



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESPECIALIDAD EN PATOLOGÍA CLÍNICA

CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IgG- SARS COV-2 CONTRA PROTEÍNA S, EN
INDIVIDUOS VACUNADOS: ESTUDIO EN UNA INSTITUCIÓN

Autor:

María Fernanda Vega Escobedo

Licenciada en Medicina, Médico Residente Especialidad en Patología Clínica

Director de tesis

Briceida López Martínez

Licenciada en Medicina, Especialista en Patología Clínica, Jefa de Enseñanza e Investigación,
Laboratorios Ruiz.

Director de tesis

Maritza Espinosa Arreola

Licenciada en Medicina, Maestra en Nutrición Médico Residente Especialidad en Patología Clínica,
Laboratorios Ruiz

Director de tesis

Victor Hugo Sánchez Chimeu

Químico Biólogo Clínico, Especialista en Ciencias de Laboratorio Clínico, Director de Laboratorio,
Laboratorios Ruiz

LABORATORIOS RUIZ

Puebla, Pue. Febrero de 2022



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos y dedicatorias

A la vida y sus callejones, que me pusieron en este preciso lugar, en aquel preciso momento. Todos y cada uno de los días transcurridos desde que inicié esta interminable carrera, han llevado consigo un enorme aprendizaje. Nunca terminaré de comprender el día que decidí elegir esta profesión, sin saber que se convertiría en una forma de vida. Los que me acompañaron desde el inicio, mis padres, mi hermana. A ellos agradezco hoy y todos los días por existir en el mismo momento que yo. A los profesores, todos. A los que me enseñaron a leer, y a los que me enseñaron a dudar de todo lo que leí. Ellos me mostraron que la grandeza de la vida se encuentra en el saber. A los amigos entrañables que hice durante los últimos tres años. Se han convertido en la familia que elegí. A mis hermanas de otra sangre. A mi cuerpo por permanecer fuerte, a mi mente por encontrar la claridad incluso en los momentos de penumbra total. A Dios que ha manifestado su irrefutable existencia, todos los días de los últimos tres años, frente a mis ojos, bajo el objetivo de un microscopio. Gracias, totales.

“Donde haya un árbol que plantar, plántalo tú. Donde haya un error que enmendar, enmiéndalo tú. Donde haya un esfuerzo que todos esquivan, hazlo tú. Sé tú el que aparta la piedra del camino”.

Gabriela Mistral

1.ÍNDICE DE TABLAS CUADROS Y FIGURAS	4
2.ABREVIATURAS ACRÓNIMOS Y SIGNOS	5
3.RESUMEN.....	6
4.ABSTRACT	7
5.ANTECEDENTES.....	8
5.1 ANTECEDENTES GENERALES	8
5.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	14
6.JUSTIFICACIÓN	23
7.DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	23
8.OBJETIVOS	23
8.1 GENERALES	23
8.2 ESPECÍFICOS.....	23
9.MATERIAL Y MÉTODOS	24
9.1 TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	24
9.2 DEFINICIÓN DEL UNIVERSO DE TRABAJO.....	24
9.3 ESTRATEGIA DE MUESTREO	25
9.4 DEFINICIÓN DE VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN	25
9.5 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	26
10. RESULTADOS	28
11. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	32
12.CONCLUSIONES	34
13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. ÍNDICE DE TABLAS CUADROS Y FIGURAS.

TABLA 1. DEFINICIÓN DE VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN.....	25
TABLA 2. CONDICIONES DE LA MUESTRA.....	26
TABLA 3. INTERVALOS REPORTABLES DE LA MUESTRA.....	27
IMAGEN 1. CUESTIONARIO PRE-ANALÍTICO IGG ANTI S SARS-COV-2.....	28
GRÁFICA 1. PORCENTAJE DE USUARIOS SEGÚN MARCA DE VACUNA.	29
GRÁFICA 2. PROMEDIO DE DÍAS TRANSCURRIDOS ENTRE LA ÚLTIMA DOSIS DE VACUNA Y LA TITULACIÓN DE ANTICUERPOS.	29
GRÁFICA 3. PROMEDIO DE ANTICUERPOS MEDIDOS SEGÚN LA MARCA DE VACUNA	30
TABLA 4. RELACIÓN MARCA DE VACUNA, DÍAS TRANSCURRIDOS DESDE LA ÚLTIMA DOSIS Y TITULACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIDOS EN URL.	30
GRÁFICA 4. RELACIÓN DE TITULACIÓN ANTICUERPOS IGGS-GRUPO ETARIO. ..	31
TABLA 5. RELACIÓN GRUPO ETARIO, PROMEDIO DE TITULACIONES DE ANTICUERPOS MEDIDOS EN URL Y PROMEDIO DÍAS TRANSCURRIDOS DESDE LA ÚLTIMA DOSIS DE VACUNA	31
GRÁFICA 5. RELACIÓN ENFERMEDAD PREVIA POR COVID-19- TITULACIÓN DE ANTICUERPOS IGG-S.....	32

2. ABREVIATURAS ACRÓNIMOS Y SIGNOS

ACE2. Receptor de enzima convertidora de angiotensina 2

CPA. Células Presentadoras de Antígeno
CPK. Creatinin Fosfoquinasa
IgG . Inmunoglobulina G
IL. Interleucina
INF. Interferón
ORF. Open Reading Frames
PAMP. Patrones moleculares asociados a patógenos
PRR. Receptores de Reconocimiento de Patrones
RBD. Región de unión al receptor
RNA. Ácido Ribonucleico
TLR. Toll-Like-Receptors
TNF. Factor de Necrosis Tumoral
URL. Unidades Relativas de Luz

3. RESUMEN

El agente causal de la enfermedad por COVID-19, es un coronavirus beta; su RNA codifica para cuatro principales proteínas estructurales: La proteína M (membrana), la S (espícula), la E (envoltura) y la N (nucleocápside). La proteína S se divide en dos subunidades: S1 y S2. En la unidad S1 se sitúa la región de unión al receptor o RBD, la cual tiene una elevada afinidad por el receptor de la enzima convertidora de angiotensina (1), presente en 72 tejidos humanos (2). Una vez que el virus se pone en contacto con las células humanas hay una interacción entre la región RBD del SARS-Cov-2 y el receptor ACE2 en las células del huésped; se produce entonces la infección (3). Los mecanismos inmunológicos de las vacunas contra Covid-19 tienen como principal objetivo producir anticuerpos, los cuales compiten por los sitios de unión al receptor ACE2, generando una fuerte respuesta neutralizadora del virus. Las diversas plataformas de vacunas, desarrolladas durante la emergencia sanitaria, tienen el objetivo de producir una respuesta inmune eficaz, capaz de detener los mecanismos patogénicos provocados por el SARS COV-2. Una forma de evaluar esta respuesta, de forma parcial, es mediante la cuantificación de anticuerpos IgG contra proteína S. La metodología de inmunoensayo por quimioluminiscencia, es un inmunoanálisis de micropartículas, el cual puede determinar de manera cualitativa y cuantitativa anticuerpos IgG frente a SARSCOV-2, en los especímenes de suero y plasma humanos mediante la plataforma Architect i-System de Abbot. El ensayo es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas de dos pasos. En el cual las muestras de pacientes se combinan y se incuban junto con las micropartículas paramagnéticas, que están recubiertas de antígeno SARS COV-2 y el diluyente del ensayo. Si la muestra del paciente presenta anticuerpos IgG contra proteína S de SARS-COV 2, éstos se unirán a las micropartículas recubiertas de antígeno. Se hace un lavado de la mezcla y se añade conjugado de anticuerpos anti-IgG humana, los cuales están marcados con acridinio, para hacer una mezcla de reacción, la cual es posteriormente incubada. Tras un ciclo de lavado se añaden las soluciones pre activadora y activadora, para propiciar una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). En cuanto a la obtención de resultados es remarcable que la relación entre la cantidad de anticuerpos IgG contra proteína S frente a SAR-Cov-2 es directamente proporcional a las URL detectadas por el sistema óptico del equipo (4). El inmunoensayo quimioluminiscente resulta así un método eficiente y accesible, para poder realizar una fotografía inicial, sobre la eficacia de las vacunas, y si esta cuantificación se realiza de manera periódica, nos permitiría calcular la duración de la seroconversión en nuestra población, tomando en cuenta las condiciones clínicas que en ella existen. Para hacer una planeación de los calendarios de vacunación de manera eficiente y adaptada a las características poblacionales que nuestro entorno necesita. Todo esto tendría un efecto positivo en materia de salud pública, pues aseguraría el acceso a los esquemas de vacunación completos y de manera universal a la población mexicana.

4. ABSTRACT

The causal agent of the COVID-19 disease is a beta coronavirus; The viral, RNA coding for four major structural proteins: The M (membrane), S (spicule), E (envelope), and N (nucleocapsid) proteins. The S protein is divided into two subunits: S1 and S2. The receptor binding region or RBD is located in the S1 unit, which has a high affinity for the angiotensin-converting enzyme receptor (1), present in 72 human tissues (2). Once the virus comes into contact with human cells, there is an interaction between the RBD region of SARS-Cov-2 and the ACE2 receptor on host cells; the infection occurs (3). The main objective of the immunological mechanisms of the vaccines against Covid-19 is to produce antibodies, which compete for the ACE2 receptor binding sites, showing a strong virus-neutralizing response. The various vaccine platforms, developed during the health emergency, aim to produce an effective immune response, capable of stopping the pathogenic mechanisms caused by SARS COV-2. One way to partially evaluate this response is through the quantification of IgG tests against protein S. The chemiluminescence immunoassay methodology represents an accessible and sensitive way to perform this quantification, to be able to monitor the immunological effects of the vaccines used in our environment. The chemiluminescence immunoassay methodology is a microparticle immunoassay, which can qualitatively and quantitatively determine IgG antibodies against SARSCOV-2, in human serum and plasma specimens using Abbot's Architect i-System platform. The assay is a two-step immunoassay using microparticle chemiluminescent immunoassay technology. In which patient samples are pooled and incubated together with paramagnetic microparticles, which are coated with SARS COV-2 antigen, and assay diluent. If the patient's sample has IgG antibodies against SARS-COV 2 protein S, these will bind to the antigen-coated microparticles. The mixture is washed and conjugated anti-human IgG antibodies, which are labeled with acridinium, are added to make a reaction mixture, which is subsequently incubated. After a wash cycle, the pre-activator and activator solutions are added to promote a chemiluminescent reaction. The resulting chemiluminescent reaction is measured in relative light units (RLU). Regarding the obtaining of results, it is remarkable that the relationship between the amount of IgG antibodies against protein S against SAR-Cov-2 is directly proportional to the URLs detected by the optical system of the equipment (4). The chemiluminescent immunoassay is thus an efficient and accessible method, to be able to make an initial photograph, on the efficacy of the vaccines, and if it is carried out periodically, it would allow us to calculate the duration of seroconversion in our population, taking into account the conditions clinics that exist in it. And if this quantification is carried out periodically, it would allow us to calculate the duration of seroconversion in our population, taking into account the clinical conditions that exist in it. To plan vaccination schedules efficiently and adapted to the population characteristics that our environment needs. All of this will have a positive effect on public health, as it would ensure universal access to complete vaccination schedules for the Mexican population.

5. Antecedentes

5.1 Antecedentes generales

El 11 de Marzo de 2020, en Ginebra Suiza, el Director General de la Organización Mundial de la Salud, el doctor Tedros Adhanom Ghebreyesus, anunció: “la nueva enfermedad por el coronavirus 2019 (COVID-19) puede caracterizarse como una pandemia”(5). Desde entonces los esfuerzos sanitarios del mundo entero, se han enfocado en controlar el brote de enfermedad causado por el SARS Cov 2. Desde el primer caso surgido en el año 2019 en Wu Han China, el coronavirus, ha cobrado 6,648,457 muertes alrededor del mundo(6). La gravedad de las complicaciones causadas por la enfermedad, las implicaciones económicas y sociales, así como el colapso de los sistemas sanitarios públicos de todos los países, obligaron a la ciencia a trabajar a marchas forzadas, para buscar soluciones contundentes. Actualmente según datos de la plataforma NMA initiative, se encuentran en desarrollo 1003 vacunas alrededor del mundo (7). Todas ellas con el objetivo principal de exponer ante sistema inmune un antígeno que provoque una respuesta eficaz, capaz de detener los mecanismos patogénicos provocados por el SARS COV-2. Cabe destacar que el desarrollo de las vacunas implica un estricto apego al método científico. La emergencia sanitaria ha obligado a los desarrolladores de dichas vacunas a acelerar los procedimientos necesarios para ponerlas al alcance de la población. En un contexto global según la Organización Mundial de la Salud, al 13 de Diciembre de 2022 se han aplicado 13,008,560,983 dosis de diversas vacunas (8), cuya efectividad así como los eventos adversos relacionados al uso de las mismas, se irán dilucidando de manera definitiva conforme su utilización se haga de manera masiva; los esfuerzos científicos alrededor de la vacunación contra COVID 19 no solo se realizan en torno al desarrollo de nuevas plataformas, también se busca medir su efectividad para lograr así su perfeccionamiento, y con ello el control de la pandemia.

