

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Fundación Clínica Médica Sur

**Persistencia de anticuerpos IgM e IgG
específicos en pacientes con exposición previa
al virus SARS-COV-2 en diferentes grupos
etarios.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL:

TÍTULO DE ESPECIALISTA

EN:

PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

KARINA MÁRQUEZ LARA

TUTOR-DIRECTOR DE TESIS:

DR. VICTOR MANUEL NOFFAL NUÑO

Facultad de Medicina



CIUDAD UNIVERSITARIA CD. MÉXICO, 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

SEDE.

Laboratorio de Patología Clínica Médica Sur

TEMA TESIS.

Persistencia de anticuerpos IgM e IgG específicos en pacientes con exposición previa al virus SARS-COV-2 en diferentes grupos etarios.

INVESTIGADOR.

Dra. Karina Márquez Lara

Residente de 3er año de Patología Clínica.

Firma_____

ASESOR DE TESIS:

Dr. Víctor Manuel Noffal Nuño

Subdirector del laboratorio de Patología Clínica.

Firma_____

Contenido

DEDICATORIA	3
INTRODUCCIÓN	4
MARCO DE REFERENCIA	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	11
JUSTIFICACIÓN.....	11
OBJETIVO.....	12
HIPÓTESIS.....	12
MATERIAL Y MÉTODO	13
Selección de la muestra	13
Criterios de Selección de muestra	13
Definición de variables	14
Descripción de procedimientos.....	14
Diagrama de flujo (metodología).....	17
Hoja de captura de datos	17
Cronograma	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
RESULTADOS.....	20
Evaluación de la persistencia de anticuerpos IgG en los pacientes externos.....	20
Evaluación de la persistencia de anticuerpos IgM en los pacientes externos	22
Comportamiento de la concentración de anticuerpos en los pacientes con 2 determinaciones seriadas	23
Permanencia de anticuerpos en pacientes hospitalizados.	27
Comparación entre la persistencia de anticuerpos IgG e IgM entre pacientes hospitalizados y externos	28
Significancia estadística de persistencia de anticuerpos IgG e IgM por sexo en la población general (hospitalizados y externos)	30
Significancia estadística de la persistencia de anticuerpos IgG e IgM por grupos etarios en la población general (hospitalizados y externos).....	31
Significancia estadística de persistencia de anticuerpos IgG e IgM por grupos de edades y sexo en la población general (hospitalizados y externos).....	33
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES	39
CONSIDERACIONES ÉTICAS Y PROTECCIÓN DE DATOS	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

DEDICATORIA

Para mis padres, amigos, personas especiales en mi vida y profesores, ustedes que han sido mis benefactores de importancia inimaginable en este proceso de aprendizaje.

No podría sentirme más afortunada al haber contado con su apoyo y enseñanza durante mi formación académica y profesional como médico y especialista.

Gracias a ustedes, he logrado concluir este sueño y proyecto de formación académica que dio inicio hace 3 años, con la ilusión de ser Patóloga Clínica.

Quisiera dedicar mi tesis a ustedes, personas de bien, que me han tendido la mano y me han ofrecido su cariño, compañía, enseñanzas y experiencias, en esta maravillosa etapa de mi vida.

Muchas gracias.

INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019, surgió una serie de casos de neumonía viral en Wuhan, Hubei, China. La secuenciación profunda de muestras del tracto respiratorio inferior indicó la presencia de un nuevo coronavirus.(1)

El 11 de febrero, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus nombró al nuevo coronavirus SARS-COV-2, y la OMS nombró a la enfermedad COVID-19. La rápida propagación, la transmisión de persona a persona y la alta morbimortalidad condicionó a que el 11 de marzo de 2020, la OMS declarara oficialmente el brote mundial de COVID-19 como una pandemia.(2)

Su vía de transmisión predominante es respiratoria, de manera directa o indirecta a través de tos, estornudos y gotitas respiratorias, así como por contacto con las membranas mucosas orales, nasales y oculares.(3)

El SARS-COV-2 comparte estructura genómica en 79% con el SARS-COV, 50% con MERS-CoV y con otros betacoronavirus. Posee 6 marcos de lectura abiertos funcionales (ORF) ordenados de 5' a 3': replicasa (ORF1a / ORF1b), espiga "Spike" (S), nucleocápside (N), envoltura (E) y membrana (M). Además, entre los genes estructurales se intercalan, 7 ORF putativos que codifican proteínas accesorias.(2)

Contiene 4 proteínas estructurales: S, E, M y N, codificadas por sus respectivos genes, además de 16 proteínas no estructurales (nsp1-16). La proteína "Spike" (espiga) está compuesta por las subunidades S1 y S2. La subunidad S1 permite unirse al receptor en la célula huésped por medio de un dominio N-terminal (NTD) y un dominio de unión al receptor (RBD) que reconoce específicamente como receptor a la enzima convertidora de angiotensina-2 (ECA-2). La subunidad S2 fusiona la membrana viral y del huésped. (4)

Después de la fusión del virus y la membrana de la célula huésped, el virus libera su ARN empaquetado de nucleocápside en el citoplasma celular, para posteriormente continuar su replicación y transcripción.(5)

Una vez que el virus ingresa a las vías respiratorias, las células epiteliales alveolares, las células endoteliales vasculares y los macrófagos alveolares son la zona cero para la infección temprana y la replicación posterior debido a su expresión de ECA-2.(6)

En patologías como la diabetes, la obesidad, la hipertensión, las enfermedades respiratorias o cardiovasculares que se han asociado con COVID-19 grave de alto riesgo, el eje proinflamatorio Renina angiotensina aldosterona, está sobreactivado provocando la sobreexpresión de ECA-2 aumentando así los sitios de unión disponibles del SARS-CoV-2.(6)

La ECA2 se expresa en niveles relativamente altos en el duodeno, los intestinos delgado y grueso, el recto y la vesícula biliar. Por lo tanto, después del consumo de alimentos contaminados, es

probable que el virus llegue al estómago de forma pasiva, así mismo el virus es capaz de acceder al SNC por medio de receptores como ACE2, neuropilina-1 (NRP1) y CD147.(7)

El periodo de incubación promedio es de 4 días. En cuanto a manifestaciones clínicas COVID 19 puede ser clasificado como severo y no severo. Las manifestaciones clínicas difieren con la edad, estado de inmunocompromiso, y comorbilidades. Los pacientes mayores de 60 años tienen niveles más altos de marcadores inflamatorios, más lesiones de lóbulos bilaterales, mayor probabilidad de insuficiencia respiratoria y un curso más prolongado de la enfermedad.

La mayoría de los pacientes presentan sintomatología leve- moderada para posteriormente recuperarse. Las manifestaciones más comunes son fiebre y tos seca, aunque puede haber otros síntomas como náusea, vómito y diarrea.(8)

Es importante comprender si las personas infectadas con el SARS-CoV-2 desarrollan células de memoria inmunitaria funcional, capaces de protegerse de las infecciones posteriores del SARS-CoV-2.

Tras la reinfección, las células B de memoria específicas de patógenos proliferan rápidamente y se diferencian en plasmablastos secretores de anticuerpos IgG protectores. Las células T proliferan, ayudan a activar las células B y secretan citosinas para activar las células innatas y destruir a las células infectadas. La mayoría de las personas infectadas con SARS-CoV-2 producen anticuerpos específicos de S y RBD durante las primeras 2 semanas de la respuesta primaria.(9)

En general en las respuestas inmunes humorales, hay una ola de plasmablastos secretores de anticuerpos de baja afinidad y de corta duración seguida de una respuesta del centro germinal que genera células B de alta afinidad específicas de patógenos y células plasmáticas secretoras de anticuerpos de larga duración, que mantienen títulos de anticuerpos durante meses o años. En SARS COV-2 los plasmablastos, se forman durante la infección aguda por SARS-CoV-2, pero ya no están presentes en los individuos recuperados aproximadamente 1 mes después de la aparición de los síntomas, y es entonces cuando las células plasmáticas productoras de anticuerpos de larga duración, contribuyen con la mayoría de los anticuerpos específicos de RBD en la sangre, que mantienen el anticuerpo anti-SARS-CoV-2 neutralizante detectable hasta al menos 3 meses después de la aparición de los síntomas.(9)

Al 08 de julio de 2021, a nivel mundial se ha reportado 184,820,132 casos confirmados y 4,002,209 defunciones. La tasa de letalidad global es de 2.2%. En México se han confirmado 2,567,821 casos totales y 234,458 defunciones totales por COVID-19. (10)

En el laboratorio de patología clínica de Médica Sur, durante el periodo de tiempo de realización de este estudio (20 de diciembre al 20 de marzo del 2021) se realizaron un total de 6200 pruebas de anticuerpos, de las cuales 1867 (30.11%) resultaron positivas.

