm vaccine schedule. Additionally, the antibody values obtained in vaccinated individuals were correlated for both assays. It was concluded that the range obtained using pre-pandemic control sera facilitates the interpretation of the reported antibody values in individuals infected or vaccinated against SARS-CoV-2.*

**Keywords:** *Neutralizing antibodies, spike protein, IgM antibodies, IgG antibodies, RBD.*

## INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento en el 2019, del brote del síndrome de distrés respiratorio agudo y la posterior identificación de su agente causal, el SARS-CoV-2 (1), la búsqueda de métodos diagnósticos específicos, rápidos y económicos que permitiesen identificar a los individuos infectados ha sido ardua y compleja. Hoy en día se cuenta con un gran número de métodos moleculares y serológicos aplicados, no solo como herramienta diagnóstica, sino también como herramienta de vigilancia epidemiológica (2).

Aunque se ha demostrado la presencia de anticuerpos IgM e IgG contra el SARS CoV-2 desde el cuarto día después de la aparición de los síntomas, se observa que los niveles más altos se producen entre la segunda y tercera semana de la enfermedad, siendo este el tiempo recomendado para su detección. La seroconversión de IgM e

IgG ocurrió en todos los pacientes entre la tercer y cuarta semana de inicio de la enfermedad clínica según lo reportado por Xiang y col. (3). A partir de la semana 5, la IgM comienza a disminuir hasta casi desaparecer en la semana 7; mientras que la IgG persiste más allá de la semana 7, pudiendo encontrarse hasta por 12 meses luego de la infección (4,5).

Un logro importante desde la aparición de la pandemia en el año 2019 ha sido la producción, evaluación y posterior aprobación de las diferentes vacunas contra la COVID-19, las cuales están siendo utilizadas a nivel mundial, cada una con diferentes plataformas, pero todas con el objetivo de lograr la inmunidad activa contra la infección (6).

Los primeros inmunoensayos propuestos estaban dirigidos contra las proteínas S o N del SARS-CoV-2. Sin embargo, la mayoría de las vacunas que a nivel mundial se encuentran actualmente bajo autorización para de uso de emergencia o que ya tienen aprobación total como son: BNT162b2 [Pfizer-BioNTech], mRNA-1273 [Moderna], Ad26.COV2.S [Janssen / Johnson & Johnson], ChAdOx1 nCoV-19 [AstraZeneca-Oxford University], NVX-CoV2373 [Novavax] y Gam-COVID-Vac [Sputnik V]), tiene como objetivo inducir la respuesta de anticuerpos mayoritariamente contra la glicoproteína de la espiga S1 y la fracción RBD de la subunidad S1 de la proteína de la espiga. Estos anticuerpos parecen correlacionarse mejor con la neutralización del virus (7).

A medida que aumenta el número de individuos vacunados a nivel mundial, es importante conocer el estatus inmunológico de estos, por lo menos desde el punto de vista de la inmunidad humoral. Actualmente existe una gran variedad de estuches comerciales fabricados para medir cuantitativamente anticuerpos de tipo IgM y/o IgG dirigidos contra distintas porciones del virus como la proteína de la nucleocápside, la glicoproteína de la espiga o de forma más específica contra la fracción RBD (2). La aparición de estos métodos cuantitativos y su utilización para evaluar en cifras el estado inmunológico pre y pos vacunación de un individuo o de una población, nos lleva a plantearnos la siguiente interrogante: ¿Cuál es el rango normal de anticuerpos anti-SARS-CoV-2? Esta investigación se centró en evaluar

los niveles de anticuerpos anti la fracción RBD de la glicoproteína de la espiga del virus SARS-CoV-2 presentes en muestras de individuos sanos extraídas en un período anterior al descubrimiento e identificación del virus (prepandemia) con el objetivo de establecer un rango de referencia o punto de corte que permita establecer la negatividad de las muestras evaluadas y así facilitar la interpretación de resultados obtenidos bajo este método.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

