



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**CONCENTRACIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES CONTRA EL
SARS-CoV-2 EN PACIENTES NO VACUNADOS POSTINFECCIÓN
COVID-19 EN VALENCIA, ESTADO CARABOBO AÑO 2022**

Autores:

San Blas Lidsahi

Silva Azareel

Rodríguez Katherine

Tutora:

MSc. Sequera Mónica.

Co-tutora:

Dra. Miozzi Gianmary

Asesora:

Lcda. Fernández Yolima

Valencia, 2024.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE EVALUACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación, para evaluar el trabajo titulado: **CONCENTRACIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES EN PACIENTES NO VACUNADOS POSTINFECCIÓN COVID-19 EN VALENCIA, ESTADO CARABOBO AÑO 2022**, el cual es presentado por **San Blas R. Lidsahi S.** titular de la cédula de identidad **V-22.306.712**, **Silva L. Azareel N.** titular de la cédula de identidad **V-30.341.938** y **Rodríguez R. Katherine O.** titular de la cédula de identidad **V-25.590.382** y tutorado por **MSc. Mónica Sequera**, titular de la cédula de identidad **V-14.753.718**. Hacemos de su conocimiento que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del citado trabajo. Consideramos que reúne los requisitos de mérito para su **APROBACIÓN**.

En fe de lo cual se levanta esta Acta en Bárbula, al 21 del mes de octubre del año 2024.

Prof. Yolima Fernández

C.I: V- 13.382.234

Jurado Principal

Prof. Liliana Torres

C.I: V- 14.463.425

Jurado Principal

Prof. Sarah Bethencourt

C.I: V- 8.609.949

Jurado Principal



DEDICATORIA

A Dios que ha estado a mi lado en todo momento. A mi madre Hiaskara Rivas por apoyarme sin condiciones, a mi abuela Hiraida el pilar de mi vida. A mi padre Nelson San Blas por impulsarme en momentos duros. A mis tíos Harasahi y Juan Rivas por ayudarme todos estos años.

A mi compañero de vida Danilo Ochoa por escucharme y orientarme. Y, por último, a mi abuelo Carlos Rivas† que ya no está presente, pero sé que sería su orgullo.

Lidsahi S. San Blas R.

A Dios por permitirme ser parte de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo y por concederme la fortaleza y determinación para no desistir y cumplir este objetivo.

A mi querida Abuela Amada Silva† por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad. A mis padres Argenia León y Leonel Silva y mi hermana Aziel Silva por estar presentes incondicionalmente durante el trayecto.

Azareel N. Silva L.

Con infinita gratitud dedico este trabajo a Dios por ser mi guía y protector. En segundo lugar, a mi madre y mi abuela Mita por ser la luz de mi vida y el motor que me inspira a seguir adelante, son un pilar fundamental y mi mayor apoyo en cada paso que doy.

Y, por último, al hombre más importante de mi vida “*mi papito máximo*” gracias por desde el cielo siempre has estado conmigo.

Katherine O. Rodríguez R.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a nuestra casa de estudio la Universidad de Carabobo, por ser una fuente inagotable de conocimientos que nos permitió formarnos como profesionales.

A la Escuela de bioanálisis, nuestro segundo hogar. A todos los profesores que fueron parte del camino, pero en especial agradecemos a nuestra tutora Mónica Sequera por instruirnos y prestarnos su apoyo durante el desarrollo de este trabajo de investigación. A nuestra asesora metodológica Yolima Fernández por su infinita paciencia. A la Dra. Gianmary Miozzi por ser partícipe del desarrollo de la investigación.

Agradecemos al profesor Edgar Acosta a quién admiramos por compromiso con la excelencia y su contribución al alcance de los objetivos de este trabajo. Y, por último, a todos los pacientes que nos brindaron su apoyo, esto es para ustedes.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO
PROFESIONAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del Trabajo de Investigación titulado: **"CONCENTRACIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES CONTRA EL SARS-CoV-2 EN PACIENTES NO VACUNADOS POSTINFECCIÓN COVID-19 EN VALENCIA, ESTADO CARABOBO AÑO 2022"**, desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por: San Blas R. Lidsahi S. Silva L. Azareel N. y Rodríguez R. Katherine O. titulares de la Cédula de Identidad. V-22306712, V-30341938 y V-25590382 respectivamente, como requisito indispensable para la obtención del título de *Licenciadas en Bioanálisis*. Considero que el presente estudio, reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación. Certificación que se realiza en Bárbula en Bárbula, a los 21 días del mes de Octubre de 2024.

Firma

V-14.753.718

C.I.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	8
Objetivo general:	12
Objetivos específicos:.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Consideraciones bioéticas.....	14
Procedimiento metodológico	14
Recolección de muestras	14
Cuantificación de anticuerpos neutralizantes	14
Análisis estadístico.....	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIÓN.....	25
RECOMENDACIONES.....	26
LIMITACIONES	27
BIBLIOGRAFÍA	28

ÍNDICE DE TABLAS

Nro.	Descripción	Página
1	Estadísticos descriptivos de las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en sujetos no vacunados.	18
2	Concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en los sujetos evaluados, según el estado de vacunación.	19
3	Correlación entre las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en sujetos no vacunados y la edad, el sexo y el grado de severidad postinfección COVID-19.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Nro.	Descripción	Página
1	Edad de los sujetos no vacunados, según el sexo.	16
2	Dispersión entre las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y la edad de los sujetos no vacunados.	22

RESUMEN

CONCENTRACIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES CONTRA EL SARS-CoV-2 EN PACIENTES NO VACUNADOS POSTINFECCIÓN COVID-19 EN VALENCIA, ESTADO CARABOBO AÑO 2022

Autores: San Blas Lidsahi, Silva Azareel, Rodríguez Katherine.

