



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES FRENTE AL SARS-CoV-2 EN
INDIVIDUOS CON INMUNIDAD NATURAL E INDIVIDUOS VACUNADOS
RESIDENTES DEL ESTADO ARAGUA**

**Trabajo de investigación presentado
como requisito para aprobar la
Asignatura por:**

Br. Añez Ferrarotto, Loana Katerina
Br. Cárdenas Ferrarotto, Rafael Antonio

Tutoras científicas:

Prof. León, Blanca
Prof. Ambrosio, Luisa

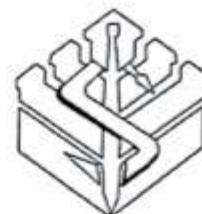
Tutora metodológica:

Prof. Rojas, Glenda

La Morita, Noviembre 2023




UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN




VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: "Anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en individuos con inmunidad natural e individuos vacunados residentes del estado Aragua" presentado por los bachilleres Loana Añez y Rafael Cárdenas con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día lunes trece del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Profesora Glenda Rojas.


Por otra parte, se hace constar para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.



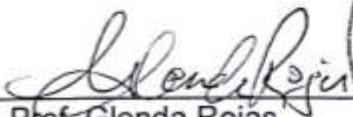
Prof. Blanca León
C.I.: 6865627
Tutora Científica



Prof. Luisa Ambrosio
C.I.: 16.207.324
Tutora Científica



Prof. Mayra Hidalgo
C.I.: 5263047
Jurado Evaluador



Prof. Glenda Rojas
C.I.: 7.274.490
Coordinadora del Jurado





**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



La Morita, 31 de Octubre de 2023

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En nuestro carácter de tutoras científicas del trabajo titulado: ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES FRENTE AL SARS-CoV-2 EN INDIVIDUOS CON INMUNIDAD NATURAL E INDIVIDUOS VACUNADOS RESIDENTES DEL ESTADO ARAGUA, el cual es presentado por los bachilleres Loana Añez y Rafael Cárdenas, para aprobar la asignatura Trabajo de investigación, consideramos que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

Blanca León
C.I.: V- 6.865.627

Luisa Ambrosio
C.I.: V-16.207.324

DEDICATORIA

A nuestros padres que nos dieron la vida y han estado con nosotros en todo momento, siempre apoyándonos y brindándonos todo su amor; por darnos un futuro y creer en nosotros. Por esto y más, les agradecemos de todo corazón el que estén con nosotros.

Al Dr. Carlos Añez, quien fue excelente médico, esposo, padre, hijo, hermano, tío y amigo; que aunque no esté presente en este momento, sabemos que estaría orgulloso de nosotros.

Los amamos con todo el corazón.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Jehová, quien con su amor ha guiado nuestras vidas, dándonos siempre la fuerza para seguir adelante, permitiéndonos alcanzar los propósitos que tiene planeado para nosotros.

A nuestros padres, Carlos Añez, Antonina Ferrarotto, Rosellina Ferrarotto y a nuestra abuela María Caccamo, por sus consejos, apoyo y paciencia. Por estar con nosotros en cada paso dado, acompañándonos fielmente en cada momento de nuestras vidas, sin importar nada. Por compartir nuestros sueños y anhelos, por su apoyo incondicional y por todo el amor que nos han brindado.

A las licenciadas Blanca León, Luisa Ambrosio y Glenda Rojas en la conducción, redacción y guía de las tesis, gracias. Al licenciado Franklin Pacheco, por su paciencia, atención y gran ayuda no solo en la estadística, sino en la culminación de la tesis, por ser uno de nuestros guías, gracias.

A las licenciadas Dulce Henríquez, por darnos la oportunidad de realizar la tesis en su laboratorio y Junell Rodríguez quien es representante de Labsolution 369 1, C.A., por sus valiosos aportes y entrenamiento; a ambas gracias por haber apostado por nosotros, sin ustedes, la tesis no hubiese sido posible.

A nuestros hermanos; Loreana Añez, Ricardo Añez y Yessica Cárdenas, y a nuestros amigos; Johandry Alvarado, Vidal León, Zoraya Agüero y Liliana Chabin, por animarnos y apoyarnos, no solo en la realización de la tesis, sino también en el curso de esta hermosa carrera, permitiéndonos seguir motivados y continuar.

A todas aquellas personas que han formado parte importante de nuestras vidas, pero que no hemos mencionado, gracias por las enseñanzas y afecto hacia nosotros.

INDICE GENERAL

	PP
LISTA DE FIGURAS	Vii
LISTA DE TABLAS	viii
RESUMEN	lx
ABSTRACT	X
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Tipo de investigación.....	9
Población y muestra.....	9
Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	11
Procedimiento experimental.....	11
Análisis de datos.....	13
RESULTADOS Y DISCUSION	14
Resultados.....	14
Discusión.....	25
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
Conclusiones.....	31
Recomendaciones.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

ANEXOS	38
A. Consentimiento informado.....	38
B. Ficha de recolección de datos.....	40
C. Inserto Unscience del ensayo de inmunofluorescencia seca.....	42

LISTA DE FIGURAS

N°		PP
1	Distribución porcentual de los individuos participantes en el estudio según el sexo.....	14
2	Porcentaje de vacunados con las diferentes vacunas disponibles en el mercado frente al SARS-CoV-2.....	17
3	Concentración y distribución de anticuerpos neutralizantes obtenidas en individuos vacunados y no vacunados frente al SARS-CoV-2.....	18
4	Distribución porcentual de los individuos evaluados según el número de dosis de vacunas aplicadas frente al SARS-CoV-2	20
5	Patologías de base encontradas en la población vacunada frente al SARS-CoV-2.....	23

LISTA DE TABLAS

N°		PP
1.	Distribución de los individuos participantes en el estudio según la edad.....	15
2.	Frecuencia y porcentaje de individuos vacunados con antecedentes de COVID-19.....	15
3.	Concentración de anticuerpos neutralizantes determinados en individuos vacunados y no vacunados frente al SARS-CoV-2.....	16
4	Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos con inmunidad natural y en individuos vacunados con Sinopharm.....	19
5	Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con Sputnik V y con vacunación heteróloga.....	19
6	Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con 1 y 4 dosis.....	21
7	Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con 2 y 3 dosis.....	21
8	Determinación de la concentración de anticuerpos neutralizantes en base al tiempo transcurrido de la aplicación de la última dosis de vacuna.....	21
9	Asociación entre las características sociodemográficas y la concentración de anticuerpos neutralizantes en pacientes vacunados y no vacunados.....	22
10	Concentraciones de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados frente al SARS-CoV-2 con patologías y sin patologías de base.....	24
11	Concentraciones de anticuerpos neutralizantes determinados en individuos vacunados con diagnóstico y sin diagnóstico previo de COVID-19.....	24

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA**

**ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES FRENTE AL SARS-CoV-2 EN INDIVIDUOS
CON INMUNIDAD NATURAL E INDIVIDUOS VACUNADOS RESIDENTES DEL
ESTADO ARAGUA**

Bachilleres: Añez, Loana
Cárdenas, Rafael

Tutoras Científicas: Prof. León, Blanca
Prof. Ambrosio, Luisa

Tutora metodológica: Prof. Rojas, Glenda

La Morita, 31 de octubre de 2023

RESUMEN

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN con alta variabilidad genómica, el cual generó grandes daños a nivel mundial, captando la atención de grandes empresas, quienes buscaron controlar la enfermedad mediante el desarrollo de diversas vacunas, siendo el blanco principal la producción de AcN dirigidos a la proteína S. En tal sentido, mediante la realización de una investigación descriptiva transversal, se planteó evaluar la presencia y concentración de AcN frente al SARS-CoV-2 por el método de inmunofluorescencia seca, en una muestra de 88 individuos residentes del estado Aragua (20 individuos no vacunados y 68 vacunados) donde las mujeres representaron el 65% y los hombres 35%, con una media de edad de 44,23 años. Se observó un mayor uso de la vacuna Sinopharm (71%), así como individuos que poseían dos y tres dosis de diferentes vacunas (41% y 36% respectivamente), determinándose que existe una activación efectiva de la inmunidad humoral frente al SARS-CoV-2 independientemente que el estímulo haya sido natural o generado por la aplicación de la vacuna, con una mayor producción de AcN en individuos con inmunidad híbrida (Media=728,11AU/mL). Adicionalmente, se encontró que la vacunación heteróloga podría ser una estrategia efectiva para combatir la propagación del virus en contraste con un esquema de vacunación homóloga ($p=0,0005$). En cuanto a la asociación entre la concentración de AcN y las características sociodemográficas, no se observó significancia estadística con la edad ($p=0,89$) en contraste con el sexo ($p=0,044$) con producción incrementada de AcN en hombres. Se concluye que aunque la infección natural ha mostrado una protección semejante a las vacunas contra la reinfección de SARS-CoV-2, la vacunación sigue siendo el método más efectivo para proteger frente al COVID-19, pues tiene la ventaja de inducir inmunidad sin tener que pasar por la enfermedad.

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

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA**

**NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST SARS-COV-2 IN INDIVIDUALS WITH
NATURAL IMMUNITY AND VACCINATED INDIVIDUALS RESIDENTS OF THE
STATE OF ARAGUA**

Bachelors: Añez, Loana
Cárdenas, Rafael

Scientific Tutors: León, Blanca
Ambrosio, Luisa

Methodologic Tutor: Rojas, Glenda

La Morita, Oct 31th, 2023

ABSTRACT

SARS-CoV-2 is an RNA virus with high genomic variability, which has caused significant damage worldwide, capturing the attention of major companies that sought to control the disease through the development of various vaccines, with the main target being the production of neutralizing antibodies (AcN) targeting the S protein. In this regard, a descriptive cross-sectional study was conducted to evaluate the presence and concentration of AcN against SARS-CoV-2 using the dry immunofluorescence method, in a sample of 88 individuals residing in the state of Aragua (20 unvaccinated individuals and 68 vaccinated individuals), where women represented 65% and men 35%, with a mean age of 44.23 years. A higher use of the Sinopharm vaccine was observed (71%), as well as individuals who had received two and three doses of different vaccines (41% and 36% respectively), determining that there is an effective activation of humoral immunity against SARS-CoV-2 regardless of whether the stimulus was natural or generated by vaccine administration, with a higher production of AcN in individuals with hybrid immunity (Mean=728.11 AU/mL). Additionally, it was found that heterologous vaccination could be an effective strategy to combat virus spread compared to a homologous vaccination schedule ($p=0.0005$). Regarding the association between AcN concentration and sociodemographic characteristics, no statistically significant association was observed with age ($p=0.89$), in contrast to sex ($p=0.044$), with increased AcN production in males. In conclusion, although natural infection has shown similar protection to vaccines against SARS-CoV-2 reinfection, vaccination remains the most effective method to protect against COVID-19, as it has the advantage of inducing immunity without having to go through the disease.