Se evaluó un total de 17 muestras de suero prepandemia (2018), las cuales fueron facilitadas por la empresa QUIMBIOTEC C. A. y que se encontraban conservadas bajo congelación a -20 °C desde el momento de su extracción en el año 2018 hasta la fecha anterior a la cuantificación. Estas muestras fueron estudiadas por duplicado. Adicionalmente se realizó el estudio de 18 muestras provenientes de individuos con esquema completo de inmunización con la vacuna Sinopharm. La vacuna de Sinopharm (BBIBP-CorV) contra la COVID-19, fue desarrollada por el instituto de Productos Biológico de Beijing China Sinopharm (China) y corresponde a una vacuna con una plataforma de virus inactivado e hidróxido de aluminio como adyuvante (8).

### Cuantificación de anticuerpos IgG anti-glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV-2

Se determinaron los títulos de anticuerpos de tipo IgG empleando el estuche comercial para la determinación cuantitativa de IgG anti-SARS-CoV-2 de la casa comercial Calbiotech, California, Estados Unidos.

El kit detecta anticuerpos de tipo IgG contra la proteína de la espiga basándose en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich con placa de tiras de 96 pocillos.

El protocolo del ensayo indica una predilución de las muestras a un factor de 1:101 y las concentraciones obtenidas son expresadas en UI/mL. Este kit describe en su hoja técnica

que se consideran como negativas las muestras con valores menores a 50 UI/mL, aunque en el mismo apartado aclara que cada laboratorio debe conducir su propio estudio para ajustar el valor de punto de corte de acuerdo a su población.

### Cuantificación de anticuerpos IgM e IgG anti- dominio de unión al receptor (RBD) de la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV-2

Para la medición de los títulos de anticuerpos de tipo IgM e IgG se utilizaron los estuches comerciales Legend Max™ Spike RBD human IgM ELISA Kit y Legend Max™ Spike RBD Human IgG ELISA Kit de la casa comercial Biolegend, San Diego, CA.

Los kits Legend Max™ de IgM e IgG humana contra la fracción RBD de la proteína de la espiga se basan en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich con placa de tiras de 96 pocillos que ya vienen cubiertos con la fracción RBD de la proteína de la espiga del SARS-CoV-2. Este kit está diseñado específicamente para la cuantificación precisa de IgM o IgG humana en suero o plasma, contra la fracción RBD de la proteína de la espiga del SARS-CoV-2.

El protocolo de trabajo indica como primer paso el lavado de la placa antes de añadir las muestras o estándares, debido a que los pozos de la placa se encuentran cubiertos con un agente estabilizador el cual debe ser eliminado mediante varios lavados. Su hoja técnica indica que no se observa reactividad cruzada al analizar IgM, IgG e IgA1 humana ANTI-RBD a 1 000 ng/mL. Además, de una concentración mínima detectable de  $0,087 \pm 0,01$  ng/mL (n=6).

El ensayo se llevó a cabo diluyendo las muestras 1:1 000 siguiendo las instrucciones del fabricante y las concentraciones obtenidas fueron expresadas en ng/mL. El fabricante no describe algún valor de referencia para la interpretación de resultados, y el mismo no provee sueros controles negativos y/o positivos.

### Análisis estadístico

Para calcular el punto de corte, además de los límites inferior y superior para cada ensayo (IgM

## ANÁLISIS Y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM E IgG ESPECÍFICOS

/ IgG) se emplearon herramientas de estadística descriptiva utilizando una estimación paramétrica (media y desviación estándar) (9).

Para las comparaciones realizadas entre los grupos verdaderos negativos e individuos vacunados se utilizó la prueba de t de Student. Mientras que, para la comparación de los datos obtenidos para la determinación de IgG en individuos vacunados con cada uno de los estuches comerciales, se realizó la correlación de Spearman. Todo esto se realizó mediante el uso del software GraphPad Prism 6.

