

# Correlación entre dos metodologías para la medición de anticuerpos contra la proteína *spike* del coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave 2

► Hernan Nicole Ramos<sup>1a\*</sup>, Mariana Gili<sup>2a</sup>, Valeria Alejandra Argüello<sup>3a</sup>, Natalia Belén Gómez<sup>4b</sup>, Natalia Nora Gerván<sup>5a</sup>, Valeria Cristina Pedano<sup>6a</sup>

<sup>1</sup> Bioquímico.

<sup>2</sup> Bioquímica. Especialista en Parasitología.

<sup>3</sup> Técnica de Laboratorio.

<sup>4</sup> Bioquímica.

<sup>5</sup> Bioquímica. Especialista en Química Clínica.

<sup>6</sup> Bioquímica. Especialista en Inmunología.

<sup>a</sup> Servicio Bioquímico, Hospital San Roque. Bajada Pucará 1900 (5014) Córdoba, Argentina.

<sup>b</sup> Laboratorio Central de la Provincia de Córdoba. Tránsito Cáceres de Allende 421 (5000) Córdoba, Argentina.

\* Autor para correspondencia.

## Resumen

El coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave 2 (SARS-CoV-2) posee diversas proteínas estructurales que incluyen la proteína *spike* (S), principal blanco de las vacunas actuales. Existen diversas metodologías para la medición de anticuerpos contra ésta que brindan información acerca de la respuesta inmune frente a la vacunación. El objetivo de este trabajo fue determinar la correlación entre quimioluminiscencia (CLIA) y enzimo-inmunoanálisis de adsorción (ELISA) para la medición de anticuerpos IgG anti-proteína S (IgG anti-S). Se recolectaron resultados serológicos de 169 individuos y se determinaron los niveles de anticuerpos por ambas metodologías. Del total de muestras, 106 arrojaron un resultado positivo por ambas metodologías y 15 resultaron discordantes (CLIA+, ELISA-), con índice *Kappa* de 0,80. La correlación entre ambas metodologías fue buena. Este estudio podría aportar al manejo y seguimiento de la población vacunada, con la finalidad de obtener un valor de corte para evaluar la aplicación de una dosis adicional.

**Palabras clave:** COVID-19; SARS-CoV-2; Proteína *spike*; Correlación entre metodologías; Vacunas

*Correlation between two methodologies for the measurement of antibodies against the spike protein of coronavirus of the Severe Acute Respiratory Syndrome 2*

## Abstract

Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has several structural proteins including the spike (S) protein, which is the main target of current vaccines. There are various methodologies for the measurement of antibodies against it that provide information about the immune response to vaccination. The objective of this study was to determine the correlation between chemiluminescence (CLIA) and enzyme-linked immunoassay (ELISA) for the measurement of IgG anti-S protein (IgG anti-S) antibodies. Serological results were collected from 169 individuals and

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

*antibody levels were determined by both methodologies. Out of the total samples, 106 were positive by both methodologies and 15 were discordant (CLIA+, ELISA-), with a Kappa index of 0.80. The correlation between both methodologies was good. This study could contribute to the management and follow-up of the vaccinated population, in order to obtain a cut-off value to evaluate the application of an additional dose.*

**Keywords:** COVID-19; SARS-CoV-2; Spike protein; Correlation between methodologies; Vaccines

## Correlação entre duas metodologias para a medição de anticorpos contra a proteína spike do coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

### Resumo

*O coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2) possui várias proteínas estruturais, incluindo a proteína spike (S), principal alvo das vacinas atuais. Existem várias metodologias para medir anticorpos contra ela que fornecem informações sobre a resposta imune diante da vacinação. O objetivo deste trabalho foi determinar a correlação entre quimioluminescência (CLIA) e enzimoimunoanálise de absorção (ELISA) para a medição de anticorpos IgG anti-proteína S (IgG anti-S). Foram coletados resultados sorológicos de 169 indivíduos e os níveis de anticorpos foram determinados por ambas as metodologias. Do total de amostras, 106 deram resultados positivos nas duas metodologias e 15 foram discordantes (CLIA+, ELISA-), com índice Kappa de 0,80. A correlação entre as duas metodologias foi boa. Este estudo poderia contribuir para a gestão e seguimento da população vacinada, visando a obter um valor de corte para avaliar a aplicação de uma dose adicional.*