Debido al alto impacto al sector salud, económico y social que ha tenido la pandemia, es menester determinar con precisión a los individuos infectados, así como a los que han tenido

exposición al virus, para minimizar el riesgo de propagación, para ello se han desarrollado varios tipos de pruebas con diferentes metodologías y propósitos.

Las pruebas para COVID-19 se pueden agrupar en pruebas de ácido nucleico, serológicas, y de antígenos, que desempeñan funciones distintas. La estrategia de diagnóstico estándar son pruebas de ácidos nucleicos (NAT) basada en la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR), que utiliza sondas específicas para los genes virales de la envoltura (E), la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRP), proteína de la nucleocápside (N), o para apuntar al marco de lectura abierto (ORF1a y ORF1b), a partir de muestras nasofaríngeas.(11)

Para las pruebas de anticuerpos, se usan como antígeno las proteínas principales: N (importante en la replicación y empaquetamiento de RNA) y la proteína S y S1 (importante para la entrada del virus).(11)

Hay dos tipos de pruebas de anticuerpos: para detectar anticuerpos de unión y para detección de anticuerpos neutralizantes. Las primeras pruebas que surgieron para detección de anticuerpos, utilizan proteínas purificadas de SARS-CoV-2 para determinar la unión de anticuerpos mediante alguno de los siguientes métodos: ensayo inmunocromatográfico a base de oro coloidal, inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA), y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). De estos métodos, ELISA y CLIA son adecuados para el tamizaje de primera línea debido al gran rendimiento, el corto tiempo de procesamiento y el procedimiento operativo simple. Con el tiempo surgieron los ensayos de neutralización viral, para evidenciar anticuerpos neutralizantes.(12)

Los ensayos de anticuerpos de unión, a inicios de la pandemia fueron usados para identificar a las personas capaces de donar plasma convaleciente, que pudiera servir como un posible tratamiento para personas gravemente enfermas; así como para identificar a las personas con supuesta inmunidad aparente ya no susceptibles al virus, que pudiesen regresar a trabajar. Actualmente se sabe que su utilidad está en detectar la seroprevalencia, definir exposición previa al virus y que no son útiles para el diagnóstico de enfermedad aguda ya que su presencia depende del huésped y tiempo. (13)

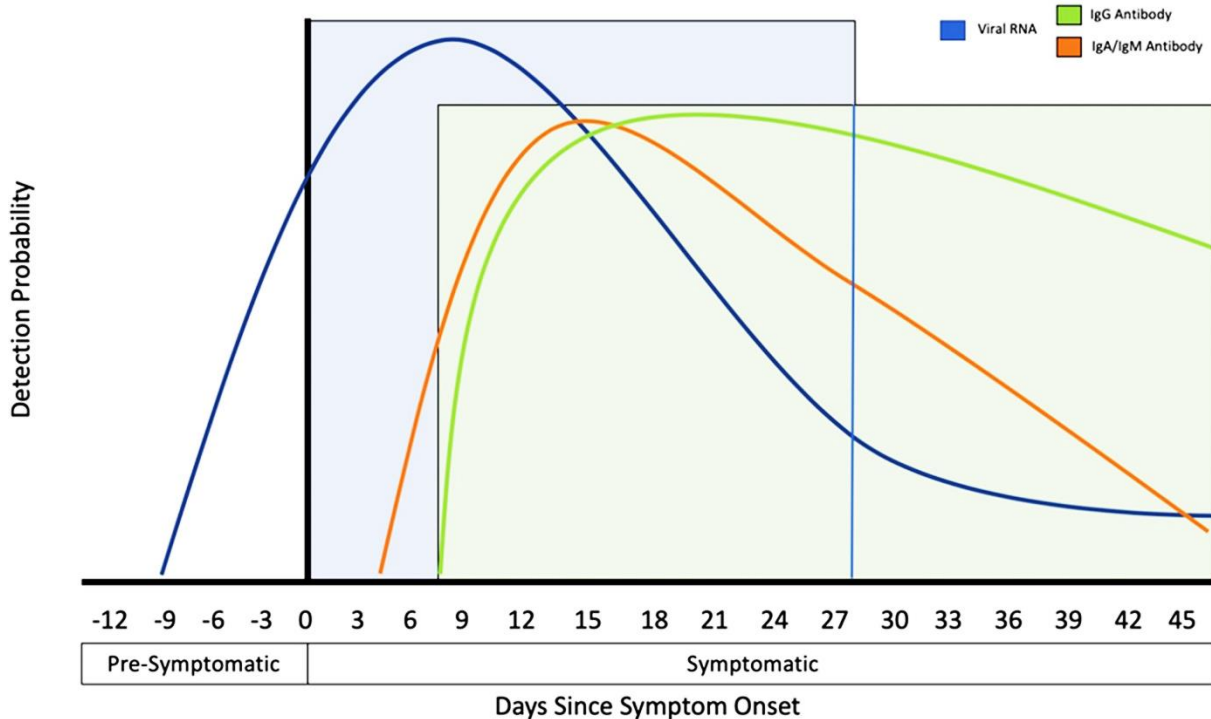
Los antígenos de los ensayos serológicos pueden derivar de lisado celular, sobrenadante de las células infectadas o antígenos recombinantes que permiten la selección de antígenos inmunogénicos y específicos de virus para maximizar tanto la especificidad como la sensibilidad. Hay una gran variedad de antígenos, metodologías y fabricantes de estas pruebas, cuyos resultados y unidades no son comparables, sin embargo, cada una de ellas debe ser validada antes de ser lanzada al mercado y posteriormente verificada en el laboratorio antes de ser utilizada con pacientes. (14)

El nivel de respuesta de anticuerpos puede variar con la edad, el sexo y la presencia de comorbilidades. Las inmunoglobulinas G, M y A (IgG, IgM e IgA) se utilizan como

posibles marcadores de COVID-19. Usualmente se ha encontrado que IgM es un indicador de la infección en etapa temprana, mientras que se observan niveles más altos de IgG durante las etapas tardías o después de la recuperación. (15)

No obstante, los anticuerpos IgG e IgM pueden aparecer de forma simultánea o secuencial, apareciendo en algunos casos primero IgG. Es probable que la conversión de seronegatividad a seropositividad ocurra entre 14 y 21 días después del inicio de los síntomas. La respuesta de los anticuerpos puede ser muy variable e incluso algunos estudios muestran una respuesta de anticuerpos de alta afinidad y títulos altos, en pacientes graves. (16)

En general, el tiempo medio de seroconversión para IgA e IgM es de 4 a 6 días e IgG 5 a 10 días después de la aparición de los síntomas. La detección de IgA muestra la mayor sensibilidad durante aproximadamente 4 a 25 días después del inicio de la enfermedad, la IgG alcanza su pico durante 21 a 25 días después del inicio de la enfermedad y se mantiene en una lectura relativamente alta hasta los 31 a 41 días (ver figura 1). (14)



Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, Volume: 40, Issue: 8, Pages: 857-868, First published: 08 July 2020, DOI: (10.1002/phar.2439)

Figura 1. Curva de detección de ARN viral antes de la fase sintomática, y curvas de la cinética de anticuerpos IgA e IgM. Se observa seroconversión hacia los 4-6 días y pico máximo a los 15 días, representada con la línea roja. La curva de IgG (verde) con pico máximo a los 20-24 días y niveles detectables más allá de los 40 días.

MARCO DE REFERENCIA

En el laboratorio de patología clínica de Médica Sur durante el periodo de diciembre a marzo, estuvo en operación el equipo de *Snibe* Diagnostic MAGLUMI 800 de Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd, China. Es un equipo automatizado que utiliza el inmunoensayo por quimioluminiscencia para la detección semicuantitativa de anticuerpos contra SARS-COV2 de tipo IgG e IgM, dirigidos contra los antígenos de la nucleocápside (N) y espiga S1 y S2 de SARS COV-2.

Para la detección de IgM se utiliza una partícula magnética recubierta con anticuerpo monoclonal de IgM antihumano, que se une a los anticuerpos del paciente para luego unirse a un antígeno recombinante 2019 n-Cov, marcado con aminobutilisoluminol.(17)

Para IgG se utilizan microperlas magnéticas marcadas con antígeno recombinante 2019 n-Cov, que se unen a los anticuerpos del paciente y posteriormente se agrega una anti IgG marcada con aminobutilisoluminol.