### RESULTADOS

#### Cuantificación de anticuerpos IgM e IgG anti-RBD / IgG antiproteína S

Nuestros resultados mostraron que la mayoría de las muestras prepandemia (VN: verdaderos negativos), arrojaron valores de densidad óptica más altos que las obtenidos para el blanco (background) (Cuadros 2 y 3). Por lo cual, se procedió a calcular los valores de concentración de las mismas obteniéndose una media de 1,28 ng/mL y 0,81 ng/mL para anticuerpos anti-RBD IgM e IgG respectivamente, mientras que la media obtenida para la detección de anticuerpos anti-proteína S fue de 16,92 UI/M, mediante

la realización de una estimación paramétrica utilizando la regla de más o menos 2 desviaciones estándar y eliminando los datos aberrantes obteniéndose un rango de 0-2,9 ng/mL para IgM y 0-1,6 ng/mL para IgG anti-RBD, mientras que en el caso de la detección de anticuerpos IgG antiproteína S el rango obtenido fue de 0-34 UI/mL.

#### Sensibilidad y especificidad

Los cálculos de sensibilidad y especificidad diagnósticos fueron realizados según las fórmulas matemáticas encontradas en la literatura con el objetivo de evaluar el desempeño del kit para la determinación de IgG de la casa comercial Biologend (9); para ello se tomaron los datos obtenidos de los individuos vacunados (sensibilidad) y los verdaderos negativos (especificidad). Se encontró un porcentaje de sensibilidad de 94 % y una especificidad de 88 %.

#### Niveles de anticuerpos IgM/ IgG en muestras de individuos vacunados

Se realizó la medición de la concentración de anticuerpos en muestras de 18 individuos con el esquema completo de la vacuna Sinopharm, observándose niveles significativamente más

Cuadro 1

Principales características de los ensayos estudiados para la determinación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 proteína S/ fracción RBD

	IgG cuantitativa antiproteína S SARS-CoV-2	LEGEND MAX™ Spike RBD Human IgG
Fabricante	CALBIOTECH	BIOLEGEND
Anticuerpo de captura	glicoproteína S	RBD
Inmunoensayo	ELISA	ELISA
Detección de anticuerpos IgG	Cuantitativa	cuantitativa
Unidades	UI/mL	ng/mL
Intervalo de referencia (rango de negatividad)	0-34	0-1,6
Muestra	Suero	Suero
Dilución de la muestra	1:101	1:1000
Sensibilidad %	100	94
Especificidad %	100	88
Punto de corte para la negatividad según la ficha técnica del kit	<50	No posee

Cuadro 2

Valores de densidad óptica y concentración (ng/mL) obtenidas para la determinación de anticuerpos anti-RBD de la glicoproteína de la espiga del virus SARS-CoV-2 en muestras prepandemia (verdaderas negativas) n=17

	Anticuerpos Anti- RBD SARS-CoV-2					
	IgM OD	IgM ng/mL	SD	IgG OD	IgG ng/mL	SD
VN1	0,33	1,86	0,001	0,271	1,094	0,014
VN2	0,311	1,747	0,07	0,616	2,077	0,2
VN3	0,224	1,197	0,002	0,126	0,611	0,008
VN4	0,118	0,352	0,005	0,3	1,182	0,006
VN5	0,443	2,50	0,054	0,229	0,962	0,002
VN6	0,121	0,383	0,001	0,091	0,475	0,011
VN7	0,476	2,68	0,045	0,163	0,744	0,012
VN8	0,183	0,908	0,013	0,491	1,731	0,011
VN9	0,373	2,109	0,035	0,176	0,788	0,009
VN10	0,082	0	0	0,104	0,527	0,005
VN11	0,319	1,795	0,032	0,079	0,424	0,006
VN12	0,26	1,432	0,01	0,108	0,543	0,004
VN13	0,349	1,971	0,002	0,334	1,283	0,013
VN14	0,19	0,959	0,048	0,037	0,221	0,002
VN15	0,154	0,682	0,01	0,128	0,618	0,007
VN16	0,102	0,159	0,003	0,123	0,6	0,001
VN17	0,213	1,122	0,028	0,269	1,087	0,014
BLANK	0,059	0		0,022	0	
MEDIA		1,28			0,88	
SD		0,81			0,48	

