



RESPUESTAS DE ANTICUERPOS DE TIPO IgG CONTRA SARS-COV-2 EN LA CIUDAD DE NUEVA YORK

Josh Reifer, Nosson Hayum, Benzion Heszkel, Ikey Klagsbald y Vincent A. Streva.
doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.23.20111427>.

INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019, se identificó una nueva cepa de coronavirus en un grupo de pacientes con neumonía en la provincia china de Huabei, en la ciudad de Wuhan (1). Esta nueva cepa de coronavirus [llamado Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2)] es respirar, dificultad para respirar, neumonía) y una enfermedad más grave parece afectar a los adultos mayores o inmunocomprometidos (7). Se sabe poco sobre la respuesta de anticuerpos a la infección por SARS-CoV-2 y los anticuerpos contra el virus han sido detectados tan pronto como unos pocos días, hasta tres semanas después del inicio de los síntomas (8,9), con una mediana del tiempo desde el inicio de los síntomas hasta niveles detectables de IgG reportado de seis días (10). La presencia de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 generalmente es indicativo de infección actual o previa por SARS-CoV-2, y se cree que confieren algún grado de inmunidad (11), sin embargo, el alcance y la duración de la inmunidad conferida por los anticuerpos IgG siguen siendo desconocidos (10,12). Se han desarrollado varias pruebas de diagnóstico in vitro para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, y se han lanzado al mercado para su comercialización muchas sin desempeño suficientemente probado o ineficaces (13). Recientemente, varias pruebas de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 han recibido la Autorización de uso de emergencia (EUA) por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (14). Estas pruebas detectan anticuerpos IgG específicos contra SARS-CoV-2 o anticuerpos totales. Todas las pruebas que detectan anticuerpos, se dirigen contra antígenos de la nucleocápside viral o a la proteína de la espiga, que son los dos componentes inmunogénicos más abundantes producidos por el virus durante la infección (15) y queda mucho por ver, en cuanto al desempeño de cada proteína elegida. Sin embargo, la glucoproteína de la espiga es un mejor antígeno objetivo cuando se desarrolla un ensayo de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 y hay razones para sospechar que en el futuro, la glucoproteína de la espiga se preferirá como objetivo, ya que la nucleocápside viral es altamente homóloga entre todas las cepas de miembro de la Familia del betacoronavirus y tiene aproximadamente un 80% de similitud de secuencia con el SARS-CoV-1, que ya no está circulando en humanos (2). El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud declaró a la COVID-19 como una pandemia (3). Desde su primera descripción, el SARS-CoV-2 se ha extendido desde China, y a partir de hoy (19 de mayo de 2020) se ha extendido a 215 países y territorios en todo el mundo y es responsable de 4.81 millones de infecciones confirmadas y más de 320,000 muertes, incluyendo más de 90,000 muertes en los Estados Unidos (4,5). El SARS-CoV-2 se propaga principalmente a través del contacto con microgotas respiratorias infecciosas generadas cuando una persona infectada tose o estornuda, o por contacto con saliva o secreción nasal (6). Los síntomas de infección por SARS-CoV-2 pueden variar de leves (tos, fiebre, dolor de garganta) a severos (dificultad para *Coronaviridae* (16) y se ha demostrado que la glucoproteína de la espiga es

el objetivo de los anticuerpos neutralizantes (17-19). Poco se sabe acerca de cómo la respuesta de anticuerpos del organismo varía con la gravedad de la enfermedad, sin embargo, se espera que las infecciones más graves por SARS-CoV-2 arrojen como resultado más producción de anticuerpos de tipo IgG contra el SARS-CoV-2. En este estudio, informamos sobre los niveles de anticuerpos de tipo IgG contra el SARS-CoV-2 en forma semicuantitativa en una población de pacientes evaluados por puntaje para la gravedad de la enfermedad, muestran una correlación directa entre los niveles de anticuerpos de tipo IgG contra el SARS-CoV-2 y la gravedad de los síntomas.