Tutores: MSc. Sequera Mónica y Dra. Miozzi Gianmary.

Asesor Metodológico: Lcda. Fernández Yolima.

Realizado en el Laboratorio clínico Tarbes Lab, C.A.y Financiado por los autores.

Año: 2022

Línea de investigación: Microbiología clínica

Introducción: El SARS-CoV-2 es un virus de ARN que presenta un amplio polimorfismo genómico. La glicoproteína *Spike* de su estructura, se considera el blanco principal de los anticuerpos neutralizantes (AN) para evitar que se establezca la infección. Por ello, cuantificar la cantidad de AN producidos luego de la enfermedad constituye un marcador de protección frente al SARS-CoV-2. **Objetivo:** Detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y su relación con la edad, sexo y grado de severidad postinfección COVID-19 en pacientes no vacunados en Valencia, estado Carabobo (2022). **Metodología:** Se realizó un estudio descriptivo, correlacional, de campo y corte transversal en 50 sujetos no vacunados (SNV) contra el SARS-CoV-2, y un grupo control de 50 sujetos vacunados (SV). Los AN (mUI/mL) se cuantificaron mediante inmunofluorescencia seca. La normalidad de las variables se evaluó con la prueba de Shapiro-Wilk. Las comparaciones se realizaron por las pruebas *t* de Student y U de Mann-Whitney, y las correlaciones con la prueba Rho de Spearman. **Resultados:** No se encontró diferencias significativas entre las concentraciones (CS) de AN de los SNV y los SV (SNV: 0,360 (0,890) vs. SV: 0,200 (1,76); $p=0,2005$). Adicionalmente, las CS de AN correlacionaron significativamente con la edad de los SNV ($\rho: 0,8576$; $p=0,0000$), pero no con el resto de las variables. **Conclusión:** Las CS de los AN fueron similares en los SNV con respecto a los SV. Además, los AN se incrementaron con la edad de los SNV.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, Anticuerpos neutralizantes.

INTRODUCCIÓN

La infección por SARS-CoV-2 fue un fenómeno mundial debido a su rápido nivel de diseminación en humanos a través de gotitas respiratorias. La tasa de contagio incrementaba con rapidez porque la manifestación de la infección por SARS-CoV-2 podía ser asintomática y la COVID-19 una enfermedad que iba desde lo leve a complicaciones potencialmente mortales. El SARS-CoV-2 no ataca únicamente al sistema respiratorio, produciendo neumonía, sino que también genera repercusiones en el sistema gastrointestinal, neurológico y cardiovascular, por lo que las complicaciones eran de mayor alcance. [1]

Los síntomas clínicos de la enfermedad COVID-19 incluyen fiebre, tos seca, mialgia, fatiga y dificultad respiratoria; en menor medida, diarrea, náuseas y vómitos. Por lo general, muchos de los pacientes presentan síntomas leves, pero los adultos mayores y las personas con comorbilidades subyacentes, tales como, hipertensión, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes y/o enfermedad cardiovascular, pueden desarrollar cuadros de mayor gravedad como síndrome de dificultad respiratoria aguda y shock séptico, conllevando al deceso. [2]

Comprender las propiedades genéticas y estructurales del SARS-CoV-2 es un requisito previo para el desarrollo y la elección de herramientas de diagnóstico eficaces. La microscopía electrónica de transmisión reveló que el SARS-CoV-2 es un virus de ARN envuelto de cadena positiva que tiene un diámetro en el rango de 60 a 140 nm, además su morfología es consistente con la de otros miembros de la familia *Coronaviridae* y, a nivel genético, comparte identidades de secuencia del 96 %, 80 % y 50 % con el coronavirus de murciélago (RaTG13), el SARS-CoV-1 y el MERS-CoV (Síndrome respiratorio de Medio Oriente), respectivamente. [1]

En líneas generales, el SARS-CoV-2 al ser un tipo de virus de ARN, inicia la respuesta inmunitaria innata con los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) endosómicos, citosólicos y de superficie celular que responden a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) para desencadenar una cascada de señales intracelulares que promueven la síntesis y liberación de numerosas citoquinas proinflamatorias e IFN, incluida la de IL-1 β , IL-6, TNF, IL-12, IFN- β , IFN- γ , IL-17 y otras que conllevan a la muerte celular programada para limitar la infección viral. [3]

El enlace con la segunda línea de defensa se establece mediante las células dendríticas, las cuales atrapan los antígenos virales y los transportan a los ganglios linfáticos para desencadenar la respuesta inmunitaria adaptativa. [4] La glicoproteína espiga es el fragmento inmunogénico que genera el reconocimiento y activación de los linfocitos B (inmunidad humoral) y los linfocitos T CD4+ y CD8+ (inmunidad mediada por células). Lo que sugiere que las respuestas inmunitarias específicas inducidas por la proteína S son piezas importantes para el progreso medidas de prevención y tratamiento contra el SARS-CoV-2 [5].