**Palavras-chave:** COVID-19; SARS-CoV-2; Proteína spike; Correlação entre metodologias; Vacinas

### Introducción

Los coronavirus son una familia de virus que pueden causar enfermedades como el resfriado común, el Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS) y el Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS). A fines del año 2019 se identificó un nuevo coronavirus como la causa de un brote sin precedentes de neumonía viral que se originó en la ciudad de Wuhan, China, actualmente conocido como coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave 2 (SARS-CoV-2). Debido a su alta transmisibilidad, en marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el brote de la enfermedad por coronavirus 19 (COVID-19) como pandemia (1) (2).

Al igual que otros virus envueltos capaces de producir enfermedad en seres humanos, el SARS-CoV-2 utiliza diversos complejos de proteínas en su envoltura para el reconocimiento y unión a receptores ubicados en células del hospedador, con la consiguiente fusión de membranas (viral y celular), lo que permite su ingreso. La entrada del SARS-CoV-2 a las células del hospedador es mediada por una glicoproteína transmembrana de fusión clase I denominada proteína *spike* (S), constituida por dos subunidades funcionales; la subunidad S1, que posee el dominio de unión a receptor (RBD) y media la unión a la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2), y la subunidad S2, que media la fusión de la

membrana viral y celular (3) (4) (5) (6). Debido a su elevada antigenicidad y capacidad de provocar respuestas inmunes humorales robustas con generación de anticuerpos neutralizantes, la proteína S (y en especial su RBD) es un blanco ideal para la producción de vacunas contra la infección por SARS-CoV-2 (3).

Mientras que los métodos moleculares son utilizados para el diagnóstico de la COVID-19, éstos no pueden ser utilizados para el monitoreo de la enfermedad ni para la identificación de infecciones pasadas o adquisición de inmunidad (7). Para ello se han desarrollado métodos serológicos que permiten la detección de anticuerpos dirigidos contra las proteínas de la envoltura de SARS-CoV-2, incluidos aquellos contra la proteína S y su dominio RBD (8). Algunos de ellos son cualitativos, aunque también se han desarrollado diversos métodos cuantitativos capaces de medir anticuerpos contra el RBD de la proteína S. La determinación cuantitativa de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 puede ayudar a determinar títulos específicos de anticuerpos, facilitar el monitoreo longitudinal de la respuesta humoral, y específicamente monitorear la respuesta humoral frente a la vacunación (9).

El objetivo de este trabajo fue determinar la correlación entre quimioluminescencia (CLIA) y enzimoimunoanálisis de adsorción (ELISA) para la medición de anticuerpos IgG anti-proteína S (IgG anti-S) de SARS-CoV-2.

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio analítico, retrospectivo, correlacional y de corte transversal entre el Servicio Bioquímico del Hospital San Roque y el Laboratorio Central de la provincia de Córdoba, Argentina. Se recolectaron resultados serológicos de IgG anti-S de 169 individuos de ambos sexos, entre 18 y 60 años; 130 pertenecientes al personal de salud del nosocomio, sensibilizados con dos dosis de la vacuna contra la COVID-19 y 39 muestras obtenidas previo al inicio de la pandemia para ser utilizadas como controles negativos.

Para la medición de anticuerpos IgG anti-S se llevó a cabo el inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott Laboratories, Chicago, EE.UU.) y ELISA COVIDAR-IgG (CONICET y Fundación Instituto Leloir, Buenos Aires, Argentina) en muestras de sueros obtenidas por venopunción, con un tiempo mínimo de 3 semanas entre la inoculación de la última dosis de la vacuna y el momento de la extracción de sangre, para asegurar la posible generación de anticuerpos. Se tomaron como valores de referencia a resultados inferiores a 50 AU/mL (no reactivo) y negativo, respectivamente. Ambas metodologías detectaron anticuerpos IgG específicos contra el RBD de la proteína S del SARS-CoV-2.

