

“Prevalencia de anticuerpos anti SARS-CoV-2 en personal de salud vacunado con Sputnik V en Villa Ángela, Chaco”

Práctica Optativa

Bioquímica

Directora: Ruiz, Cecilia Yanina

Alumna: Zago, Milena Carolina



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS	4
MARCO TEÓRICO.....	4
RESULTADOS	6
DISCUSIÓN.....	8
CONCLUSIÓN.....	9
ANEXO	10
AGRADECIMIENTOS.....	12
BIBLIOGRAFÍA.....	13



INTRODUCCIÓN

A finales del año 2019, el mundo asistió a la emergencia de una nueva enfermedad. Desde un hospital de Wuhan, provincia de Hubei, se notificó al gobierno de China la ocurrencia de un número de casos de neumonía grave inexplicable, lo cual fue informado a la Organización Mundial de la Salud (OMS); el patógeno involucrado fue identificado como un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2). El 30 de enero de 2020, la OMS catalogó la situación como una emergencia de salud pública de interés internacional, y el 11 de marzo se definió como una pandemia.¹ El SARS CoV-2 es un nuevo coronavirus de ARN de cadena positiva de la familia Coronaviridae, responsable de causar la devastadora pandemia de COVID-19 que causa millones de muertes en todo el mundo.²

En este contexto, la situación del personal de salud (trabajadores que se desempeñan en diferentes áreas, como atención directa a pacientes enfermos médicos, enfermeros y personal de laboratorio; así como trabajadores del servicio de comidas, limpieza, mantenimiento y seguridad) constituye un foco de interés, tanto por su alta exposición al encontrarse en la primera línea de respuesta, como por la posibilidad de convertirse en diseminadores de la infección en la comunidad. Estos trabajadores enfrentan un riesgo laboral de morbilidad sin precedentes por lo que la implementación oportuna de medidas de protección a este grupo resulta imperante.³

Según la OMS, a nivel mundial 63 vacunas candidatas se encuentran en ensayos clínicos en humanos, mientras que más de 172 candidatas se encuentran en etapas preclínicas de desarrollo.⁴ La mayoría de las estrategias implementadas en la elaboración de la vacuna contra COVID-19 tienen como objetivo inducir anticuerpos neutralizantes contra la proteína espiga (S), por lo tanto, bloquean la infección en etapa temprana de la infección por SARS-CoV-2.⁵ Entre las principales vacunas COVID-19 en etapa de desarrollo, Gam-COVID-Vac o Sputnik V utilizaron un enfoque de adenovirus recombinante de cebado-refuerzo heterólogo (adenovirus 5 y adenovirus 26) administrado con 21 días de diferencia (para superar cualquier inmunidad de adenovirus preexistente) generando una respuesta inmune celular entre el 98% y el 100% de los voluntarios, respectivamente y una eficacia luego de la primera dosis del 73,1% (IC 95%: 63,7–80,1) y para la segunda dosis del 91,6% (IC 95%: 85,6–95,2) en 14 964 voluntarios.^{6,7} Nuestro objetivo fue determinar la prevalencia de anticuerpos de tipo IgG anti-spike SARS-CoV-2 en personal de salud vacunado con Sputnik V en Villa Ángela, Chaco, en el período enero-junio del año 2021.



Objetivos generales:

- Determinar la prevalencia de anticuerpos neutralizantes de tipo IgG anti-spike SARS-CoV-2 en el personal de salud, vacunados con Sputnik V en Villa Ángela, Chaco, en el período enero-abril del año 2021.