De manera que para ambos casos la intensidad de la señal luminiscente emitida será directamente proporcional a la concentración de anticuerpos en la muestra del paciente. (18)

En un estudio realizado por Padoan y cols. se describió la cinética de IgA e IgM del SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19 corroborado por rT-PCR, durante 6 semanas, utilizando MAGLUMI 2000 Plus y Euroinmmun. Los niveles de IgA e IgM aumentaron de 6 a 8 días desde el inicio del COVID-19. IgM alcanzó su punto máximo a los 10-12 días, disminuyendo significativamente después de 18 días, IgA alcanzó su punto máximo a los 20-22 días. (19)

Duysburgh y cols. informan una persistencia en promedio para IgG de 168.5 días (5.6 meses) con la plataforma Euroinmmun. (20)

En un estudio de cohorte realizado por Gaebler y cols. se registró que la respuesta de las células B de memoria al SARS-CoV-2 para IgG se mantiene entre 1.3 y 6.2 meses después de la infección.(21)

No obstante, la respuesta inmune es dependiente de algunos otros factores como la edad, estado inmunológico de los pacientes y severidad de la enfermedad.

En otro estudio se evaluó la persistencia de los anticuerpos después de 60 días posterior al inicio de los síntomas en 72 pacientes. Se encontró que pasados 2 meses, el 54% de individuos asintomáticos ya no tenían anticuerpos, concluyendo que la inmunidad humoral contra el SARS-CoV-2 no es duradera entre las personas con signos y síntomas leves. (22)

En otro estudio de cohorte por Long, se estudiaron muestras de anticuerpos de 285 pacientes con COVID-19, de los cuales 262 eran sintomáticos y 39 graves. Se demostró a los 7-14 días después del inicio de los síntomas los pacientes graves tenían un título de IgG significativamente

más alto en comparación con los casos no graves, y posterior a ese tiempo no hubo diferencia en el título medio de anticuerpos entre estos grupos. (23)

En este mismo estudio se reportaron diferentes patrones de seroconversión. Si bien la respuesta serológica más común es la aparición temprana de IgM y posteriormente de IgG, existen otros 2 patrones de seroconversión: seroconversión de IgG antes que IgM y seroconversión sincrónica de IgG e IgM.

En un estudio en Nueva York se evaluó la respuesta inmune para IgG e IgM en 89 pacientes hospitalizados por COVID-19. El 51.7% de los pacientes desarrollaron anticuerpos IgG e IgM simultáneamente; 32.8% IgM antes que IgG y un 15.5% IgG antes que IgM. (24)

El tiempo promedio de seroconversión para IgM fue de 7 días mientras que para IgG 8 días. En pacientes inmunocomprometidos el tiempo de aparición de los anticuerpos fue de 15 días para IgG y 17.5 días para IgM, con niveles significativamente más bajos de ambos anticuerpos. Con una tendencia hacia una seroconversión de IgG más temprana y posterior de IgM. Este mismo patrón se observó en pacientes que murieron posteriormente, lo que implica que puede deberse a la gravedad de la infección.

Los pacientes mayores de 65 años tuvieron la seroconversión de IgG e IgM 6 días posterior al inicio de los síntomas, en contraste con 8.5 días para los menores de 65 años; los autores postulan que puede deberse a que los pacientes mayores por exposiciones previas a coronavirus, pueden generar una respuesta inmunitaria más grande y más temprana. (24)

De acuerdo a Fejt y cols. en una evaluación realizada en un asilo a adultos mayores, la edad no es impedimento para la generación de anticuerpos, ya que se evaluó la respuesta inmune 6 meses después de la infección, detectando anticuerpos neutralizantes en 18 de 20 adultos mayores, correlacionando con niveles más altos de inmunoglobulinas.(25)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No se conoce el comportamiento de los anticuerpos para SARS-CoV-2 en pacientes con exposición previa al virus en la población atendida por Médica Sur en cuanto a persistencia de ellos y comportamiento de su concentración de ellos en el tiempo.

Los motivos que llevaron a la realización de este estudio, son las dudas generadas por los pacientes, en cuanto al tiempo de aparición de sus anticuerpos, el desarrollo o no de estos posterior al inicio de sus síntomas, y su duración de ellos, información con la que no se contaba en ese momento.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia en el tiempo de permanencia máximo identificable de los anticuerpos SARS-COV-2 IgG e IgM en los en los diferentes grupos de edad de los pacientes atendidos en Médica Sur?

JUSTIFICACIÓN

Si bien durante la fase crítica de la pandemia, varios investigadores analizaron los resultados de las diferentes pruebas diagnósticas, su comportamiento e importancia, no se ha estudiado el comportamiento de los anticuerpos de los pacientes en nuestra población atendida.

Desde el inicio de la pandemia al mes de marzo del 2021, se realizaron un total de 72,125 PCR's con un porcentaje de positividad 26.41%. Así mismo del mes de diciembre a marzo del 2021, que estuvo vigente la prueba de anti SARS-COV-2 MAGLUMI, se realizaron un total de 6200 pruebas de las cuales se obtuvieron 1867 resultados positivos con un 30.11% de positividad para anticuerpos.

A causa del alto impacto generado por COVID 19 tanto en el ámbito de salud, económico y social, es importante tener una estimación de la proporción de la población que ha estado expuesta al virus, los grupos de edad, zonas con mayor prevalencia en nuestra población y observar el comportamiento de la respuesta inmune, en cuanto a persistencia de los anticuerpos y concentración de ellos en el tiempo, en los pacientes con infección documentada por PCR, ya que si bien la presencia de anticuerpos no garantiza inmunidad en los pacientes, no se ha examinado la respuesta inmune natural post infecciosa en nuestra población.

OBJETIVO

Principal:

- Identificar si existe diferencia en el tiempo de persistencia de anticuerpos IgG, IgM específicos a SARS-COV-2 en los pacientes con exposición previa al virus documentada por RT-PCR, de acuerdo a su grupo de edad.

Secundarios:

- Definir si existe diferencia en la permanencia de anticuerpos entre los resultados de pacientes externos y hospitalizados.
- Identificar el comportamiento de la concentración de anticuerpos de los resultados de los pacientes que se hayan realizado la prueba más de una vez, a través del tiempo.

HIPÓTESIS

No existe diferencia en el tiempo de persistencia de los anticuerpos con respecto a los grupos de edad.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de la muestra

Universo de estudio.

Resultados positivos de pacientes a los que se les realizó la prueba de anticuerpos en el sistema MAGLUMI, que contaran con antecedente de exposición previa documentada por RT-PCR.

Tamaño de la muestra.

Se incluyeron todos los resultados positivos para anticuerpos específicos anti SARS-COV-2 de los pacientes con antecedente de infección documentada por RT-PCR, en el periodo del 20 diciembre al 20 marzo del 2020.

Se analizaron todos los resultados positivos para la prueba de anticuerpos SARS-COV-2 IgG e IgM en el sistema MAGLUMI, de toda la población a la que se le practicó, que contaban con antecedente de infección documentada por RT-PCR. En total se analizaron 409 resultados, 380 de pacientes externos y 29 de pacientes hospitalizados.

La temporalidad del estudio fue durante el tiempo en que estuvo disponible la prueba en el laboratorio de Médica Sur.

Muestreo: No probabilístico consecutivo.

Criterios de Selección de muestra

Criterios de Inclusión. Se incluyeron los resultados positivos de anticuerpos específicos a SARS-COV-2 de tipo IgG, IgM o ambos, de los pacientes con antecedente de exposición previa al virus documentada por RT-PCR en el sistema de información de laboratorio.

Criterios de exclusión.

Resultados positivos a anticuerpos específicos de SARS-COV-2 de pacientes, que no tengan exposición previa al virus documentada por RT-PCR.

Definición de variables

Independientes (causa)		Dependientes (efecto)	
Variable	Escala	Variable	Escala
Resultado de la prueba de anticuerpos SARS-COV-2	Nominal dicotómica IGG y/o IGM (positivo o negativo)	Permanencia de la respuesta inmune	Intervalo, discreta (Días)
Edad	Intervalo, discreta (años cumplidos)	Intensidad de la respuesta inmune	Intervalo, continua (Concentración expresada como UA/ml)
Procedencia	Nominal dicotómica (hospitalizados o externos)		

Descripción de procedimientos

Se consultó el sistema informático de laboratorio, para obtener el número total de pacientes atendidos en el laboratorio de patología clínica de Médica Sur que se realizaron la prueba de anticuerpos IgG e IgM, en el periodo del 20 de diciembre del 2020 al 20 de marzo del 2021, que fue el tiempo que estuvo vigente esta prueba en el laboratorio.