Métodos

Puntuación clínica del paciente (índice de síntomas)

Los pacientes fueron atendidos en un centro de atención de urgencias en Brooklyn, Nueva York, en mayo de 2020. Como parte de su evaluación, se les pidió al equipo de atención médica en este centro, que calificaran la gravedad de los síntomas de los pacientes en una escala de 0 a 4 (Tabla 1) para generar un "Índice de gravedad de los síntomas" (SSI) que se utilizó como marcador de severidad de la enfermedad. Todos los SSI se generaron antes de enviar la muestra al laboratorio para pruebas bioquímicas, por lo que el resultado de SSI se genera independientemente del resultado de la IgG contra SARS-CoV-2.

Prueba de laboratorio para IgG contra SARS-CoV-2

La prueba semicuantitativa de IgG contra SARS-CoV-2 se realizó en el Laboratorio Sherman Abrams en Brooklyn, NY en muestras de suero utilizando el reactivo DiaSorin LIAISON SARS-CoV-2 IgG S1 / S2 medido en la plataforma LIAISON XL. Este ensayo es una prueba de diagnóstico de la FDA EUA para la evaluación cualitativa de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 pero produce un valor de índice numérico (en unidades arbitrarias por mililitro), que es indicativo de la intensidad de la reacción y, por lo tanto, un sustituto de niveles de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2.

Análisis de los datos

El análisis estadístico se realizó con gráficos R del índice de IgG y la edad versus SSI generados en R, usando el paquete de visualización de datos ggplot, aplicando una línea de suavizado de datos. El análisis de regresión lineal fue realizado usando la función `lm()` nativa de R.

Resultados

Durante el período de estudio, generamos un índice de gravedad de los síntomas (SSI) y un valor semicuantitativo de los niveles de IgG contra SARS-CoV-2 en 240 pacientes. Los síntomas del paciente fueron calificados por la asistencia sanitaria al momento de la visita al consultorio con una escala de 0 a 4, utilizando criterios predeterminados antes del inicio del estudio (tabla 1). De los 240 pacientes asignados a SSI, 36% fueron calificados como ceros, 35% fueron calificados como unos, 21% fueron calificados como dos, 5% fueron calificados como tres y 3% fueron calificados como cuatro (tabla 2). La distribución de pacientes masculinos y femeninos en cada uno de los grupos SSI se muestra en la Tabla 3. No hubo diferencia significativa en la distribución de género entre pacientes con SSI de cero a dos, sin embargo, los pacientes con un SSI de tres o cuatro eran desproporcionadamente varones. Queda por ver el número de pacientes con un SSI de tres o más, si esta diferencia se debe al aumento de la gravedad de la enfermedad entre los pacientes masculinos (20) o al pequeño tamaño de la muestra. Además, también se determinó la mediana la edad de cada grupo de SSI (Tabla 4). En general, los pacientes con un SSI más bajo fueron más jóvenes, que aquellos con un SSI más alto (Figura 1A), posiblemente indicativo de una enfermedad más grave en pacientes mayores. Esta diferencia tanto para pacientes masculinos como femeninos (Figura 1B) fue estadísticamente significativa (valor $p < 0.01$) utilizando un modelo de regresión lineal. Luego evaluamos si la prueba se correlacionaba con la gravedad de los síntomas medidos por el SSI. Los niveles de anticuerpos de tipo IgG versus el SSI se grafican en la Figura 2 A. El análisis de regresión de los datos de niveles de IGG frente al SSI mostró una correlación positiva ($p < 0.01$). Esta tendencia es para considerar al momento de que la persona sea atendida (Figura 2 B). Estos datos sugieren que una enfermedad más grave por SARS-COV-2, generan suficientes niveles de IgG para conferir