Tabla 3

Valores de densidad óptica y concentración (UI/mL) obtenidas para la determinación de anticuerpos anti-glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV-2 en muestras prepandemia (verdaderas negativas) n=17

	Anticuerpos Antiproteína S SARS-CoV-2	
	IgG OD	IgG UI/mL
VN1	0,056	9,19
VN2	0,135	25,15
VN3	0,079	13,61
VN4	0,024	3,52
VN5	0,156	29,7
VN6	0,059	9,76
VN7	0,068	11,47
VN8	0,146	27,5
VN9	0,106	19,05
VN10	0,091	16
VN11	0,125	23,02
VN12	0,069	11,66
VN13	0,064	10,7
VN14	0,036	5,57
VN15	0,119	21,75
VN16	0,095	16,8
VN17	0,172	33,26
BLANK	0,011	0
MEDIA		16,89
SD		8,67

## ANÁLISIS Y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM E IgG ESPECÍFICOS

Cuadro 4

Valores de concentración de anticuerpos IgM e IgG anti-dominio de unión al receptor (RBD) e IgG anti-glicoproteína de la espiga (S) en muestras de individuos vacunados con Sinopharm

N° MUESTRA	Legend Max human RBD Biologend ng/mL		IgG cuantitativa anti- proteína S SARS-CoV-2 Calbiotech UI/mL IgG anti- (S)
	IgM anti-RBD	IgG Anti RBD	
1	3,1	2,3	65
2	1,6	8,9	372
3	0,1	2,9	195
4	0,1	4,8	445
5	0,5	7,4	275
6	0,6	4,5	86
7	0,8	2,4	196
8	0,4	2,8	64
9	1,1	2,8	109
10	0,4	2,8	39
11	0,04	4,9	63
12	0,1	4,01	342
13	0,7	21,3	287
14	0,1	1,50	286
15	0,5	1,9	672
16	1,4	7,0	149
17	0,5	1,9	87
18	0,8	2,2	331

altos de inmunoglobulina G anti-RBD en comparación a las muestras correspondientes a los verdaderos negativos. Un comportamiento similar se observó al evaluar las muestras

para la detección de anticuerpos de tipo IgG anti-glicoproteína S utilizando el kit de la casa comercial Calbiotech (Cuadros 2, 3 y 4 y Figuras 1 y 2).

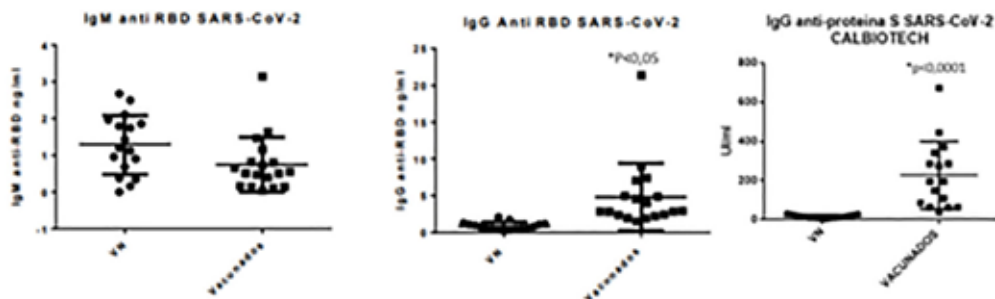


Figura 1. Concentración de anticuerpos IgM/ IgG Anti- RBD SARS-CoV-2 ng/mL. IgG anti-proteína S UI/mL. \*Se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar los valores de IgG obtenidos para el grupo de individuos vacunados versus los verdaderos negativos para los estuches de ambas casas comerciales.