Keywords: COVID-19, dry immunofluorescence, neutralizing antibodies, pandemic, SARS-CoV-2.

INTRODUCCIÓN

En Diciembre de 2019, en la ciudad de China, Wuhan, se registraron brotes de personas que presentaban síntomas clínicos de neumonía, cuyo agente etiológico fue designado como SARS-CoV-2 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 11 de Marzo de 2020. Tercero de una saga de coronavirus altamente patogénicos y actual protagonista de la pandemia vivida desde entonces; éste virus ha sido el causante de una gran morbilidad y mortalidad a nivel mundial, con millones de infectados y más de seis millones de muertes hasta la fecha (OMS, 2020; Johns Hopkins University & Medicine, 2022).

El SARS-CoV-2 es un virus constituido por un genoma de ssRNA (ARN monocatenario no segmentado), ubicado taxonómicamente en la familia *Coronaviridae*, del género *Betacoronavirus* (Carballal y Oubiña, 2014; International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2022) cuyo linaje desciende del grupo de genes del murciélago, pudiendo haber sido una fuente de contagio para el hombre, ya sea directamente o a través de un hospedador intermediario, como en los coronavirus anteriores (Pal *et al.*, 2020; American Veterinary Medical Association (AVMA), 2020).

La desmesurada rapidez con la que se extendió este agente y la gran afectación que ha generado en las personas, con alto índice de mortalidad, ha captado la atención del personal de salud, científicos y de muchas agencias reguladores a nivel mundial, los cuales han buscado controlar la evolución de la enfermedad, generando métodos diagnósticos, posibles tratamientos y vacunas eficaces, sin un entendimiento total del mecanismo de acción y su actuación, viéndose obligados a trabajar sobre la marcha, en

especial, por la gran cantidad de variantes encontradas hasta el momento (Krause *et al.*, 2021).

Hoy en día se conoce que la entrada de las diversas variantes del SARS-CoV-2 a la célula del hospedador se inicia mediante la unión del receptor ACE2 (ubicado principalmente en los pulmones, riñones y corazón), con la región RBD de la subunidad S1 de la glucoproteína espiga del virus, para posteriormente acceder a la célula mediante la escisión proteolítica de la proteína S, lo cual puede hacer a través de dos rutas, por endocitosis o por fusión directa con la superficie celular; y poder realizar su replicación a nivel citoplasmático (Kuba *et al.*, 2005; Fehr y Perlman, 2015).

En estudios realizados *in vivo* en ratones infectados por SARS-CoV-2, se obtuvieron como resultado una expresión de ACE2 considerablemente reducida en los pulmones, trayendo consigo una mayor producción de angiotensina 2 (AT2), y aumentando a su vez la permeabilidad vascular pulmonar; lo que concuerda con los casos graves de COVID-19 donde se observan altos niveles de AT2 y un mayor daño pulmonar (Kuba *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2020).

Por otro lado, se ha observado que el SARS-CoV-2 tiende a producir daños a nivel cardíaco con una elevación en los niveles de troponina, asociados a una mayor mortalidad; lo cual se pudo evidenciar en una investigación llevada a cabo por Guo *et al.* (2020), donde se estudiaron 187 pacientes de COVID-19, encontrándose en 28% de los mismos, un daño cardíaco asociado a la infección.

Otros estudios sugieren que en gran parte, la virulencia asociada a la infección por SARS-CoV-2, es ocasionada por la capacidad de activación de macrófagos y conducción de una reacción inmunológica grave que resulta en

una liberación excesiva de citoquinas proinflamatorias, como IFN- α , IFN- γ , IL-6, entre otras, y quimiocinas, denominadas tormentas de citosinas; siendo uno de los mecanismos que causan gran daño a nivel de órganos (Jiménez y Espinoza, 2020; Li *et al.*, 2020).

Como se ha observado, la infección producida por el SARS-CoV-2 tiene un amplio espectro de gravedad, pudiéndose presentar con síntomas leves a nivel de vías respiratorias superiores o conllevar a una insuficiencia respiratoria, por lo que juega un papel fundamental la respuesta inmunitaria del hospedador (Samudrala *et al.*, 2020).

La producción de anticuerpos neutralizantes (AcN) es una de las protecciones que ofrece el sistema inmunitario, específicamente, son parte de la respuesta humoral del sistema inmune adaptativo; producidos por el organismo mediante el contacto con el agente infeccioso o mediante la aplicación de una vacuna y que a diferencia de los anticuerpos de unión, tienen la capacidad de unirse específicamente a una parte del antígeno y neutralizar cualquier efecto que pueda ejercer el SARS-CoV-2 (Alcamí, 2020). Es por su actuación que los AcN se han constituido en un elemento de control importante, y su producción, uno de los objetivos de la aplicación de vacunas (Picazo, 2020).

La confianza puesta en las vacunas para la producción de los anticuerpos ha encaminado al desarrollo mundial de una gran cantidad de éstas (Graepel *et al.*, 2020). Hoy por hoy, se cuentan con vacunas de virus inactivados, proteínas recombinantes, vectorizadas y vacunas de ARN mensajero (ARNm), diseñadas por una amplia diversidad de empresas (Sinopharm, Sputnik V, etc) de manera que se pueda mitigar la infección creando una protección de grupo, donde las personas estén protegidas al

estar rodeadas de una población que ya se encuentre inmunizada (Picazo, 2020).

En efecto, hay un estimado de 13 billones de dosis de vacunas administradas a nivel mundial, número que varía día a día y que puede ser monitoreado en tiempo real en el sitio web de la Universidad Johns Hopkins; en relación a Venezuela, hay un estimado de 37 millones de dosis de vacunas administradas (Johns Hopkins University & Medicine, 2022).

En el año 2021, en Lima, Perú, se realizó un estudio que apoya lo anteriormente expuesto, donde se determinó la presencia y concentración de anticuerpos neutralizantes en 117 profesionales de la salud vacunados contra el SARS-CoV-2, con dos dosis de la vacuna Sinopharm. Aunque se observó que 47,90% de los individuos vacunados no desarrollaron anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2; al comparar la presencia de dichos anticuerpos en aquellas personas vacunadas con y sin diagnóstico previo de COVID-19, se detectó una mayor frecuencia (76,20%) en aquellos que habían adquirido previamente la enfermedad, obteniendo así una inmunidad híbrida (Pareja-Cruz *et al.*, 2021).

Para el mismo año, Miranda y Sanguenza (2021), evaluaron la eficacia y eficiencia de las vacunas Sputnik V y Sinopharm mediante la producción de anticuerpos neutralizantes en 45 profesionales de la salud de la Caja Petrolera de Salud, La Paz, Bolivia. La investigación se llevó a cabo en una muestra que fue previamente vacunada con dos dosis de vacunas frente al SARS-CoV-2 (91% Sinopharm y 9% Sputnik V), donde se evidenció la producción de anticuerpos neutralizantes en 96% de los individuos evaluados, independientemente de la vacuna aplicada, sin embargo, un bajo porcentaje de las personas (2%) obtuvieron un alto nivel de AcN, mientras que 62% cursaron con niveles medios de estos.

Siguiendo el mismo orden de ideas, Chia *et al.* (2021) realizaron un estudio longitudinal donde evaluaron la dinámica de las respuestas de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2. La investigación se llevó a cabo en 517 pacientes que se habían recuperado de COVID-19 durante 180 días después del inicio de los síntomas, mediante un seguimiento en los cambios de los niveles de AcN, utilizando un virus sustituto validado previamente para la prueba de neutralización. El estudio demostró que la dinámica de los anticuerpos neutralizantes varía mucho entre los pacientes, al igual que la tasa de disminución y longevidad de los mismos, sin embargo, encontraron una asociación entre la cantidad de AcN y los pacientes que habían presentado síntomas graves de SARS-CoV-2 y en los niveles superiores de citosinas proinflamatorias.

Otro estudio realizado en Córdoba, España, por Rodríguez *et al.* (2021) evidenció que aunque se obtuvieron mayores títulos de AcN luego de la colocación de la primera dosis, estos decaían en poco tiempo, incluso antes de la colocación de la segunda dosis de las vacunas, aproximadamente duraban 14 días. Ellos evaluaron la respuesta de anticuerpos IgG totales anti S y de anticuerpos neutralizantes producidos por la vacuna Sputnik en 800 muestras tomadas a una cohorte de 285 personas. Dichas muestras fueron tomadas en tres momentos diferentes, una muestra basal previa a la colocación de la vacuna, una luego de la primera dosis y una luego de la segunda dosis.

En vista de la importancia que implica la producción de los anticuerpos neutralizantes para restringir la infección viral y el hecho de que su producción dependa de múltiples factores, se hizo fundamental evaluar la concentración de los mismos frente al SARS-CoV-2, en el suero de individuos que fueron sometidos con antelación a las diferentes dosis de las vacunas existentes; ya sean las disponibles según el esquema de

vacunación provisto por el sistema de salud venezolano, como lo son Sinopharm y Sputnik V, o aquellas vacunas que algunos habitantes del estado Aragua, se han colocado en otros países.

En tal sentido, es crucial conocer si mediante la aplicación de las vacunas, la población genera inmunidad frente al SARS-CoV-2; y de ser así, qué porcentaje de estos la presentan ya que, la producción de anticuerpos depende de muchos factores que hasta ahora son desconocidos. Al respecto, existen personas que luego de recibir el estímulo, no son capaces de generar anticuerpos (personas no respondedoras) (García, A, comunicación personal, marzo 22, 2022), e incluso, luego de generarlos, sus valores decaen rápidamente en el tiempo (Rodríguez *et al.*, 2021), por lo que confiando en la posible protección que las vacunas le brindan, pueden dejar de poner en práctica las medidas básicas de bioseguridad quedando por tanto expuestos a una posible infección y adquirir así la enfermedad con una alta intensidad y convirtiéndose en diseminadores del virus.

Adicionalmente, a nivel mundial existe un aumento significativo de los casos de COVID-19 relacionados con la variante Ómicron, por lo que la Sociedad Venezolana de Infectología (2022) recomienda reforzar la inmunidad con diferentes dosis según las vacunas disponibles en los esquemas de vacunación. Es así como en los adultos recomiendan la vacunación con 2 dosis de Sinopharm, Sinovac o Sputnik V y un refuerzo de manera homóloga o heteróloga; en adultos mayores de 50 años, o que tienen enfermedades debilitantes recomiendan la aplicación de una cuarta dosis 4 meses después del refuerzo anterior; en niños (3-18 años), recomiendan vacunarse al menos con 2 dosis de Sinopharm o Sinovac y aplicar un refuerzo al menos a los 4 meses de haber cumplido el curso inicial.