El agente causal de la enfermedad por COVID-19, es un coronavirus beta, que pertenece a una familia de virus comunes en animales y humanos. El RNA del SARS-Cov-2 codifica para cuatro principales proteínas estructurales: La proteína M presente en su membrana, la proteína S presente en las espículas, la proteína E de envoltura y la proteína N de nucleocápside. A su vez la proteína S se divide en dos subunidades: S1 y S2. En la unidad S1 se sitúa la región de unión al receptor o RBD, la cual tiene una elevada afinidad por el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), presente en 72 tejidos humanos, principalmente riñón, corazón y en menor cantidad en el tracto respiratorio superior e inferior (9). Una vez que el virus se pone en contacto con las células humanas hay una interacción entre la región RBD del SARS-Cov-2 y el receptor ACE2, se produce la infección en el huésped. Para infectar una célula el virus usa la proteína S, la cual es una proteína trimérica, densamente glicosilada. Al ser una proteína de fusión, existe en una conformación de prefusión metaestable, dicha conformación sufre un reordenamiento estructural sustancial para propiciar la fusión de la membrana viral con la membrana de la célula huésped (3). Los anticuerpos frente al RBD de la espícula pueden inhibir la unión al receptor ACE2, generando una fuerte respuesta neutralizadora del virus.

Entendiendo la respuesta inmunológica

La enfermedad por COV-19 causada por el SARS COV-2, inicia toda vez que la región S del virus, ha entrado en contacto con los receptores ACE2 de huésped, desencadenando una respuesta inflamatoria sistémica, con las consecuencias que ello implica. Los mecanismos inmunológicos implicados en la patogénesis de la enfermedad, incluyen al sistema de inmunidad innata, como al sistema de inmunidad adaptativa. Resulta clave entender desde el punto de vista fisiológico, las diferentes respuestas ante cada tipo de inmunidad, ya que gran parte de este entendimiento, ha llevado a los científicos del mundo a desarrollar diversas plataformas de vacunas, con distintos mecanismos de acción, y ello podría también ayudar a marcar las diferencias con respecto a su efectividad.

Hablando del sistema de inmunidad innata, es importante remarcar que en la patogénesis de la enfermedad por COVID-19, la activación de los mecanismos de defensa primarios, como son la cascada inflamatoria la cual incluye diferentes citoquinas, así como la activación de las clonas celulares de primera defensa (monocitos, neutrófilos y macrófagos) en una manera tan alarmante, podrían ser la causa de las complicaciones graves del paciente que cursa la enfermedad, incluso por encima de los mecanismos patogénicos del virus. En el año de 1990 el Dr. Matzinger propuso “el modelo de peligro”, en el cual planteaba que las células dañadas podrían desencadenar una respuesta inmunitaria, per se. Esta teoría propone como tesis principal un modelo conformado por receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que funcionan como sensores metabólicos para reconocer y actuar rápidamente ante las señales de potencial alerta, producidas por las células dañadas o microorganismos, que al ponerse en contacto con ellas, activan la respuesta celular mediante un reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Este puente entre los PRR y PAMP se dará mediante receptores tipo TLR, NOD y de lectina C, de alta afinidad; los cuales son capaces de desencadenar las cascadas de señalización que inducen a la respuesta inmunitaria innata (10). Para poder entender el impacto en los mecanismos de inmunidad innata del SARS-COV 2, necesitamos dilucidar el funcionamiento de elementos clave de los que se compone. Tal es el caso de los receptores TLR (Toll-Like-Receptors), los cuales son una familia de 11 proteínas que actúan como receptores transmembrana, capaces de reconocer a los PAMP. Dentro de los tipos de TLR con más impacto en la enfermedad por COVID-19 los TLR3 juegan un rol primordial, ya que a través de la vía de señalización TRIF (toll domain containing adapter inducing interferon β) regulan la activación de IRF3 (interferon regulator factor 3) y NF- κ B; ambos factores de transcripción se encuentran asociados a la producción de citoquinas pro inflamatorias como IL-6, TNF e IFN- γ . Esta producción sobre estimulada por el contacto del COVID-19 hacia los TLR3, podría propiciar una tormenta de citocinas amplificadas con el consecuente daño tisular bien conocido en la clínica de la enfermedad (11). Por otro lado la inmunidad adaptativa comprende principalmente, la respuesta celular que se desencadena a partir del contacto con un agente extraño, en donde los linfocitos T y B juegan el rol más importante. Dentro de la respuesta celular de los Linfocitos T, se encuentran 4 tipos de señales reguladoras; de inicio debe haber un reconocimiento antigénico que resulta determinante para la especificidad de la respuesta. En este reconocimiento los antígenos son

presentados mediante moléculas de MHC I Y II de las células presentadoras de antígeno y se acoplan de manera específica los receptores TCR presentes en LT vírgenes. En segundo lugar se encuentra un punto de control conformado por la unión de pares moleculares que pueden ser estimulantes o inhibidores a la reacción inmune. Por su parte la estimulación de citocinas favorece la activación celular en el espectro de la respuesta inmune adaptativa, ya que la activación de las células presentadoras de antígeno, desencadena una secreción de citocinas por su parte, las cuales estimulan la expansión y diferenciación de las clonas de linfocitos T. Por otro lado la función de los Linfocitos B, es producir anticuerpos, los cuales participan en la cascada de acciones del sistema inmune adaptativo así como innato. Los linfocitos B tiene la capacidad de iniciar reacciones dependientes e independientes de la activación de LT. Las respuestas celulares de los LB que están ligadas a LT, surgen a partir del reconocimiento antigénico por parte de los LTh. Toda vez que esta respuesta de reconocimiento antigénico ha surgido, la unión entre CD40/CD40L así como la producción de citocinas producen la activación de linfocitos B. Cuando la respuesta es inducida de manera independiente a los LT, las células B1 secretan anticuerpos de tipo IgM toda vez que han reconocido al agente causal mediante las uniones PAMP/DAMP, así mismo son los mismos LB1 quienes producen citocinas como IL-10, IL-35 y factor estimulante de granulocitos y macrófagos, moléculas inmunomoduladoras que inducen efectos inflamatorios en procesos crónicos o agudos según sea el caso (10).

Respuesta inmunológica durante la infección por COVID-19

Cuando el paciente cursa con una infección aguda por COVID-19, toda vez que los mecanismos patogénicos del SARS-COV2 han tenido contacto con las células del huésped por medio de la unión de la proteína S con el receptor ACE2 y su adyuvante la serina proteasa TMPRSS2, la replicación del virus inicia dentro de las células hospederas utilizando la maquinaria celular propia para la síntesis de las proteínas que requiere; sin embargo la liberación del virus desde la célula epitelial puede causar piroptosis, lo cual activaría un proceso inflamatorio mediado por la producción de PAMP. Secundario a ello las células epiteliales, endoteliales y los macrófagos alveolares inician la liberación de citocinas pro inflamatorias, las cuales tienen como principal objetivo atraer elementos celulares como monocitos, macrófagos y LT al sitio de infección. A su vez los LT producirán IFN gamma y con ello la atracción de más elementos celulares será evidente, estableciendo así un sistema de feedback positivo; en donde más células serán reclutadas y más citocinas liberadas, dañado no solo al microambiente en el que se encuentran, es decir a las células del tejido pulmonar, sino que este exceso de citocinas será liberado a la circulación sistémica, llevando al paciente a una falla multiorgánica (12). Además dentro de los mecanismos inmunológicos implicados en la gravedad de la enfermedad por COVID-19 la Mejora Dependiente de Anticuerpos (antibody dependent enhancement) juega un rol esencial; este fenómeno virológico consiste en la facilidad de los virus para ingresar a las células, toda vez que la producción de anticuerpos contra el propio virus ha iniciado. En este caso ocurre una conjunción del virus con su propio anticuerpo, generalmente una IgG. Una vez que esta unión haya surgido las regiones Fc de la inmunoglobulina

serán reconocidas por la célula hospedera. Convirtiéndose así en un mecanismo mimetizador que permitirá al virus, el uso de la maquinaria celular del huésped para su replicación, con las consecuencias de piroptosis e inflamación sostenida que este hecho representa. Dentro de los sustentos de la teoría ADE, se puede coprobar que en muchos casos el desarrollo de enfermedad aguda, coincide con el periodo de seroconversión IgG anti viral. El entendimiento de este tipo de respuesta en el contexto de la enfermedad aguda por SARS-COV-2 resultó fundamental para el desarrollo de vacunas que promovieran la producción de anticuerpos neutralizantes (13).

Inmunidad Celular en la enfermedad por COVID-19

Dentro de la gama de cambios fisiológicos que conlleva la enfermedad por COVID-19, el sistema inmunológico es una parte fundamental para el entendimiento de la patología que acompaña a esta infección del tracto respiratorio, que en casos de gravedad termina como enfermedad multisistémica inflamatoria. Por ello para el desarrollo de tratamientos y vacunas resulta fundamental comprender cuales son las influencias del virus, en la diferenciación y producción de células pertenecientes al sistema inmunológico y si es posible que esta respuesta celular, monte un sistema de protección que mitigue la gravedad de la enfermedad. Dentro de los principales componentes celulares del sistema inmune, tenemos a los Linfocitos T y B. Una vez instalada la infección la respuesta celular tarda aproximadamente siete días en montarse. Por un lado los Linfocitos T CD8+ inician un ataque directo a las células infectadas por el virus, mientras que los LT CD4+ se encargan de preparar la respuesta celular de parte de los LTCD8+ y los LB; ambas líneas celulares tienen como objetivo la producción de citocinas que promueven el reclutamiento de otras líneas celulares del sistema inmune. Durante los primeros estudios clínicos realizados a pacientes fallecidos por COVID-19 quedó como evidencia la evidente acumulación celular en el tejido pulmonar, así como los bajos niveles de LT en sangre periférica. Lo cual nos obliga a pensar que la cantidad de LT reactivos se encuentra mayormente situada en el sitio de infección primaria; una vez disminuido su número en sangre periférica, sus acciones como células presentadoras de antígeno y puntos de control para evitar la infección de las células del hospedero, disminuyen. Esta reacción de agotamiento celular, se relacionó de manera directa con la gravedad de la enfermedad. Sin embargo los pacientes que cursaron enfermedad grave, fueron capaces de desarrollar Células T de memoria específica contra SARS COV-2, la cual pudo ser detectada hasta 2 años después de su recuperación. Los LTCD4+ desarrollados por los pacientes, tras la infección por SARS-CoV-2, presentan una respuesta de célula TH1, lo cual indica que el componente celular es una de las principales armas para el control de la enfermedad. Los LTCD4+ tienen también la característica de tener un perfil polifuncional dependiente de los niveles de IL-2 e IFN gama. Otros factores como la carga viral y la respuesta inmune mediada por citocinas particularmente Interferones de tipo I, representan también un factor de pronóstico importante en el paciente. En muchos pacientes que tuvieron complicaciones por la enfermedad, la carga viral disminuyó de manera más lenta y la inflamación fue sostenida gracias a los altos niveles de INF alfa, y gama, así como TNF. Sin embargo la respuesta celular mediada por LTCD8+ la cual alcanza su pico máximo en el día 14 de la enfermedad, se correlaciona de manera directa con la disminución