inmunidad protectora que una enfermedad leve. Además, analizamos 11,092 muestras de pacientes con COVID-19 de los cuales no tuvimos el SSI. De estas, 5,208 mostraron niveles de IgG lo que representa el 47% de positividad en la población estudiada y representa la extensión de la enfermedad en Nueva York. La tasa de positivos en personas masculinas fue mayor que en femeninas (53% versus 41%). La prevalencia más baja para la enfermedad se observó en edades menores a 5 años, con una tasa de positividad de 28% (solo se analizaron 4 personas entre 96 y 100 años que no fueron incluidas en el análisis). Es interesante, que los grupos etarios de mayor prevalencia de detección de IgG contra SARS-CoV-2 IgG fueron del grupo de edad entre 11-15 años (58%) y 16-20 años (61%) (Figura 3). Calculamos la media de los niveles de IgG de las 5,208 personas analizadas que fue de 94.8 UA/ml, siendo significativamente mayor en hombres (101.2 UA/ml) que en mujeres (87.4 AU/mL) (con una $p < 0.01$). La media es menor en jóvenes adultos (16-30 años) en niños menores de 10 años y adultos entre 66 y 80 años (Figura 4A y 4B), de igual forma para hombres y mujeres (Figura 4C y 4D).

Discusión

Este estudio es el primero que relaciona la severidad de los síntomas para COVID.19 con los niveles de IgG con un ensayo aprobado por la FDA, además es uno de los primeros en aportar datos en una de las regiones más afectadas por la enfermedad. Mostramos que la tasa de positividad para los niveles de IgG contra SARS-COV-2 en nuestra población es cercana al 50%, lo que demuestra el grado de dispersión de la pandemia en Nueva York. Además nuestros datos muestran una tasa de infección alta en personas de entre 11 y 20 años, sin embargo una explicación posible sería que haya existido una robusta respuesta inmune en este segmento de la población por tratarse de individuos jóvenes. Aunque nuestros datos son preliminares, las respuestas de pacientes con síntomas más graves muestran mayores niveles de anticuerpos de tipo IgG, lo que sigue es determinar si estas respuestas inmunes les conferirán protección ante una eventual reinfección en el futuro, al menos en el corto plazo. Los pacientes de nuestro estudio son miembros de una comunidad cerrada en Brooklyn que se contagiaron durante la celebración de un festival judío. La mayoría se contagió en el transcurso de una semana. Los resultados de nuestro estudio tienen implicaciones adicionales para los bancos de sangre que buscan donantes de plasma convaleciente para tratar pacientes con Covid-19. Estas prácticas se han realizado tradicionalmente con donantes de anticuerpos mediante pruebas de anticuerpos cualitativas y, a menudo, se han basado en los informes personales de los pacientes y el momento de aparición los síntomas para respaldar un diagnóstico previo de SARS-CoV-2. La disponibilidad de un ensayo de IgG semicuantitativo contra SARS-CoV-2 con valores que se correlacionen con la gravedad de una infección pasada, podría ser de gran ayuda para seleccionar donantes de plasma. Se están realizando estudios adicionales para comprender mejor el momento de la respuesta de anticuerpos IgG al SARS-CoV-2 y cuánto tiempo se mantienen en circulación esos anticuerpos. Además, están en curso estudios para correlacionar el valor del Índice de IgG semicuantitativo dado por la prueba DiaSorin LIAISON, a una medida directa de neutralización viral (por ejemplo, título de neutralización en placa). Hasta que la información esté disponible, nuestro estudio proporciona a los médicos la información que necesitan para evaluar respuestas de anticuerpos entre pacientes y correlacionar esos valores de anticuerpos para comprender la evolución clínica del paciente.

Figura 1- Índice de gravedad de la edad versus síntomas

(A) La edad del paciente se representa en función de la gravedad de los síntomas (SSI) para los 240 pacientes que recibieron un SSI. La línea azul representa la línea de regresión y el sombreado gris representa el intervalo de confianza del 95% de la regresión. (B) La edad del paciente se representa en función de la gravedad del SSI para los 240 pacientes y se desglosaron por sexo del paciente. La línea de regresión para hombres (línea azul) y mujeres (línea roja) junto con intervalos de confianza del 95% de las regresiones (sombreado gris).