Por lo antes expuesto, en el presente trabajo se planteó evaluar la concentración de AcN frente al SARS-CoV-2 en el suero de individuos que fueron sometidos a diferentes dosis de las vacunas antes mencionadas. Los resultados permitieron comparar las concentraciones obtenidas de los AcN según la dosis y el tipo de vacuna aplicada, teniendo en consideración la edad y el sexo de los individuos, patologías de base y el antecedente de haber padecido COVID-19 antes o después de la vacunación, así como las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas en aquellos individuos con inmunidad natural frente al SARS-CoV-2. Con los resultados se puede disponer de datos confiables que permiten la toma de decisiones sobre el efecto de la administración de dosis de refuerzos a través del tiempo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en individuos con inmunidad natural e individuos vacunados residentes del estado Aragua

Objetivos específicos

- Determinar la concentración de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en individuos vacunados y no vacunados.
- Comparar las concentraciones de anticuerpos neutralizantes en individuos no vacunados y vacunados según las vacunas y dosis aplicadas.
- Asociar las concentraciones de anticuerpos neutralizantes obtenidas en los individuos vacunados y no vacunados con las variables demográficas (edad, sexo), y en individuos vacunados con las patologías de base y antecedente de padecimiento de COVID-19.

MATERIALES Y MÉTODO

Tipo de investigación

La investigación fue de tipo descriptiva y de corte transversal, en la cual se planteó determinar la presencia y concentración de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en individuos vacunados y no vacunados. La recolección de datos y la posterior toma de muestra sanguínea fueron realizadas entre los meses de julio a diciembre del año 2022.

Población y Muestra

Población

La población estuvo conformada por individuos que presentaron una inmunidad natural e individuos vacunados frente al SARS-CoV-2 residentes del estado Aragua y que expresaron su deseo de participar en la investigación.

Muestra

La técnica de muestreo utilizada en el estudio se definió como no probabilística e intencional, debido a que se establecieron de antemano las características de las unidades que formaron parte de la muestra, y que estuvo constituida por 88 individuos, de los cuales 68 habían recibido algún tipo de vacunación frente al SARS-CoV-2, mientras que los otros 20 no fueron vacunados, sin embargo, tuvieron el antecedente de padecimiento de

COVID-19, este último conjunto se definió como un grupo de referencia en cuanto la producción de anticuerpos neutralizantes frente al microorganismo. Para la selección de la muestra a estudiar se tomaron los siguientes criterios:

a. Criterios de inclusión para individuos vacunados

- Personas dispuestas a participar en el estudio y que completaron el consentimiento informado.
- Personas que hayan sido vacunadas con diferentes dosis frente al SARS-CoV-2.
- Personas residentes del estado Aragua.

b. Criterios de exclusión para individuos vacunados

- Personas que no hayan sido vacunadas frente al SARS-CoV-2.

Por otra parte, para seleccionar los individuos que formaron parte del grupo de referencia, se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

a. Criterios de inclusión para el grupo de no vacunados

- Personas dispuestas a participar en el estudio y que completaron el consentimiento informado.
- Personas que no hayan sido vacunadas frente al SARS-CoV-2 pero que hayan presentado COVID-19 con o sin sintomatología.
- Personas residentes del estado Aragua.

b. Criterios de exclusión para el grupo de no vacunados

- Personas que hayan sido vacunadas frente al SARS-CoV-2.
- Personas que no hayan presentado COVID-19

El abordaje de los individuos que cumplieron con los criterios antes señalados y que accedieron a participar voluntariamente, fue realizado mediante a) convocatoria en los laboratorios privados que sirvieron de apoyo para la toma de las muestras sanguíneas, y b) visitas a los domicilios o lugares de trabajo de aquellos individuos que no pudieron movilizarse a los sitios indicados. Ambos procedimientos se realizaron hasta completar el tamaño de muestra de 88 individuos.

Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de información sobre los individuos en estudio, se aplicó una ficha de recolección de datos (Anexo B), a fin de recabar información sobre las variables edad, sexo, tipos de vacunas recibidas, dosis, padecimiento de COVID-19 y antecedentes personales como patologías de base.

Procedimiento experimental

Extracción de muestras sanguíneas a los individuos vacunados frente al SARS-CoV-2

Para la obtención de muestras sanguíneas a los individuos que formaron parte del estudio, se extrajeron aproximadamente 5 mL de sangre por venopunción de la vena antecubital con inyectora descartable de 10 mL y aguja de 21G x 1', luego el contenido de la inyectora se depositó lentamente en un tubo sin anticoagulante, previamente identificado con los datos del paciente respectivo. Posteriormente, se obtuvieron los sueros mediante centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos y las muestras fueron trasladadas al Laboratorio Clínico DUMAR C.A. Los sueros fueron

almacenados a -20°C hasta su procesamiento para la determinación de los anticuerpos neutralizantes.

Ensayo de Inmunofluorescencia seca para la determinación de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2

La determinación de la presencia y concentración de anticuerpos neutralizantes en suero se realizó empleando un estuche comercial de la marca UnSciencie que consistió en un inmunoensayo cuantitativo basado en membrana (Anexo C).

Para la realización del ensayo, se procedió a llevar el cuentagotas a la interfaz de la muestra, hasta haber obtenido un llenado completo con aproximadamente 40 uL de suero. Se perforó la membrana de sellado del tubo proveniente del estuche comercial, el cual contenía un tampón, y se insertó el cuentagotas. Una vez ocurrido esto, se agitó el tubo hacia arriba y hacia abajo, para la mezcla de los líquidos.

Con ayuda de una pipeta automática, se agregaron 100 uL de la mezcla en el pocillo del casete de prueba, la cual estuvo sobre una superficie plana. Los anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2 que estuvieron presentes en la sangre de algunos individuos, formaron un complejo con la proteína espiga del SARS-CoV-2 marcada con fluorocromo. El complejo se propagó por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa hacia el área de prueba (Línea T), donde se unió con anticuerpos monoclonales, emitiendo una fluorescencia proporcional a la concentración del complejo formado. Luego de 15 minutos, se procedió a colocar la placa con la mezcla contenida en el analizador inmunofluorescente AFS-1000, para su posterior lectura, la cual fue dada en una concentración cuya unidad es unidades arbitrarias/mL (AU/mL).

De acuerdo con el método implementado, se toma como punto de corte para positividad del resultado, valores por encima de 16 AU/mL. En cuanto al rango de concentraciones que permite leer la técnica es de 0,1 a 600AU/mL, por lo que se procedió a realizarle una dilución 1/10 con solución salina fisiológica a todos aquellos sueros que arrojaron valores >600AU/mL, a fin de poder obtener resultados más precisos que permitieron su análisis y comparación.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos a partir de la técnica de Inmunofluorescencia seca cuantitativa, en conjunto con la información de los participantes en el estudio, fueron almacenados en bases de datos con el programa Microsoft Office Excel 2007 para luego proceder a realizar las estadísticas descriptivas empleando el programa Stastix versión 9.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características sociodemográficas de los individuos evaluados

El trabajo de investigación se desarrolló con un tamaño de muestra de 88 individuos residentes de diversas zonas del estado Aragua. Del total de personas evaluadas, las mujeres representaron el 64,8% (n=57) y los hombres el 35,2% (n=31) restante, como se observa en la figura 1. La distribución media de edad en mujeres y hombres fue de 46,81 y 41,65 años, respectivamente (tabla 1).

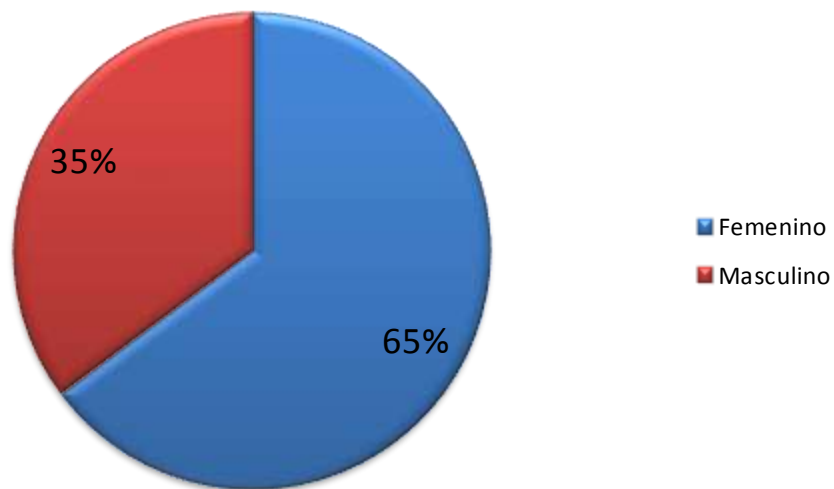


Figura 1. Distribución porcentual de los individuos participantes en el estudio según el sexo

Tabla 1. Distribución de los individuos participantes en el estudio según la edad

Edad(años)	Mínimo	Media	Máximo
Mujeres	14	46,81	88
Hombres	11	41,65	71

Ahora bien, de aquellas personas vacunadas, 75% (n=51) presentaron COVID-19 diagnosticado mediante pruebas serológicas, mientras que el 25% (n=17) restante declaró que no presentó la enfermedad, lo que se puede observar de manera más detallada en la tabla 2.

Tabla 2. Frecuencia y porcentaje de individuos vacunados con antecedentes de COVID-19

	Mujeres		Hombres		Total	
	N	%	N	%	n	%
COVID-19						
Si presentó la enfermedad	35	51,47	16	23,53	51	75,00
Declaró que no presentó la enfermedad	12	17,65	5	7,35	17	25,00
TOTAL	47	69,12	21	30,88	68	100,00

Determinación de la concentración de anticuerpos neutralizantes

En la tabla 3, se encuentran plasmadas las concentraciones de anticuerpos neutralizantes determinadas en aquellos individuos no vacunados y vacunados con las diferentes vacunas disponibles frente al SARS-CoV-2, donde los resultados de la investigación sugieren que existe

una gran cantidad de personas que produjeron anticuerpos neutralizantes frente a dicho microorganismo, encontrándose que el valor mínimo determinado fue de 16,02 AU/mL en individuos no vacunados y 26,23 AU/mL en vacunados; por el contrario, el valor máximo encontrado fue en individuos vacunados con Sinopharm con un valor de 2.691,9 AU/mL.