Los anticuerpos neutralizantes (AN) específicos contra el virión, gracias a la capacidad que tienen de evitar la unión del SARS-CoV-2 a su receptor, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) en las células humanas evitan que se establezca la sintomatología en el hospedador confiriendo inmunidad. En la infección de COVID-19 el 90% de la actividad neutralizante está mediada por los anticuerpos específicos contra el dominio RBD en la subunidad S1 de la glicoproteína spike [6]. Por ello, constituyen un eje central para el desarrollo de pruebas serológicas específicas y sensibles que miden el grado de actividad inmunológica generada frente a la infección natural o inducida por las vacunas contra el SARS-CoV-2.

La respuesta humoral frente a una infección viral genera anticuerpos específicos contra distintos componentes del virión. Entre los anticuerpos generados existe un subgrupo dirigido a regiones del virus que cumplen funciones esenciales en el proceso de la infección. Estos anticuerpos capaces de bloquear una infección productiva se denominan anticuerpos neutralizantes y son marcadores de protección de la infección. [7].

Una investigación realizada en el año 2021 por Cabanes, et al. en el Hospital Universitario La Ribera, Valencia, España, estudió la respuesta humoral natural tras la infección por SARS-CoV-2 en pacientes hospitalizados, para determinar si existe un factor que pueda ayudar a predecir una mayor respuesta inmune humoral. En donde encontró que el porcentaje de anticuerpos circulantes a la IgG anti nucleocápside se reduce hasta un 40% a los 12 meses. Sin embargo, los valores de IgG frente a la proteína S se mantienen estables en >96% durante los siguientes 12 meses tras la infección. La presencia de inmunidad humoral estuvo presente en la mayoría de las muestras estudiadas, sin embargo, no se han incluido pacientes asintomáticos o con infección leve. Por lo tanto, es necesario que se realicen más estudios para comprender la memoria inmunitaria frente a la infección por SARS-CoV-2 [8].

Aunque la producción de anticuerpos neutralizantes, como medida de protección natural ante la infección vírica, es un hecho que depende de muchos factores, entre ellos el haber padecido la enfermedad. La cuantificación de sus valores en personas infectadas por SARS-CoV-2 no vacunadas que atravesaron por COVID-19 leve, moderado o grave en Valencia estado Carabobo representa un foco innovador para conocer el grado de protección que tendrá la población al generar anticuerpos funcionales que eviten el desarrollo de la enfermedad en exposiciones futuras al virus, ya que en Venezuela no existen cifras de la población no

vacunada contra el SARS-CoV-2 y menos aún existen datos o estudios que demuestren el desarrollo de anticuerpos neutralizantes luego de haber enfermado por COVID-19.

De acuerdo a lo señalado anteriormente, el presente trabajo considera la necesidad de detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y su relación con factores epidemiológicos como edad, sexo y grado de severidad en pacientes no vacunados postinfección COVID-19 de Valencia, estado Carabobo, año 2022.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y su relación con factores epidemiológicos como edad, sexo y grado de severidad en pacientes no vacunados postinfección COVID-19 de Valencia, estado Carabobo, año 2022.

Objetivos específicos:

- Caracterizar a los pacientes no vacunados de acuerdo a la edad, sexo y grado de severidad.
- Cuantificar los anticuerpos neutralizantes en suero contra el SARS-CoV-2 mediante la técnica de inmunofluorescencia seca en pacientes no vacunados que padecieron de COVID-19 durante el año 2022.
- Comparar el desarrollo de anticuerpos neutralizantes en pacientes no vacunados y vacunados (control) postinfección COVID-19.
- Relacionar la concentración de anticuerpos neutralizantes de pacientes no vacunados con los parámetros epidemiológicos: edad, sexo y grado de severidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación realizada fue de tipo descriptivo-correlacional, de campo enmarcada dentro de los límites de un diseño no experimental, de corte transversal-retrospectivo. La unidad de análisis incluyó 50 pacientes no vacunados contra el SARS-CoV-2 que padecieron COVID-19. Los participantes del grupo no vacunado cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes sin ninguna dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2.
- Pacientes que presentaron signos y síntomas de COVID-19 durante un período comprendido entre los 6 meses anteriores a la toma de muestra.
- Pacientes no vacunados contra el SARS-CoV-2 que padecieron COVID-19 en distintos grados de severidad clasificados como: leve, moderado y grave.

Además, se empleó un grupo control de 50 pacientes vacunados con dos dosis de la vacuna de Sinopharm contra el SARS-CoV-2, y que padecieron COVID-19 en distintos niveles de severidad.

Se empleó como técnica para la obtención de la información una encuesta de tipo personal, que incluyó una ficha clínica que permitió realizar el registro de los datos con respecto a las variables que estuvieron sujetas a medición. La ficha clínica para el grupo no vacunado abarcó los siguientes ítems: edad, sexo, lugar de procedencia, enfermedades de base y grado de severidad de COVID-19. Con respecto al grupo control la ficha incluyó: tipo de vacuna y número de dosis de refuerzo aplicada, así como el grado de severidad de COVID-19.

Consideraciones bioéticas

Con cada participante se utilizó un consentimiento informado individual cuyo fin fue dar a conocer los objetivos y propósitos del estudio, señalando el protocolo de trabajo, duración del proceso, riesgos y beneficios, en donde los sujetos aceptaron ser partícipes. Se resguardó la confidencialidad y el bienestar de todos los individuos que formaron parte de la muestra en estudio, cumpliendo así con los aspectos bioéticos referidos en la declaración de Helsinki y en el Código de Bioética y Bioseguridad del Ministerio de Ciencia y Tecnología Venezolano [9,10].