de la carga viral. A pesar de que los LTCD8+ no presentan especificidad por el virus, éstos expresan el fenotipo NKG2D+IL-7R+ cual tiene un papel importante en el control de la enfermedad. Por otro lado el RNA viral ha sufrido diversas mutaciones a lo largo del desarrollo de la pandemia, todo con el fin de sobrevivir ante la respuesta del huésped. Las variantes definidas por la OMS como “Variantes de importancia” o VOCs por sus siglas en inglés, se han mostrado con mayor capacidad de infección en el huésped, gracias a los mecanismos de escape concedidos por las mutaciones que modifican la región RBD en la proteína S. En este panorama, la preocupación generalizada surge con respecto a la capacidad de neutralización que tendrían los anticuerpos IgG ante las nuevas variantes. No solo el contacto inicial por la proteína S mutada permitiría una mayor capacidad infecciosa al virus mutado, sino también su reconocimiento por los elementos celulares que como primera defensa pudieran controlar la replicación del virus, más puntualmente los LT. Algunos estudios clínicos han demostrado la pérdida de capacidad de los LT para el reconocimiento de la proteína S, en algunas VOCs, que presentan la región mutada. Esta restricción se atribuye a alelos de epítopes del HLA. Se han puesto en evidencia algunos mecanismos mediante los cuales las proteínas del RNA viral mutado actúan directamente suprimiendo la presentación de antígenos por parte del HLA clase I. Recordando algunos aspectos estructurales del SARS-CoV-2, sabemos que es un virus ARN con un genoma de 26 a 32 kb de longitud. Este ARN codifica 14 marcos de lectura abiertos (ORF por sus siglas en inglés), y dos tercios de su genoma codifican para 16 proteínas no estructurales (NSP1-16). Estas proteínas no estructurales forman parte del complejo llamado replicasa, es decir su principal función reside en la transcripción y replicación de las proteínas virales. El tercio restante que conforma la estructura genómica codifica para las proteínas estructurales S,E,M,N. Del repertorio de proteínas virales accesorias la ORF8, presenta características similares a una inmunoglobulina, con propiedades altamente inmunogénicas. Algunas variantes del virus que expresan ORF8 logran la evasión inmunitaria al hacer una baja regulación del MHC-1 así como la citotoxicidad de los LT. Este hecho podría propiciar una mayor replicación viral y un periodo de incubación más prolongado, convirtiendo así a la cepa mutada en mayormente transmisible(14). A pesar de la gran eficiencia en el reconocimiento patogénico, los LT necesitan actuar en conjunto con los diversos componentes del sistema inmunológico para lograr una respuesta eficiente, ante los complejos mecanismos de virus como el COVID-19. Tal es el caso de la respuesta celular montada por los Linfocitos B. La respuesta celular de los LB, tiene lugar en los pacientes que han sido infectados por el virus y que presentan sintomatología. Dentro de la respuesta mediada por LB, los anticuerpos en primer línea de producción son aquellos contra la proteína N o nucleocápside, y como recordamos la naturaleza de las inmunoglobulinas que se producen en la respuesta humoral aguda son de tipo IgM. Posterior a ello los LB inician la producción de anticuerpos contra la proteína S, alrededor del día 14(12) . Los anticuerpos producidos contra la proteína S, pueden ser de naturaleza IgM y en fases más tardías de la infección de tipo IgG. Estos últimos son conocidos como anticuerpos neutralizantes, y tienen la capacidad de unirse a los receptores ACE2 presentes en el tejido pulmonar, para competir por el sitio de unión de la proteína S del virus. A pesar de que los estudios

de seguimiento en pacientes recuperados en enfermedad por COVID-19 apuntan a la disminución al inicio rápida y posteriormente más lenta, de los niveles séricos de anticuerpos IgG-S, algunos se encuentran con niveles detectables más allá de los 90 días esperados. Esta transición de la disminución de anticuerpos IgGs detectados en suero, se da por el desarrollo de clonas de LB de vida prolongada o BMPCs (Long Life Bone Marrow Plasma Cells), que a pesar de ser menos numerosas, tienen una producción de anticuerpos sostenida por más tiempo. En un estudio realizado en facultad de Medicina de la Universidad de Whashington en el año 2021(15), el equipo de trabajo se dio a la tarea de estudiar a 77 individuos que habían cursado con infección SARS-CoV-2, dándole seguimiento a los niveles de anticuerpos séricos contra proteína S, y correlacionándolos con aspirados de médula ósea de 18 pacientes que habían cursado con la enfermedad entre 7 y 8 meses previos. Se encontró entonces que los niveles séricos de anticuerpos IgG contra la proteína de pico (S) anti-SARS-CoV-2 disminuyeron en los primeros 4 meses, de manera rápida después de la infección y posteriormente de forma más gradual durante los siguientes 7 meses, permaneciendo éstos detectables por al menos 11 meses después de la infección. Estas titulaciones de anticuerpos séricos anti-S se correlacionaron con la frecuencia de células plasmáticas específicas de S en aspirados de médula ósea de 18 personas recuperadas de la infección. De estos 18 aspirados de Médula ósea en 11 pacientes, no se detectaron BMPC (long life bone marrow plasma cells) específicas de S . Sin embargo se pudo demostrar que las BMPC de unión a S están inactivas, lo que sugiere que son parte de un compartimento estable en médula ósea. Lo cual indica que la infección por SARS-Cov-2 induce una memoria humoral robusta, que a pesar de no ser detectada en los niveles de anticuerpos circulantes, depende más de la estimulación a la producción de LB específicos de antígeno ante la infección por SARS-COV-2 sin importar la gravedad del cuadro clínico. Las respuestas celulares y humorales, ambas de la mano, ante el SARS-COV-2 han puesto en contexto la importancia del rol que juega el sistema inmunológico y sus mecanismos reguladores en el escenario de la enfermedad infecciosa. La pandemia por COVID-19 pese a sus efectos indeseables en la salud pública, también ha abierto un nuevo panorama para los científicos del mundo, con el fin de intensificar la búsqueda de los elementos fisiológicos que permitirán encarar nuevas pandemias en el futuro. La comprensión de los mecanismos inmunológicos per se, y en el contexto de la enfermedad por el virus SARS-Cov-2, ha resultado de importancia vital, al momento de buscar soluciones para la mitigación de la pandemia. Hoy día el desarrollo de diversos tratamientos contra la enfermedad por COVID-19 así como el desarrollo de las vacunas, que han logrado regresar a la normalidad la vida de la población mundial, se basan en el reconocimiento de los mecanismos fisiológicos del huésped y las características del virus. Por ello resulta crucial el abordaje desde el punto de vista de la inmunología para seguir presentando soluciones ante la pandemia que recién experimentamos pero sobre todo para poder encarar a futuros agentes causales, que tuvieran un riesgo potencial de desencadenar un nuevo fenómeno como el que tuvo lugar gracias al SARS-CoV-2.

5.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Panorama general de la vacunación en México

El inicio de la vacunación a nivel mundial en Diciembre de 2020, marcó la pauta del control de la pandemia y el impacto de ésta a nivel de salud pública, pero sobre todo en el contexto social. Desde la aprobación del uso de emergencia, de las primeras vacunas Pfizer-Biotech y Moderna en el mundo se han administrado 13,008,560,983 dosis de distintas vacunas contra SARS-CoV-2(8). Según datos de la Organización Panamericana para la Salud, en México al momento se han administrado 223 158 993 dosis de las vacunas contra la COVID-19. En la semana 45 del año 2022, 81 849 962 mexicanos cuentan con el esquema primario de vacunación completo lo cual corresponde a un 62.8% de la población total; así mismo 57 014 052 tienen una primera dosis adicional de refuerzo correspondiente al 43.8% de la población total. Dentro de las consideraciones para el diseño de los esquemas de vacunación se tomaron en cuenta diversos factores que colocaban a ciertos sectores de la población en riesgo, tales como menores de 18 años, mayores de 60 años y mujeres embarazadas. Hasta el momento, los datos recabados por los organismos de salud pública han registrado una cobertura de 4 684 839 esquemas de vacunación completo para menores de 18 años, 11 666 518 para mayores de 60 años y 516 821 para mujeres embarazadas. Mientras tanto no se cuenta con datos de vacunación en personal de salud (17). Actualmente en nuestro país la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) ha autorizado el uso de emergencia de 12 biológicos (18). Cada uno corresponde a una plataforma de vacuna distinta, es decir un mecanismo de acción diferente.

Generalidades sobre plataformas de vacunas y respuesta inmune.

Como idea del funcionamiento de las vacunas partiremos de la premisa general de que las vacunas tienen como principal objetivo la exposición de antígenos al sistema inmunológico, para que mediante las respuestas celulares, que se han aclarado en este texto anteriormente, el organismo sea capaz de producir anticuerpos, que confieran protección ante la enfermedad. En el caso de las vacunas contra COVID-19 son las células presentadoras de antígeno las encargadas de reconocer a aquellas partículas virales que asemejan al virus, interiorizándolas a su citoplasma y posteriormente exhibiéndolas en su membrana. Por otro lado una vez que estas proteínas virales han sido expuestas en la membrana de las PCA se activan los LTH, los cuales son capaces de inducir una respuesta inmunitaria específica; por su parte los LB iniciarán la producción de anticuerpos neutralizantes, para mitigar la entrada del virus en nuevas células. Cabe destacar que las vacunas tienen la capacidad de estimular la producción de LT y LB de larga memoria, los cuales como ya se mencionó anteriormente conferirán inmunidad celular durante un largo periodo de tiempo ante la enfermedad por Covid-19 (19). Las células de memoria que confieren inmunidad específica sobre ciertos agentes causales, se encuentran en un estado de "latencia" y una vez que se pongan en nuevo contacto con el virus, o con alguna de sus proteínas contenidas en la vacuna, iniciarán una producción específica de anticuerpos. Este hecho puede explicar por qué los pacientes que han tenido enfermedad previa por COVID-19 pueden aumentar su nivel de anticuerpos neutralizantes hasta 50 veces, toda vez que han recibido la vacuna (20). Dentro del espectro de mecanismos de

acción de las vacunas llamaremos “plataforma de vacuna” a la categoría de una vacuna con características particulares en cuanto a la tecnología de su creación y a su forma de actuar a nivel inmunológico. De esta forma podremos clasificar a las vacunas en: vacunas de virus vivos atenuados, vacunas de virus inactivados o muertos, vacunas con vectores virales (replicantes o no replicantes, vacunas basadas en ácidos nucleicos (ARNm o ADN) y vacunas con base en proteínas virales (pueden ser proteínas completas, subunidades de proteínas, partículas similares a virus o proteínas recombinantes). Las vacunas de virus vivos atenuados, están compuestas principalmente por virus que antigénicamente tienen las mismas características que el virus en estado silvestre, pero que han sido modificadas para evitar algún paso crítico para su patogenicidad. Este hecho ocurre a través de manipulaciones genéticas a nivel de los ácidos nucleicos que componen al virus. Entre sus principales ejemplos encontramos a las vacunas contra la rabia, dengue, o virus sincitial respiratorio. Los efectos inmunológicos de las vacunas de virus atenuados actúan de una manera muy similar al curso natural de una infección, ya que los virus pueden replicarse en el huésped y con ello estimular una producción de anticuerpos efectiva y una memoria de larga duración. Sin embargo su uso representa algunos riesgos, como lo es una reversión con una virulencia mayor durante la multiplicación del virus en el huésped. Así mismo el riesgo de contaminación en los cultivos víricos base de la vacuna, por agentes de otra naturaleza infecciosa se encuentra aumentado en este tipo de plataformas, representando un riesgo potencial de sobre infecciones en los usuarios. Otro claro inconveniente de su uso, que es poco frecuente pero no del todo erradicable, es el desarrollo de infecciones persistentes en el huésped. La naturaleza misma de las vacunas de virus atenuados requiere mayor atención en la vigilancia del almacenamiento y vigencia limitada para su uso. Por ello es necesario el uso de herramientas de estabilización vírica y de una red de frío adecuada al momento de su distribución entre la población a la que busca ser administrada. Las infecciones concomitantes, pueden provocar interferencia al momento de su utilización, pues la replicación de virus infectantes en el huésped, harían un efecto neutralizante de la replicación del virus contenido en la vacuna, con lo que su eficacia se vería disminuida. Pese a sus desventajas, las vacunas de virus atenuados siguen siendo hoy una alternativa en el control epidemiológico de enfermedades (21). Otra importante categoría dentro de la clasificación de las vacunas son las vacunas de virus no vivos o inactivados, este tipo de plataformas pueden incluir al patógeno completo inactivo o componerse solo de subunidades del mismo (proteínas, toxoides, virus like proteins) polisacáridos así como polisacáridos conjugados. A diferencia de las vacunas de virus vivos atenuados, no tienen la capacidad de replicación del virus, y por tanto tienen no tienen un riesgo de reactivación, esta característica de seguridad en su uso, las convierte en ideales para pacientes que cursan con algún compromiso en el sistema inmune. A pesar de sus ventajas en materia de uso seguro, la inmunogenicidad que inducen y la protección que confieren son más débiles, en comparación con las de virus vivos atenuados (22). En el contexto de la vacunación por COVID-19, por una parte la línea del tiempo desde su desarrollo y aprobación de uso de emergencia ante un escenario de pandemia, y las características del agente causal, obligaron a los investigadores a cargo, a buscar