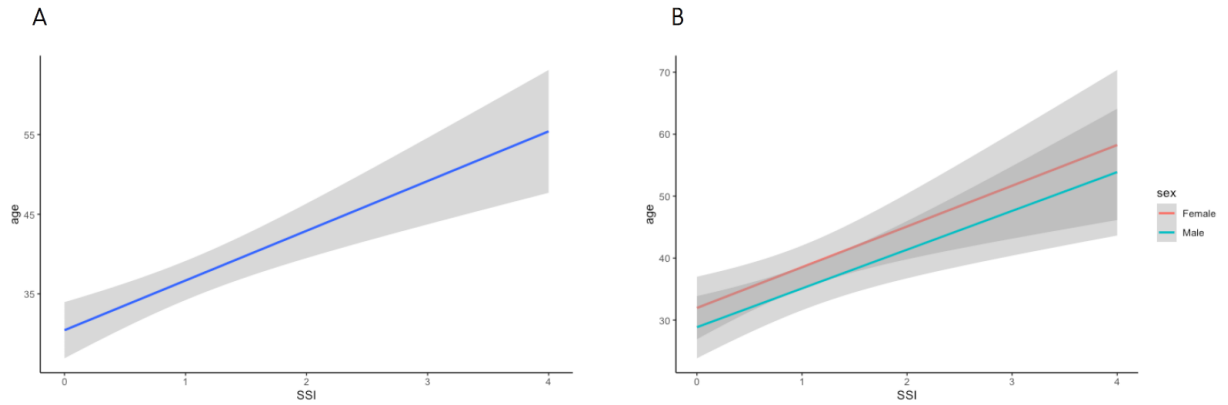


Figura 2- Nivel del índice de IgG del SARS-CoV-2 versus índice de gravedad de los síntomas

(A) Índice de IgG de SARS-CoV-2 el nivel (UA / ml) se representa gráficamente versus el índice de gravedad de los síntomas (SSI) para los 240 pacientes que reciben un SSI. La línea azul representa la línea de regresión y el sombreado gris representa el intervalo del 95% de confianza.

de la regresión. La correlación entre el nivel de IgG de SARS-CoV-2 y el SSI es estadísticamente

significativo en $p < 0.01$ (B) El nivel de índice de IgG de SARS-CoV-2 (UA / ml) se representa gráficamente versus el SSI para los 240 pacientes que recibieron un SSI y se desglosaron por sexo del paciente. La línea de regresión para hombres (línea azul) y mujeres (línea roja) junto con intervalos de confianza del 95%