Objetivos específicos:

- Caracterizar los efectos adversos de la vacuna y si los mismos tienen una relación con la cantidad de anticuerpos generados, además del tiempo de duración de los mismos.
- Estudiar las diferencias entre la respuesta inmunitaria de pacientes que cursaron con la patología de los que no tuvieron una previa exposición con el virus.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó un diseño transversal. La población del estudio fue el personal de salud de ambos sexos, con edades comprendidas entre los 20 a 59 años, de la ciudad de Villa Ángela, a quienes se les aplicó el esquema completo de dosis de la vacuna Sputnik V. La ciudad queda ubicada en el sudoeste de la provincia del Chaco (Argentina), a 253 km de la capital provincial, según el último censo realizado en el año 2010 cuenta con 41,403 habitantes. Se realizó un muestreo de conveniencia y fueron reclutados 133 participantes entre enero y junio del año 2021, todos accedieron voluntariamente a la extracción sanguínea, luego de haber recibido información acerca del trabajo científico a realizarse, responder las preguntas de un cuestionario y firmado el consentimiento informado. Se consideraron “previamente expuestos al virus SARS-CoV-2” a aquellos pacientes que habían sido confirmados para la infección por el virus SARS-CoV-2 con técnicas de detección de antígeno o por técnicas de RT-PCR en Tiempo Real, para esto se tomaron los datos almacenados en la base de datos del laboratorio del Hospital “Dr. Salvador Mazza”. Se excluyeron aquellos participantes que tuvieran contraindicaciones para la venopunción. Para la recolección de datos, se utilizó un cuestionario en papel, rellenado por los investigadores, en el momento de la extracción sanguínea. Las variables recolectadas fueron: sexo (masculino, femenino, otro); edad; antecedente de toma de muestra de hisopado nasofaríngeo para RT-PCR o detección de antígeno (sí, no; fecha y resultado); presencia de síntomas post vacunación (sí, no); tiempo de aparición de los síntomas (horas, días); tipo de síntoma.



Se extrajo la muestra a cada participante, a cargo del personal de laboratorio del Hospital “Dr. Salvador Mazza”, se observó un ayuno mínimo de tres horas para la toma de la muestra y se extrajeron 5 ml de sangre venosa que se recolectó en tubos rotulados con el número de identificación de cada participante, cuyo suero fue separado y conservado a 4°C hasta el momento de su procesamiento. Se confeccionó una base de datos en el programa Excel donde se volcaron todos los datos recogidos con el cuestionario (figura 1- ANEXO), y los resultados de las pruebas de ELISA de cada participante. Todas las muestras fueron procesadas con el test COVIDAR IgG®⁸(figura 2- ANEXO) siguiendo las instrucciones del fabricante, este fue desarrollado en conjunto por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), el Instituto Leloir, la Universidad de San Martín y el Laboratorio Lemos SRL, autorizado por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) (Producto Médico 1545-4). Este test es un ensayo inmunoenzimático, heterogéneo, no competitivo, basado en un método indirecto para la detección in vitro de anticuerpos IgG dirigidos contra dos antígenos virales, la proteína espiga trimérica y el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína espiga, específicos de SARS-CoV-2, en muestras de suero o plasma humanos. El ensayo tiene una especificidad del 100% medida para muestras pre pandemia. En primera instancia, se llevó a cabo un ensayo cualitativo a todas las muestras. Se determinó cuáles eran reactivas y se procedió a semi cuantificar y calcular los títulos generados. Se realizaron 3 tomas de muestra: la primera a los 20 días de haber recibido la primera dosis, la segunda a los 20 días de haber recibido la segunda dosis y la tercera a los 90 días de haber recibido la primera dosis. Se separaron los sueros, rotularon con sus respectivos números previamente asignados y se continuó el análisis de las muestras como se detalló previamente.

Los lavados de los ELISAS se realizaron con un lavador de micro placas (modelo IVDIAGNOSTIK W206) , (figura 3- ANEXO) y la lectura de las densidades ópticas se realizó con un lector de micro placas (modelo IVDIAGNOSTIK M210) ambos de la marca FERAY TECHNOLOGY CO.; (figura 4- ANEXO) LIMITED (Shenzhen, China). Las variables estadísticas y los gráficos fueron calculados con los programas Microsoft Excel, GraphPad Prism y EpiInfo 7.0.

El proyecto de investigación fue aprobado para su realización por la dirección del Hospital “Dr. Salvador Mazza”.

Todos los profesionales que participaron del estudio cumplieron con la Ley 25326 de Protección de los Datos Personales y con los requisitos éticos, legales y jurídicos establecidos en los Documentos Internacionales:

- Declaración de Helsinki y sus modificatorias.