De estos pacientes se identificaron los resultados de aquellos que contaban con una prueba positiva de RT-PCR para SARS-COV-2.

Se extrajeron los siguientes datos: fecha de realización de las pruebas de anticuerpos y PCR, edad, sexo, identificación sobre si fue paciente externo u hospitalizado, número de acceso del resultado y el resultado obtenido tanto de la prueba de PCR como de la prueba de resultado de anticuerpos.

Evaluación de persistencia de anticuerpos IgG e IgM en pacientes externos, según sus grupos de edad:

Para evaluar la persistencia de los anticuerpos de los pacientes externos, se seleccionó a la población que tuviera prueba positiva de anticuerpos de tipo IgG e IgM respectivamente. Se hizo la distribución de la población de pacientes según su sexo y se estratifico por grupos de edad: de 18 a 29 años, de 30 a 64 años y mayores de 65 años.

A cada grupo etario se le analizó el número máximo de días de persistencia de anticuerpos, el promedio y mediana de duración en días, así como la diferencia de persistencia de anticuerpos por sexo.

Posteriormente se obtuvo el porcentaje de pacientes con persistencia de IgG e IgM >90 días, de acuerdo a su grupo etario, esto con el fin de observar si las duraciones más prolongadas, se asociaban a un grupo de edad en específico.

Evaluación de persistencia de anticuerpos IgG e IgM en pacientes internos, según sus grupos de edad:

De la misma forma para evaluar la persistencia de los anticuerpos de los pacientes hospitalizados, se seleccionó a la población que tuviera prueba positiva de anticuerpos de tipo IgG e IgM respectivamente que en total fueron 29 pacientes. Y posteriormente se hizo la distribución esos 29 pacientes según su sexo y se estratificaron por grupos de edad: de 18 a 29 años, de 30 a 64 años y mayores de 65 años.

Sin embargo, para IgM no se pudo hacer la estratificación por edad, ya que el 100% de la población hospitalizada con IgM positiva, se encontraba en el grupo de edad de 30 a 64 años. Con respecto a IgG si fue posible estratificar a la población por grupos de edad, pero se tuvo la limitante de tener solo una paciente en el grupo de mayores de 65 años.

Se les analizó el número máximo de días de persistencia, el promedio y mediana de duración en días, así como la diferencia de persistencia de anticuerpos por sexo.

Como todos los pacientes positivos para IgM se encontraban en el mismo grupo de edad y para IgG no se contaba más que con una paciente mayor de 65 años, para IgM no se pudo evaluar si las persistencias de anticuerpos mayores a 90 días predominaban en algún grupo de edad en específico.

Comparación de persistencia de anticuerpos entre pacientes internos y externos.

Una vez obtenidos los datos de la persistencia de anticuerpos en días tanto para pacientes externos como hospitalizados, se procedió a realizar la comparación de la duración de anticuerpos pos infecciosos anti SARS-COV-2 entre dicho.

Se estratificó a la población según sus grupos etarios y posteriormente se comparó el tiempo máximo de persistencia tanto para pacientes hospitalizados como externos en cada respectivo grupo de edad y también según su sexo.

Evaluación del comportamiento de la concentración de anticuerpos IgG e IgM en los pacientes externos con 2 determinaciones seriadas.

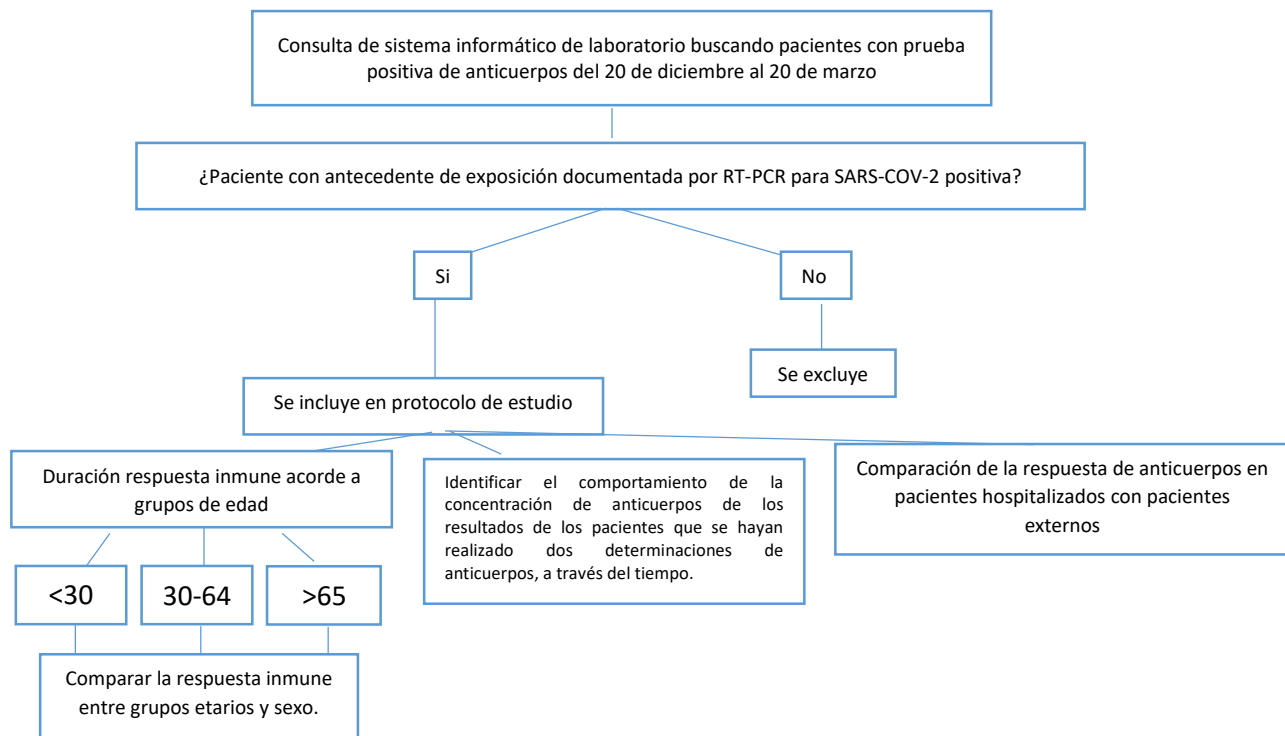
Para evaluar el comportamiento de los niveles de anticuerpos de tipo IgM e IgG en los pacientes con 2 determinaciones seriadas, se seleccionaron aquellos pacientes con prueba positiva de PCR que contaran con 2 pruebas de anticuerpos subsecuentes, lo que permitiría ir observando la disminución o aumento de las unidades de los anticuerpos a través del tiempo.

Se incluyeron 23 pacientes que contaban con 2 pruebas de anticuerpos seriadas: la primera determinación con menos de 20 días de diferencia con respecto a la fecha de realización de la PCR, y la segunda determinación después de más de 21 días con respecto a la PCR.

Esta población de pacientes con dos determinaciones se estratificó de igual manera por grupos etarios y por sexo, para posteriormente evaluar la concentración en UA/ml de anticuerpos tanto IgG como IgM. A cada grupo se le determinó promedio, mediana y concentración máxima de anticuerpos en UA/ml.

Al obtener los datos anteriores para cada una de las 2 determinaciones en el tiempo, se procedió a elaborar gráficos de tipo “dot plot” para poder visualizar con mayor facilidad el comportamiento de los anticuerpos. Así mismo al contar con las concentraciones en cada una de las determinaciones, se procedió a obtener el porcentaje de variación entre una determinación y otra.