Procedimiento metodológico

Recolección de muestras

Una vez obtenido el consentimiento informado individual, se procedió a la preparación logística y el material para la obtención de sangre venosa de los individuos que formaron parte de la muestra de estudio. A cada participante se le extrajeron 5 mL de sangre por venopunción colocándose en tubos sin anticoagulante. Posteriormente se realizó la separación del suero por centrifugación y el almacenamiento en alícuotas a una temperatura de -20°C. El análisis de las muestras fue realizado en las instalaciones del laboratorio clínico Tarbes Lab, C.A. Los resultados se vaciaron en una base de datos con la cual se realizó el análisis estadístico.

Cuantificación de anticuerpos neutralizantes

La cuantificación de los anticuerpos neutralizantes se realizó utilizando el kit de prueba de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 de Lansionbio, que emplea el método de inmunofluorescencia seca cuyo fundamento se basa en utilización de un marcador fluorescente muy eficaz, como el quelato de europio (Eu^{3+}) que flúorese casi 1000 veces más lento

que la fluorescencia de fondo natural, presentando un cambio de "Stokes" amplio (diferencia entre la longitud de onda de excitación y la de emisión), dicho retraso permite que el marcador fluorescente sea detectado con una mínima interferencia desde la fluorescencia de fondo [11].

Las lecturas fueron realizadas en un analizador de inmunofluorescencia seca modelo LS-1100. Una vez colocada la muestra en el puerto de recepción del cassette, la muestra líquida migra hacia adelante del cassette por capilaridad, luego los anticuerpos neutralizantes de SARS-CoV-2 contenidos en la muestra se combinan con la Proteína S de SARS-CoV-2 que se encuentran adheridos a microesferas fluorescentes, por consiguiente, las microesferas así combinadas se unen a la proteína receptora ACE2 ubicada en la línea de reacción. Se utilizaron valores referenciales positivos para anticuerpos neutralizantes ≥ 0.04 mIU/mL

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en términos de medidas de tendencia central y de dispersión, así como también en frecuencias absolutas y relativas. Los mismos se presentaron en tablas y figuras. La distribución estadística de las variables se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las comparaciones entre las variables se realizaron por medio de las pruebas t de Studen y U de Mann-Whitney, mientras que las correlaciones se efectuaron con la prueba de Spearman. El nivel de significancia empleado fue de 0,05 ($\alpha=0,05$) y los análisis se realizaron con la hoja de cálculo de Excel y el programa SPSS versión 25.0 en español.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron 50 sujetos de ambos sexos no vacunados, cuyas edades, en términos de media y desviación estándar, fueron de $38,8 \pm 23,6$ años. En cuanto a la distribución por sexo, 25 (50,0%) de los sujetos estudiados fueron del sexo masculino y 25 (50,0%) del femenino ($p > 0,05$). En esta investigación, a pesar de que se evidenció que los sujetos del sexo femenino presentaron el promedio de edad superior al de los del masculino, no se observó diferencias estadísticamente significativas entre las edades de ambos sexos (Masculino: $37,4 \pm 24,8$ años vs. Femenino: $40,2 \pm 22,8$ años; $p = 0,6836$). Figura 1.

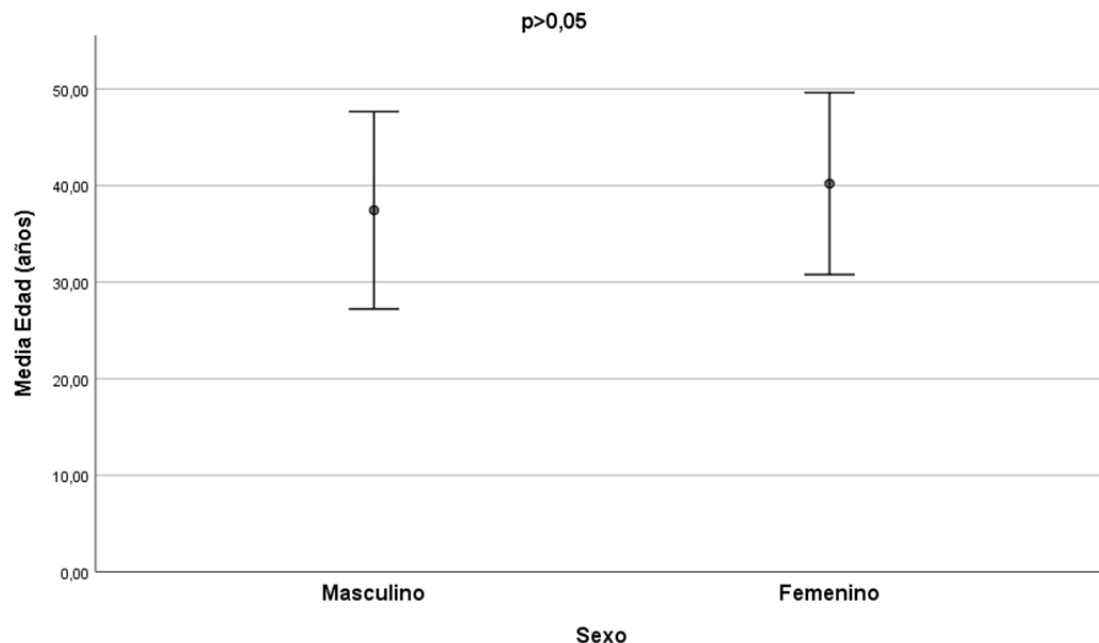


Figura 1. Edad de los sujetos no vacunados, según el sexo.