- Código de Nüremberg.
- Normas del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas CIOMS, con sus Pautas Éticas Internacionales para la Experimentación Biomédica en Seres Humanos, elaboradas en colaboración con la Organización Mundial de la Salud.

RESULTADOS

La media de edad de los participantes fue de 38 años (mínimo: 20 años; máximo: 59 años). El 63,91% (n=85; IC=95%: 55,13-72,05) fueron mujeres. Un 12,78% (n=17; IC=95%: 7,63-19,67) tuvieron la infección previa con el virus SARS-CoV-2 previa a la vacunación y fueron diagnosticados por la técnica de RT-qPCR o Test Rápido de Antígeno viral.

El 72,93% (n=97; IC=95%: 64,55-80,27) del total refirió algún tipo de síntomas dentro de las 48hs post-inoculación (PI); el 36,26% (n= 33; IC=95%: 26,44-47,00) comenzó con los síntomas a las 12 horas PI, con una duración de 24 horas en al menos el 48,89% (n= 44; IC 95%: 38,20-59,65) de los participantes. La TABLA 1, describe la frecuencia de la sintomatología presentada.

TABLA 1. Frecuencia muestral de presentación de síntomas en el personal de salud post-vacunación con Sputnik V, Villa Ángela, Chaco, 2021.

Sintomatología	Frecuencia	Porcentaje (%)
Dolor de cuerpo	47	35,34
Dolor en el brazo	44	33,08
Fiebre	43	32,33
Cefalea	36	27,07
Cansancio	29	21,80
Malestar general	13	9,77
Síntomas gastrointestinales	3	2,26
Mareos	1	0,75
otros	22	16,54

Otros: sintomatología respiratoria alta, taquicardia, escalofríos, calambres, dolor ocular y articular.

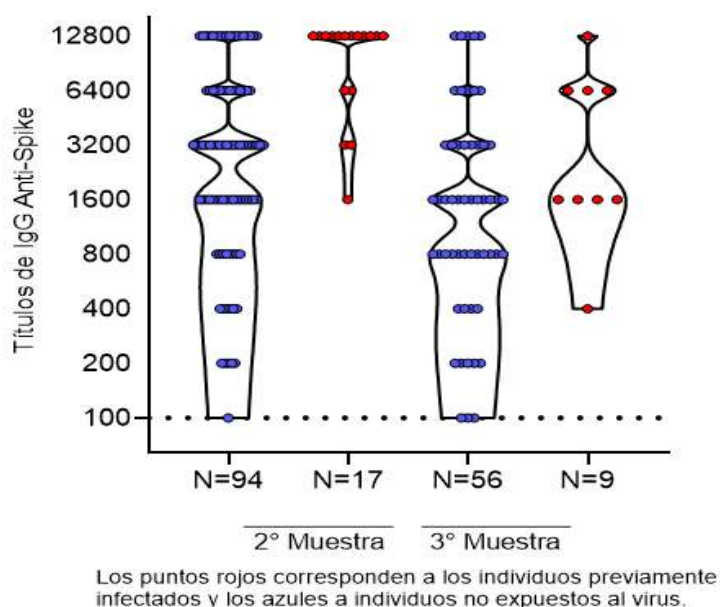


De los 133 participantes a los que se les tomó la primera muestra solo concurrieron 111 para la segunda toma y 68 para la tercera a pesar de haber sido citados telefónicamente.

Se observó un 90.23% (IC 95%: 83,87-94,69) de reactividad, para la prueba de ELISA en el primer muestreo (luego de recibir la primera dosis vacunal), que aumentó al 94,74% (IC 95%: 89,46-97,86) en el segundo.