Diagrama de flujo (metodología)



Hoja de captura de datos

# ID. Paciente	Fecha resultado anticuerpos	Sexo M/F	Edad	Procedencia (Externo/Hospital)	IgG (+/-)	Título IgG	IgM (+/-)	Título IgM	Fecha PCR	Resultado PCR (+/-)	Tiempo positividad PCR-ACS

Cronograma

	MAYO 2021				JUNIO 2021				JULIO 2021				AGOSTO 2021		
FECHA	1-8	9-15	16-22	23-31	1-5	6-12	13-18	20-30	1-10	11-17	18-24	25-31	1-10	11-20	21-30
ACTIVIDAD															
Delimitación de tema	■														
Pregunta de investigación															
Planteamiento del problema		■													
Búsqueda bibliográfica		■	■												
Marco teórico y antecedentes			■												
Justificación y trascendencia				■											
Hipótesis				■											
Objetivo general y específicos					■										
Metodología					■										
Realización de diagrama de flujo						■									
Hoja de captura de datos						■									
Cronograma							■								
Factibilidad y pertinencia								■							
Métodos para evaluar los resultados								■	■						
Presentación de resultados									■						
Entrega de protocolo de investigación										■	■	■			
Obtención de la información													■		
Procesamiento y análisis de datos													■		
Elaboración conclusiones														■	■

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Para evaluar la duración de la respuesta inmune entre los diferentes grupos de edad, se utilizó estadística descriptiva: valor máximo de días, promedio y mediana.
- Para comparar la persistencia de anticuerpos entre los pacientes hospitalizados y externos, así como entre grupos de edad, se utilizó estadística descriptiva y gráficos de barras comparando la concentración de anticuerpos en el tiempo que se obtuvieron para cada población.
- Para analizar el comportamiento de la concentración de anticuerpos IgG e IgM en la población con dos determinaciones subsecuentes, se utilizaron gráficos de puntos para ver su porcentaje de cambio entre la primera y segunda determinación
- Para evaluar la persistencia de los anticuerpos de tipo IgG e IgM en toda la población tanto de pacientes hospitalizados como externos, fue necesario determinar si la población tenía o no una distribución normal, es por ello que primero se realizó una prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk), que arrojó el tiempo de permanencia de anticuerpo IgG con un valor $W=0.8415$ y $p\text{-valor}=2.2 \times 10^{-10}$ e IgM con un valor $W=0.7332$ y $p\text{-valor}=3.16 \times 10^{-7}$. Los cuales indican que los datos no se distribuyen de manera normal.
- La prueba de Kruskal Wallis se utilizó para evaluar, si la diferencia de tiempo de persistencia de anticuerpos IgM e IgG entre los diferentes grupos de edad y sexo eran estadísticamente significativa.

Comparación	No paramétrica
2 grupos de acuerdo con la procedencia (hospitalizados y externos)	U-Mann Whitney (suma de rangos)
3 estratos de acuerdo con los grupos de edad: 0-29, 30-64, ≥ 65 años)	Kruskal-Wallis

RESULTADOS

Ingresaron al análisis un total de 409 pacientes, siendo un total de 380 pacientes externos y 29 pacientes hospitalizados.

La distribución por edad de los pacientes externos se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1. Distribución de pacientes externos por grupos de edad

Grupo de edad	# Pacientes		Hombres		Mujeres	
	n	%	n	%	n	%
18-29	65	17.1	40	61.5	25	38.4
30-64	266	70	142	53.3	124	46.6
≥65	49	12.8	22	44.8	27	55.1
Total	380	100	204	53.6	176	46.3

Evaluación de la persistencia de anticuerpos IgG en los pacientes externos

De la población total de pacientes externos, 375 pacientes tuvieron anticuerpos IgG positivos. Estos casos se incluyeron para evaluar la persistencia de IgG entre los diferentes grupos etarios; su distribución por grupo de edad y sexo se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución de pacientes con anticuerpos IgG en los grupos de edad.

Grupo de edad	# Pacientes		Hombres		Mujeres	
	n	%	n	%	n	%
18-29	64	17	40	62.5	24	37.5
30-64	262	69.8	142	54.1	120	45.8
≥65	49	13	22	44.8	27	55.1
Total	375	100	204	54.4	171	45.6

En la tabla 3 se muestra la persistencia de IgG en días por grupos de edad y sexo. En los 3 grupos de edad, se evidencia que los hombres tuvieron mayor persistencia de anticuerpos de tipo IgG

que las mujeres. Mostrando que en el grupo de edad de 18 -29 años, el máximo tiempo de persistencia para IgG fue de 164 días, en el de 30-64 años de 295 días y en el de mayores de 65 años fue de 290 días.

Tabla 3. Persistencia de anticuerpos IgG en hombres y mujeres por grupo de edad (días).

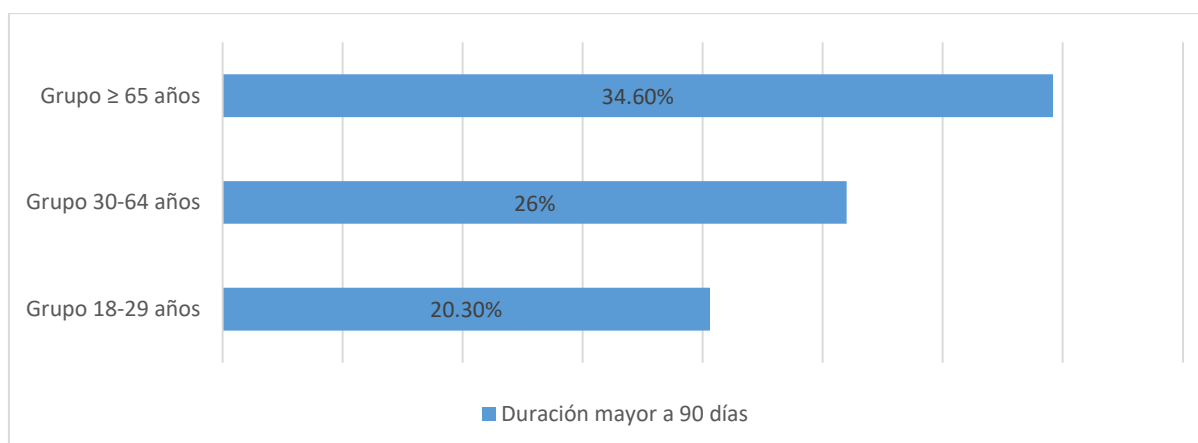
Edad	Total de Pacientes		Hombres				Mujeres			
	n	%	n	Máxima	Promedio	Mediana	n	Máxima	Promedio	Mediana
18-29	64	17	40	164	57.7	46.5	24	130	44	27.5
30-64	262	69.8	141	295	74	45	121	252	63	44
≥65	49	13	22	290	92	65	27	290	78	58
Total	375	100	203	295	72.7	50	172	290	62.7	44

En el grupo de edad de 18-29 años, 13 pacientes (20.3%) tuvieron una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días, siendo 84.6% de ellos de sexo masculino.

En el grupo de edad de 30-64 años, 68 pacientes (26%) tuvieron una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días, siendo 59% de ellos de sexo masculino.

De los 49 pacientes del grupo de edad de >65 años, 17 de ellos (34.6%) tuvieron una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días, de los que el 53% eran de sexo femenino (Gráfica 1).

Gráfica 1. Porcentaje de pacientes externos con persistencia de IgG >90 días.



Evaluación de la persistencia de anticuerpos IgM en los pacientes externos

De la población total de pacientes externos, 167 pacientes presentaron anticuerpos IgM positivos, que se incluyeron para evaluar su persistencia entre diferentes grupos distribuidos por edad y sexo (ver tabla 4).

Tabla 4. Distribución de pacientes con anticuerpos IgM en los grupos de edad.

Grupo de edad	# Pacientes		Hombres		Mujeres	
	n	%	n	%	n	%
18-29	22	13.1	17	72.2	6	27.2
30-64	121	72.4	76	62.8	45	37.1
≥65	24	14.3	11	45.8	15	62.5
Total	167	100	104	62.2	66	39.5

En la tabla 5 se muestra la persistencia de IgM en días por grupos de edad y sexo. Se observa que en el grupo de edad de 18-29 años, el tiempo máximo de persistencia de IgM fue de 115 días, en el de 30-64 años de 257 días y en el de mayores de 65 años fue de 131 días.

Tabla 5. Persistencia de anticuerpos IgM en hombres y mujeres por grupo de edad (días).