Tabla 3. Concentración de anticuerpos neutralizantes determinados en individuos vacunados y no vacunados frente al SARS-CoV-2

Vacuna	N	Media (AU/mL)	Mínimo (AU/mL)	Máximo (AU/mL)
Sin vacuna	20	441,46	16,02	1.867,2
Sinopharm	48	584,47	26,23	2.691,9
Sputnik V	12	410,18	137,23	915,80
Heteróloga	7	647,49	65,75	2.296,4

Así mismo, en la figura 2, se puede observar el porcentaje de vacunación, encontrándose que la vacuna principalmente aplicada fue Sinopharm con 70,59% (n=48) seguida de Sputnik V con 17,65% (n=12); también se puede observar que de la vacunación heteróloga más frecuente fue la combinación de Sinopharm con Sputnik V, la cual representó 10,29% (n=7) de la muestra. Otra vacuna encontrada fue la elaborada por Jhonson&Jhonson (1,47%). Esta diferencia puede ser debida al protocolo de vacunación propuesto por la Sociedad Venezolana de Infectología según las edades.

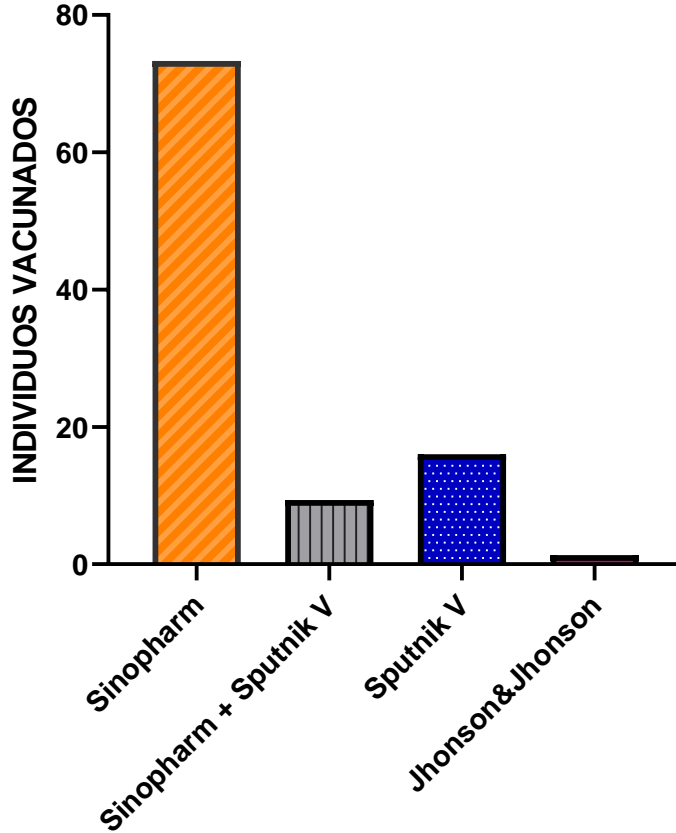


Figura 2. Porcentaje de vacunados con las diferentes vacunas disponibles en el mercado frente al SARS-CoV-2.

Por otra parte, en el gráfico de dispersión de burbujas (figura 3), se evidencia como fue la distribución de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en los individuos sin vacunar y vacunados con Sinopharm, Sputnik V, y de manera heteróloga. Se puede apreciar un comportamiento similar en la producción de anticuerpos neutralizantes en aquellos individuos con inmunidad natural y aquellos vacunados frente al SARS-CoV-2 con la vacuna Sinopharm.

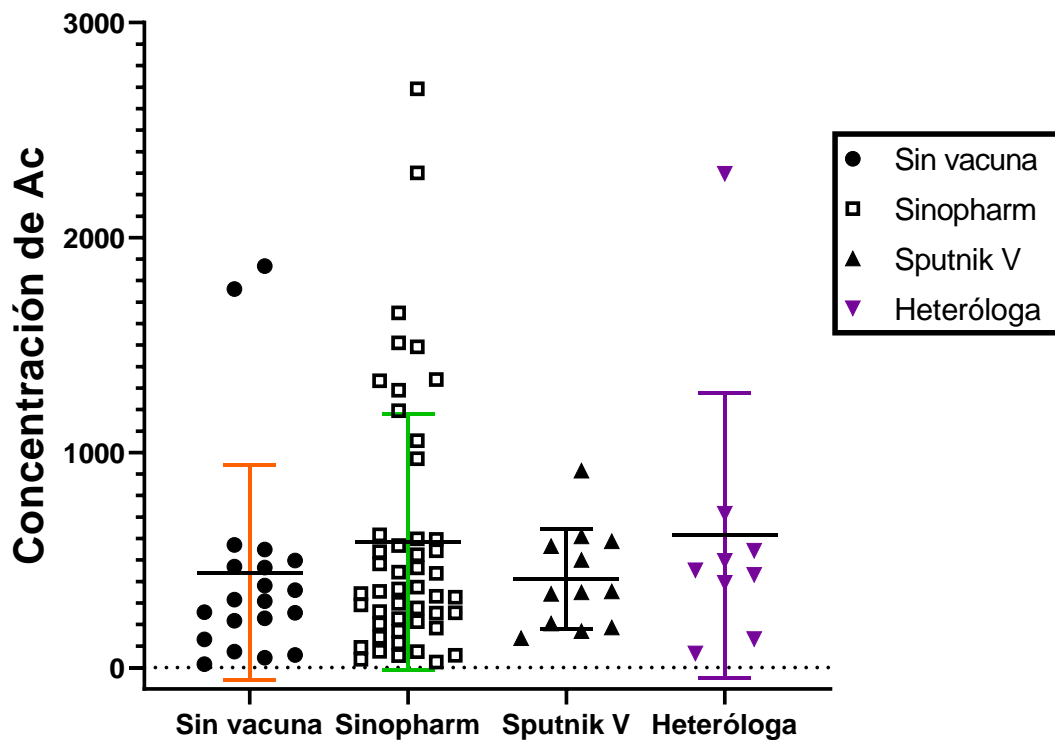


Figura 3. Concentración y distribución de anticuerpos neutralizantes obtenidas en individuos vacunados y no vacunados frente al SARS-CoV-2

Comparación de las concentraciones de anticuerpos neutralizantes según las vacunas y dosis aplicadas

De acuerdo a los resultados mostrados en la figura 2, se observa un grupo heterogéneo de vacunas administradas en la muestra en estudio, por lo que se decidió realizar las comparaciones de las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas en individuos con inmunidad natural y vacunados con Sinopharm (tabla 4), así como en aquellos que recibieron un vacunación homologa con Sputnik V y una vacunación heteróloga con la combinación de las vacunas Sinopharm y Sputnik V (tabla 5).

Como se puede evidenciar en la tabla 4, la media de anticuerpos neutralizantes arrojada en individuos no vacunados es de 441,46 AU/mL mientras que en individuos vacunados con Sinopharm fue de 584,47 AU/mL. Al realizar la comparación se determinó que no existe significancia estadística, con un valor de $p=0,2025$.

Tabla 4. Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos con inmunidad natural y en individuos vacunados con Sinopharm

Vacuna	n	Media (AU/mL)	P
Sin vacuna	20	441,46	0,2025
Sinopharm	48	584,47	

$p < 0,05$: valor estadísticamente significativo

Siguiendo el mismo orden de ideas, se efectuó la comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con Sputnik V y en individuos que recibieron una vacunación heteróloga, obteniéndose como resultado que existe una significancia estadística con un valor de $p=0,0005$ (tabla 5).

Tabla 5. Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con Sputnik V y con vacunación heteróloga

Tipo de vacunación	N	Media (AU/mL)	P
Homóloga (Sputnik V)	12	410,18	0,0005
Heteróloga (Sinopharm + Sputnik V)	7	647,49	

$p < 0,05$: valor estadísticamente significativo

Tal como se puede apreciar en la figura 4, aproximadamente la mitad de los participantes del estudio, es decir, 41% (n=28) recibieron dos dosis de las vacunas, ya sea mediante una vacunación homóloga o heteróloga. Seguido de 3 dosis, las cuales fueron colocadas en 36% (n=24) de la población, 1 dosis en 13% (n=9), y finalmente, en el 10% (n=7) de los individuos, fueron aplicadas 4 dosis de las vacunas.

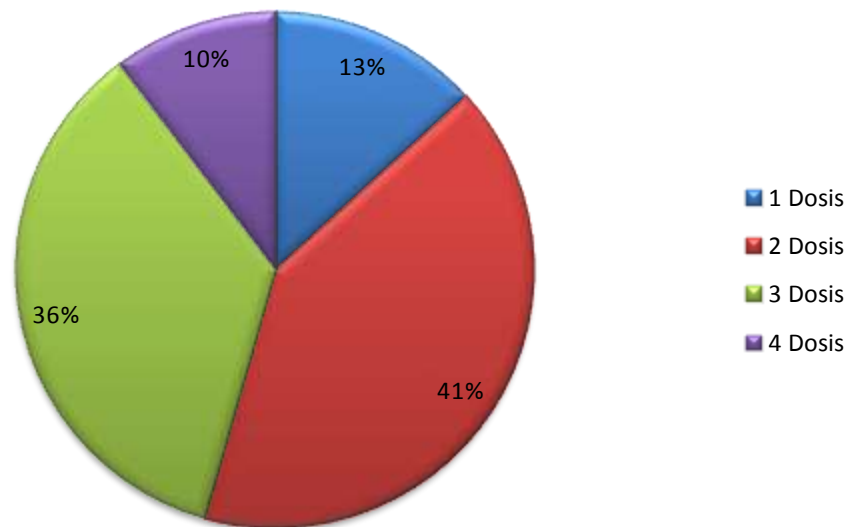


Figura 4. Distribución porcentual de los individuos evaluados según el número de dosis de vacunas aplicadas frente al SARS-CoV-2.

En la figura 4, se evidencia una muestra de estudio diversa, por lo que se decidió llevar a cabo las comparaciones de las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas en aquellos individuos que recibieron 1 y 4 dosis (tabla 6), así como en aquellos que recibieron 2 y 3 dosis (tabla 7), debido a la relativa similitud en el número de datos. El análisis se realizó en función a las dosis independientemente del tipo de vacuna administrada, determinándose que existe una significancia estadística al respecto con valores de $p=0,0001$ y $p=0,0414$ respectivamente, considerando valor significativo si $p < 0,05$.

Tabla 6. Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con 1 y 4 dosis.

Variable	N	Media (AU/mL)	P
1 Dosis	9	844,75	0,0001
4 Dosis	7	335,88	

p < 0,05: valor significativo

Tabla 7. Comparación de las concentraciones obtenidas de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados con 2 y 3 dosis.

Variable	N	Media (AU/mL)	P
2 Dosis	28	620,87	0,0414
3 Dosis	24	583,30	

p < 0,05: valor significativo

Un hallazgo encontrado en la investigación se refleja en la tabla 8, donde se observan altas concentraciones de AcN en individuos cuya determinación se realizó transcurrido diferentes tiempos desde la colocación de la última dosis de las vacunas, donde el 50% de los individuos vacunados se les determinó los AcN transcurrido 10 a 12 meses de su última dosis.

Tabla 8. Determinación de la concentración de anticuerpos neutralizantes en base al tiempo transcurrido de la aplicación de la última dosis de vacuna.