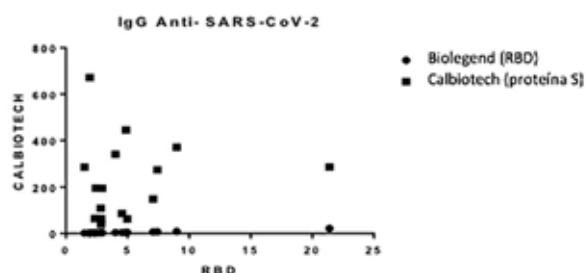


Figura 2. Correlación de datos IgG Anti- RBD SARS-CoV-2 ng/mL (Biolegend). IgG antiproteína S UI/mL (Calbiotech) en muestras de individuos vacunados. n=18, \*r=0,079.

Aunque estadísticamente no se encontró asociación entre los rangos de datos obtenidos para ambos kits por el análisis de correlación de Spearman, ( $r=0,079$   $p=0,753$ ) (Figura 2).

Los bajos valores de concentración de anticuerpos en el grupo de verdaderos negativos demuestran que la utilización de muestras de sueros prepandemia se perfila como la mejor forma de obtener datos para negatividad para la infección por el SARS-CoV-2.

## DISCUSIÓN

La glicoproteína S es una de las cuatro proteínas estructurales del virus y es el punto de unión entre este y su receptor en la superficie de las células humanas, la enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ACE2) (11), por lo cual tiene una importancia significativa como diana para el desarrollo de vacunas y medicamentos (12). La estimación o cuantificación de los anticuerpos dirigidos contra esta región del virus resulta especialmente importante ya que podría dar una idea del grado de protección frente a la infección.

Los objetivos de este trabajo fueron en primera instancia proveer un rango o punto de corte para la interpretación de las concentraciones de anticuerpos anti-RBD de la glicoproteína de la espiga del virus SARS-CoV-2, utilizando muestras de suero prepandemia, seguidamente

contrastar estos datos con los valores obtenidos en individuos vacunados con Sinopharm y por último realizar la comparación entre kits basados en la técnica de ELISA.

Diversos autores han propuesto la existencia de reacciones cruzadas entre anticuerpos anti-SARS-CoV-2 y otros coronavirus endémicos, lo que explicaría el hallazgo de niveles de anticuerpos de tipo IgM e IgG contra el virus en muestras extraídas previo al brote de diciembre del año 2019 y que fueron evaluadas con el kit de la casa comercial Biolegend (13,14). Cabeça y col. (2013) demostraron la presencia de coronavirus en el 8 % de las muestras respiratorias evaluadas, este estudio llevado a cabo en Brasil evidencia la circulación de estos virus en Latinoamérica (15). De forma similar Rauziri y col. (2015) describieron la existencia de coronavirus NL63 causantes de un síndrome parecido a la gripe en diferentes regiones de Perú (16). Esto resalta la importancia de determinar el rango de referencia o punto de corte para los métodos de cuantificación para cada población a estudiar.

Actualmente se está estudiando una posible asociación entre los niveles de anticuerpos detectados y la actividad neutralizante de los mismos (17). Lyer y col., en su estudio del 2020 encontró que los títulos de anticuerpos de tipo IgG anti-RBD obtenidos de sus muestras se correlacionaban con los títulos de anticuerpos de tipo neutralizante, los cuales demostraron mantenerse hasta 75 días después de la presentación de los síntomas (18).

Actualmente pueden encontrarse diversos inmunoensayos disponibles en el mercado, los cuales pueden presentar diferencias como el tipo de anticuerpos detectados (IgG, IgM, IgA) además de la diana antigénica (S1, S2, fracción RBD y N). Otro punto a considerar, tiene que ver con las características del ensayo. Así, Lewin y col. (2021) señalan que a pesar de que se encuentran datos de sensibilidad y especificidad en cada kit, se debe aclarar cómo fue definida la positividad, ya que el ajuste del umbral es clave para optimizar el desempeño del kit (19).