La cuantificación de las primeras muestras recolectadas luego de recibir la primera dosis, no se realizó, ya que no se contaba con la cantidad de reactivo suficiente para la titulación. Las mediciones cuantitativas se realizaron a las segundas y a las terceras muestras. El GRÁFICO 1 muestra los títulos de anticuerpos anti-Spike SARS-CoV-2 para 111 participantes, con o sin infección previa por el virus. Aquellos individuos que tuvieron la infección previa a la vacunación fueron diagnosticados por RT-qPCR o Test Rápido de Antígeno de SARS-CoV-2. Las medias geométricas arrojaron valores de 3200 y de 1600 para la segunda y tercera muestra en los participantes no expuestos al virus (NE), mientras que para los participantes previamente expuestos al virus (EV) fue de 12800 y de 1600 respectivamente, con intervalos de confianza del 95%. Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para comparar en varios momentos los títulos de anticuerpos y no se observó una diferencia significativa en el título de anticuerpos de la segunda y la tercera muestra de los participantes EV ($p=0.0018$) y los NE ($p=0.0019$).

GRÁFICO 1. Título de Anticuerpos Anti SARS-CoV-2





DISCUSIÓN

La evaluación de los niveles de anticuerpos de tipo IgG específicos contra el virus SARS-CoV-2, después de la vacunación, es muy útil para determinar el nivel de inmunidad humoral adquirido en las personas vacunadas; aunque a hasta la fecha no se han publicado estudios de eficacia relacionados con el título de anticuerpos que definan el valor de corte mínimo que asegure una protección contra la infección.

Este estudio proporciona los primeros datos sobre la prevalencia de anticuerpos de tipo IgG anti-spike SARS-CoV-2 generados por la vacuna Sputnik V, en personal de salud infectado (EV) y no infectado (NE) previamente con el virus SARS CoV-2, de la ciudad de Villa Ángela, Chaco. Solo 17 de los 133 participantes contrajo la infección por el virus previo a la vacunación.

Observamos una alta tasa de prevalencia de anticuerpos de tipo IgG anti-Spike, del 90.23% luego de la primera dosis y del 94,74% después de la segunda. Los estudios de seroprevalencia post inmunización con Sputnik V realizados en diferentes partes del mundo han encontrado resultados similares, Rossi et al ⁹ evaluaron la prevalencia de anticuerpos luego de la primera dosis de Sputnik V en voluntarios de Argentina y encontraron un valor de prevalencia 94%. Umar Saeed et al ¹⁰ condujeron una encuesta de prevalencia de anticuerpos en 100 voluntarios de Pakistán encontrando un valor de 85%, hallando que un 52% estuvo previamente expuesto al virus SARS-CoV-2 antes de la vacunación. Mientras que en Venezuela Claro et al ¹¹ en una cohorte de 149 participantes encontraron una prevalencia de 58% de anticuerpos IgG medible contra el RBD después de la primera dosis de vacuna, pero todos (100%) tuvieron una respuesta IgG fuerte después de la segunda dosis.

No observamos una diferencia significativa en los títulos de anticuerpos luego de 3 meses de completado el esquema de vacunación en el grupo de participantes EV y en el grupo NE; Gonzalez Lopez Ledesma et al ¹² encontraron resultados similares en una cohorte de 118 voluntarios y también observaron que los anticuerpos IgG anti-Spike disminuyen después de los 4 a 6 meses posteriores a la vacunación. Esta disminución de los títulos de anticuerpos puede no ser indicativa de una disminución de la protección contra el virus SARS-CoV-2. ^{13,14}

Observamos que la media del título de anticuerpos IgG anti-Spike luego de recibir una sola dosis de la vacuna Sputnik V provocó elevados títulos de anticuerpos en los participantes EV, que excedieron los encontrados en los participantes NE, Rossi et al ⁹ y Claro et al ¹¹ encontraron resultados similares en este subgrupo.



Más de la mitad de los participantes (72,93%) refirió algún tipo de sintomatología dentro de las 48 horas post-inoculación siendo los síntomas más frecuentes el dolor de cuerpo, el dolor en el brazo, la fiebre, la cefalea y el cansancio.

CONCLUSIÓN

Los resultados presentados en el estudio, expresan que el 90% de los individuos vacunados, generaron anticuerpos IgG- anti- SARS CoV-2 con la primera inmunización de la vacuna Sputnik V. Obteniéndose una media de un título de 100 en el grupo 1 y en el grupo 2 títulos mayores a 800. Lo que demuestra que los pacientes que tuvieron previa exposición al virus generan una respuesta más exacerbada, lo que evidencia una memoria inmunológica, que los pacientes que no tuvieron exposición al mismo, independientemente del tiempo transcurrido de la infección.