En relación al estudio, Avendaño et al. llevaron a cabo una investigación en el año 2020 cuyo objetivo principal fue caracterizar a pacientes con COVID-19, encontrando un mayor predominio de hombres sobre las mujeres (53,3%, IC 95%= 47,8% a 58,8% y n= 179 casos) y

categorizando un grupo de edad de 40 a 59 años (42,3%, IC 95%= 36,8% a 47,7% y n= 142 casos) no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas asociadas al sexo, padeciendo la infección de igual manera tanto en hombres como mujeres [12].

Por otro lado, en la presente investigación, 30 (60,0 %) de los sujetos evaluados presentaron un grado de severidad postinfección COVID-19 leve y 18 (36,0 %) moderado, mientras que solo 2 (4,0 %) de los sujetos objeto de estudio mostraron un grado de severidad postinfección grave.

El primer paso fue caracterizar a los pacientes no vacunados de acuerdo a la edad, sexo y grado de severidad. Debido a que la identificación de los factores que pueden afectar la producción de anticuerpos neutralizantes, es crucial para evaluar la vulnerabilidad de ciertos grupos poblacionales ante exposiciones futuras al SARS-CoV-2. Además, son indicadores que influyen en la duración y eficacia de la inmunidad adquirida tras la infección, o vacunación, permitiendo adaptar estrategias de inmunización o políticas adecuadas de salud pública.

En la tabla 1 se muestran los estadísticos descriptivos de las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en pacientes no vacunados que padecieron de COVID-19 durante el año 2022. Se observa una mediana de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en los sujetos no vacunados de 0,360 mUI/mL con una gran dispersión de resultados que se evidencia por el elevado rango que presentaron las concentraciones de dichos anticuerpos en los sujetos antes mencionados.

Tabla 1: Estadísticos descriptivos de las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en sujetos no vacunados.

Variable	Estadísticos					
	n	Mediana	DE	Mín.	Máx.	Rango
Acs (mUI/mL)	50	0,360	0,245	0,020	0,910	0,890

DE: Desviación estándar / Mín.: Mínimo / Máx.: Máximo.

Se esperaba que en los pacientes no vacunados no presentaran una concentración significativa de anticuerpos neutralizantes, pero contrario a lo previsto dicha población demuestra tener una respuesta inmune humoral efectiva tras sufrir la infección de forma natural. En consonancia con el estudio realizado en el año 2020 por Bin Ju et al. demostraron en pacientes infectados con SARS-CoV-2, y no vacunados, la producción de anticuerpos que neutralizan potentemente el SARS-CoV-2; esta actividad se correlaciona con la competencia con ACE2 por la unión a RBD. Los valores de la concentración inhibitoria media (CI_{50}) oscilaron entre 0,03 y más de 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para los anticuerpos neutralizantes P2C-1F11, P2B-2F6 y P2C-1A3 que fueron los más potentes, con valores de CI_{50} de 0,03; 0,05 y 0,62 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente [13].

En relación a ello, Sang-Mu Shim et al. en el año 2022 recolectaron muestras de sangre de personas sanas que se habían recuperado por completo de COVID-19 aproximadamente 3 meses (140 días), 6 meses (181 días) y 9 meses (271 días) después de la confirmación de la COVID-19 en febrero o marzo de 2020. Los participantes tenían ≥ 19 años y no estaban vacunados. En el resultado de la investigación demostraron que el 66,1% de

la población todavía tenía anticuerpos neutralizantes aproximadamente 9 meses (rango 255 a 302 días) después de la confirmación del diagnóstico.

Corroborándose que en individuos no vacunados hay producción de anticuerpos neutralizantes que persisten en el tiempo y que pueden ser utilizados para la predicción del estado inmunológico en individuos con infección natural. La información sobre la persistencia y el cambio en los niveles de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 puede utilizarse para proporcionar evidencia para desarrollar esquemas de vacunación para individuos con infección previa [14].

Por su parte, la tabla 2 presenta la comparación de las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en los sujetos evaluados, según el protocolo de vacunación. Se observa que, a pesar de que las concentraciones séricas de esos anticuerpos en los sujetos no vacunados fueron más elevadas que las de los vacunados con dos dosis, no se observó diferencias significativas entre las medianas de esos anticuerpos en ambos grupos ($p>0,05$).

Tabla 2. Comparación de las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en los sujetos evaluados, según el estado de vacunación.

Variables	Sujetos evaluados		<i>p</i>
	No Vacunados (n=50)	Vacunados (n=50)	
Acs (mUI/mL)	0,360 (0,890)	0,200 (1,76)	0,2005

Los resultados se muestran en Mediana (Rango) / *p*-valor asociado a la prueba U de Mann Whitney.

Estos resultados contrastan a lo esperado, sin embargo, deja en evidencia la respuesta del sistema inmune humoral ante la infección natural, la cual puede estar afectada por factores inherentes a la enfermedad, como por ejemplo la gravedad de la misma; estado nutricional, enfermedades crónicas e intensidad de la respuesta inmune, ya que el mecanismo de defensa puede ser o no exacerbado.