Existen múltiples estudios que comparan el desempeño de diferentes ensayos y plataformas para la medición de anticuerpos anti-SARS-CoV-2, la mayoría concuerdan en que los métodos basados en la técnica de ELISA poseen

gran sensibilidad y especificidad, especialmente aquellos que van dirigido a la detección de anticuerpos contra la proteína S o su fracción RBD (20).

Con respecto a la sensibilidad y especificidad obtenida con nuestros datos (94 % y 88 % para el kit de Biolegend, respectivamente), los kits utilizados se consideran superiores con relación a la sensibilidad, comparado a lo reportado por Kanani y col. (2021) quienes probaron diferentes estuches bajo diferentes metodologías e indican que el kit de ELISA con mejor sensibilidad y especificidad en su trabajo fue el de la casa comercial Aeskulisa con una sensibilidad de 88,1 % y una especificidad de 100 %. No obstante, es importante recalcar que la diana diagnóstica del kit utilizado fue la proteína de la nucleocápside (21). Es valioso mencionar que un pequeño porcentaje de muestras provenientes de individuos vacunados (6 %) arrojaron resultados negativos para la detección de anticuerpos dirigidos contra la fracción RBD y positivos para la detección de anticuerpos contra la proteína S (Cuadro 4). Esta discordancia en los resultados puede deberse a que al haber evaluado muestras de individuos inmunizados con la vacuna Sinopharm, cuya plataforma se trata de virus inactivados, era de esperarse que algunos individuos hayan desarrollado anticuerpos IgG contra otras otras regiones de la proteína S diferentes a la fracción RBD, por lo que el nivel de detección de anticuerpos contra esta, pueda ser menor al encontrado al utilizar otras dianas antigénicas.

En este momento, se encuentran en desarrollo métodos más prácticos y menos complejos para la detección de anticuerpos con actividad neutralizante del virus, los cuales tienen como diana el bloqueo de la unión de la fracción RBD a la enzima convertidora de la angiotensina II (ACE2). Papenburg y col., manifiestan que el método probado por ellos en grupos de muestras obtenidas de individuos con diferentes características relacionadas a la infección por el SARS-CoV-2 se correlacionaban bien con los resultados obtenidos para la determinación de anticuerpos de tipo RBD por el método de ELISA (22).

La validación de las pruebas serológicas para enfermedades infecciosas a menudo depende de

estudios que apuntan a calcular la sensibilidad diagnóstica y la especificidad. En el caso de SARS-CoV-2 esto es difícil por varias razones, la evidencia sugiere que la respuesta humoral y la seropositividad están afectadas por la severidad de la infección y el tiempo después de la presentación de los síntomas (23). Para nuestro conocimiento, este es el primer estudio en utilizar los estuches comerciales de la casa comercial Biolegend para la medición de anticuerpos anti-RBD SARS-CoV-2 en muestras pre-pandemia y pos-vacunación; además en nuestro país se trata del primer estudio en reportar valores de corte para la seropositividad.

Al encontrar diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones anticuerpos de tipo IgG en individuos vacunados versus las muestras pre-pandemia para ambos kits evaluados, podemos decir que nuestro estudio demuestra que los mismos son capaces de detectar respuesta humoral pos-vacunación.

Con la implementación a gran escala de nuevos ensayos serológicos, la interpretación de resultados tendrá implicaciones tanto para el cuidado de pacientes individuales como las medidas de salud pública. Evaluar los resultados de forma integral tomando en cuenta la historia clínica y sintomatología de los pacientes, puede resultar de gran ayuda en este proceso (24,25). En este mismo orden de ideas, realizar estudios longitudinales sobre los niveles de anticuerpos utilizando ensayos de este tipo en personas vacunadas podría brindar respuesta sobre el período de protección conferida por la inmunización activa y contribuiría a reconocer el momento más idóneo para la administración de una posible dosis de refuerzo. Datos publicados sugieren que en individuos con más de 6 meses pos-vacunación los valores de positividad para anticuerpos de tipo IgG disminuyen rápidamente, siendo cercanos a los puntos de corte establecidos en este trabajo.