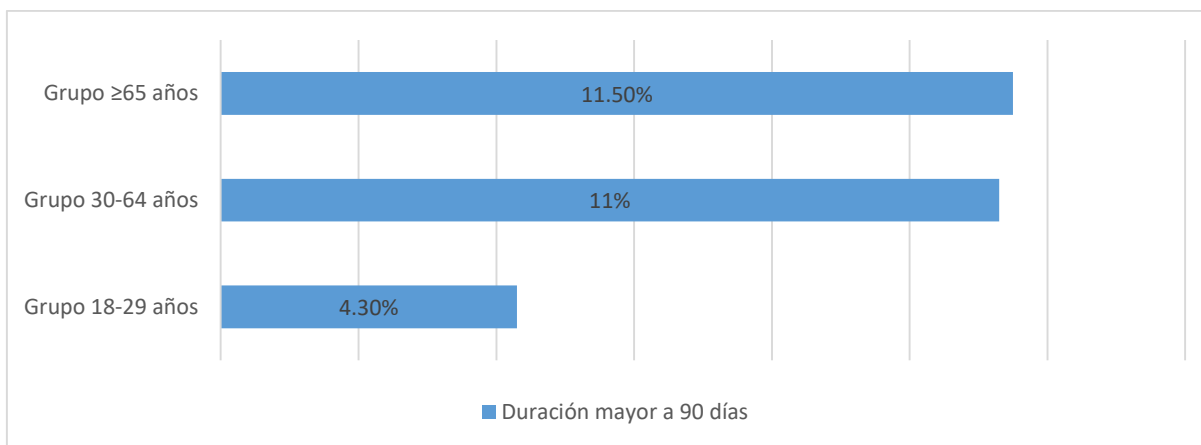
Grupo de edad	# Pacientes		Hombres					Mujeres				
	n	%	n	%	Máxima	Promedio	Mediana	n	%	Máxima	Promedio	Mediana
18-29	22	13.1	17	16.3	115	34.1	24	6	9	28	18	18.5
30-64	121	72.4	76	73	257	49.6	34	45	68.1	109	30.8	27
≥65	24	14.3	11	10.5	131	61.7	50	15	22.7	137	43.4	37
Total	167	100	104	100	257	48.4	33.5	66	100	137	32.09	28

En el grupo de edad de 18-29 años, un paciente masculino (4.3%) tuvo una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días.

En el grupo de edad de 30-64 años, 14 de los 123 pacientes (11.3%) tuvieron una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días, de los cuales 85.8% fueron de sexo masculino.

Del grupo de edad de ≥ 65 años, 3 de 26 de ellos (11.5%) tuvieron una persistencia de anticuerpos mayor a 90 días. Siendo 2 de ellos de sexo masculino 66.6%. (Gráfica 2).

Gráfica 2. Porcentaje de pacientes externos con persistencia de IgM >90 días.



Comportamiento de la concentración de anticuerpos en los pacientes con 2 determinaciones seriadas

Se realizaron 2 determinaciones seriadas a 23 pacientes externos subsecuentes, y se distribuyeron por edad, para analizar sus resultados.

En el grupo de 18-29 años hubo 6 pacientes en total, 5 hombres y una mujer; de ellos la máxima concentración de anticuerpos tanto para IgG como IgM se observó en el grupo de hombres, siendo IgG 34.2 UA/ml en la primera determinación y 23.4 UA/ml en la segunda determinación. Y de IgM 25.1 UA/ml en la primera determinación y 16.3 UA/ml en la segunda determinación. (tabla 6).

Tabla 6. Concentración de anticuerpos IgG e IgM (UA/ml) en grupo de edad 18-29 años

		1ª Determinación de acs. (<20 días)						2ª Determinación de acs. (>21 días)						% Variación entre determinaciones	
	n	MÁXIMA		PROMEDIO		MEDIANA		MÁXIMA		PROMEDIO		MEDIANA			
		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM		
Hombres	5	34.2	25.1	13.6	7.8	11.4	2.4	23.4	16.3	12.7	4.7	11.0	0.7	10.8	-48.9
Mujeres	1	9.4	1.3	-	-	-	-	7.6	0.1	-	-	-	-	-	-
Total	6	34.2	25.1	13.6	7.8	11.4	2.4	23.4	16.3	12.7	4.7	11.0	0.7	-	-

En el grupo de 30-64 años se evaluaron 14 pacientes en total, 6 hombres y 8 mujeres. Para IgG e IgM la máxima concentración de anticuerpos se encontró en el grupo de mujeres con IgG 45.3 UA/ml en la primera determinación y 36.9 UA/ml en la segunda determinación para IgG. 575 UA/ml en la primera determinación y 543 UA/ml en la segunda determinación, para IgM respectivamente, como se observa en la tabla 7.

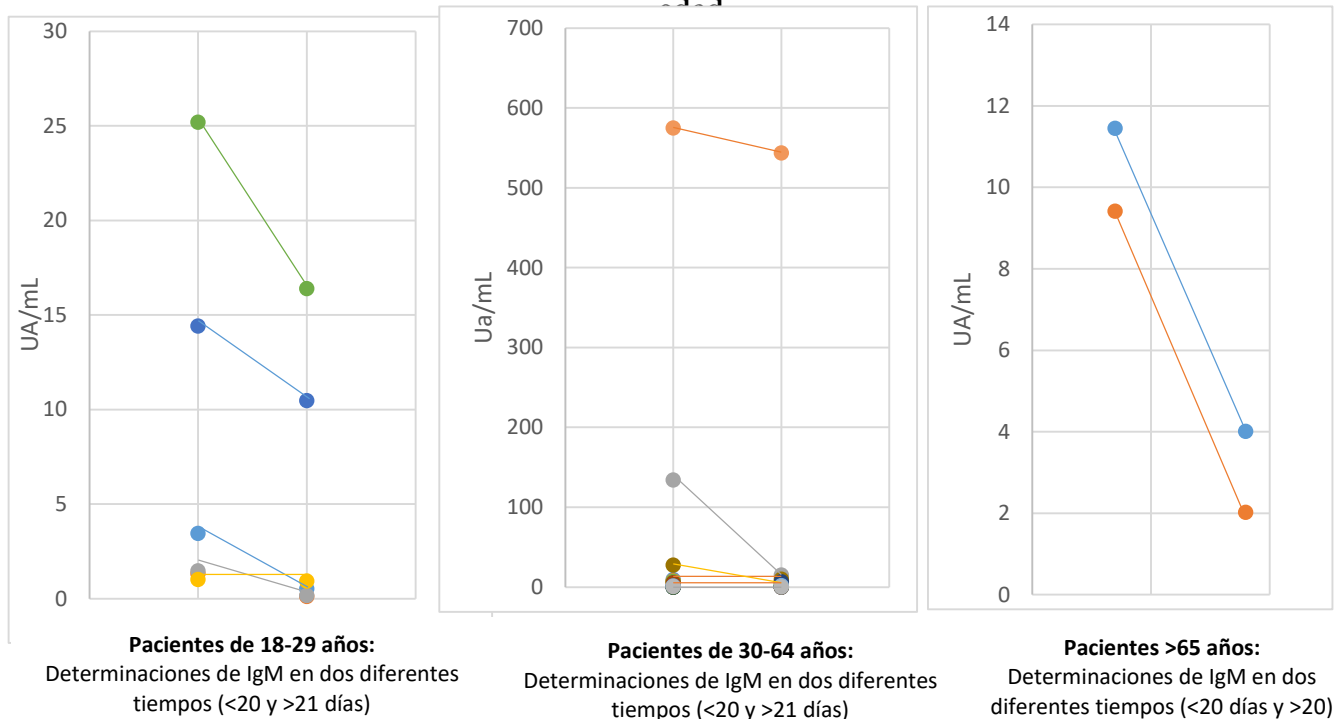
Tabla 7. Concentración de anticuerpos IgG e IgM (UA/ml) en grupo de edad 30-64 años.

		1ª determinación (<20 días)						2ª determinación (>21 días)						% Variación entre determinaciones	
	n	Máxima		Promedio		Mediana		Máxima		Promedio		Mediana			
		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM		
Hombres	6	36.8	27.4	21.8	12.3	16.3	7.5	28.2	9.9	18.8	4.2	18.7	3.9	-10.52	-51.72
Mujeres	8	45.36	575	18.7	91.3	15.7	4.6	36.9	543	19.3	70.5	19.2	0.7	-1.94	-49.37
Total	14	45.36	575	20	57	16.3	7	36.9	543	19.5	42.1	18.7	1.9	-6.56	-50.47

En el grupo de >65 años hubo únicamente 2 pacientes masculinos con dos determinaciones subsiguientes de anticuerpos.

La concentración de anticuerpos IgM en UA/ml, de los pacientes con 2 determinaciones seriadas y por grupos de edad se muestra en la Figura 1.