Tiempo de última dosis	n	Mínimo (AU/mL)	Media (AU/mL)	Máximo (AU/mL)
1 a 3 meses	15	74,16	636,84	2.296,4
4 a 6 meses	10	65,75	703,06	2.691,9
7 a 9 meses	9	57,39	306,89	1.054,8
10 a 12 meses	34	26,23	655,48	2.301,1

Asociación de las concentraciones de anticuerpos neutralizantes obtenidas con diversas variables

En la tabla 9, se presenta la relación entre las características sociodemográficas y los niveles de concentración de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados y no vacunados, desglosados por género y grupo etario. Al examinar el primer grupo, se observa una media de 561,84 AU/mL en el género femenino y 584,50 AU/mL en el género masculino, siendo estadísticamente significativo. Por otro lado, el grupo de edad se dividió en cuatro categorías, revelando una media más alta en el grupo de individuos mayores de 60 años con un valor de 834,88 AU/mL, seguido del grupo de 15 a 30 años con un valor de 664,96 AU/mL. En contraste, se encontró una media más baja en individuos con un rango de edad de 31 a 45 años con un valor de 437,08 AU/mL.

Tabla 9. Asociación entre las características sociodemográficas y la concentración de anticuerpos neutralizantes en pacientes vacunados y no vacunados.

Características sociodemográficas			Concentración de anticuerpos neutralizantes (AU/mL)			
Variable	Categoría	N°	Mínimo	Media	Máximo	P
SEXO	Femenino	57	26,23	561,84	2.301,10	0,044
	Masculino	31	74,16	584,50	2.691,90	
EDAD (años)	15 – 30	19	203,31	664,96	2.301,10	0,89
	31 – 45	27	74,16	437,08	1.339,40	
	46 – 60	21	57,39	480,40	1.760,80	
	>60	19	26,23	838,88	2.296,4	

p < 0,05: valor significativo

Se observó que una cantidad significativa de participantes, específicamente 34 personas vacunadas, correspondiente al 50% de la muestra, tenían un historial de patologías subyacentes. Las patologías más comunes entre ellos fueron el asma, con 13% de frecuencia, el hiperinsulinismo, con 12%, y la hipertensión, con 10%. Además, se encontró que 9% de los participantes, es decir, 6 individuos, presentaban dos o más patologías al mismo tiempo, como se muestra en la figura 5.

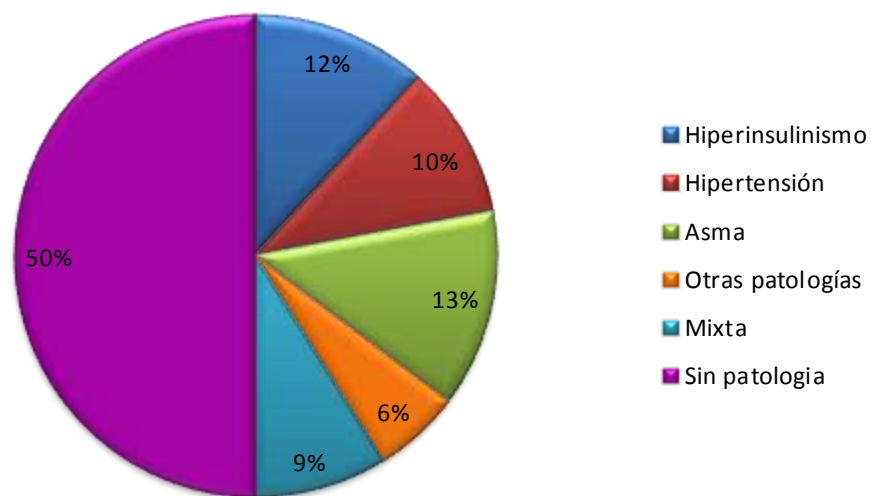


Figura 5. Patologías de base encontradas en la población vacunada frente al SARS-CoV-2.

Al asociar los niveles de anticuerpos neutralizantes obtenidos en individuos vacunados que tenían o no tenían patologías subyacentes, se encontró que la media de los valores en aquellos con patologías era de 542,98 AU/mL, mientras que en los que no tenían patologías era de 674,11 AU/mL. Aunque se registró un valor mínimo de 26,23 AU/mL en los individuos con patologías, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la cantidad de anticuerpos neutralizantes producidos frente al

SARS-CoV-2 entre los dos grupos. Este análisis se puede ver resumido en la tabla 10.

Tabla 10. Concentraciones de anticuerpos neutralizantes en individuos vacunados frente al SARS-CoV-2 con patologías y sin patologías de base.

Variable	n	Media (AU/mL)	Mínimo (AU/mL)	Máximo (AU/mL)	P
Con patologías	34	542,98	26,23	2.296,4	0,418
Sin patologías	34	674,11	38,38	2.691,9	

p < 0,05: valor estadísticamente significativo

De acuerdo a los datos presentados en la tabla 2, se encontró que un total de 51 individuos vacunados que participaron en el estudio habían presentado COVID-19, ya sea antes o después de recibir la vacuna, mientras que los 17 individuos restantes negaron haberlo experimentado. Al analizar los niveles de anticuerpos neutralizantes en relación con estos grupos, se obtuvo una media de 728,11 AU/mL en aquellos que tenían el antecedente de la enfermedad, mientras que en aquellos que no la presentaron, la media fue de 247,29 AU/mL, como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Concentraciones de anticuerpos neutralizantes determinados en individuos vacunados con diagnóstico y sin diagnóstico previo de COVID-19

Diagnóstico De COVID-19	n	Media (AU/mL)	Mínimo (AU/mL)	Máximo (AU/mL)
Si presentó la enfermedad	51	728,11	57,39	2.691,90
Declaró que no presentó la enfermedad	17	247,29	26,23	599,93

DISCUSIÓN

Se estudió la presencia de anticuerpos neutralizantes en el suero de individuos que han sido inmunizados con diversas dosis y vacunas existentes frente al SARS-CoV-2, ya sean las disponibles según el esquema de vacunación provisto por el sistema de salud venezolano como Sinopharm y Sputnik V, o aquellas colocadas en otros países como fue la vacuna Jhonson&Jhonson, de igual forma, se tomó en consideración a individuos no vacunados pero que hayan tenido el antecedente de padecimiento de COVID-19.

De acuerdo a lo observado en la figura 1, la población en estudio de vacunados y no vacunados estuvo representada por un 65% de mujeres y por un 35% de hombres, destacando que hubo mayor participación del género femenino, lo que coincide con lo descrito por Miranda y Sanguenza (2021) en su estudio de eficacia y eficiencia de las vacunas Sinopharm y Sputnik V mediante la producción de anticuerpos neutralizantes. En cuanto a la edad de los participantes, esta osciló entre 11 a 88 años de edad, siendo una población heterogénea, con una media de edad para ambos sexos de 44,23 años.

Por otra parte, el 75% de los individuos vacunados manifestaron haber presentado COVID-19 antes o después de la vacunación, en contraste a la muestra estudiada por Pareja-Cruz *et al.* (2021), donde 82,10% manifestó no haber padecido de la enfermedad.

Así mismo, en el estudio realizado por Miranda y Sanguenza (2021), el 91% de su muestra fue vacunado frente al SARS-CoV-2 con Sinopharm lo que coincide con lo reflejado en la figura 2, donde se encuentra que la

vacuna mayormente aplicada fue Sinopharm (70,59%) seguida de la vacuna Sputnik V (17,65%).

En cuanto a la tabla 3, se demostró que existe alta concentración de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2, independientemente si están vacunados o no, arrojando valores por encima de 16 AU/mL, siendo este el punto corte de la técnica utilizada. Igualmente, el comparar la respuesta inmunitaria de los individuos vacunados con la de aquellos que han tenido la infección sin vacunarse permite evaluar la efectividad en la producción de AcN, observando que dentro de los grupos estudiados la media de AcN más baja fue exhibida por individuos vacunados con Spunik V. Esto concuerda con la investigación realizada por Arcos *et al.* (2023) quienes evaluaron la prevalencia de anticuerpos neutralizantes para COVID-19 en 180 personas, con un resultado positivo en 83,9% de la muestra.

Es importante destacar que los individuos no vacunados representan un punto de referencia que permite observar el comportamiento y síntesis de anticuerpos neutralizantes cuando la respuesta inmune es inducida completamente por mecanismos naturales, en contraposición con la activación humoral producto de la inmunidad activa inducida por las vacunas (Arkhipova-Jenkins *et al.*, 2021).

De acuerdo a la comparación de las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas en individuos con inmunidad natural y en individuos vacunados con Sinopharm, se observó una ausencia de significancia estadística (tabla 4), lo que sugiere que en ambos casos se genera una respuesta de AcN frente al SARS-CoV-2, independientemente de si el estímulo proviene de un virus biológicamente activo o de un virus atenuado, como es el caso de la vacuna sintetizada por Sinopharm.

De igual forma se observó en el estudio realizado por Galiana-Ruíz *et al.* (2021) que la infección natural por SARS-CoV-2 genera una respuesta de anticuerpos frente a las diferentes proteínas del virus, incluyendo la nucleocápside; ocurriendo de igual forma con la vacuna Sinopharm, la cual utiliza una tecnología de virus inactivado para generar una respuesta inmune. Se puede estimar entonces, que esta similitud en el estímulo explique la falta de relevancia estadística, donde la inmunidad adquirida naturalmente produce concentraciones similares de AcN a la inmunidad adquirida por la vacuna Sinopharm (figura 3).

En cuanto a las concentraciones de AcN producidas en individuos vacunados con Sputnik V y en individuos que tuvieron un esquema heterólogo de vacunación, con Sinopharm y Sputnik V, se encontró una diferencia significativa estadísticamente (tabla 5), por lo que se puede inferir que esta estrategia podría generar una respuesta inmunitaria más efectiva en comparación con la vacunación homóloga, similar a lo encontrado por Igual *et al.* (2022) con respecto a los protocolos de vacunación en relación a la actividad ganglionar, quienes encontraron mayor actividad en individuos con vacunación heteróloga.

Por otra parte, en la figura 4, se muestra la distribución en porcentaje de los individuos vacunados frente al SARS-CoV-2 según el número de dosis administrada, pudiéndose visualizar que 41% se aplicó dos dosis de vacuna, a diferencia de 36% de los individuos quienes cumplieron el esquema de vacunación propuesto por la Sociedad Venezolana de Infectología, con dos dosis más una dosis de refuerzo; también se observa que 13% y 10% de la muestra se aplicaron 1 y 4 dosis respectivamente. Por lo que se puede observar una heterogeneidad en la muestra a diferencia de otras investigaciones realizadas, como la de Pareja-Cruz *et al.* (2021), donde 100% de su muestra tenían únicamente dos dosis aplicadas.