De igual forma, en la revisión bibliográfica realizada en el año 2023 por Petro Oropeza et al. los resultados de los distintos estudios indican que tanto la infección natural como la vacunación son capaces de generar una robusta respuesta específica, tanto de linfocitos B (producción de anticuerpos) como de linfocitos T (inmunidad celular), con una memoria inmunitaria perdurable, si bien en los pacientes vacunados las concentraciones de anticuerpos disminuyen en forma más rápida después del reto antigénico que en los pacientes que han superado una infección natural [15].

Los resultados demostrados se encuentran en concordancia con los de Sivan Gazit et al. publicados en el año 2021 quienes compararon tres grupos (1) individuos de SARS-CoV-2 que recibieron un régimen de dos dosis de la vacuna de ARNm BNT162b2 de BioNTech/Pfizer, (2) individuos previamente infectados que no han sido vacunados, y (3) individuos previamente infectados y vacunados con una sola dosis. Probandos que la inmunidad natural confiere una protección más duradera y más fuerte contra la infección, la enfermedad sintomática y la hospitalización causadas por la variante Delta del SARS-CoV-2, en comparación con la inmunidad inducida por la vacuna de dos dosis BNT162b2. Las personas que habían estado previamente infectadas con el SARS-CoV-2 y que recibieron una dosis única de la vacuna obtuvieron protección adicional contra la variante Delta [16].

Con respecto a ello, en el estudio realizado en el año 2024 por Hui Xie et al. en el que analizaron anticuerpos neutralizantes contra las diferentes cepas virales de 490 individuos con SARS-CoV-2 y 187 sin SARS-CoV-2 en el brote de COVID-19 de Beijing durante diciembre de 2022 a enero de 2023. Tuvieron como resultado que, en individuos no infectados, se produjeron niveles limitados de anticuerpos neutralizantes contra las cepas prototipo y variante después de dos dosis de la vacuna, pero aumentaron significativamente después de tres o cuatro dosis de la vacuna. Los individuos infectados tuvieron niveles altos de AN contra las variantes BF.7, BQ.1 y BQ.1.1 y niveles moderados de AN contra las variantes XBB.1 y XBB.1.5. Los niveles más altos de AN se observaron después de dos dosis de inoculación. Destacando que existió una producción de anticuerpos neutralizantes sin ninguna dosis de la vacuna e incluso la cantidad de AN es superior a los producidos en una sola dosis de la vacuna [17].

Como existe una gran dispersión de los datos, a pesar de que las concentraciones séricas de anticuerpos neutralizantes fueron mayores en el grupo de los pacientes no vacunados con respecto al grupo control de vacunados no hay diferencias significativas, lo que puede estar asociado a la limitada muestra de estudio

En referencia a la relación entre las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en sujetos no vacunados y la edad, el sexo y el grado de severidad postinfección COVID-19, la tabla 3 revela que se observó una correlación positiva y significativa entre los niveles séricos de dichos anticuerpos y la edad ($p < 0,05$). El resto de las variables evaluadas no correlacionaron con los niveles séricos de anticuerpos neutralizantes en los sujetos no vacunados. Tabla 3.

Tabla 3. Correlación entre las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en sujetos no vacunados y la edad, el sexo y el grado de severidad postinfección COVID-19.

Variables	rho	p
Edad	0,8576	0,0000*
Sexo	0,1692	0,2392
Grado de severidad postinfección COVID-19	0,2183	0,1273

*p-valor<0,05

Al relacionar las variables cuantitativas edad y concentración de anticuerpos neutralizantes empleando el gráfico de dispersión se observa notablemente que la concentración de AN de los sujetos evaluados fue mayor a medida que aumentaba la edad.