Desde este punto de vista, la serología no solo muestra su valor como una herramienta para la clasificación epidemiológica de la población, sino que también sirve como un buen indicador para evaluar la calidad de la respuesta inmune adaptativa a mediano y largo plazo. Claro y col. (2021) indican que individuos con historia de infección por SARS-CoV-2 previo a la



vacunación, generan altos niveles de anticuerpos con la primera dosis de inmunización, la cual actúa como un refuerzo (26). De Sanctis y col. (2021) demostraron la importancia de la interrelación entre los anticuerpos neutralizantes y la memoria celular adaptativa, específicamente las células B y CD8+ de memoria en poblaciones de riesgo (27). Bajo esta premisa la determinación de anticuerpos neutralizantes o anti-RBD podría aplicarse en la evaluación de la susceptibilidad a la forma severa de la enfermedad en pacientes con compromiso del sistema inmune, ya sea por inmunosupresión natural o generada por tratamientos inmunomoduladores. Gallo y col. (2021) encontraron evidencia preliminar de una respuesta humoral disminuida en pacientes con esclerosis múltiple quienes recibían tratamiento con ocrelizumab un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor CD20 de los linfocitos B (28).

En conclusión, la detección y cuantificación de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 se muestra como un ensayo que llegó para quedarse y que formará parte del catálogo de pruebas serológicas de los laboratorios clínicos. Es por ello por lo que deben realizarse todos los esfuerzos posibles para adaptar los puntos de corte o valores de referencia según la población a estudiar, utilizando muestras prepandemia, además de desarrollar protocolos que permitan optimizar la sensibilidad y especificidad del ensayo.

### Conflicto de interés

Ninguno.

### Limitaciones

Dado la gran circulación del SARS-CoV-2 y al aumento de la cobertura vacunal, se hará difícil encontrar sueros de sujetos que no hayan estado expuestos al SARS-CoV-2 o hayan sido vacunados.

### Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT).

### Agradecimientos

Agradecemos a QUIMBIOTEC C.A. por facilitar las muestras prepandemia para la realización de este estudio.

### REFERENCIAS

1. Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and SARS-CoV-2. *Turk J Med Sci.* 2020;50(3):549-556.
2. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois MA. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. *Front Immunol.* 2020;11:610688.
3. Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B, Zhang J, et al. Antibody detection and dynamic characteristics in patients with COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa461.
4. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 2020;323(22):2249-2251.
5. Ye X, Angelo LS, Nicholson EG, Iwuchukwu OP, Cabral de Rezende W, Rajan A, et al. Serum IgG anti-SARS-CoV-2 Binding Antibody Level Is Strongly Associated with IgA and Functional Antibody Levels in Adults Infected With SARS-CoV-2. *Front Immunol.* 2021;12:693462.
6. Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, Zhang W. Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines. *Int J Biol Sci.* 2021;17(1):8-19.
7. Geurtsvan Kessel CH, Okba NMA, Igloi Z, Bogers S, Embregts CW, Laksono BM, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nat Commun.* 2020;11:3436.
8. Xia S, Zhang Y, Wang Y, Wang H, Yang Y, Fu Gao G, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARSCoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(1):39-51.
9. CLSI EP28 Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory. 3rd edition. 2010.
10. Altman DG, Bland JM. Statistics Notes: Diagnostic tests 1: sensitivity and specificity. *BMJ.* 1994;308:1552.
11. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, Nguyen Q, Zhong JC, Turner AJ, et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circ Res.* 2020;126:1456-1474.
12. Papageorgiou AC, Mohsin I. The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein as a Drug and Vaccine Target: Structural