Por lo anteriormente expuesto, la heterogeneidad de la muestra condujo a comparar las concentraciones de AcN en aquellos grupos donde existe una distribución equilibrada de datos, tomando en cuenta únicamente la cantidad de dosis administradas y obteniendo como resultado valores de $p=0,0001$ (tabla 6) y $p=0,0414$ (tabla 7). Esto indica que se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la administración de 1 dosis en comparación a 4 dosis, o de 2 dosis en comparación a 3 dosis, en contraposición con el estudio realizado por Campos *et al.* (2023) quienes no encontraron diferencias significativas en la producción de AcN según los esquemas de vacunación estudiados.

Cabe destacar que se observó una alta concentración de AcN en pacientes cuya determinación se realizó un año después de colocarse la última dosis (Tabla 8); este hallazgo brinda información importante que permite inferir que la inmunidad en respuesta a la vacuna se mantiene en el tiempo, siendo interesante incorporar en el protocolo de vacunación la determinación de AcN antes de colocar una dosis de refuerzo, evaluando la eficacia de la respuesta inmunológica.

En el estudio se realizó un análisis detallado (tabla 9) que muestra la relación entre las características sociodemográficas de los individuos vacunados y no vacunados con la concentración de anticuerpos neutralizantes obtenidos. En lo que respecta al primer grupo, se destacan los siguientes hallazgos: el sexo femenino presentó una concentración media de anticuerpos de 561,84 AU/mL, mientras que el sexo masculino muestra una media de 584,50 AU/mL. Estos datos indican que los hombres mostraron una concentración de anticuerpos neutralizantes ligeramente mayor en comparación con las mujeres, lo que respalda estudios realizados anteriormente como el de Arcos *et al.* (2023) quienes concluyeron que existe

una prevalencia significativa de estos anticuerpos en varones, resultando positivos 52,3% de los mismos.

Por otro lado, el grupo etario se divide en cuatro categorías para un análisis más exhaustivo. La categoría con la concentración de anticuerpos neutralizantes más alta se encontró en individuos mayores de 60 años, con una media de 838,88 AU/mL. Le sigue de cerca el grupo de 15 a 30 años, con una media de 664,96 AU/mL, mientras que los individuos en el rango de edad de 31 a 45 años presentaron una concentración media de anticuerpos ligeramente más baja, de 437,08 AU/mL, reflejando una similitud con el estudio realizado por Portela (2020) quien detectó altos títulos de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en personas de mayor edad.

Al profundizar en el gráfico de la figura 5, se pueden observar datos relevantes sobre las patologías subyacentes presentes en los participantes vacunados del estudio, siendo una de las variables a asociar con las concentraciones de AcN obtenidas. Se constató que un número significativo de individuos (50%), tenían un historial médico previo en el que se documentaban diversas patologías subyacentes, siendo el asma y el hiperinsulinismo las más prevalentes, así como en la muestra estudiada por Gironzini (2021). Tener conocimiento de las enfermedades preexistentes puede ser fundamental para comprender la respuesta inmune de los individuos.

A pesar de la disparidad de los valores encontrados en las medias de los individuos vacunados con patologías subyacentes y aquellos sin patologías (tabla 10), es importante señalar que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la cantidad de anticuerpos neutralizantes producidos frente al SARS-CoV-2 entre ambos grupos. Esto podría sugerir, considerando el tamaño de la muestra, que la presencia de

patologías subyacentes no afecta de manera significativa la capacidad de los individuos vacunados para generar una respuesta humoral eficaz frente a dicha infección.

Resulta trascendente mencionar que se registró un valor mínimo de 26,23 AU/mL en los individuos con patologías, lo que demuestra que incluso aquellos con condiciones de salud preexistentes pueden generar una mínima cantidad de anticuerpos neutralizantes tras la vacunación, estando por encima del punto de corte del método empleado (16 AU/mL). Esta información es importante para reafirmar la conocida variabilidad en la respuesta inmune de los individuos a las infecciones por SARS-CoV-2.

Adicionalmente a las patologías de base encontradas y en relación con los datos presentados en la tabla 2, se identificó que un total de 51 individuos habían experimentado COVID-19 en algún momento, ya sea antes o después de recibir la vacuna, mostrando una media de 728,11 AU/mL (tabla 11), mientras que los que no presentaron la enfermedad registraron una media de 247,29 AU/mL; sugiriendo que la presencia previa de la enfermedad podría tener un impacto significativo en los niveles de anticuerpos neutralizantes generados tras la vacunación, resultando concordante con el estudio realizado por Soto *et al.* (2021) quienes encontraron que el antecedente de COVID-19 es uno de los factores de gran importancia asociados a un mayor título de anticuerpos neutralizantes.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- La información recopilada en la muestra evaluada, demuestra independientemente que los individuos hayan estado expuestos a la enfermedad o hayan recibido las diversas vacunas contra el SARS-CoV-2, se activa y estimula de manera efectiva la respuesta inmunitaria del organismo, lo cual se traduce en la producción de anticuerpos neutralizantes.
- Las concentraciones de anticuerpos neutralizantes producidas en individuos con inmunidad natural y en individuos vacunados con Sinopharm fueron similares. Aunque la infección natural ha mostrado una protección semejante a las vacunas contra la reinfección de SARS-CoV-2, la vacunación sigue siendo el método más seguro para proteger frente al COVID-19, pues tiene la ventaja de inducir inmunidad sin tener que pasar por la enfermedad.
- La vacunación heteróloga puede desempeñar un papel importante en la estrategia para combatir la propagación del virus y brindar una protección eficaz contra el COVID-19, generando una respuesta inmunitaria más potente en comparación con un esquema de vacunación homóloga.
- La concentración de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 fue más alta en hombres, en comparación con las mujeres; esta diferencia en las concentraciones entre ambos sexos podría atribuirse a las diferencias biológicas, adicional a la respuesta inmunológica específica de cada individuo.

- Los hallazgos encontrados señalan que la producción de anticuerpos neutralizantes frente al COVID-19 no se ve influenciada por la edad del individuo. Es importante destacar que la respuesta inmunitaria es compleja y depende de diversos factores, pudiéndose encontrar variaciones incluso dentro de un mismo grupo de edad.
- Las patologías de base no mostraron estar asociados de manera significativa con la capacidad de los individuos para generar AcN frente al SARS-CoV-2. No obstante, es fundamental tener en cuenta que cada individuo puede tener una respuesta inmunitaria diferente, y es posible que algunas personas con enfermedades subyacentes presenten una ligera disminución en dichas respuestas en comparación con aquellos sin afecciones de base.
- Los resultados obtenidos respaldan la idea de que la combinación de la inmunidad natural adquirida a través de la infección previa y la inmunidad inducida por la vacuna, conocida como inmunidad híbrida, puede ser una estrategia efectiva para aumentar la respuesta inmunitaria contra el COVID-19, teniendo una respuesta más robusta.

RECOMENDACIONES

- Continuar el estudio ampliando el número de muestra, lo que permite desde el punto de vista estadístico afianzar los resultados obtenidos.
- Realizar investigaciones en base al número de dosis de vacunas aplicadas y los efectos secundarios generados en el ser humano.
- Promover la realización de un estudio longitudinal, teniendo como base dicha investigación, donde se pueda evaluar la longevidad de los anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2.
- Se recomienda medir la concentración de anticuerpos neutralizantes que presenta el paciente para determinar si requiere una dosis de refuerzo para mantener niveles óptimos de inmunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcamí, J. (2020). Anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 [Informe en línea]. Disponible: <http://hdl.handle.net/20.500.12105/10634> [Consulta: Abril 12, 2022]
- American Veterinary Medical Association. (2020). Coronavirus: Detailed taxonomy. [Documento en línea]. Disponible: <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/AVMA-Detailed-Coronoavirus-Taxonomy-2020-02-03.pdf>. [Consulta: Abril 12, 2022]
- Arcos, R., Camac, C. y Cerron, S. (2023). Prevalencia de anticuerpos neutralizantes para Covid-19 en personas atendidas en el Laboratorio Pribejlab – Huancayo de noviembre a diciembre de 2021. [Documento en línea] Disponible: https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/13094/5/V_FCS_508_TE_Arcos_Camac_Cerron_2023.pdf [Consulta: Octubre 25, 2023]
- Arkipova-Jenkins, I., Helfand, M., Armstrong, C., Gean, E. Anderson, J., Paynter, R. *et al.* (2021). Antibody Response After SARS-CoV-2 Infection and Implications for Immunity: A Rapid Living Review. *Annals of internal medicine*, 174(6), 811–821.
- Campos, L., Fernández, L. y Álvarez, I. (2023). Anticuerpos neutralizantes de SARS-CoV-2 posvacunación de segunda dosis en Santo Domingo. [Documento en línea] Disponible: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/930> [Consulta: Noviembre 01, 2023]
- Carballal, G. y Oubiña, JR. (2014). *Virología médica*. (4ª ed.). Buenos Aires: Corpus Libros médicos y científicos.
- Chia, W., Zhu, F., Xiang-Ong, S., Young, B., Fong, S., Le Bert, N., *et al.* (2021). Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *The Lancet. Microbe*, 2(6), e240–e249. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00025-2)

- Fehr, AR. y Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1282, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- Galiana-Ruiz, J., Canton, R., Pilar, R., García, A., García-Lledó, A., Gómez, J. *et al.* (2021). Vacunación anti COVID-19: la realidad tras los ensayos clínicos. *Revista Española de quimioterapia*, 34(5), 408-418. Doi:10.37201/req/035.2021
- Gironzini, P. (2021). Reacciones adversas inmediatas a la vacuna inactivada contra el SARS-CoV-2 BBIBP-CORV en 95 internos de medicina del Hospital III Goyeneche – Minsa, Arequipa, 2021. [Documento en línea] Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12773/12580> [Consulta: Octubre 25, 2023]
- Graepel, KW., Kochhar, S., Clayton, EW. y Edwards, KE. (2020). Balancing Expediency and Scientific Rigor in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccine Development. *The Journal of infectious diseases*, 222(2), 180–182. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa234>
- Guo, YR., Cao, QD., Hong, ZS., Tan, YY., Chen, SD., Jin, HJ. *et al.* (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Military Medical Research*, 7(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
- Igual, A., Soriano, I., Barrio, M., Mendoza, F., Urtasun, C., Sobrido, C. *et al.* (2022). ¿Qué protocolo de vacunación produce más reacción ganglionar: doble vector viral (AstraZeneca) o vacunación heteróloga (AstraZeneca-Pfizer)?. [Documento en línea]. Disponible: <https://www.piper.espacio-seram.com/index.php/seram/article/view/8507/6973> [Consulta: Noviembre 01, 2023]
- International Committee on Taxonomy of Viruses. (2022). Virus taxonomy: 2021 release. [Documento en línea]. Disponible: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> [Consulta: Marzo 12, 2022]