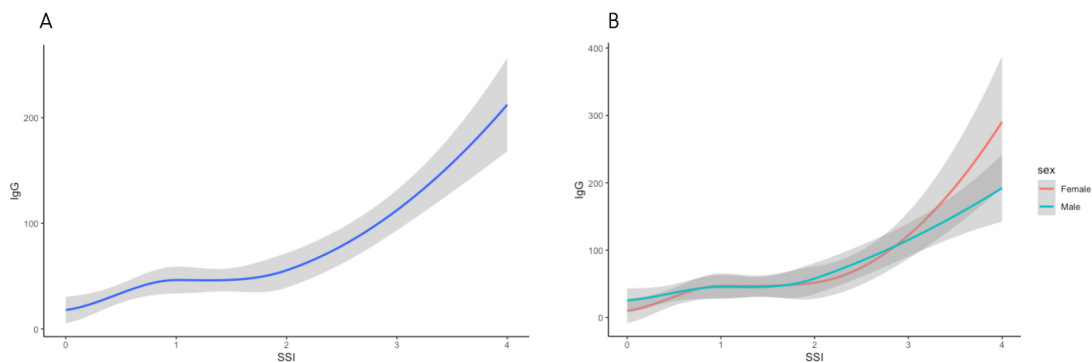


Figura 3- Histograma de tasa de positividad de IgG

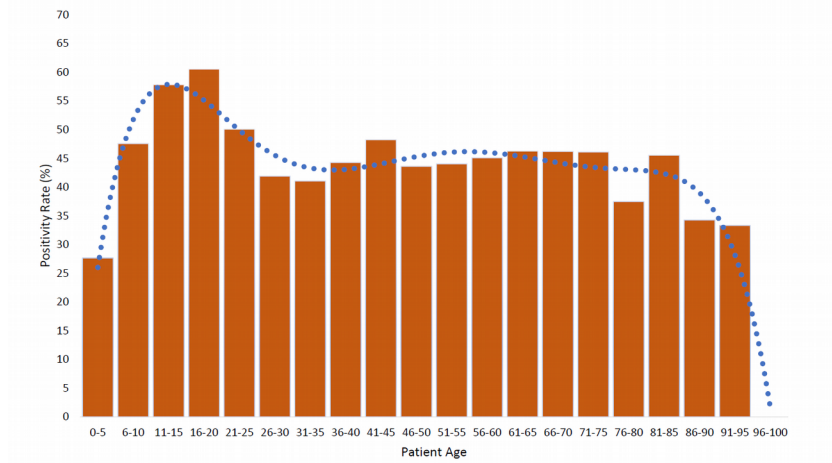


Figura 4- Índice de IgG contra SARS-COV-2 por edad

- A- Media de IgG de los 5208 pacientes
- B- Media de todos los pacientes agrupados cada 5 años
- C- Media en masculinos
- D- Media en femeninos

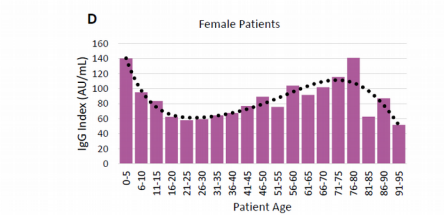
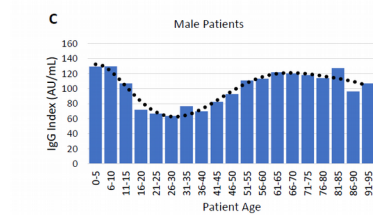
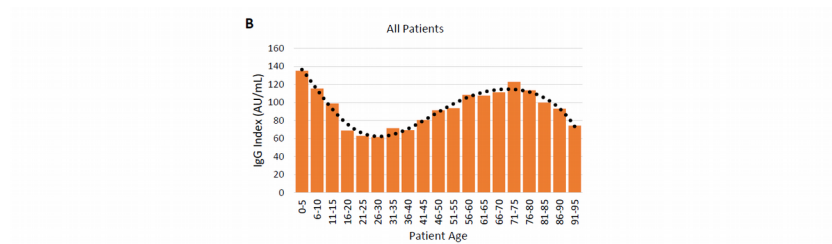
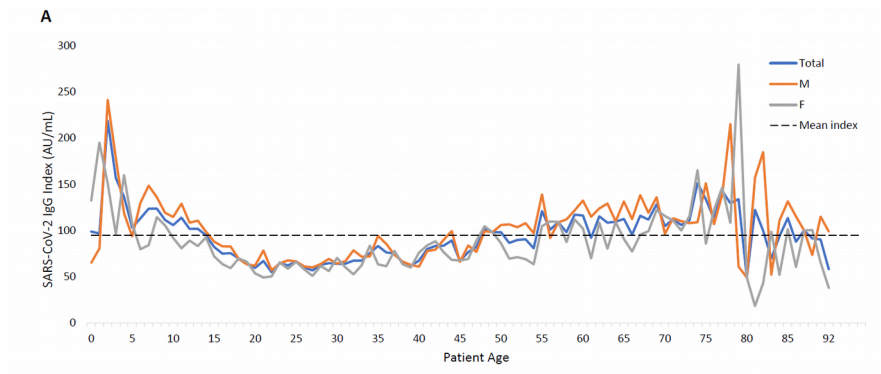