El análisis de los datos se realizó con el software estadístico *InfoStat* versión 2020 (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) llevando a cabo la confección de tablas de contingencia para el cálculo del índice *Kappa* ( $K$ ), de la sensibilidad diagnóstica (SD), la especificidad diagnóstica (ED), el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN), previo ordenamiento de los datos en una planilla de *Microsoft® Excel®* versión 2019 (Washington, EE.UU.). Se consideró un índice de correlación  $K$  “pobre” con un valor menor de 0,20, “débil” entre 0,21 y 0,40, “moderado” entre 0,41 y 0,60, “bueno” entre 0,61 y 0,80, y “muy bueno” entre 0,81 y 1,00 (Tabla I) (10). Para el análisis de SD, ED, VPP y VPN se tuvieron en cuenta resultados menores del 50% como “malos”, entre 50 y 79% “regulares”, entre 80 y 94% “buenos”, y mayores o iguales a 95% como “excelescentes” (11).

## Resultados

Del total de muestras, se obtuvieron 121 (71,6%) resultados reactivos por CLIA, 106 (62,7%) resultados positivos por ELISA y 48 (28,4%) resultados negativos por ambas metodologías (Fig. 1). Las 15 (8,9%) muestras restantes, reactivas por CLIA en un rango de concentraciones entre 51,2 y 192,8 AU/mL, resultaron discordantes ya que se obtuvo un resultado negativo por ELISA (Fig. 2). Para el enzimoanálisis se obtuvo una SD

de 71,6%, una ED de 100%, un VPP de 100% y un VPN de 76,2%. El índice  $K$  calculado mostró una fuerza de correlación de 0,80, considerada como buena (Tabla I).

Tabla I. Tabla de Altman (10) que determina la fuerza de correlación entre dos metodologías

Valor de $K$	Fuerza de correlación
<0,20	Pobre
0,21–0,40	Débil
0,41–0,60	Moderada
0,61–0,80	Buena
0,81–1,00	Muy buena

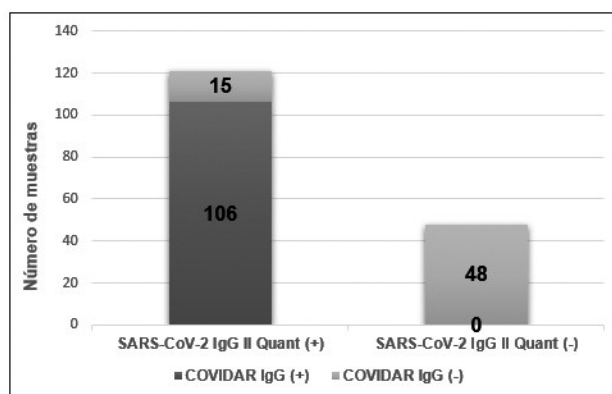


Figura 1. Frecuencia de resultados por ambas metodologías

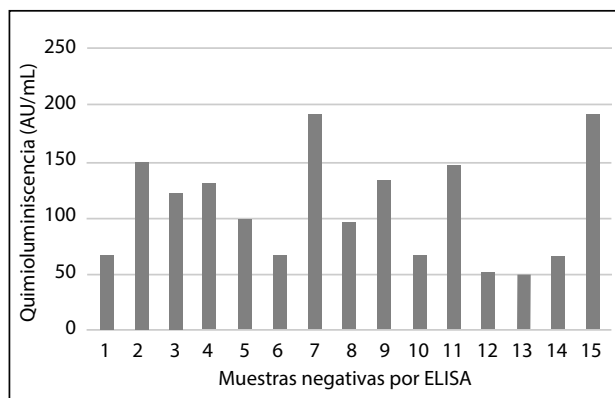


Figura 2. Resultados discordantes

## Discusión y Conclusiones

La vacunación es considerada uno de los mayores logros de la salud pública, cuyos programas han contribuido a reducir sustancialmente la morbilidad y mortalidad de diversas enfermedades infecciosas.

El seguimiento que se realiza tras la vacunación, mediante la medición de anticuerpos específicos (*test* serológico posvacunal) es el procedimiento habitual para discernir los casos en que es preciso administrar dosis de refuerzo. Similarmente a lo que ocurre con otras vacunas, tras la vacunación primaria contra la COVID-19, los niveles de anticuerpos específicos contra la proteína S descienden paulatinamente en función del título alcanzado inicialmente. Por lo tanto, el seguimiento posvacunal deberá individualizarse en función de dicho título.