- Jiménez, E. y Espinoza, C. (2020). Revisión bibliográfica: Tormentas de citoquinas producidas por COVID-19, *Revista de investigación y desarrollo I+D*, 12(1), 42-49. <https://doi.org/10.31243/id.v12.2020.987>
- Johns Hopkins University & Medicine (2022). Coronavirus COVID-19 Global Cases by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). [Documento en línea]. Disponible: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. [Consulta: Octubre 26, 2023].
- Krause, PR., Fleming, TR., Longini, IM., Peto, R., Briand, S., Heymann, DL. *et al.* (2021). SARS-CoV-2 Variants and Vaccines. *New England Journal of Medicine*, 385, 179–186. <https://doi.org/10.1056/NEJMsr2105280>
- Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Huan, Y., Guo, S., Yang, P. *et al.* (2005). Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*, 436, 112-116. <https://doi.org/10.1038/nature03712>
- Li, G., Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P. *et al.* (2020). Coronavirus infections and immune responses. *Journal Medical Virology*, 92(1), 424-432.
- Miranda, A. y Sanguenza, L. (2021). Eficacia y eficiencia de las vacunas Sputnik V y Sinopharm mediante control de anticuerpos neutralizantes en personal de salud de la Caja Petrolera de Salud, La Paz, Bolivia. *Respirar*, 13, 167-173.
- Organización Mundial de la Salud (2020). COVID-19 situation reports. [Documento en línea]. Disponible: <https://www.who.int/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports> [Consulta: Noviembre 22, 2021].
- Pal, M., Berhanu, G., Desalegn, C., y Kandi, V. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. *Cureus*, 12(3), e7423. <https://doi.org/10.7759/cureus.7423>
- Pareja-Cruz, A., Delgado, J., Navarrete-Mejía, P.J., Luque-Espino, J.C. y Gonzáles-Moscoso, J.D. (2021). Detección de anticuerpos neutralizantes en profesionales de la salud vacunados contra el SARS-CoV-2. *Horizonte médico (Lima)*, 21(3), e1543. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2021.v21n3.02>

- Picazo, J. (2020). Vacuna frente al COVID-19. *Sociedad española de quimioterapia: Infección y vacunas*, 34(6), 559-598. <https://doi.org/10.37201/req/085.2021>
- Portela, A. (2020). Anticuerpos neutralizantes en pacientes recuperados de COVID-19. [Documento en línea] Disponible: https://www.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/Suplementos/Pildoras/pildora7.htm [Consulta: Octubre 26, 2023]
- Rodríguez, R., Caeiro, J., Pizzi, H., Gallego, S., Blanco, S., Konigheim, B., et al. (2021). Evaluación de la respuesta de anticuerpos neutralizantes a la vacuna Sputnik V en una cohorte en Córdoba y evaluación de las propiedades neutralizantes de anticuerpos naturales y vacunales frente a la variante Manaos. [Documento en línea]. Disponible: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/18497>. [Consulta: Abril 16, 2022].
- Samudrala, KP., Kumar, P., Choudhary, K., Thakur, N., Wadekar, GS., Dayaramani, R. et al. (2020). Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. *European Journal of Pharmacology*, 883, 173375. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173375>
- Sociedad Venezolana de Infectología (2022). Vacunación de refuerzo contra COVID-19 en Venezuela. [Documento en línea] Disponible: <https://svinfectologia.org> [Consulta: Julio 22, 2022]
- Soto, A., Charca-Rodríguez, F., Pareja-Medina, M., Fernández-Navarro, M., Altamirano-Cáceres, K., Sierra, E. et al. (2021). Evaluación de la respuesta humoral inducida por la vacuna BBIBP-CorV mediante la determinación de anticuerpos neutralizantes en personal sanitario peruano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(4): 493-500. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.9244>
- Xu, XW., Wu, XX., Jiang, XG., Xu, KJ., Ying, LJ., Wang, H. et al. (2020). Clinical findings in a group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) outside of Wuhan, China: retrospective case series. *BMJ (Clinical research ed.)*, 368, m606. <https://doi.org/10.1136/bmj.m606>

ANEXOS

ANEXO A CONSENTIMIENTO INFORMADO

Universidad de Carabobo, Maracay, Sede Aragua

Título del proyecto: ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES FRENTE AL SARS-CoV-2 EN INDIVIDUOS VACUNADOS RESIDENTES DEL ESTADO ARAGUA

1.- PROPÓSITO: El presente estudio es conducido por Loana Añez y Rafael Cárdenas, estudiantes de la carrera de Bioanálisis en la Universidad de Carabobo, sede Aragua, como requisito para aprobar la asignatura proyecto de investigación y el cual tiene como propósito determinar la presencia y concentración de los anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en personas que han sido vacunadas con diferentes dosis y vacunas frente al mismo. Nos gustaría solicitarle que participe voluntariamente en este proyecto de investigación. Su participación será de 1 día para la toma de muestra sanguínea.

2.- PROCEDIMIENTOS: La meta de este estudio es determinar la presencia y concentración de anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 en personas que han sido vacunadas con diferentes dosis y vacunas frente al virus. Si usted decide participar en el estudio, le solicitaremos que nos provea una muestra de sangre de 5ml en el cual evaluaremos si hay presencia de anticuerpos neutralizante frente al SARS-CoV-2 y la concentración de estos en el que caso de estar presentes. Las muestras de sangre serán tomadas por una bioanalista con experiencia. Los resultados obtenidos serán comparados con el tipo de vacuna y dosis aplicadas.

3.- RIESGO PARA EL PARTICIPANTE: La sangre le será extraída de su antebrazo con una aguja por una bioanalista con experiencia. El riesgo de que pueda salir lastimado durante la colecta de la sangre es mínimo, pero es posible que sienta algún dolor o incomodidad cuando le extraigan la sangre de su antebrazo; después puede presentarse algún moretón o hinchazón. Sin embargo, la sensación tiende a pasar rápidamente.

4.- BENEFICIOS POTENCIALES: Entre los principales beneficios se encuentra el conocer si usted generó anticuerpos neutralizantes frente al SARS-CoV-2 con las vacunas ya administradas.

5.- COSTOS Y COMPENSACIÓN: No hay costo para usted participar en el estudio. Podrá ser favorecido con los resultados obtenidos por esta investigación.

6.- CUIDADOS MÉDICOS POR LESIONES RELACIONADAS CON LA INVESTIGACIÓN: Si usted es lastimado como resultado directo de formar parte de

este proyecto de investigación, recibirá atención médica para esa lesión, y se proporcionará sin costo alguno. Usted recibirá la atención médica necesaria pero no una compensación monetaria por la lesión que el procedimiento de extracción de sangre le pueda ocasionar.

7.- CONFIDENCIALIDAD DEL INDIVIDUO: Toda la información recolectada para este proyecto será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas en la recolección de datos serán codificadas y por lo tanto, serán anónimas. Nosotros mantendremos los documentos en privado hasta donde sea legalmente posible.

8.- PARTICIPACION VOLUNTARIA: Usted puede decidir no formar parte del estudio, o puede dejar este estudio en cualquier momento sin consecuencias negativas.

9.- PUNTOS DE CONTACTO: Si usted quiere conversar con alguien sobre este estudio, o si ha resultado lastimado por haber formado parte de este estudio, por favor contacte a Loana Añez, al 0412-4682134 o a Rafael Cárdenas, al 0412-4561785.

10.- CONSENTIMIENTO DEL ADULTO: Su firma en este formulario indica que se le ha explicado con detalle el estudio y que ha decidido formar parte del mismo sin costo alguno para usted. Adicionalmente, su firma indica que ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Usted debe saber que cualquier pregunta que pueda formular en el futuro le será respondida por uno de los investigadores del estudio. A usted se le proporcionará una copia de este consentimiento vía correo electrónico, para que disponga de esta información.

Nombre del participante: _____ Edad: _____

Firma del participante: _____ Fecha: _____

Nombres de los investigadores: _____

Firma de los investigadores: _____

Nota: Copias firmadas de este formulario de consentimiento tienen que ser: a) guardadas en un archivo de los investigadores, b) entregadas al participante.

ANEXO B
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**“ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES FRENTE AL SARS-CoV-2 EN INDIVIDUOS
VACUNADOS RESIDENTES DEL ESTADO ARAGUA”**

Nombre y apellido: _____ **Edad:** _____

Instrucciones: Por favor lea cuidadosamente las preguntas antes de contestar, marque sus respuestas colocando una X en el recuadro que corresponda. No marque más de una respuesta, a excepción de las preguntas N° 4 y 5 y los cuadros presentes en las preguntas N° 6 y 7. Muchas gracias por su colaboración.

1.- Sexo

- Femenino
- Masculino

2.- ¿Ha presentado usted COVID-19?

- Si
- No

Si su respuesta fue negativa, por favor pase a la pregunta 6

3.- ¿Cuántas veces ha presentado la enfermedad?

- 1 vez Más de 3 veces
- 2 veces
- 3 veces

4.- ¿En cuál/es año/s presentó usted la enfermedad?

- 2020 2022
- 2021

Indique el mes/los meses exacto/s: _____

5.- ¿En qué categoría se incluiría en cuanto a la severidad de la enfermedad presentada?

- Asintomático
- Leve
- Moderado
- Grave

6.- Rellene los recuadros con la información solicitada

Dosis	Vacuna colocada	Fecha de colocación (dd/mm/aaaa)
1 ^{era} dosis		
2 ^{da} dosis		
3 ^{era} dosis		
4 ^{ta} dosis		

Vacunas: Sinopharm (China). Sputnik V. De ser alguna otra, por favor indique el nombre.

7.- Marque con una X las patologías que presenta o ha presentado:

Patología	X	Patología	X
Diabetes		Cáncer	
Hiperinsulinismo		Angina de pecho	
Hipertensión		Depresión	
Hipotiroidismo		Asma	
Hipertiroidismo		AIDS/ HIV+	
Infarto		Hepatitis C	
ACV		LUPUS	

¿Presenta alguna otra patología? Por favor, háganosla saber:

¡Gracias por su tiempo y colaboración!

Kit de prueba de anticuerpos de no utilización anti-SARS-CoV-2 (Ensayo de inmunofluorescencia)

REF: CP04011-1 17x12
REF: CP04011-25 257x61

USO PREVISTO

El kit de prueba de anticuerpos de neutralización Anti-SARS-CoV-2 es un inmunoensayo cualitativo rápido para la detección cuantitativa de anticuerpos de neutralización contra el SARS-CoV-2 en suero, plasma y saliva humana. Este kit solo es proporcional para uso de profesionales en pruebas en el punto de atención. Los primeros casos realizados por personal no especializado están sujetos a las regulaciones locales.