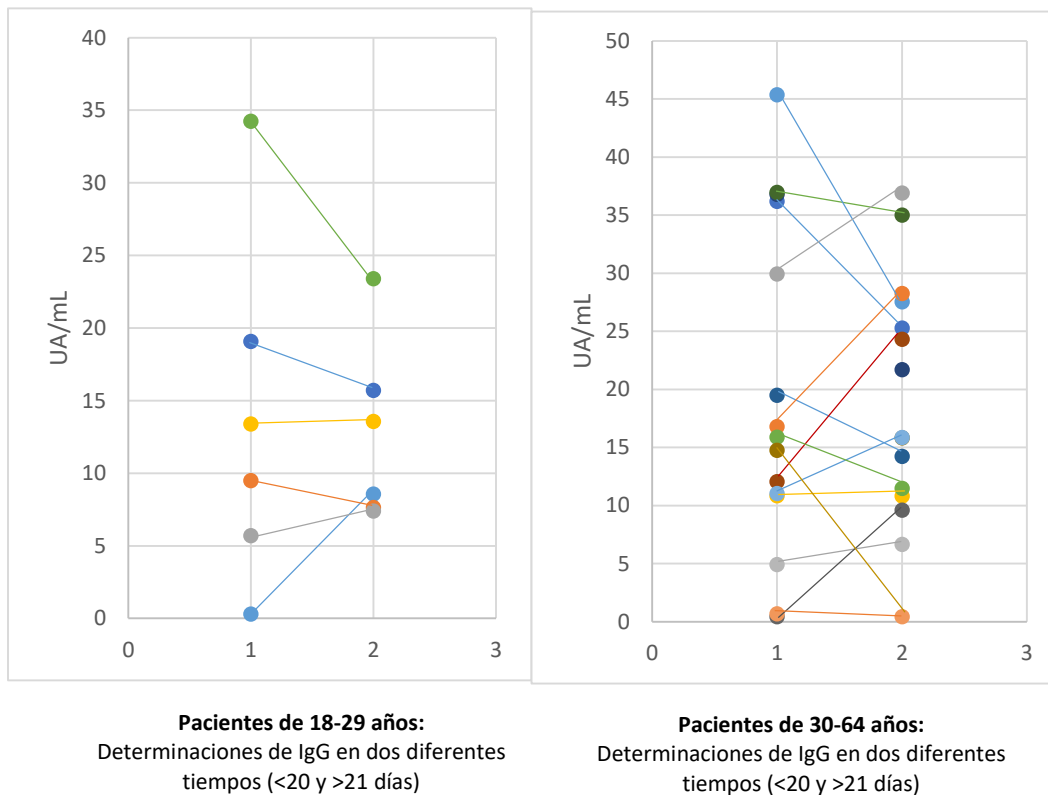
Figura 1. Determinación de IgM en <20 días y >21 días, en los 3 diferentes grupos de



La concentración de anticuerpos IgG en UA/ml, de los pacientes con 2 determinaciones seriadas y por grupos de edad se muestra en la Figura 2.

El grupo de mayores de 65 años no fue graficado ya que solo se contaba con 2 pacientes en dicho rango de edad.

Figura 2. Determinación de IgG en <20 días y >21 días, en 2 grupos de edad.



Permanencia de anticuerpos en pacientes hospitalizados.

Se evaluaron un total de 29 pacientes internos, estratificados según su sexo y grupo de edad: 11 pacientes de 18-29 años, 17 de 30-64 y solo un paciente mayor de 65 años.

Tabla 9. Distribución de pacientes internos por grupos de edad

Grupo de edad	# Pacientes		Hombres		Mujeres	
	n	%	n	%	n	%
18-29	11	37.9	8	72.7	3	27.2
30-64	17	58.6	14	82.3	3	17.6
≥65	1	3.4	-	-	1	3.4
Total	29	100	22	75.8	7	24.1

Todos los pacientes con IgM positivos se encontraban en el grupo de edad de 30-64 años. El máximo tiempo de persistencia de anticuerpos IgM registrada fue de 131 días, en un paciente masculino de 52 años. (tabla 10)

Tabla 10. Persistencia de anticuerpos IgM (días) en grupo de edad 30-64 años en pacientes internos.

	# Pacientes		Máxima	Promedio	Mediana
	n	%			
Hombres	9	81.8	131	40.8	32.5
Mujeres	2	18.1	34	30.5	30.5
Total	11	100	131	40	33

De los 11 pacientes internos que se evaluaron solo hubo un hombre de 52 años con persistencia de anticuerpos IgM más allá de 90 días.

En los hombres la mayor duración de anticuerpos IgG fue de 252 días en el grupo de edad de 30-64 años, mientras que en las mujeres la máxima duración registrada de anticuerpos IgG fue de 146 días en el grupo de edad de 18-29 años.

Tabla 11. Persistencia de anticuerpos IgG (días) en los 3 grupos de edad en pacientes internos.

Grupo de edad	# Pacientes		Hombres					Mujeres				
	n	%	#	%	Máxima	Promedio	Mediana	n	%	Máxima	Promedio	Mediana
18-29	11	37.9	8	72.7	149	48.1	42.5	3	27.2	146	11.6	146
30-64	17	58.6	14	82.3	252	97.3	66	3	17.6	60	40.3	34
≥65	1	3.4	-	-	-	-	-	1	3.4	14	-	-
Total	29	100	22	75.8	252	79.4	52.5	7	24.1	146	67.1	43

De los 29 pacientes internos positivos para IgG, hubo un total de 9 pacientes (31%) con persistencia anticuerpos más allá de 90 días, siendo de ellos el 77.7% de sexo masculino y perteneciendo todos ellos al grupo de edad de 30-64 años.

Comparación entre la persistencia de anticuerpos IgG e IgM entre pacientes hospitalizados y externos

En la tabla 12, se muestra la comparación entre la persistencia de anticuerpos entre los pacientes internos y externos en el grupo de edad de 18-29 años, el tiempo máximo de persistencia de anticuerpos de tipo IgG se presentó en los hombres externos con 164 días.

Tabla 12. Comparación de la persistencia de anticuerpos IgG entre pacientes hospitalizados y externos de 18-29 años

	Externos					Hospitalizados				
	n	%	Máxima	Promedio	Mediana	n	%	Máxima	Promedio	Mediana
Hombres	40	62.5	164	57.7	46.5	8	72.7	149	48.1	42.5
Mujeres	24	37.5	130	44	27.5	3	27.2	146	11.6	146
Total	64	100	164	68.8	45	11	100	149	65.4	52

Al comparar la respuesta inmune entre los pacientes internos y externos, se encontró que en el grupo de edad de 30-64 años, el tiempo máximo de persistencia de anticuerpos de tipo IgG se encontró en los pacientes externos tanto de hombres como de mujeres, con 295 y 252 días respectivamente (tabla 13).

Tabla 13. Comparación entre la persistencia de anticuerpos IgG entre pacientes hospitalizados y externos de 30-64 años

	Externos					Hospitalizados				
	n	%	Máxima	Promedio	Mediana	n	%	Máxima	Promedio	Mediana
Hombres	141	53.8	295	74	45	14	82.3	252	97.3	66
Mujeres	121	46.1	252	63	44	3	17.6	60	40.3	34
Total	262	100	295	137	91	17	100	252	87.2	59

Al comparar la persistencia de anticuerpos de tipo IgM entre los pacientes internos y externos, se encontró que en el grupo de edad de 30-64 años, el tiempo máximo de persistencia estuvo en el grupo de pacientes externos tanto para hombres como para mujeres con 257 y 109 días respectivamente.

Tabla 14. Comparación de la persistencia de anticuerpos IgM entre pacientes hospitalizados y externos de 30-64 años

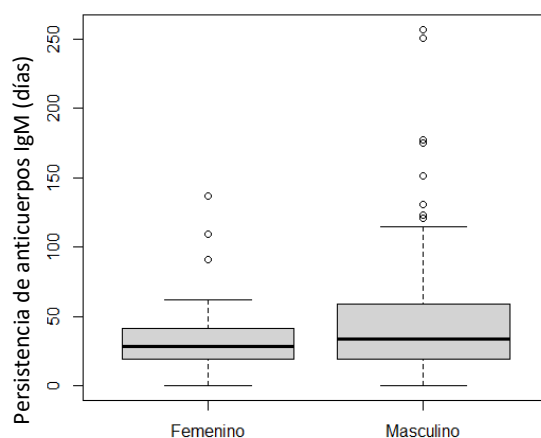
	Externos					Hospitalizados				
	n	%	Máxima	Promedio	Mediana	n	%	Máxima	Promedio	Mediana
Hombres	76	62.8	257	49.6	34	9	81.8	131	40.8	32.5
Mujeres	45	37.1	109	30.8	27	2	18.1	34	30.5	30.5
Total	121	100	257	42.01	30.5s	11	100	131	40	33

Significancia estadística de persistencia de anticuerpos IgG e IgM por sexo en la población general (hospitalizados y externos).

Los resultados de la prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para el tiempo de permanencia de anticuerpo IgG e IgM indicaron que los datos no se distribuyen de manera normal, por lo cual se aplicaron pruebas de significancia estadística no paramétricas (Mann-Whitney Wilcoxon) para determinar si existe diferencia en la persistencia de los anticuerpos de tipo IgG e IgM de acuerdo con el sexo.