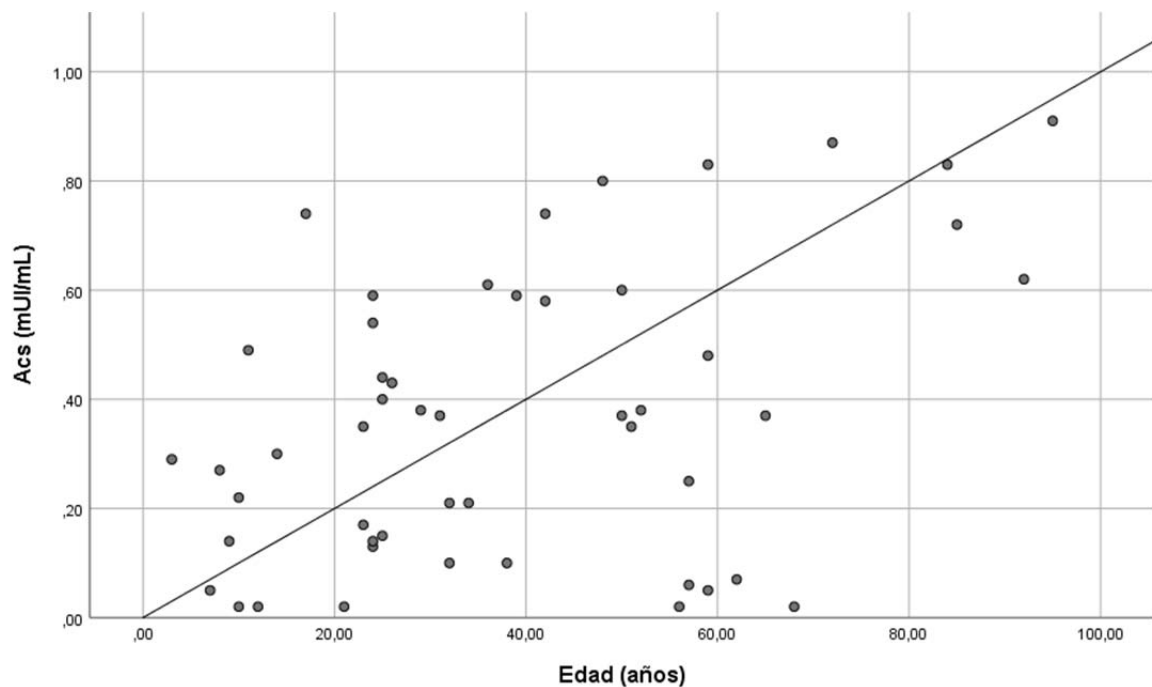


Figura 2. Dispersión entre las concentraciones séricas de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 y la edad de los sujetos no vacunados.

De manera similar, en un estudio realizado en la universidad de Shanghai, China en el año 2020 se determinó la capacidad de los anticuerpos de neutralizar el virus a través de su unión a la proteína spike del SARS-CoV-2, obteniéndose títulos de anticuerpos variables. El 70% de los individuos presentó títulos de anticuerpos neutralizantes (AN) superiores a 1/500. Es interesante como en la investigación se detectaron títulos más altos de anticuerpos en adultos mayores, lo cual puede estar relacionado con el hecho de que en general la enfermedad por COVID-19 cursa con mayor sintomatología clínica en este grupo etario, lo que puede ser consecuencia de un mayor nivel de replicación viral y por tanto una estimulación mayor del sistema inmune, traduciéndose a títulos de AN más altos [18].

En el estudio titulado Cinética de los anticuerpos neutralizantes contra la infección por SARS-CoV-2 según sexo, edad y gravedad de la enfermedad realizado de marzo a diciembre de 2020 por Yoonjung Kim et al. y publicado el año 2022 se evaluaron a 143 pacientes que se recuperaron de COVID-19. Encontrando, una reducción gradual de los títulos de AN a lo largo del tiempo con una disminución significativa de 6 a 9 meses después de la infección por COVID-19 ($p < 0,001$) [19].

En las comparaciones de tiempo hasta el sexo, la edad y la gravedad de la enfermedad, la reducción de los títulos de AN a lo largo del tiempo no se vio afectada por el sexo ($p = 0,167$), la edad ($p = 0,188$) o la gravedad de la enfermedad ($p = 0,081$). Además, el título de AN fue 1,46 veces significativamente mayor en aquellos ≥ 50 años que en aquellos < 50 años ($p = 0,036$) independientemente del tiempo.

Asimismo, el título de AN fue 2,41 veces mayor en el grupo de gravedad de la enfermedad moderada o superior que en el grupo de gravedad inferior a moderada ($p < 0,001$). Sin embargo, no se observaron diferencias

significativas en términos de sexo ($p = 0,300$). Dada la reducción de AN a lo largo del tiempo, es necesario mantener los anticuerpos neutralizantes protectores independientemente del sexo, la edad o la gravedad de la enfermedad [19].

CONCLUSIÓN

La infección natural por el SARS-CoV-2 en los individuos evaluados ha demostrado una respuesta inmune con generación de anticuerpos neutralizantes, sin embargo, la vacunación es una herramienta que permite alcanzar inmunidad sin la necesidad de padecer la enfermedad, disminuyendo los riesgos significativos durante una infección inicial, como la hospitalización o cuidados intensivos.

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación han aportado información relevante en la demostración del desarrollo de anticuerpos con la capacidad de neutralizar al SARS-CoV-2 en pacientes no vacunados, debido a que en este grupo de participantes se genera una respuesta inmune elevada tras la infección inicial. En cuanto a las comparaciones realizadas entre los individuos no vacunados con el grupo control de pacientes vacunados contra el virus, se evidenciaron títulos de AN similares en sujetos no vacunados, esto se asocia a una respuesta inmune robusta inducida por parte de la infección natural.

Tras la evaluación de la relación de AN y las variables edad, sexo y grado de severidad de la infección, se reflejó que la concentración de AN en los pacientes de mayor edad estuvo presente con títulos de anticuerpos más elevados, lo cual puede estar asociado a un mayor nivel de replicación viral en este grupo de pacientes, el resto de las variables no estuvieron relacionadas con la concentración de AN.

RECOMENDACIONES

Dado el carácter transversal de este estudio, se propone un seguimiento longitudinal de los pacientes para evaluar la cinética de los anticuerpos neutralizantes en la población estudiada. Esto permitirá determinar la duración de la seropositividad y su impacto en la protección a largo plazo contra el SARS-CoV-2.

Para realizar un análisis más detallado de la respuesta de anticuerpos neutralizantes en adultos mayores de 50 años, se sugiere aumentar el tamaño de la muestra y estratificarla por grupos etarios específicos. Esto permitirá clarificar aún más las diferencias entre las concentraciones de anticuerpos neutralizantes según las diferentes edades con base en la magnitud de la respuesta inmunitaria.

Evaluar la influencia de comorbilidades, tratamientos y estilo de vida en la producción de anticuerpos neutralizantes post-COVID-19 para identificar posibles factores que modulen la respuesta inmunitaria.

LIMITACIONES

El tamaño de muestra actual, si bien permite obtener resultados confiables, podría limitarse para generalizar los hallazgos a una población más amplia y obtener estimaciones más sutiles en la producción de anticuerpos neutralizantes.