El anticuerpo neutralizante es el marcador más importante de posible inmunidad. El kit de prueba de anticuerpos de neutralización anti-SARS-CoV-2 se utiliza para determinar si el cuerpo ha obtenido inmunidad después de la infección por el virus, si el individuo que se recuperó del "síndrome coronario agudo leve" y la vida de los anticuerpos neutralizantes en el cuerpo humano.

PRINCIPIO DE PRUEBA

El kit de prueba de anticuerpos de neutralización anti-SARS-CoV-2 (neutralización enzimática) es un inmunoensayo cuantitativo basado en sustrato para la detección de anticuerpos neutralizantes de SARS-CoV-2 en suero, plasma y saliva humana. La muestra se diluye con un suero de muestra y la cromógrafa se realiza bajo el efecto óptico. Los anticuerpos neutralizantes del SARS-CoV-2 en la muestra combinados con la proteína de punta (SP) del SARS-CoV-2 marcado con fluorescencia, luego se propagan al área de prueba. Es capturado por la subunidad SP recubierta RBD-NTD-GTD, para formar un complejo que se acumula en el área de prueba (línea T). El área de control de calidad se cubre con IgY anti-efecto óptico, y la IgY de prueba marcada con fluorescencia se captura para formar un complejo y el resultado no se ve. Este y este muestra debe analizarse nuevamente.

TIPO DE INSTRUMENTO

MINIMALIZADOR FLUORESCENTE (AFS-1000) REACTIVOS

- Cauda de prueba ▲ Llave de seguridad
- Solución amortiguadora ▲ Amortiguador con alcohol
- Control
- Control
- Lápiz de identificación

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit se puede almacenar a 2-30 °C durante 18 meses. No lo use después de la fecha de vencimiento.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El kit de prueba de anticuerpos de neutralización anti-SARS-CoV-2 se puede utilizar utilizando suero, plasma y sanga completa.

- Separe el suero o el plasma de la sanga completo lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras limpias, no hemolizadas.

Nota: Evite el plasma utilizando EDTA o heparina ácida como anticoagulantes.

- La muestra debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra.

- Las muestras de suero y plasma pueden almacenarse entre 2 y 8 °C durante un máximo de 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben almacenarse por debajo de -20 °C.

- La sanga completa debe almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 2 días y no debe congelarse.

- Lleve las muestras a la temperatura ambiente antes de la prueba. La muestra de suero o plasma completa debe descongelarse completamente y almacenarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.

PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional
- No reutilizar
- Mantenga todas las muestras con cuidado como si pueden contener agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todo el proceso y maneje adecuadamente a las muestras de acuerdo con los procedimientos estándar.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- Las pruebas usadas, las muestras y los potencialmente contaminados deben desecharse de acuerdo con la normativa local.
- El suero, el transporte y la manipulación no sonables, o el bajo contenido de virus en la muestra deben etiquetarse adecuadamente como negativos. La hemólisis y la hematuria pueden afectar negativamente los resultados.

EL MÉTODO DE USO DE LA LANCIETA DE SEGURIDAD



1. Gire la perilla para abrir la lanceta.
2. Separe la hoja giratoria.
3. Coloque el dispositivo en el lugar de la punción y presión.

4. Desinfecte la lanceta en un recipiente para chispas poroso/cerámico. Presione ligeramente con el dedo hacia el lugar de la punción para obtener una muestra de sangre. **NOTA:** la lanceta es para un solo uso.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

- Lleve la hoja a temperatura ambiente antes de abrir. Separe el cassette de la bolsa sellada y desinfecte el tubo.
- Coloque el cassette sobre una superficie limpia y plana.
- Lleve la parte del cassette a la interfaz de la muestra, llene completamente el capilar con suero, plasma o sanga entera (aproximadamente 40 µL).
- Retire la membrana de sellado del tubo e inserte el capilar en el tiempo (los extremos del capilar hacia abajo); asegúrese de que el capilar esté bien fijado al tubo.
- Agite el tubo hacia arriba y hacia abajo para mezclar bien, presione suavemente el tubo de suero.
- Agregue 4 gotas (aproximadamente 100 µL) de mezcla en el orificio de la muestra y comience el tiempo. Este tiempo debe ser de al menos 10 minutos.
- Separe la tarjeta de identificación y confirme que la tarjeta de identificación coincide con el número de tubo.
- Escanee el instrumento, ingrese a la interfaz de detección y sea la tarjeta de identificación. Verifique si los elementos de prueba y la información del reactivo son compatibles con el reactivo utilizado.
- **Nota:** De acuerdo con los tipos de muestra, ajuste la opción de tipo de muestra correspondiente en el analizador de fluorescencia AFS-1000, consulte el manual de operación del instrumento de soporte para obtener más detalles.
- **Interpretación:** Inmediatamente la tarjeta de detección en la zona del instrumento ubicado en el momento de 10 minutos y haga clic en "Prueba instrument" para obtener resultados de interpretación cuantitativa.

NOTA: Se recomienda utilizar suero o plasma como tipos de muestra positivos para la prueba, y se puede utilizar sanga total en casos especiales o especiales.

NOTA: Se recomienda usar una microscopía para evaluar y asegurar la muestra durante el todo el procedimiento.



ANEXO C

INSERTO UNSCIENCE DEL ENSAYO DE INMUNOFUORESCENCIA SECA





• Micropláqueta recomendada

NOTA: Este figura solo se usa como referencia.

INTERVALO DE CONFIANZA

Al determinar el intervalo de referencia de este kit, se han medido 120 muestras de suero y plasma de personas sanas; a partir de los resultados de la determinación estadística, tome como valor de referencia el 95 % del límite superior del intervalo de referencia normal (IC del 95 %).

Valor normal de referencia: Anti-SARS-CoV-2: $\text{Nab} \leq 16 \text{ AU/mL}$.

El rango de referencia de suero, plasma y sereja completa es consistente. Debido a las diferencias en geografía, raza, sexo y edad, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio valor de referencia (rango).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- El analizador de inmunofluorescencia se utiliza para realizar la taje de prueba y proporcionar resultados de pruebas cuantitativas.
- El rango de detección de este kit es de 0,1 a 600 AU/mL.

RENDIMIENTO

1. Límite de detección: no debe ser superior a 0,1 AU/mL.
2. Repetibilidad: $\leq 15\%$.
3. Rango lineal

En el rango de 0,1 AU/mL a 600 AU/mL, el coeficiente de correlación es 0,990.

4. Análisis de especificidad: no hay reacción cruzada con muestras de suero positivas para anticuerpos/antígenos de pacientes con otros coronavirus humanos (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-229E) o no coronavirus, incluidas el virus de la influenza A(H1N1), H3N2, H5N1, H7N9), el virus de la influenza B (virajes ymagrida, linajes victorias), el virus respiratorio sincitial, el moraxus, el adenovirus, el enterovirus, el virus de Epstein-Barr el virus del sarampión, el citomegalovirus humano, el rubéola, norovirus, virus de las paperas, virus del herpes zoster o micoplasma pneumoniae.
5. Efecto gancho: No hay efecto gancho dentro del rango de título de las muestras positivas.

6. Rendimiento clínico: 626 muestras clínicas (111 casos positivos y 515

casos negativos) mostraron una sensibilidad del 98,198%, IC del 95%: 93,643%, 99,781% y una especificidad del 99,512%, IC del 95%: 98,604%, 99,953%.)

CP14011	Plaque-reduction neutralization test		Total
	Positive	Negative	
Positive	309	2	111
Negative	2	513	515
Total	111	515	626
Sensitivity			
			98,198% (93,643%-99,781%)
Specificity			
			99,512% (98,604%-99,953%)
Positive Predictive Value (PPV)			
			98,198% (93,180%-99,542%)
Negative Predictive Value (NPV)			
			99,512% (98,684%-99,907%)

Un estudio en la población positiva de anticuerpos neutralizantes con el ensayo CP14011 los siguientes resultados (Estudio sobre Informe Clínico):

The CP1350	POS by PNT	POS by Urinary	Coincidence rate	CP14011 (AU/mL)	
				Min	Max
<4	14	12	85,71%	13,58	27,70
4-24	32	32	100%	17,05	35,26
24-49	22	22	100%	23,07	75,00
49-95	21	21	100%	33,30	251,10
>95	22	22	100%	89,96	402,44
					219,32

Un estudio en población con el ensayo CP14011 en muestras de aparentemente 490 adultos sanos, 15 coronavirus infectados con COVID-19 antes 21 adultos infectados con COVID-19 y 100 vacunados contra el SARS-CoV-2 los siguientes resultados. Estudio sobre Informe Clínico)

Characteristic	i	POS by PNT	POS by Urinary	CP14011 (AU/mL)	
				Min	Max
Healthy	490	0	2	6,66	24,21
Convalescent	15	6	6	9,17	24,12
Infecter	21	5	4	10,74	27,87
Vaccinated	100	100	99	15,69	452,44

UTILIZACIONES

1. **SOLO PARA USO PROFESIONAL** El kit de prueba de anticuerpos de neutralización anti-SARS-CoV-2 es solo para uso de diagnóstico in vitro.
2. La presencia de anticuerpos de unión no garantiza la presencia de anticuerpos neutralizantes y los niveles pueden no ser consistentes.
3. Las personas que han sido infectadas por SARS-CoV-2 pueden tener un cierto nivel de

anticuerpos de neutralización. La vida media del anticuerpo de unión y del anticuerpo de neutralización es diferente, y la tasa de disminución puede ser diferente.

4. El kit de prueba de anticuerpos de neutralización anti-SARS-CoV-2 solo indicará la presencia de anticuerpos de neutralización de SARS-CoV-2 en la muestra y no debe usarse como la única base, y debe combinarse con otros métodos de prueba, como virus ensayo de anticuerpos neutralizantes de virus pseudovirus.

5. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.

FORMACION BASICA
GLOSARIO DE SIMBOLOS

Simbolo	Significado	Simbolo	Significado
	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Manufacturer		Approved representative in the European Community
	Date of Manufacture		Use by date
	Do not reuse		Consult instructions for use
	Batch code		Meet the requirements of EC Directive 90/79/EEC
	Catalogue number		Contains sufficient for >= tests



Wuhan Uniscience Biotechnology Co., Ltd.
Address: Building B18, 2nd Phase of Biomedical Park, #658 Gaokun Road,
Donghu H-Tech Development, Wuhan, Hubei, P.R.China
Tel: 86-27-87380595
E-mail: techsupport@uniscience.cn



CMC Medical Devices & Drugs S.L.
Address: C/Enciso Largo Nº 18 CP 28006, Málaga-Spain
Tel: +3461214054

FRN: +3462339190
Email: info@cmcmedicallines.com
Version: A.3.0 Date Adopted: 2021.09.03