15-20 días pos segunda inmunización se observó una eficacia del 98%. El grupo 1 obtuvo una media de títulos de 3200 y el grupo 2 una media de 12.800.

Lo que se observó es que los individuos que no tuvieron una previa exposición al virus tiene una mayor variación de títulos entre la primera y segunda dosis, que los que tuvieron previa exposición al mismo.

De la población vacunada, 72,93% expresó haber tenido efectos adversos luego de la aplicación de la misma en las encuestas realizadas previa a la toma de muestra, estando los mismos dentro de los síntomas esperados; y los cuales se resolvieron en un periodo no mayor a 24-48hs. No se observó una correlación entre efectos adversos y títulos de anticuerpos IgG-anti SARS CoV-2 generados.



ANEXO

Figura 1:

Protocolo N°

Nombre:

Edad:

1. ¿Tuviste Covid-19? SI/NO
2. ¿A- Sintomático? SI/NO
3. B- Diagnosticado por:
 - o PCR
 - o Test-Rápido.
 - o Aislado con síntomas por contacto estrecho.

C- Cuanto tiempo paso del alta.

1. ¿D- Se realizó test de anticuerpos? SI/NO

E- Resultado: POSITIVO/NEGATIVO.

1. ¿Tuviste síntomas post vacuna? SI/NO
2. ¿Cuales?
 - ☐ NINGUNO
 - ☐ DOLOR EN EL BRAZO
 - ☐ DOLOR DE CUERPO
 - ☐ FIEBRE
 - ☐ DOLOR DE CABEZA
 - ☐ SINTOMAS GASTROINTESTINALES.
 - ☐ MALESTAR GENERAL
 - ☐ CANSANCIO.
 - ☐ MAREOS
 - ☐ OTROS.....
3. Horarios de comienzo de síntomas
4. Tiempo de síntomas:
5. ¿Otras vacunas le produjeron efectos adversos? SI/NO.
6. ¿CUALES?

Figura 2:

COVIDAR





Figura3.



Figura 4.

Procesamiento de muestras:





AGRADECIMIENTOS

Llegar hasta aquí no hubiese sido posible sin el apoyo y amor incondicional de tantas personas.

En primer lugar mis padres y hermana, que gracias a ellos tuve la oportunidad de poder estudiar esta carrera que tanto amo y sin su apoyo incondicional nada hubiese sido igual. Al igual que el resto de mi familia, de los cuales uno de los más importantes ya no lo tengo junto a mí en este plano, pero que fue mi gran pilar; así como mis amigos, que me sostuvieron en mis peores momentos, y nunca me dejaron bajar los brazos.

Y sin lugar a dudas al personal de salud y autoridades del Hospital “Dr. Salvador Mazza” de la ciudad de Villa Ángela, que me dieron la oportunidad de realizar este trabajo de investigación y tuve su apoyo incondicional; destacando a la Bioquímica Ruiz Yanina, por transmitirme su amor por la carrera y brindarme todas las herramientas disponibles a su alcance para que este trabajo sea posible llevar a cabo. Así como el bioquímico Ford Gerardo que me ayudó con los análisis de datos y estructuras para que este trabajo sea posible publicarlo en congresos nacionales como revistas de investigación.

Gracias a cada persona que me apoyo en todo este camino, que no fue fácil, pero como dijo Gustavo Cerati: “Tarda en llegar y al final, hay recompensa” y de eso no tengo dudas.



BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Cronología de la respuesta de la OMS a la COVID-19 [Internet]. 2020 [citado 11 Ago 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/29-06-2020-covidtimeline>
2. Coronavirus disease 2019 (COVID-2019): situation report. Geneva: World Health Organization, 2021. Available at [\[https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=CjwKCAjwg4EBhBwEiwAzYAlskKcrAbaObdgRFpjNRC4cj9C3pBEQLTW3ZRjozKkUCfbUeYP6N8xoCDPQAvD_BwE\]](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=CjwKCAjwg4EBhBwEiwAzYAlskKcrAbaObdgRFpjNRC4cj9C3pBEQLTW3ZRjozKkUCfbUeYP6N8xoCDPQAvD_BwE).
3. Seroprevalence of the SARS-CoV-2 infection in health workers of the Sanitary Region VIII, at province of Buenos Aires.....
4. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Available online [\[https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines\]](https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines) (World Health Organization, 2020)].
5. Spotlight on COVID-19: vaccine development. InvivoGen <https://www.invivogen.com/spotlight-covid19-vaccine-development> (2020).
6. Barouch DH, Kik SV, Weverling GJ, et al. International seroepidemiology of adenovirus serotypes 5, 26, 35, and 48 in pediatric and adult populations. *Vaccine*. 2011; 29: 5203-5209.
7. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tukhvatulin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, Kovyshina AV, Lubenets NL, Grousova DM, Erokhova AS, Botikov AG, Izhaeva FM, Popova O, Ozharovskaya TA, Esmagambetov IB, Favorskaya IA, Zrelkin DI, Voronina DV, Shcherbinin DN, Semikhin AS, Simakova YV, Tokarskaya EA, Egorova DA, Shmarov MM, Nikitenko NA, Gushchin VA, Smolyarchuk EA, Zyryanov SK, Borisevich SV, Naroditsky BS, Gintsburg AL; Gam-COVID-Vac Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021 Feb 20;397(10275):671-681. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8. Epub 2021 Feb 2. Erratum in: *Lancet*. 2021 Feb 20;397(10275):670. PMID: 33545094; PMCID: PMC7852454
8. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica (CONICET), Fundación Instituto Leloir, Universidad de San Martín, Laboratorio LEMOS S.R.L. COVID AR IgG. Enzimoinmunoensayo (ELISA) para la detección de



- anticuerpos IgG específicos contra el virus SARS-CoV-2 en suero o plasma humano. ANMAT (PM-1545-4). Buenos Aires; 2020.
9. Andres H. Rossi, Ph.D., Diego S. Ojeda, Ph.D., Augusto Varese, Ph.D., Lautaro Sanchez, M.Sc., Maria M. Gonzalez Lopez Ledesma, Ph.D. et al. Sputnik V Vaccine Elicits Seroconversion and Neutralizing Capacity to SARS CoV-2 after a Single Dose.
 10. Umar Saeed, Sara Rizwan Uppal. Evaluation of SARS-CoV-2 spike antibody levels among Sputnik V rst dose vaccinated people in Pakistan: formulation of national anti-COVID-19 mass vaccination strategy.
 11. Franklin Claro , Douglas Silva , Melissa Rodriguez , Rafael Rangel , Jacobus H. de Waard , IgG Antibody response to the Sputnik V vaccine: previous SARS-CoV-2 seropositive individuals might need just one vaccine dose., International Journal of Infectious Diseases (2021), doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.07.070>
 12. María M. Gonzalez Lopez Ledesma, Lautaro Sanchez M., Diego S. Ojeda, Santiago Oviedo Rouco, Andres H. Rossi. Temporal Increase in Neutralization Potency of SARS-CoV-2 Antibodies and Reduced Viral Variant Escape after Sputnik V Vaccination. medRxiv. 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.08.22.21262186>
 13. Gaebler, C., Wang, Z., Lorenzi, J.C.C., Muecksch, F., Finkin, S., Tokuyama, M., Cho, A., Jankovic, M., Schaefer-Babajew, D., Oliveira, T.Y., et al. (2021). Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. Nature 591, 639–644.
 14. Muecksch, F., Weisblum, Y., Barnes, C.O., Schmidt, F., Schaefer-Babajew, D., Wang, Z., Lorenzi, J.C.C., Flyak, A.I., DeLaitch, A.T., Huey-Tubman, K.E., et al. (2021). Affinity maturation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies confers potency, breadth, and resilience to viral escape mutations. Immunity 0, 1–16.