## ANÁLISIS Y DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM E IgG ESPECÍFICOS

- Insights into Its Complexes with ACE2 and Antibodies. *Cells*. 2020;9(11):2343.
13. Shrwani K, Sharma R, Krishnan M, Jones T, Mayora-Neto M, Cantoni D, et al. Detection of serum cross-reactive antibodies and memory response to SARS-CoV-2 in pre-pandemic and post-COVID-19 convalescent samples. *J Infect Dis*. 2021;224(8):1305-1315.
  14. Sealy RE, Hurwitz JL. Cross-Reactive Immune Responses toward the Common Cold Human Coronaviruses and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Mini-Review and a Murine Study. *Microorganisms*. 2021;9(8):1643.
  15. Cabeça TK, Granato C, Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013;7(6):1040-1047.
  16. Razuri H, Malecki M, Tinoco Y, Ortiz E, Guezala MC, Romero C, et al. Human Coronavirus-Associated Influenza-Like Illness in the Community Setting in Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;93(5):1038-1040.
  17. Suhandynata RT, Hoffman MA, Huang D, Tran JT, Kelner MJ, Reed SL, et al. Commercial Serology Assays Predict Neutralization Activity against SARS-CoV-2. *Clin Chem*. 2021;67(2):404-414.
  18. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor-binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(52):eabe0367.
  19. Lewin A, Drews SJ, Lieshout-Krikke R, Erikstrup C, Saeed S, Fady H, et al. An international comparison of anti-SARS-CoV-2 assays used for seroprevalence surveys from blood component providers. *Vox Sang*. 2021;10.1111/vox.13100.2021 Internat Soc Blood Transf. 2021;116(9):946-954.
  20. Van Elslande J, Decru B, Jonckheere S, Van Wijngaerden E, Houben E, Vandecandelaere P, et al. Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein and nucleoprotein evaluated by four automated immunoassays and three ELISAs. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(11): 1557.e1-1557.e7.
  21. Kanani F, Jamal S, Khowaja S, Kaleem B, Anis S, Iftikhar S, et al. Sensitivities and specificities of anti-SARS-CoV-2 detection kits- comparison and agreement between fifteen assays. *Jpn J Infect Dis*. 2022;75(1):16-23.
  22. Papenburg J, Cheng MP, Corsini R, Caya C, Mendoza E, Manguiat K, et al. Evaluation of a Commercial Culture-Free Neutralization Antibody Detection Kit for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2 and Comparison with an Antireceptor-Binding Domain Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Open Forum Infect Dis*. 2021;8(6):ofab220.
  23. Charlton C, Kanji J, Tran V, Kus J, Gubbay J, Osiowy C, et al. Practical guidance for clinical laboratories for SARS-CoV-2 serology testing. *Can Commun Dis Rep*. 2021;47(4):171-183.
  24. Van Caesele P, Bailey D, Forgie SE, Dingle TC, Krajden M. SARS-CoV-2 (COVID-19) serology: Implications for clinical practice, laboratory medicine and public health. *CMAJ*. 2020;192(34):E973-E979.
  25. Bermingham WH, Wilding T, Beck S, Huissoon A. SARS-CoV-2 serology: Test, test, test, but interpret with caution! *Clin Med (Lond)*. 2020;20(4):365-368.
  26. Claro F, Silva D, Rodríguez M, Rangel HR, de Waard JH. Immunoglobulin G antibody response to the Sputnik V vaccine: Previous SARS-CoV-2 seropositive individuals might need just one vaccine dose. *Int J Infect Dis*. 2021;111:261-266.
  27. De Sanctis JB, García A, Moreno D. Importancia de la respuesta inmune celular adaptativa en la infección por SARS-CoV-2. *Rev Fac Farm*. 2021;84(1 y 2):17-29.
  28. Gallo A, Capuano R, Donnarumma G, Bisecco A, Grimaldi E, Conte M, et al. Preliminary evidence of blunted humoral response to SARS-CoV-2 mRNA vaccine in multiple sclerosis patients treated with ocrelizumab. *Neurol Sci*. 2021;42(9):3523-3526.