El estudio no incluyó la caracterización de las variantes del SARS-CoV-2 circulantes en la población estudiada y dicha información podría ser relevante para comprender la heterogeneidad de la respuesta inmunitaria.

Debido a la escasa información de investigaciones aplicadas a la población venezolana y latinoamericana con respecto a la producción de anticuerpos neutralizantes en pacientes no vacunados, no fue posible comparar los resultados obtenidos con otros estudios para identificar patrones y diferencias a nivel poblacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. Safiabadi SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, Armanfard N, Sagan SM, Jahanshahi-Anbuhi S. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev.* 2021 May 12;34(3):e00228-20. DOI: 10.1128/CMR.00228-20. PMID: 33980687; PMCID: PMC8142517.
2. Pastrian G. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int. J. Odontostomat.* [Internet]. 2020 Sep. [citado el 01 de Octubre de 2024]; 14(3): 331-337. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300331>
3. Diamond, M.S., Kanneganti, TD. Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. *Nat Immunol* 23, 165–176 (2022) ISSN 1529-2916. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01091-0>
4. Figueroa Montes LE. Neutralizing antibodies, new laboratory tests against SARS-CoV-2. *Acta Med Peru* [Internet]. 2022Feb.4 [cited 2024Oct.08];38(4). DOI: <https://doi.org/10.35663/amp.2021.384.2191>
5. Mittal A, Khattri A, Verma V. Structural and antigenic variations in the spike protein of emerging SARS-CoV-2 variants. *PLoS Pathog.* 2022 Feb 17;18(2):e1010260. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010260. PMID: 35176090; PMCID: PMC8853550.
6. Mittal A, Khattri A, Verma V. Structural and antigenic variations in the spike protein of emerging SARS-CoV-2 variants. *PLoS Pathog.* 2022 Feb 17;18(2):e1010260. DOI: 10.1371/journal.ppat.1010260. PMID: 35176090; PMCID: PMC8853550.
7. Ojeda DS, Gonzalez MM, Pallarés HM, Costa N GS, Sanchez L, et al. Emergency response for evaluating SARS-CoV-2 immune status, seroprevalence and convalescent plasma in Argentina. *PLOS Pathogens* 2021 17(1): e1009161. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009161>
8. Cabanes L, Rubio C, Martinez O, Naval E. Inmunidad humoral natural al año tras infección por SARS-CoV-2 en pacientes hospitalizados. *Enf Infecciosas y Microbiología Clínica. Rev* 2021. [cited 2024Oct.08] <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.10.012>

9. Asociación médica mundial. Declaración de Helsinki de la AMM principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. [Internet]. 2017 Mar [Citado el 08 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policiesspost/>
10. Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y Tecnología e Industrias Intermedias. Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología Venezolano. Código de Ética para la Vida. Caracas: 2011.
11. Bishop M, Fody E, Schoeff L. Química clínica principios procedimientos y correlaciones. 5ta edición. McGraw-Hill Interamericana, 2006. ISBN: 970105766X.
12. Avendaño L, Blacio C, Calderón A, Cueva MF. Caracterización clínica y de gravedad de adultos con COVID-19 hospitalizados. Boletín de Malariología y Salud Ambiental 2022. [citado 2024Oct.08]. <https://doi.org/10.52808/bmsa.7e6.622.012>.
13. Ju, B., Zhang, Q., Ge, J. et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. Nature 584, 115–119 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2380-z>
14. Shim SM, Kim JW, Jung S, Jung Y, Woo HM, Yang JS, Kim KC, Lee JY. Persistence of the neutralizing antibody response after SARS-CoV-2 infection. Clin Microbiol Infect. 2022 Apr;28(4):614.e1-614.e4. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.12.012. Epub 2021 Dec 23. PMID: 34954127; PMCID: PMC8695319.
15. Petro MJ, Rodríguez S, Sánchez C, Sánchez M, Vilorio I, Escobar E. Respuesta inmunitaria anti-SARS-CoV-2: Infección Natural vs. Vacunación. Rev. Digital de Postgrado UCV. 2023. [citado 2024Oct.08]. DOI: <https://doi.org/10.37910/RDP.2023.12.1.e358>
16. Gazit S, Shlezinger R, Pérez G, Lotan R, Peretz A, Ben-Tov A, Cohen D, Muhsen K, Chodick G, Patalon T. Comparing SARS-CoV-2 natural immunity to vaccine-induced immunity: reinfections versus breakthrough infections. MedRxiv 2021.08.24.21262415; DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.08.24.21262415>
17. Xie H, Zhang J, Bai S, Lv M, Li J, Chen W, et al. The contributions of vaccination and natural infection to the production of neutralizing antibodies

against the SARS-CoV-2 prototype strain and variants. IJID Vol 144:107060 July 2024. [citado 2024Oct.08]. DOI: 10.1016/j.ijid.2024.107060

18. Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen Jun, Xia S et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. MedRxiv 2020.03.30.20047365; DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
19. Kim Y, Bae JY, Kwon K, Chang HH, Lee WK, Park H, Kim J, Choi I, Park MS, Kim SW. Kinetics of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 infection according to sex, age, and disease severity. Sci Rep. 2022 Aug 5;12(1):13491. DOI: 10.1038/s41598-022-17605-1. PMID: 35931794; PMCID: PMC9356129.