Existen diversas recomendaciones sobre la dosis de refuerzo para diferentes vacunas, que bien podrían aplicarse para la vacuna contra la COVID-19 y que incluyen: (i) tras la medición de anticuerpos específicos, aplicar las dosis de refuerzo que sean necesarias para mantener una memoria inmunológica protectora, (ii) dar dosis de refuerzo si tras la vacunación primaria o la dosis de refuerzo previa no existen niveles de anticuerpos específicos protectores un mes después, y (iii) dar dosis de refuerzo de manera periódica en todos los vacunados sin medición del título de anticuerpos específicos (12). En base a estos datos y teniendo en cuenta las metodologías empleadas en este trabajo, la aplicación de una dosis de refuerzo para la COVID-19 podría realizarse considerando diferentes observaciones. En primer lugar, para el seguimiento individual se debería emplear siempre la misma metodología para evitar que la aplicación de una nueva dosis dependa del método utilizado, ya que como se vio anteriormente, existe un rango de concentraciones donde se observa discordancia en los resultados. Por otro lado, todo resultado negativo por ELISA debería confirmarse por CLIA u otra técnica previamente evaluada y validada, dado que su SD y VPN regular indican que un resultado negativo no descarta en su totalidad la presencia de anticuerpos. Del mismo modo, el inmunoensayo presentó una ED y un VPP excelentes, por lo que a una prueba positiva no es necesario confirmarla por otra metodología, ya que asegura con la máxima probabilidad la presencia de anticuerpos específicos.

Este estudio podría aportar al manejo y seguimiento de la población vacunada, con la finalidad de obtener un valor de corte para evaluar la necesidad de aplicar una dosis de refuerzo. Futuras investigaciones con un mayor número de individuos permitirán ampliar los conocimientos para obtener conclusiones más determinantes.

### Fuentes de financiación

El presente trabajo fue realizado sin haberse recibido una financiación específica.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

### Correspondencia

Bioq. HERNAN NICOLE RAMOS  
Lima 773 (5900) CÓRDOBA, Argentina.  
Correo electrónico: hernanramos79@gmail.com

### Referencias bibliográficas

1. Hu B, Guo H, Zhou P, Zheng-Li S. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021 Mar; 19: 141-54.
2. Shibi M, Senthil VA, Saravanan S, Uma MK. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie* 2020 Dec; 179: 85-100.
3. Sternberg A, Naujokat C. Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: targets for vaccination. *Life Sciences* 2020 Sep; 257.
4. Wu Y, Wang F, Shen C, Peng W, Li D, Zhao C, *et al.* A non-competing pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2. *Science* 2020 May; 368 (6496): 1274-8.
5. Greber UF. Virus and host mechanics support membrane penetration and cell entry. *J Virol* 2016 Apr; 90 (8): 3802-5.
6. Millet JK, Whittaker GR. Physiological and molecular triggers for SARS-CoV membrane fusion and entry into host cells. *Virology* 2018 Apr; 517: 3-8.
7. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, *et al.* Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. *ACS Cent Sci* 2020; 6: 591-605.
8. Caesele PV, Bailey D, Forgie SE, Dingle TC, Kraiden M. SARS-CoV-2 (COVID-19) serology: implications for clinical practice, laboratory medicine and public health. *CMAJ* 2020 Aug; 192 (34): E973-9.
9. Higgins V, Fabros A, Kulasingam V. Quantitative measurement of anti-SARS-CoV-2 antibodies: analytical and clinical evaluation. *J Clin Microbiol* 2021 Apr; 59 (4): E03149-20.
10. López de Ulbarri Galparsoro I, Pita Fernández S. Medidas de concordancia: el índice *Kappa*. *Cad Aten Primaria* 1999; 6: 169-71.
11. Vizcaíno Salazar GJ. Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medicina y Laboratorio* 2017; 23 (7-8): 365-86.
12. Pallás Álvarez JR, Gómez Holgado MS, Llorca Díaz J, Delgado Rodríguez M. Vacunación de la hepatitis B. Indicaciones del *test* serológico posvacunal y la dosis de refuerzo. *Rev Esp Salud Pública* 2000 Dec; 74 (5-6): 475-82.

**Recibido: 9 de febrero de 2022**

**Aceptado: 14 de marzo de 2022**