alternativas distintas para la creación de plataformas de vacunas contra COVID-19. Por cuestiones de bioseguridad dejaron de lado las opciones de trabajar con vacunas de virus vivos atenuados, y la necesidad de inducir una respuesta inmunológica robusta, tanto a nivel serológico, como celular, propició el descarte del uso de vacunas de virus no vivos o inactivos. Para ello los esfuerzos científicos en torno al desarrollo de plataformas de vacunas de otra naturaleza como son vacunas de vectores virales o virus recombinantes. Éstas tienen como característica principal el uso de un virus modificado a nivel genético, que sirva como vector para el transporte de genes que codifican para las proteínas estructurales del SARS-CoV-2. Dentro de esta clasificación podemos distinguir a las vacunas de vectores virales replicantes, es decir que tienen la capacidad de replicarse dentro de la célula del huésped y no replicantes. Los ensayos clínicos para el desarrollo de vacunas contra la COVID-19 se vuelcan sobre todo hacia los vectores replicantes ya que tienen una producción inmunitaria más eficiente. Otra importante categoría de plataforma de vacunas son las vacunas con ácido nucleico. Estas pueden contener ADN o ARNm cuyo principal objetivo es resguardar las secuencias de expresión génica de las proteínas clave del virus. La gran ventaja de este tipo de plataformas es que el material genético puede producirse de manera más sencilla. Sin embargo es necesario repetir las dosis para alcanzar la respuesta humoral y celular que se requiere. Las vacunas de ARNm, aventajan sobre las de ADN ya que presentan un bajo riesgo potencial de mutagénesis insercional en el huésped. La capacidad de modificar la inmunogenicidad del ARNm, repercute en una mayor efectividad y en una estabilidad aumentada. Otra ventaja es la baja inmunogenicidad del ARNm, ya que al fungir como vector genético, reduce el riesgo ante administraciones repetidas de la vacuna. Las vacunas de ácidos nucleicos, pueden tener también la capacidad de autorreplicarse, como es el caso de las de ARNm.

Otras estrategias de vacunación se encaminan hacia inocular directamente algunas proteínas o subunidades proteicas del agente causal. Este tipo de plataformas se conocen como de proteínas virales. Bajo este principio pueden ser fabricadas a partir de subunidades de proteínas, como son péptidos sintéticos o proteínas antigénicas recombinantes. Las vacunas de subunidades a pesar de lograr la respuesta inmunológica en el huésped, a menudo necesitan adyuvantes, ya que la inmunogenicidad que exhiben es baja. Los adyuvantes ayudan a potenciar la respuesta inmunológica deseada, pero también mejora la vida media biológica de los antígenos.

Las vacunas de partículas similares a virus, son desarrolladas a partir de cápsulas vacías que simulan la estructura del virus, pero al carecer de material genético son imposibles de replicarse en el huésped. Entre sus desventajas se encuentra la dificultad para su desarrollo (19).

Para que las vacunas puedan tener los efectos inmunológicos deseados en el huésped, necesitamos componentes clave. Por un lado los componentes antigénicos diana, que pueden ser incluidos en la composición misma de la vacuna o generados por el receptor de la ésta, por otro lado un patrón de tipo PAMP, que tendrá como misión desencadenar la señal de alerta a nivel del sistema inmunológico del huésped (19). Al momento de ser utilizadas, las características de composición de la vacuna ayudarán también a saber el grado de inmunidad a largo plazo que podrán conferir al usuario en

cuestión. Partiendo de esta premisa podríamos clasificarlas en 3 grupos principales según los antígenos que poseen y la naturaleza de los mismos: Vacunas de antígenos multivalentes no proteicos, vacunas de antígenos proteicos monovalentes y vacunas de antígenos proteicos multivalentes. De las características de las mismas sabemos que los antígenos multivalentes no proteicos no tienen la capacidad de ser presentados a los LT, por lo cual no se estimula la acción adyuvante de los LT helper foliculares y la inmunidad conferida por este patrón de reconocimiento, podría ser de corta duración. Cuando el antígeno contenido en la vacuna es de naturaleza proteica, la respuesta de LB es activa y se logra la presentación a las células T helper foliculares. Este hecho repercute directamente en la expresión de receptores de tipo BCR en los LB, lo cual aumenta la habilidad de éstos para captar el antígeno por medio de la célula presentadora de antígeno y estabiliza el complejo BCR-antígeno. El fortalecimiento de los complejos BCR-antígeno, a su vez logrará un aumento sustancial en las uniones MHCII-proteínas. El acúmulo de sucesos inmunológicos, se verá reflejado en un aumento en la producción de clones de células B de larga memoria, que conferirán protección de larga duración al paciente. La ventaja de las vacunas de antígenos proteicos multivalentes, sobre las de antígenos proteicos monovalentes, radica en una mayor eficiencia al momento de la presentación de antígeno por parte de las CPA. La eficiencia presentadora de la CPA, reclutará un mayor número de LTH foliculares, y además un mayor tiempo de contacto entre éstos y los LB. Recordemos que uno de los roles principales de los LB en el contexto de la infección y la vacunación no solo radica en la producción de anticuerpos sino también de citocinas. La estimulación de estas citocinas establecerá a su vez un mecanismo de feedback positivo, en el cual entre más producción de citocinas por parte de LB, mayor será la producción de células plasmáticas, clasificadas como de alta duración (22).

Sea cual sea el diseño elegido para las plataformas de vacunas lo más importante es mantener la inmunidad que inducen en el huésped. En el caso de las vacunas contra la enfermedad por COVID-19, el contexto histórico, económico y social en el que se desarrollaron, requieren alcanzar la mayor eficiencia posible, ya que todas ellas fueron creadas en medio de una emergencia sanitaria mundial. Una vez que las vacunas han logrado su efecto inmunológico, es importante mantenerlo con relación al tiempo. Dependiendo de la naturaleza de las vacunas utilizadas serán necesarias dosis adicionales, puesto que las poblaciones celulares que confieren inmunidad a largo plazo pueden disminuir. Por ello se utiliza una dosis conocida como Booster. El efecto booster hace referencia al aumento en la inmunidad, con respecto al número de dosis aplicadas. Por ejemplo, las vacunas de virus vivos atenuados tienen una capacidad de replicación menor y esto les confiere un mayor perfil de seguridad; sin embargo esta disminución en la replicación puede impactar en una menor carga antigénica total, lo cual repercutiría en la mantención de la protección conferida por la vacuna. El hecho de que una vacuna sea capaz de estimular inmunidad a un huésped a largo plazo, no significa precisamente que esta inmunidad sea capaz de brindar protección a largo plazo, en contra del agente causal. Es decir durante la aplicación de la vacuna hay una respuesta inmunológica pico, que se ve reflejada en la producción de anticuerpos así como la estimulación de clones celulares protectoras,

sin embargo esta producción inmunológica disminuye a lo largo del tiempo hasta llegar a una fase estable, conocida como fase plateau. Esta fase de plateau puede resultar insuficiente al momento de conferir protección al huésped. Las dosis booster de vacunación tienen la intención de llevar los niveles de inmunidad a un estado de protección. Independientemente de los tipos de plataformas utilizados en la vacunación (vacunas de polisacáridos, virus vivos atenuados, virus inactivados, etc), la mayoría de las vacunas necesitan mínimo de una dosis booster para mantener los niveles de inmunidad en un estado de protección (22).

Plataformas de vacunas utilizadas en la población mexicana

La pandemia causada por COVID-19, evidenció la fragilidad de los sistemas de salud pública, en materia de prevención y atención. México no fue la excepción, sin embargo el ambiente global de emergencia sanitaria, logró cooperación entre los organismos reguladores y prestadores de salud a nivel mundial, estatal y local, para asegurar en la mayor medida posible, el acceso universal a la vacunación contra SARS-CoV-2. La importancia de desarrollar plataformas de vacunas eficientes de manera casi inmediata, radica no solo en la mitigación de la enfermedad per se, sino también de los efectos económicos y sociales que le acompañaron. Actualmente en nuestro país existen 15 plataformas de vacunas aprobadas para su uso de emergencia por la COFEPRIS, entre las que destacan: BNT162b2 (Pfizer), AZD1222 de AstraZeneca S.A. de C.V., Ad5-nCoV de Cansino Biologics Inc., AZD1222 de Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México, S.A. de C.V., Partículas Adenovirales recombinantes, serotipo 26 y Partículas Adenovirales recombinantes, serotipo 5 de FSBI Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of Russia, Antígeno SARS-CoV-2 de Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México, S.A. de C.V., BBV152 de Bharat Biotech International Limited, AZD1222 de Secretaría de Salud, Ad26.COV2-S de Janssen-Cilag S.A. de C.V, CX-024414 de Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México, S.A. de C.V., Antígeno SARS-CoV-2 de Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México, S.A. de C.V., Proteína recombinante del dominio de unión al receptor del virus SARS-CoV-2 (RBD) de Empresa Laboratorios AICA, BNT162b2 (Tris-Sacarosa) de Pfizer S.A. de C.V., Proteína recombinantes del dominio de unión de receptor del virus SARS-CoV-2 conjugado a toxoide tetánico (Soberana 02 de Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN), Proteína recombinantes del dominio de unión de receptor del virus SARS-CoV-2 (RBD dimérico) (Soberana Plus) de Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN) (18). De las anteriormente mencionadas las plataformas utilizadas son: ADN recombinante, ARN mensajero, Virus inactivado, Vector viral no replicante. El presente estudio recabó datos una población de pacientes usuarios de los servicios diagnósticos de Laboratorios Ruiz, en la ciudad de Puebla, México, en un periodo de tiempo que comprende el mes de mayo de 2021 a Julio de 2022. En donde se observó el uso de las siguientes plataformas de vacunas de las farmacéuticas: Astra Zéneca, Cansino, Jhonson, Moderna, Pfizer, Sinovac y Sputnik. Para comprender la respuesta inmunológica lograda a través de la vacunación, es necesario dilucidar algunos aspectos técnicos de las diferentes plataformas de vacunas utilizadas en nuestro medio. La vacuna Pfizer- BioNTech es una vacuna de naturaleza ARN