Tabla 1- Severidad de los síntomas y elaboración del SSI

SSI	Descripción
0	Paciente asintomático sin exposición a persona infectada
1	Paciente asintomático con contacto con persona infectada
2	Sintomático moderado (fiebre, catarro y odinofagia) sin neumonía o saturación de oxígeno 98%
3	Sintomático con neumonía no confirmada y con saturación de oxígeno > 92 %
4	Sintomático con neumonía confirmada y con saturación de oxígeno < 92 %

Tabla 2- Agrupación de pacientes según SSI

SSI	Number	Percentage
0	86	36
1	85	35
2	51	21
3	12	5
4	6	3
TOTAL	240	100

Tabla 3- SSI según el sexo

SSI	Patient Sex	Number	Percentage
0	Male	44	51
	Female	42	49
1	Male	44	52
	Female	41	48
2	Male	26	51
	Female	25	49
3	Male	7	58
	Female	5	42
4	Male	5	83
	Female	1	17

Tabla 4- Edad media según SSI

SSI	Patient Sex	Median Age (years)
0	Total	29
	Male	29
	Female	29
1	Total	35
	Male	35
	Female	35
2	Total	45
	Male	45
	Female	42
3	Total	48
	Male	42
	Female	56
4	Total	46
	Male	45
	Female	73

Bibliografía

1. N. Zhu, D. Zhang, W. Wang, X. Li, B. Yang, J. Song, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*, 382 (2020), pp. 727-733
2. Huang C, Wang Y, Li X. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395: 497-506
3. World Health Organization Director General's Remarks, March 11, 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-atthe-media-briefing-on-covid-19-11-march-2020>
4. World Health Organization Coronavirus disease (COVID-2019) Situation Report. May 19, 2020. <https://www.cdc.gov/nchs/nvss/vsrr/covid19/index.htm>
5. Centers for Disease Control and Prevention Provisional Death Counts for Coronavirus Disease (COVID-19). May 19, 2020 <https://www.cdc.gov/nchs/nvss/vsrr/covid19/index.htm>
6. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and

characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res*. 2020;24:91-98. Published 2020 Mar 16.

doi:10.1016/j.jare.2020.03.005

7. Yi, Y., Lagniton, P., Ye, S., Li, E., & Xu, R. H. (2020). COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. *International journal of biological sciences*, 16(10), 1753–1766. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45134>

8. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 [published online ahead of print, 2020 Mar 28]. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa344. doi:10.1093/cid/ciaa344

9. Xiao AT, Gao C, Zhang S. Profile of specific antibodies to SARSCoV-2: the first report. *J Infect* 2020. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.012
10. Long, Q., Liu, B., Deng, H. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>
11. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19 [published online ahead of print, 2020 May 12]. *Allergy*. 2020;10.1111/all.14364. doi:10.1111/all.14364
12. Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19) [published online ahead of print, 2020 Mar 21]. *Clin Infect Dis*.2020; ciaa310. doi:10.1093/cid/ciaa310
13. Food and Drug Administration Revised Policy on Antibody Tests for SARS-CoV-2. FDA- 2020-D-0987. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/policy-coronavirus-disease-2019-tests-during-public-health-emergencyrevised>
14. Food and Drug Administration Emergency Use Authorizations. 2020. <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medicaldevices/emergency-use-authorizations>
15. Fan Wu 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>
16. Zeng, W., Liu, G., Ma, H., Zhao, D., Yang, Y., Liu, M., Mohammed, A., Zhao, C., Yang, Y., Xie, J., Ding, C., Ma, X., Weng, J., Gao, Y., He, H., & Jin, T. (2020). Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochemical and biophysical research communications*, S0006-291X(20)30876-7. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.136>
17. Walls et al., Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein, *Cell* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
18. Jiang et al., Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses, *Trends in immunology* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007>
19. Wang, C., Li, W., Drabek, D. et al. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* 11, 2251 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16256-y>
20. Channappanavar, R., Fett, C., Mack, M., Ten Eyck, P. P., Meyerholz, D. K., & Perlman, S. (2017). Sex-Based Differences in Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 198(10), 4046–4053. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601896>