formulada en nanopartículas lipídicas que codifica para la proteína S del SARS-Cov-2. Su uso de emergencia fue aprobado el 20 de noviembre de 2020, por la FDA. El uso previsto de este biológico es para “la inmunización activa para la prevención de la enfermedad por COVID-19, causada por SARS-Cov-2, en personas de 16 años de edad y mayores”. El régimen de utilización propuesto por el fabricante es de 2 dosis, de 30 microgramos cada una administradas con 21 días de diferencia entre si. Para la aprobación de su uso, la FDA requiere conocer datos sobre su seguridad y eficacia. Estos datos fueron obtenidos mediante un ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de fase 3, aplicado a 44 mil participantes. La vacuna evidenció su eficacia demostrando la incidencia de enfermedad por COVID-19 en torno a los participantes que no curusaron con infección por SARS-CoV-2 antes o durante el la aplicación del esquema de vacunación que incluyera 2 dosis. Los análisis en subgrupos de este criterio de eficacia mostraron similitud en todos los grupos estudiados con diferencias de edad, género, grupo racial y étnico y pacientes con comorbilidades predisponentes a desarrollar enfermedad grave por COVID-19. Asi mismo el requisito de los datos de seguridad de su uso, se sustentan en datos obtenidos a partir del estudio de 38 000 participantes ≥ 16 años de edad asignados al azar 1:1 a la vacuna o al placebo con 2 meses de seguimiento después de la segunda dosis que demuestran un perfil de seguridad sin problemas específicos. Dentro de esta observación de riesgos, las reacciones adversas mayormente presentadas fueron: reacciones locales en el sitio de inoculación (84,1 %), fatiga (62,9 %), dolor de cabeza (55,1 %), dolor muscular (38,3 %), escalofríos (31,9 %), dolor en las articulaciones (23,6 %), fiebre (14,2 %); Por otro lado las reacciones adversas graves se presentaron solo en el 0,0 % al 4,6 % de los participantes y fueron mayormente observadas después de la aplicación de la segunda dosis. En general, estas reacciones graves fueron menos frecuentes en los participantes ≥ 55 años ($\leq 2,8$ %) en comparación con los participantes más jóvenes ($\leq 4,6$ %).). La frecuencia de las reacciones adversas graves fue $< 0,5$ %. La vacuna tiene como requisitos de conservación, el suministro en un vial congelado [entre -80 °C y -60 °C (-112 °F y -76 °F)] que contiene 5 dosis. Para su uso necesita ser descongelada y diluida en su vial original con 1,8 ml de solución de cloruro de sodio al 0,9% estéril, antes de la administración. Una vez terminada la preparación el vial contendrá 5 dosis de 0,3 ml cada una. Los viales de dosis múltiples deben almacenarse entre 2 °C y 25 °C y usarse dentro de las 6 horas posteriores desde el momento de la dilución. La via de administración es intramuscular (23). Otra de las vacunas identificadas por su uso frecuente en la población, es la desarrollada por la farmacéutica Astra Zéneca. La vacuna AZD1222 está creada sobre una plataforma recombinante con adenovirus de chimpancé no replicante (ChAdOx1-S) como vector viral. Este vector contiene la estructura completa de la glicoproteína de superficie (S). El vector contiene el gen (ADN) de la proteína S y lo inserta en las células del huesped; dentro de la célula el gen es leído para codificar la producción de proteína S del SARS-CoV-2. Esto con el fin de montar una respuesta inmune protectora contra COVID-19. Para la aprobación de su uso, se estudiaron factores como eficacia, seguridad e inmunogenicidad. La eficacia de su uso se sustenta en datos obtenidos de participantes que recibieron dos dosis estándar; la eficacia mayor, se presentó en aquellos con un intervalo más extenso con respecto a

las semanas de uso con eficacia 81,3% a ≥ 12 semanas de la aplicación versus, eficacia 55,1% a < 6 semanas de uso. Durante sus estudios de aprobación, se midió la eficacia mediante las respuestas de producción anticuerpos IgG, de dos clases: de dominio de unión al receptor (RBD) $>97\%$ y de anticuerpos neutralizantes $>80\%$ posterior al uso de una dosis única estándar, o dosis baja. Se detectaron $>99\%$ de ambos anticuerpos posterior al uso de una segunda dosis. La seroconversión de ambos tipos de anticuerpos aumenta cuando se aumenta el intervalo de tiempo de uso entre ambas dosis, por lo que se recomienda que este sea de 4 a 12 semanas. Por otro lado la seguridad de su uso se sustenta en una base de datos, en la que hubo 23745 participantes. La vacuna AZD1222 se mostró como bien tolerada y los efectos adversos locales y sistémicos que derivaron de su uso van de leves a moderados. Entre los efectos adversos se encuentran: dolor de cabeza, náuseas, mialgia, artralgia, fatiga, malestar, fiebre, escalofríos, y molestias locales en la zona de aplicación como son dolor, calor o prurito. A mediados del mes de marzo de 2021, la Agencia Europea de Medicamentos realizó el comunicado derivado del análisis de los casos, en donde los usuarios hicieron eventos anormales de coagulación como trombosis del seno venoso cerebral, CVST y trombosis de la vena esplácnica asociados a trombocitopenia y en algunos casos sangrado, que se presentaron posterior al uso de la vacuna AZD1222. Por ello, la EMA señaló que el Comité de Evaluación de Riesgos de Farmacovigilancia, concluyó que los coágulos de sangre inusuales (acompañados de trombocitopenia) deben incluirse dentro de los efectos secundarios muy raros, al uso de la vacuna AstraZeneca. Con respecto a su conservación la vacuna debe almacenarse a una temperatura entre $+2^{\circ}\text{C}$ y $+8^{\circ}\text{C}$. El envase debe ser protegido de la luz y no se recomienda congelar. Cada frasco contiene suspensión inyectable en vial multidosis (presentación de 10 dosis de 5mL). La vía de administración es intramuscular en un esquema de dos dosis (0,5 mL cada una). La segunda dosis se puede administrar entre 4 a 12 semanas (28 a 84 días) posterior a la primera dosis (24). La vacuna desarrollada por Moderna SPIKEVAX (COVID-19 Vaccine, mRNA) contiene 100 mcg de ARN mensajero (ARNm) modificado con nucleósidos que codifica la glicoproteína (S) Spike del virus SARS-CoV-2. El ARNm, se encuentra contenido en partículas lipídicas, lo que permite su ingreso en las células huésped para permitir la expresión del antígeno S del SARS-CoV-2. La respuesta inmune al antígeno S, provocada por la vacuna, confiere una alta capacidad de protección contra el virus. La eficacia de la vacuna SPIKEVAX se registró en un 93,2%, cuyos datos de sustento fueron obtenidos en un ensayo clínico en fase 3, aleatorizado, controlado con placebo, ciego para el observador, en participantes de 18 años de edad. La aleatorización se estratificó por edad y riesgo para la salud: 18 a < 65 años sin comorbilidades (sin riesgo de progresión a COVID-19 grave), 18 a < 65 años con comorbilidades (con riesgo de progresión a COVID-19 grave), y mayores de 65 años con o sin comorbilidades. Además de la identificación de la variante B.1.2. se incluyeron las variantes B.1.427/B.1.429 (Epsilon), P.1 (Gamma) y P.2 (Zeta). El resultado fue que los casos en los que recibieron la vacuna frente al placebo no sugirió una disminución de la eficacia de la vacuna contra estas variantes. La presentación de la vacuna se suministra en viales de dosis múltiples, no se recomienda la exposición a la luz ambiental y debe evitarse la exposición a la luz solar directa y la

luz ultravioleta. Dentro de las condiciones para su almacenamiento en estado de congelación debe permanecer entre -50°C a -15°C (-58°F a 5°F) y después de la descongelación de 2°C a 8°C (36°F a 46°F). Los viales se pueden almacenar refrigerados entre 2°C y 8°C (36°F y 46°F) hasta 30 días antes del primer uso. Los viales deben desecharse 12 horas después de la primera punción. No se recomienda volver a congelar una vez descongelado. La vía de administración es intramuscular en una serie de dos dosis (0,5 ml cada una) con 1 mes de diferencia (25). Por otro lado la vacuna Cansino, Convidecia o Ad5-nCoV es una vacuna recombinante que utiliza vector viral no replicante de adenovirus tipo 5 que expresa la glicoproteína Spike (S) del SARS-CoV-2. La formulación contiene 5×10^{10} partículas virales, y se administra en una dosis. El laboratorio utilizó la plataforma de vacuna vectorial ya probada para el desarrollo de vacuna contra el Ébola. La eficacia de la vacuna fue declarada en un 65,7% para prevenir todos los casos sintomáticos de Covid-19 ocurridos entre 28 días a 52 semanas después de la vacunación. Estos datos se encuentran sustentados en estudios clínicos realizados en 2 fases. En la fase 1 del estudio, se incluyeron personas sanas de 18-60 años se evaluó seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de la vacuna, al recibir una inyección por vía intramuscular. Los resultados del estudio arrojaron que la vacuna es tolerable e inmunogénica 28 días después de la vacunación. La respuesta humoral contra el SARS-CoV-2 aumentó alrededor del día 14 y alcanzó su máximo nivel en el día 28 después de la vacunación. Se pudo observar una respuesta rápida de células T específicas desde el día 14 después de la vacunación en los 3 grupos. En la fase 2 se evaluaron personas sanas mayores a 18 años en adelante, en donde se buscaba evidenciar la seguridad e inmunogenicidad de dos grupos de dosis (5×10^{10} , 1×10^{11} partículas virales). En ambos grupos las reacciones adversas sistémicas más comunes fueron fatiga (34% grupo 1 y 42% grupo 2), fiebre (16% grupo 1 y 32% grupo 2) y dolor de cabeza (28% grupo 1 y 29% grupo 2). La reacción adversa local más común fue dolor en el sitio de punción (56% grupo 1 y 57% grupo 2). No se reportaron eventos adversos serios. Se concluyó que la vacuna con dosis 5×10^{10} partículas virales es segura e induce respuesta inmune significativa en la mayoría de los receptores después de una dosis de la vacuna. La vacuna se administra vía intramuscular en una sola dosis. Las condiciones para su almacenaje y transporte son entre $+2^{\circ}\text{C}$ y $+8^{\circ}\text{C}$. La vacuna Sputnik, es una plataforma desarrollada a partir de partículas recombinantes del serotipo 26 de Adenovirus Humano (Ad26-S) que codifican para la proteína S del virus SARS-CoV-2 en la primera dosis. La segunda dosis contiene partículas recombinantes del serotipo 5 del coronavirus humano que codifican para la proteína S del virus. La eficacia probada de este producto biológico, es de un 92% después de la primera dosis, en un estudio comparado con placebo. Las recomendaciones para su almacenaje son mantenerla en temperaturas de entre $+2^{\circ}\text{C}$ a $+8^{\circ}\text{C}$, protegida de la luz. No debe congelarse. Tiene una vida útil de 3 meses a partir de la fecha de producción. En cuanto a sus efectos adversos, se pueden presentar de manera local: sensibilidad e hinchazón en el lugar de la inyección, dolor, edema, prurito, aumento de la temperatura de la piel en el lugar de la inyección. De los efectos sistémicos encontramos de manera muy frecuente síntomas pseudogripales, caracterizados por

escalofríos, artralgia y mialgia, así como astenia, malestar, fiebre, dolor orofaríngeo, congestión, dolor de garganta, rinorrea, cefalea, náuseas, vómitos, pérdida de apetito y dispepsia. Otros efectos secundarios que se pueden encontrar de manera menos frecuentes son: ganglios linfáticos regionales ocasionalmente agrandados, mareos, síncope. Algunos pacientes pueden desarrollar reacciones alérgicas, niveles elevados de transaminasas hepáticas a corto plazo, niveles elevados de creatinina sérica y CPK (26). La importancia de conocer los mecanismo de acción inmunológica así como las condiciones de uso y conservación de las diversas plataformas de vacunas utilizadas en nuestro medio, radica en poder analizar todas las variaciones que pudieran afectar o interferir con su misión principal, es decir la estimulación inmunológica de los usuarios. Teniendo una perspectiva sobre la función inmunológica, los mecanismos de acción de las plataformas de vacunas así como los mecanismos de acción de las vacunas usadas en nuestro medio, podremos plantearnos cual sería la mejor opción para tener un panorama general de cuales han sido los efectos inmunológicos en la población vacunada. A pesar de contar con una gran gama de información sobre las vacunas, en cuanto a su efectividad, y aunque esta efectividad fue sustentada en ensayos clínicos, la masividad de su uso dificultaría conocer los verdaderos efectos en la población general. Así mismo conocer los niveles de inmunidad logrados por la vacuna, permitiría a los organismos prestadores de servicios de salud pública, organizar los calendarios de vacunación de acuerdo a las poblaciones en riesgo. Aunque todas las vacunas emiten sus recomendaciones para la periodicidad de su uso, desde la fabricación, valdría la pena analizar si estos datos concuerdan con la aplicación en pacientes de las distintas regiones del mundo y que cursan con condiciones clínicas no consideradas dentro de las investigaciones para su fabricación.

El logro de desarrollar tantas vacunas ante un agente causal desconocido en un escenario de crisis sanitaria por pandemia, no tiene precedentes en la historia de la humanidad. Sin embargo necesitamos tomarnos el tiempo necesario para observar el comportamiento de la población inmunizada, con el fin de mejorar siempre los resultados para los biológicos de reciente creación.

6. Justificación

El alcance de las diferentes plataformas de vacunas contra SARS-COV2 aún no han sido establecido de manera definitiva. Las recomendaciones emitidas por la Organización Mundial de la Salud así como los efectos inmunológicos secundarios a su uso como es el caso de la seroconversión, aún no han sido dilucidados del todo. Si bien existen estudios clínicos que abordan este tópico como tema central en pequeñas muestras de población, las autoridades en materia de Salud Pública no exhiben datos oficiales sobre la efectividad de la vacunas, a pesar de sus evidentes beneficios en la población usuaria. La evaluación de la producción de anticuerpos mediante la cuantificación seriada de IgG contra proteína S, por la metodología de quimioluminiscencia, representa un instrumento eficaz, accesible y costeable, que puede orientarnos sobre la efectividad de las diversas plataformas de vacunas utilizadas en grandes poblaciones de nuestro medio; así mismo, conocer la duración de la presencia de anticuerpos neutralizantes contra proteína S, podría ayudarnos a establecer los calendarios de vacunación pertinentes, para reducir, no solo la incidencia de casos sino también el impacto económico alrededor de las dosis y periodicidad de la aplicación de vacunas a la población mexicana.

7. Definición del problema

Los calendarios de vacunación contra Covid 19 no se han establecido de manera definitiva en la población Mexicana, las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, estiman que las dosis de refuerzo en la población general, oscilan entre los 6 y 4 meses. Según datos oficiales, de la Secretaría de Salud, en nuestro país desde el inicio de la vacunación en Enero de 2021 se han aplicado 209.6 millones de dosis (27). El impacto del uso de estas vacunas no solo se ha reflejado en la disminución de los casos de gravedad y el progresivo control de la emergencia sanitaria, sino que ha impactado de manera económica al sistema de salud pública de nuestro país, disminuyendo los costos en la atención de pacientes en estado de hospitalización. Sin embargo en materia económica, el gasto implicado en la vacunación para el año 2021 fue de 40 mil millones de pesos. Tomando en cuenta el clima de desalereación económica que surgió tras la pandemia, hacer una aproximación de la eficacia de las diferentes plataformas de vacunas utilizadas en nuestro medio, asociándola a las variables clínicas más comunes de nuestra población, nos permitiría establecer calendarios de vacunación mucho más pertinentes, con lo cual en materia de economía de la salud, podríamos optimizar el uso de las mismas, asegurando el acceso a las poblaciones más vulnerables; además de controlar los estragos sociales y económicos de la pandemia.

8. Objetivos.

8.1 Objetivo General

Comparar las titulaciones séricas de anticuerpos IgG neutralizantes, entre los usuarios de las diferentes plataformas de vacunas en pacietes de Laboratorios Ruiz de Puebla. Con el fin de obtener una fotografía inicial sobre la efectividad de los programas de vacunación contra COVID-19. La metodología utilizada en la cuantificación de anticuerpos IgGs representa un medio efectivo para

medir, de manera indirecta la estimulación inmunológica inducida por las diferentes marcas de vacunas utilizadas en nuestro medio.

8.2 Objetivos específicos

La vacuna desarrollada ante la situación de pandemia por Covid-19 aún no ha podido dilucidar los efectos inmunológicos de las diversas plataformas de vacunas se irán dilucidando al paso del tiempo y conforme su utilización se haga de manera masiva. La cuantificación de anticuerpos IgG contra proteína S nos ayudará a identificar, los efectos inmunológicos en nuestra población, con el fin de planear los calendarios de vacunación de una manera mucho más eficiente, para optimizar los recursos en un contexto de salud.

9. Material y Métodos

9.1 Tipo y diseño de la investigación.

El presente es un estudio transversal de tipo prospectivo, descriptivo y observacional iniciado en el mes de mayo de 2021, en el que se realizara la cuantificación sérica de anticuerpos neutralizantes de tipo IgG contra proteína S del Sars-Cov-2, por la metodología de quimioluminiscencia (positivos>50 URL). En pacientes con esquema de vacunación completo (2 dosis), en la población usuaria de servicios diagnósticos de Laboratorios Ruiz.

9.2 Definición del universo de trabajo

La población estudiada, se remonta a los usuarios de los servicios diagnósticos de laboratorios Ruiz, quienes se benefician de la medición de anticuerpos IgG contra proteína S, y que hayan sido previamente inmunizados, con 2 dosis de vacuna contra Covid-19.

La población elegible se conforma de individuos de entre 18 y 85 años, con esquema de vacunación completo (2 dosis), independientemente del tipo de plataforma de vacuna que hayan utilizado y que soliciten la cuantificación de anticuerpos IgG-S por quimioluminiscencia en el laboratorio.

9.3 Definición del grupo de observación.

Criterios de inclusión:

-Adultos de entre 18 y 85 años, previamente inmunizados con al menos dos dosis de vacuna contra COVID-19, con cualquiera de las marcas de vacunas administradas a la población, y que solicitaron la prueba de cuantificación de anticuerpos IgG contra proteína S para Sars-Cov-2, aceptando participar en el estudio.

Criterios de exclusión:

-Pacientes que no cuentan con el esquema completo de vacunación contra COVID-19 (una sola dosis)
-Pacientes que actualmente cursan con la enfermedad por COVID-19 y solicitan perfil de anticuerpos IgG/IgM contra proteína N y S respectivamente.

9.4 Estrategia de muestreo

-Tipo de muestreo: Se realiza un muestreo no probabilístico, por conveniencia. Ya que se utilizaron datos de los usuarios de servicios diagnósticos de laboratorios Ruiz; los cuales fueron recabados mediante un cuestionario pre-analítico en el cual se buscó conocer la marca de vacunas utilizadas,

la edad, el sexo y los antecedentes de enfermedad previa por Covid-19. Este cuestionario pre-analítico fue aplicado a todos los pacientes mayores de 18 años, quienes solicitaron la prueba cuantitativa de anticuerpos IgG contra proteína S.

9.5 Definición de variables y escalas de medición

Tabla 1. Definición de variables y escalas de medición

Variable	Tipo de Variable	Definición Operacional	Escala de medición	Tipo de Variable	Indicadores
Edad	Cuantitativa Continúa	Reportada en el expediente	Razón	Independiente	Años
Enfermedad previa por covid 19	Cualitativa Nominal	Reportada en el cuestionario	Nominal	Dependiente	PCR Positiva
Número de Dosis de Vacunación Covid	Cuantitativa Continúa	Reportada en el cuestionario	Nominal	Dependiente	Certificado de vacunación
Sexo	Cualitativa Nominal	Reportada en el expediente	Razón	Independiente	Femenino/Masculino
Días transcurridos entre la última dosis de vacunación y la toma de muestra	Cuantitativa Continúa	Reportada en el cuestionario	Nominal	Dependiente	Días

Se estudiaron las siguientes variables: Edad, sexo, días transcurridos desde la última dosis de vacunación hasta la toma de muestra y enfermedad previa por COVID-19.

10. Métodos Analíticos

El presente estudio se realizó en Laboratorios Ruiz de Puebla, en un periodo comprendido desde mayo de 2021 hasta Junio de 2022, en donde se recabaron datos de 912 pacientes, del total de solicitantes de la prueba de cuantificación de anticuerpos IgGS en suero. Los datos de interés se obtuvieron mediante el diseño de un cuestionario pre analítico, en donde se buscaba conocer: el número de dosis de vacuna contra COVID-19 aplicadas, la edad y sexo del paciente, el antecedente de enfermedad previa por COVID-19 y la marca de vacuna que utilizaron; así como los días transcurridos desde la aplicación de última dosis de vacuna y la medición acutal de anticuerpos. El cuestionario fue aplicado antes de iniciar la toma de muestra.

Imagen 1. Cuestionario Pre-Analítico IgG ANTI S SARS-CoV-2

Laboratorios Ruiz

CUESTIONARIO PRE-ANALÍTICO
IgG ANTI S SARS-CoV-2

Coloque aquí la etiqueta con los datos del paciente.

Envíe la hoja en el mismo paquete donde incluyó la muestra.

1. ¿Presento la enfermedad de COVID-19? SI NO
Fecha: _____

2. ¿Se ha aplicado la vacuna contra SARS-CoV-2? SI NO
Marca: _____

3. Fecha de última dosis: _____

Observaciones: _____

Sistema de Calidad de LCP Derechos reservados, Laboratorios Clínicos de Puebla S.A. de C.V. prohibida la reproducción parcial o total de este documento IM-F00051 REV. 0 / 2021-04-30 Documento Controlado

Una vez recabados los datos del cuestionario pre analítico, verificados los datos del paciente, así como el tiempo mínimo de ayuno requerido (4 horas), se realizó la toma de muestra de sangre total, en tubo de gel, mediante punción venosa con sistema vacutainer. Las muestras fueron conducidas hasta el área de acondicionamiento para ser centrifugadas a 2800 rpm durante 10 minutos, para separar el suero de los elementos formes de la sangre. Se corrobora en el área de acondicionamiento que las muestras cumplan con las condiciones pre-analíticas enlistadas en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de la muestra

Tipo:	Suero
Volumen:	Óptimo: 2 ml Mínimo: 1 ml
Contenedor:	Tubo tapón oro con gel separador
Estabilidad:	15- 25 °C: 2 días 2-8° C: 7 días -10° C: 7 días evitar más de dos ciclos de descongelación.
Criterios de rechazo:	Volumen inferior al mínimo Contenedor incorrecto Mala conservación de la muestra Lipemia: 3+ o TGD > 2000mg/dL Ictericia: 3+ o Bilirrubina (conjugada/no conjugada) >40 mg/dL

Las muestras en condiciones adecuadas, fueron trasladadas al laboratorio de inmunología, área de endocrinología, donde previo registro de llegada se analizaron en el instrumento Architect, de la casa comercial Abbot, mediante el ensayo SARS-COV-2 IgG II Quant. Este ensayo se define como un inmunoanálisis de micropartículas, para la determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG contra proteína S de SARS-Cov-2 en suero. Al ser un inmunoensayo de dos pasos requiere la combinación de la muestra e incubación con diluyente y micropartículas paramagnéticas, las cuales están recubiertas de antígeno SARS-CoV-2. Una vez combinados estos elementos se realiza un lavado y posterior a ello se añade un conjugado de anticuerpos anti IgG humana marcados con acridinio. Se realiza una incubación y tras un segundo ciclo de lavado se añaden las soluciones activadora y pre-activadora. La reacción química desencadena la emisión de luz detectada por el equipo y traducida a Unidades Relativas de Luz (URL). El principio del ensayo sustenta que la relación es directamente proporcional entre la cantidad de anticuerpos IgGs contra el virus SARS-Cov-2 presentes en la muestra y las URL registradas por el sistema óptico de la plataforma de análisis.

Material

Recipientes de reacción RV ARCHITECT ABBOTT

Copas para muestra ARCHITECT ABBOTT

Septum ARCHITECT ABBOTT

Bandeja porta gradillas ARCHITECT ABBOTT

Puntas desechables ARCHITECT ABBOTT

Gradillas para tubos ARCHITECT ABBOTT

Equipo

Micropipetas de volumen variable

Controles ambientales

Temperatura de funcionamiento: 15-30 °C

Humedad: 10-85% no condensado de humedad relativa a 25°

Instrumentos

Architecth Abbott i 2000SR

Procedimiento

Previo uso del equipo de protección personal (bata de laboratorio, guantes, careta, googles de protección y cubrebocas) el químico o técnico analista, cargan los equipos con los reactivos para proceso. Así mismo, para garantizar el óptimo funcionamiento del instrumento analizador se realizan las acciones de mantenimiento diario, semanal o mensual, según sea requerido. Se realizan los procesos correspondientes con material de calibración en caso de ser necesario, y se analiza el material de control de calidad interno antes de iniciar el proceso.

Una vez corroborados los datos arrojados por dichos procedimientos, se procede al análisis de la muestra en el siguiente orden:

- a) El analista verifica que la muestra cumpla los criterios de aceptación.
- b) Comprobar que la muestra no contiene un coagulo de fibrina.
- c) Colocar las muestras en las gradillas del instrumento Architect.
- d) Seleccionar los módulos de proceso y colocar en estado "PROCESAR" (F8)
- e) Corroborar en la pantalla del instrumento que cada gradilla haya sido tomada y esté en estado "proceso" y sin alarmas evidentes.
- f) Revisar en la pantalla de "resultado almacenados" si hay necesidad de realizar algún re-análisis, antes de descargar las gradillas.
- g) Tapar y descargar las muestras del instrumento
- h) Colocar los tubos en la gradilla "muestras procesadas".

Revisión de resultados

Criterios de Repetición:

Resultados fuera de linealidad: 21, 000 AU/mL a 40,000 AU/mL. Factor de dilución: 1:2

El instrumento realiza el cálculo utilizando el factor de dilución empleado (1:2) para reportar el valor de forma automática.

Especificaciones de desempeño

Se realizaron los análisis de precisión, exactitud, linealidad y veracidad de acuerdo a los protocolos establecidos por la guía *EP06-A del CLSI*, y las estimaciones reportadas por el fabricante de la prueba.

Reporte de Resultados

El intervalo de valores comunicables establecido por el fabricante basado en la *Guía EP34* del CLSI, primera edición, se encuentra resumido en la siguiente tabla:

Tabla 3. Intervalos reportables de la prueba

Unidades	AU/mL
Intervalo analítico de medida (AMI)	21.0-40.000
Intervalo de medida ampliado (EMI)	40.000-80.000
Intervalo de valores comunicables	6.8-80.000

Los resultados menores al límite inferior de linealidad se reportan como <21.0 AU/mL con la nota "Resultado inferior al limite de detección 21.0 UA/mL".

Los resultados superiores al límite máximo de muestras ya diluidas se reportan como >80, 000 UA/mL, con la nota: "resultado superior al límite máximo de cuantificación de 80,000 UA/mL. Resultado confirmado por análisis repetido".

Intervalos de Referencia

Negativo: <50.0 AU/mL

Positivo: >50. 0 AU/mL

9.. Recolección de información

Fuentes de información

La información, de la que derivan los datos utilizados en esta investigación se obtuvo, previa autorización de los pacientes, mediante un cuestionario pre-analítico. Una vez obtenidos y aplicando los criterios de exclusión mencionados previamente, se registraron de manera manual, en una base de datos en excell. Donde se analizaron y se crearon las gráficas demostrativas de los resultados obtenidos.

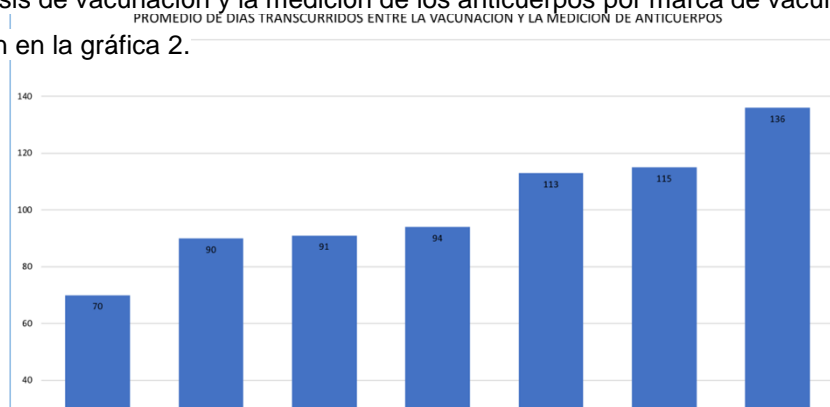
10. Resultados

Durante este trabajo, se analizaron datos registrados desde el mes de Mayo de 2021 hasta el mes de Julio de 2022. Obteniendo un total de 912 pacientes, de los cuales fueron 52% hombres y 48% mujeres. La edad promedio de nuestros pacientes oscila en los 52 años. Cabe destacar que los pacientes que formaron parte de este estudio, fueron previamente vacunados con un esquema completo de vacunación (2 dosis), de alguna de las vacunas disponibles en nuestro medio. El promedio de días transcurridos entre la última dosis de vacuna y la toma de la muestra fue de 98 días. El total de usuarios por marca de vacuna se observa en la Gráfica 1.



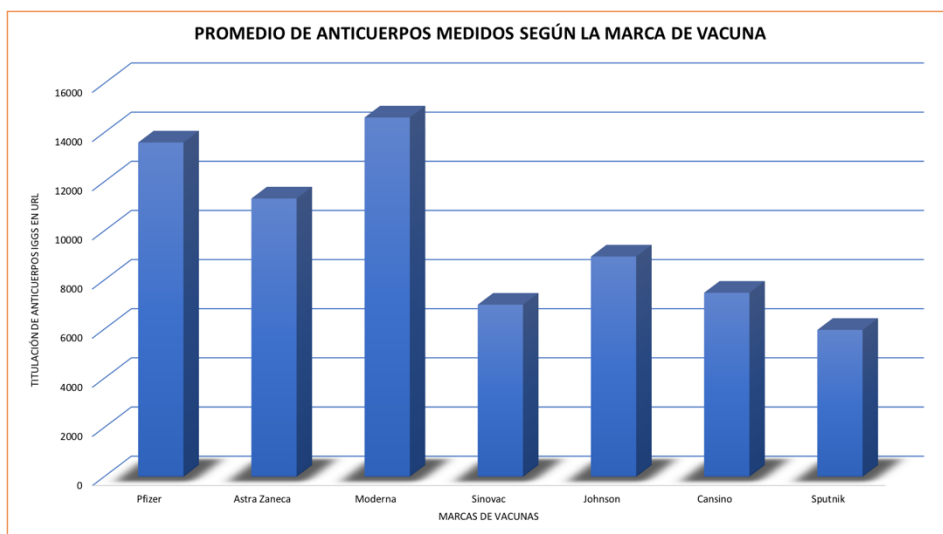
Gráfica 1. Porcentaje de usuarios según marca de vacuna.

Con respecto a los usuarios de las distintas plataformas de vacunas disponibles en nuestro medio, según la organización de los calendarios de vacunación y la disponibilidad del producto biológico, pudimos dilucidar que la marca de vacunas más utilizada en nuestro grupo de estudio fue Pfizer con un total de 547 usuarios; por otro lado la menos utilizada fue Sputnik con 8 usuarios. Así mismo mediante nuestro instrumento de medición pudimos promediar el número de días transcurridos entre la última dosis de vacunación y la medición de los anticuerpos por marca de vacuna. Los resultados se observan en la gráfica 2.



Gráfica 2. Promedio de días transcurridos entre la última dosis de vacunación y el estudio de medición de anticuerpos IgG.

Según datos de la COFEPRIS en México, se encuentran autorizadas para su uso 14 distintas plataformas de vacunas. Entre ellas no figura la de la marca Moderna, sin embargo, tuvimos un porcentaje de uso de 11% en nuestra población de estudio. Este fenómeno tiene su explicación en el acceso a la vacuna que algunos de nuestros usuarios consiguieron gracias a su ingreso a los Estados Unidos de América, para su vacunación. En contraste los días transcurridos desde la vacunación hasta la medición de anticuerpos con los vacunados por la marca Astra Zéneca, es de apenas 70 días. Ya fue la marca de biológico a la que se tuvo acceso mas recientemente en nuestro medio. Para el objetivo de estudio del presente trabajo y cumpliendo con la utilidad clínica de la prueba, se hizo una correlación del promedio de las mediciones de anticuerpos IgG contra proteína S mediante quimioluminiscencia, con la marca de vacuna utilizada por el paciente. La cual se representa en la gráfica 3.



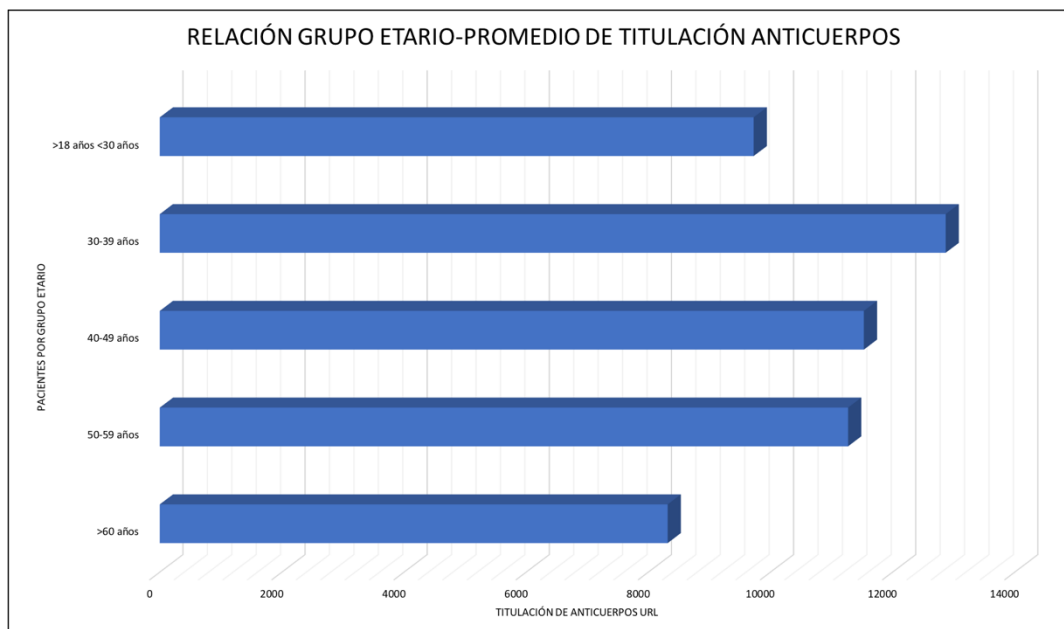
Gráfica 3. Promedio de anticuerpos generados, y medidos por quimioluminiscencia, según la marca de vacuna

Mediante la integración de estos datos, en la tabla 1 se plasma la relación de usuarios por marca de vacuna, así como los días transcurridos desde la última dosis utilizada.

MARCA DE VACUNA	DÍAS TRASNCURRIDOS DESDE LA ÚLTIMA DOSIS	TITULACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIDOS URL
ASTRA ZÉNECA	70	11317.95
CANSINO	113	7482.88
JHONSON	115	8956.64
MODERNA	136	14614.39
PFIZER	91	13596.42
SINOVAC	94	6998.04
SPUTNIK	90	5970.13

Tabla 4. Relación marca de vacuna, días transcurridos desde la última dosis y titulación de anticuerpos medidos en URL.

De acuerdo a la organización para la aplicación de vacunas en México, según los lineamientos de la secretaría de salud, y con el fin de organizar los datos obtenidos en la presente investigación, nos dimos a la tarea de segmentar los grupos etarios según la gráfica 4. Del análisis de los datos obtuvimos que la población entre 30-39 años tuvo una medición promedio de 12869 URL para IgGS; en contraste la población >60 años cuyo promedio fue de 8316.92 URL.



Gráfica 4. Relación de titulación anticuerpos IgGS-Grupo etario.

Así mismo nuestro instrumento de medición nos permitió conocer el promedio de días transcurridos entre la última dosis aplicada a los pacientes, según la segmentación por grupo etario. La información obtenida se plasma en la tabla 2.

PACIENTES POR GRUPO ETARIO	TITULACIÓN PROMEDIO AC. IgGS MEDIDOS EN URL	PROMEDIO DE DÍAS TRANSCURRIDOS DESDE LA ÚLTIMA DOSIS
>18 años <30 años	9725.41	86
30-39 años	12869.26	88
40-49 años	11530.45	81
50-59 años	11271.38	83
>60 años	8316.92	97

Tabla 5. Relación grupo etario, promedio de titulaciones de anticuerpos medidos en URL y promedio días transcurridos desde la última dosis de vacuna

Otra de las variables analizadas mediante nuestro instrumento pre analítico, fue la relación entre el promedio de titulaciones de anticuerpos IgGS reportados en URL y el antecedente de enfermedad previa por COVID 19. De ello obtuvimos que 194 pacientes confirmaron haber cursado con enfermedad por COVID-19 diagnosticada por prueba de PCR. De igual forma 718 pacientes refirieron nunca haber cursado con enfermedad por COVID-19. Los resultados de la relación antecedente de enfermedad por COVID-19- promedio de cuantificación anticuerpos IgGS, se presenta en la gráfica 5.



Gráfico 5. Relación enfermedad previa por COVID-19- Titulación de anticuerpos IgG-S

11. Discusión de resultados

De los resultados obtenidos a partir de la investigación de 912 pacientes usuarios de los servicios diagnósticos de Laboratorios Ruiz, encontramos que los 477 hombres y 465 mujeres recibieron inmunización contra COVID-19, presentando un esquema completo de 2 dosis, que según los

lineamientos sugeridos por la Secretaría de Salud corresponde a un esquema primario de vacunación completo. La edad promedio de los pacientes que solicitaron la prueba de cuantificación de anticuerpos IgG-S fue de 52 años. Cabe destacar que durante la definición de la población en estudio, tomamos en cuenta solamente a aquellos pacientes mayores de 18 años, pues al inicio de este estudio, la seguridad de uso del biológico para menores de 18 años no estaba aún aprobada. En nuestra población la vacuna más utilizada fue Pfizer, y esto se debe a la disponibilidad del biológico, según datos proporcionados por la secretaría de salud al 30 de abril de 2021 México habría recibido 10 millones 660 mil dosis del biológico de la farmacéutica (28). Con respecto al promedio de días transcurridos entre la última dosis de vacuna y la toma de la muestra pudimos observar que fue de 98 días, esto debido a la organización de los calendarios de vacunación, que iniciaron la inmunización entre los meses de Febrero a Mayo del año 2021 y las segundas dosis que completarían el esquema, se aplicaron aproximadamente 3 meses después. Así mismo mediante nuestro instrumento de medición pudimos promediar el número de días transcurridos entre la última dosis de vacunación y la medición de los anticuerpos por marca de vacuna, Siendo de 91 días para Pfizer, 70 días para Astra Zéneca, 136 días para Moderna, 94 días para Sinovac, 115 para Jhonson, 113 días para Cansino, y 90 días para Sputnik. Como se mencionó anteriormente, el acceso a la vacuna Moderna, solamente se dio por aquellos pacientes que acudieron al país vecino de Estados Unidos de Norteamérica, para ser vacunados. Una vez obtenidos estos datos nos dimos a la tarea de correlacionar las cuantificaciones promedio de anticuerpos IgG-S por quimioluminiscencia con el promedio de días transcurridos desde la aplicación de la última dosis. Moderna tuvo un promedio de días desde la última dosis de 136 días y el promedio de cuantificación de anticuerpos con esta plataforma de vacuna fue de 14,614 URL, lo cual podría darnos una idea de la duración respuesta inmunológica humoral que produce. Como se mencionó anteriormente en este trabajo la vacuna SPIKEVAX es una vacuna de ARNm modificado con nucleósidos que codifica la glicoproteína (S) Spike del virus SARS-CoV-2. El ARNm, se encuentra contenido en partículas lipídicas. La vía de administración es intramuscular en una serie de dos dosis (0,5 ml cada una) con 1 mes de diferencia. Otro dato importante registrado en nuestro cuestionario pre analítico, fue la edad de los pacientes en los que se realizó la cuantificación de anticuerpos. Del análisis de estos datos observamos que la población entre 30-39 años tuvo una medición promedio de 12869 URL para IgGS; en contraste la población >60 años cuyo promedio fue de 8316.92 URL. Esta observación, tiene su explicación a nivel inmunológico en el fenómeno de inmunosenescencia. Este término define la respuesta inmunitaria disminuida secundaria al deterioro de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. Estos cambios están principalmente relacionados con la edad del huésped; este fenómeno involucra elementos como la involución del tiempo, la deficiencia en la formación de LT, así como de su maduración, homeostasis, migración y el acortamiento de sus telómeros. Así mismo la interacción de la inmunidad innata con la respuesta adquirida se deteriora, la reparación del ADN disminuye y los mecanismos antioxidantes se ven afectados. Todos estos elementos aunados a la existencia de un estrés antigénico persistente repercuten en la estimulación de una respuesta

inmunitaria deficiente. En paralelo, a estos cambios, se altera la presentación y procesamiento de los antígenos, la función de las citoquinas y de los Linfocitos B (22). Tener en cuenta este tipo de cambios inmunológicos en los usuarios de las vacunas en cierto grupo etario, y relacionarlo con la cuantificación de anticuerpos neutralizantes, puede ser de utilidad para planear los calendarios de vacunación y el número de dosis eficientes para conferir protección a los adultos mayores. En contraste, el grupo etario de 30-39 años tuvo un promedio de cuantificación de anticuerpos de 12 869 URL a los 88 días de recibir la segunda dosis. Las relaciones establecidas entre el tiempo y la cuantificación de anticuerpos IgGS, dando seguimiento con mediciones seriadas, podría utilizarse como herramienta para definir cuantas dosis de refuerzo son necesarias para mantener la inmunidad efectiva contra el virus. Esto tendría un impacto económico favorable para los sistemas de salud pública que costean los esquemas de vacunación.

Otra relación importante es la que se establece en la cuantificación de anticuerpos en pacientes que refirieron infección previa por COVID-19 diagnosticada por prueba PCR. En donde observamos que los 194 pacientes con antecedente de enfermedad por COVID-19 presentaron un número mayor en el promedio de cuantificación de anticuerpos 24,649 URL, contra aquellos 718 que no tuvieron infección previa y presentaron un promedio de cuantificación de 8771 URL. Algunos estudios clínicos realizados para la validación del método analítico, señalan que los sujetos que han sido inmunizados y presentan una exposición previa al virus, presentaron niveles más altos de inmunidad humoral (anticuerpos de unión y neutralizantes) así como celular en LT después de una dosis única de vacuna. Este hecho plantea que posiblemente no sea necesaria una segunda dosis en personas previamente infectada por SARS-Cov-2. Por supuesto no podríamos aventurarnos a aseverar que este hecho sea así, en todo caso el análisis serológico de anticuerpos neutralizantes, junto con otros estudios orientados a medir la efectividad de la respuesta inmune a largo plazo podrían ayudarnos a dilucidar el número de dosis adecuadas para la inmunización efectiva.

12. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran la utilidad clínica del estudio cuantitativo de anticuerpos neutralizantes, y su relación con variantes de importancia en una muestra de población de usuarios de servicios diagnósticos de Laboratorios Ruiz. Las variables analizadas como son la edad, la enfermedad previa por SARS-COV-2 y las distintas plataformas de vacunas utilizadas en el medio son de fácil obtención durante la atención de pacientes ambulatorios. Estos datos podrían ser fácilmente obtenidos para el estudio de otras poblaciones, y aplicados de manera masiva si así se deseara, por los organismos de salud pública en nuestro entorno. Por otro lado si bien estamos haciendo una medición indirecta de la respuesta inmunológica lograda a través de la inmunización, la significancia clínica de los resultados y la accesibilidad de la prueba, pueden resultar un instrumento de gran ayuda en materia de salud pública para la planeación de los calendarios de vacunación a nivel nacional. Y siguiendo la línea de los primeros hallazgos, organizar un seguimiento a través del tiempo, con la cuantificación de anticuerpos a aquellos pacientes que previamente han cursado con la enfermedad, para poder concluir si es necesaria más de una dosis de vacuna, para

lograr la efectividad inmunológica deseada. En materia de salud pública este seguimiento podría tener un impacto económico sumamente considerable, pues si tomamos en cuenta el número de pacientes que han cursado con la enfermedad, el número de dosis necesarias para lograr inmunidad efectiva reduciría de manera considerable. En conclusión la cuantificación de anticuerpos IgGS por el método de quimioluminiscencia, representa una herramienta útil para seguir y profundizar los efectos inmunológicos de las vacunas más utilizadas en nuestro medio.

13. Datos bibliograficos

1. DIAGNOSTICS A. SARS-CoV-2 IgG II Quant. 2020. p. 1–11.
2. Shi Y, Wang Y, Shao C, Huang J, Gan J, Huang X, et al. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ* [Internet]. 2020;27(5):1451–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41418-020-0530-3>

3. Intensa UNAR, Escondida O, Isasi SC, Muiño JC. SARS NCOV-19 Y ACE2 : CUMBRES BORRASCOSAS . DEVASTADORA , PERO SIEMPRE PROFUNDA SARS nCoV-19 and ACE2 : Wuthering Heights . An intense , close , hidden or devastating relationship , but always deep. Arch Alerg e Inmunol Clínica. 2020;5(2):69–82.
4. ABBOT SARS IGGS.pdf.
5. PHAO [Internet]. 2020. Available from: <https://www.paho.org/es/noticias/11-3-2020-oms-caracteriza-covid-19-como-pandemia>
6. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [cited 2021 May 26]. Available from: <https://covid19.who.int/>
7. NMA. 2022.
8. WHO CORONAVIRUS. 2022.
9. Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely AT, Navis GJ, Van Goor H. Rapid Communication Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. J Pathol J Pathol [Internet]. 2004 [cited 2022 Dec 20];203:631–7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.1570>
10. Sun L, Wang X, Saredy J, Yuan Z, Yang X, Wang H. Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. Redox Biol [Internet]. 2020;37:101759. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101759>
11. Birra D, Benucci M, Landolfi L, Merchionda A, Loi G, Amato P, et al. COVID 19: a clue from innate immunity. Immunol Res. 2020;68(3):161–8.
12. Review_The trinity of COVID-19_immunity inflammation and intervention copia.pdf.
13. Lozada-Requena I, Núñez Ponce C. COVID-19: respuesta inmune y perspectivas terapéuticas. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;37(2):312–9.
14. Chou JM, Tsai JL, Hung JN, Chen IH, Chen ST, Tsai MH. The ORF8 Protein of SARS-CoV-2 Modulates the Spike Protein and Its Implications in Viral Transmission. Front Microbiol. 2022;13(May).
15. Turner JS, Kim W, Kalaidina E, Goss CW, Rauseo AM, Schmitz AJ, et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. Nature [Internet]. 2021;595(7867):421–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03647-4>
16. WHO.INT [Internet]. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19): Vacunas. 2020. Available from: [https://www.who.int/es/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)-vaccines?adgroupsurvey=%7Badgroupsurvey%7D&gclid=Cj0KCQjw24qHBhCnARIsAPbdtIJTRyHduNT2UCWAX47NksUDj4PitPcOA3adTIG0TsIWkexTnn3Jy_YaAgYXEALw_wcB](https://www.who.int/es/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-(covid-19)-vaccines?adgroupsurvey=%7Badgroupsurvey%7D&gclid=Cj0KCQjw24qHBhCnARIsAPbdtIJTRyHduNT2UCWAX47NksUDj4PitPcOA3adTIG0TsIWkexTnn3Jy_YaAgYXEALw_wcB)
17. México Perfil de país para la vacunación contra la COVID-19 [Internet]. 2022. Available from: https://im-data-paho.github.io/cov19-country-profiles/es/report_MEX.html
18. Vacunas covid 19 autorizadas. 2022.
19. MEDICAMENTOS RADCDIDM. Covid-19: Información Sobre Plataformas De Vacunas [Internet]. Vol. 5353865. 2021. Available from: <http://cime.fcq.unc.edu.ar/wp->

- content/uploads/sites/15/2021/01/Informe-RACIM-COVID19-Plataformas-de-vacunas.pdf
20. Radbruch A, Chang HD. A long-term perspective on immunity to COVID. *Nature*. 2021;595(7867):359–60.
 21. Melnid JL. Principios acunas víricas:
 22. Lagos M, C. CD, Hernández P. Respuesta inmune y alergia a vacunas. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2020;31(3):256–69.
 23. Pfizer-BioNTech. Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting FDA Briefing Document Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine Sponsor : Pfizer and BioNTech. Fda. 2020;1–53.
 24. Santander S, Gonzalez C. Ficha Vacuna Contra Sars-Cov-2 Vacuna AZD1222- Laboratorio Astrazeneca. Div Prevención y Control Enfermedades [Internet]. 2021;3–6. Available from: <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2021/09/Ficha-de-vacuna-laboratorio-Sinovac-Life-Science.pdf>0Ahttps://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2021/01/Ficha-vacuna-Sinovac-Life-Science.pdf
 25. MODERNA. FICHA TÉCNICA O CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO. SPIKEVAX [Internet]. 2022. 2022. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-product-information_es.pdf
 26. Ad VC-. (Vacuna COVID-19 Ad.26COV2-S, Ad.5COV2-S, recombinante). Inst Salud Pública República Chile [Internet]. 2021;5–7. Available from: <https://www.ispch.cl/wp-content/uploads/2021/12/FIV-SputnikV01-21122021B-1.pdf>
 27. México S de SG de. Aplicadas en México, 209.6 millones de dosis contra COVID-19. 2022;
 28. Llegan a México más de 900 mil vacunas Pfizer. 2021; Available from: <https://www.gob.mx/salud/prensa/llegan-a-mexico-mas-de-900-mil-vacunas-pfizer-contra-covid-19?idiom=es>