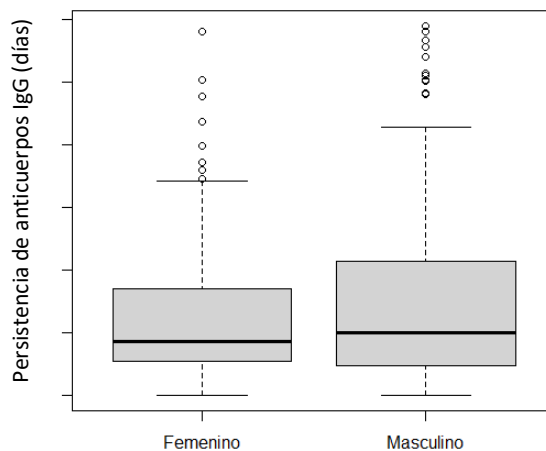
Para IgM no se obtuvo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre masculino y femenino (figura 3).

Figura 3. Comparación de persistencia de anticuerpos IgM de la población general, por sexo.



Para IgG igualmente no se obtuvo diferencia significativa ($p = 0.32$) entre masculino y femenino (figura 4).

Figura 4. Comparación de persistencia de anticuerpos IgG de la población general, por sexo.

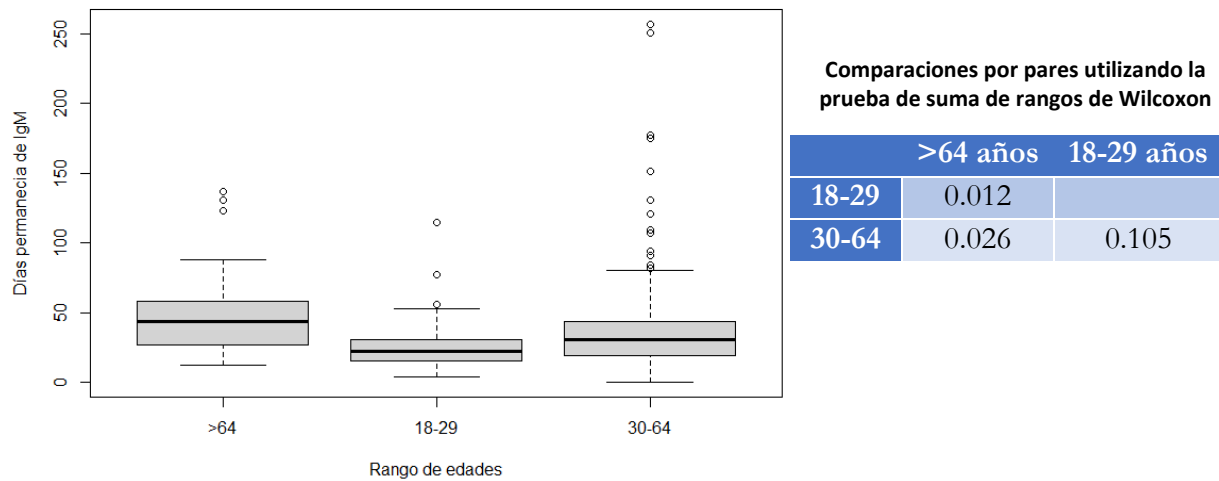


Significancia estadística de la persistencia de anticuerpos IgG e IgM por grupos etarios en la población general (hospitalizados y externos).

Las pruebas de Kruskal-Wallis para evaluar si existe diferencia significativa entre los grupos de edades para cada uno de los anticuerpos indicaron que, para IgM, existe diferencia entre los tres grupos de edades: 18-29 (n=23), 30-64 (n=121) y mayores de 64 (n=26) con un valor **p=0.008**.

El análisis *post-hoc* reveló que existe diferencia significativa entre el grupo de edad de mayores de 65 años con respecto a los grupos de 18-29 (**p=0.01**) y 30-64 (**p=0.02**) (figura 5).

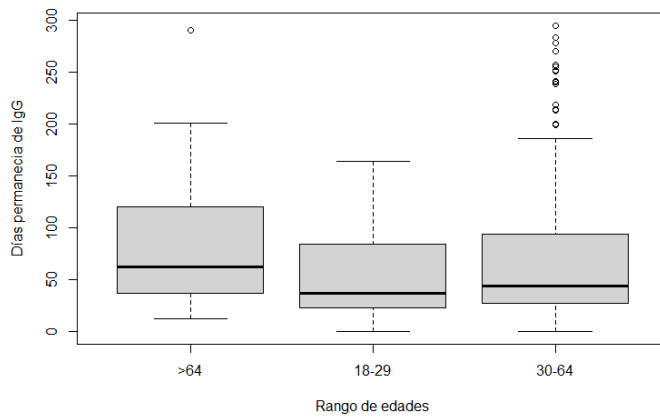
Figura 5. Comparación de persistencia de anticuerpos IgM de la población general (hospitalizados y externos) entre grupos etarios.



Para IgG igualmente existen diferencias entre los tres grupos de edades: 18-29 ($n=76$), 30-64 ($n=279$) y mayores de 64 ($n=50$) con un valor de $p=0.02$.

El análisis *post-hoc* reveló que existe diferencia significativa entre en el grupo de edad de mayores de 64 años y 18-29 ($p=0.02$) (Figura 6).

Figura 6. Comparación de persistencia de anticuerpos IgG de la población general (hospitalizados y externos), entre grupos etarios.



Comparaciones por pares utilizando la prueba de suma de rangos de Wilcoxon

	>64 años	18-29 años
18-29	0.022	
30-64	0.075	0.092

Significancia estadística de persistencia de anticuerpos IgG e IgM por grupos de edades y sexo en la población general (hospitalizados y externos).

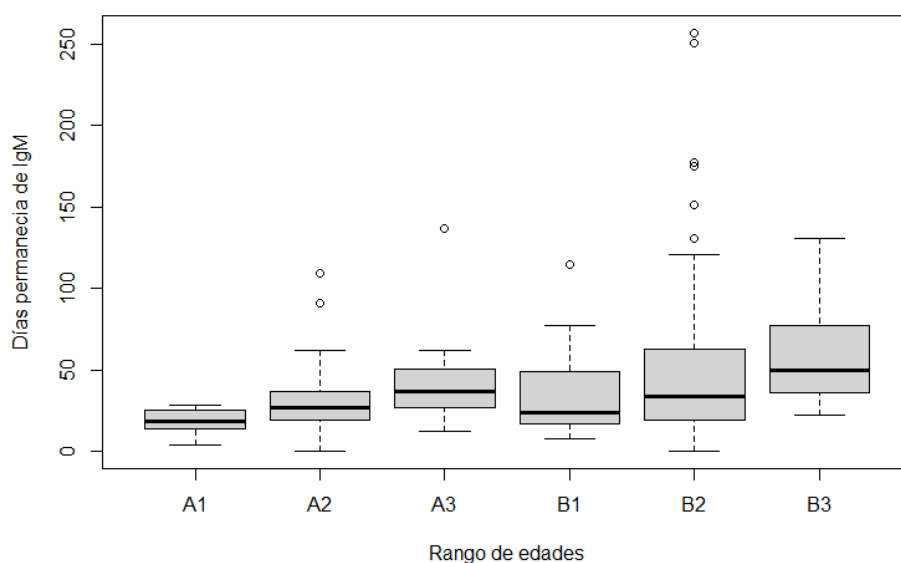
Los resultados de las pruebas de Kruskal-Wallis para evaluar si existe diferencia significativa entre grupos de edades y sexo indicaron que, en caso de IgM, el tiempo de permanencia del anticuerpo fue estadísticamente diferente entre grupos de edades ($p=0.009$).

El análisis *post-hoc* reveló que no existe diferencia significativa entre sexos dentro de cada grupo de edad; tampoco difieren entre masculinos de los diferentes grupos de edad, pero sí difieren los varones de >64 con respecto a las mujeres de 18-29 ($p=0.023$) y 30-64 ($p=0.032$) (Figura 7).

Figura 7. Comparación de persistencia de anticuerpos IgM de la población general (hospitalizados y externos), por grupo de edad y sexo.

	A1	A2	A3	B1	B2
A2	0.158	-	-	-	-
A3	0.079	0.122	-	-	-
B1	0.357	0.887	0.245	-	-
B2	0.122	0.176	0.584	0.319	-
B3	0.023	0.032	0.219	0.079	0.122

A1: 18-29 Femenino
B1: 18-29 Masculino
A2: 30-64 Femenino
B2: 30-64 Masculino
A3: >64 Femenino
B3: >64 Masculino

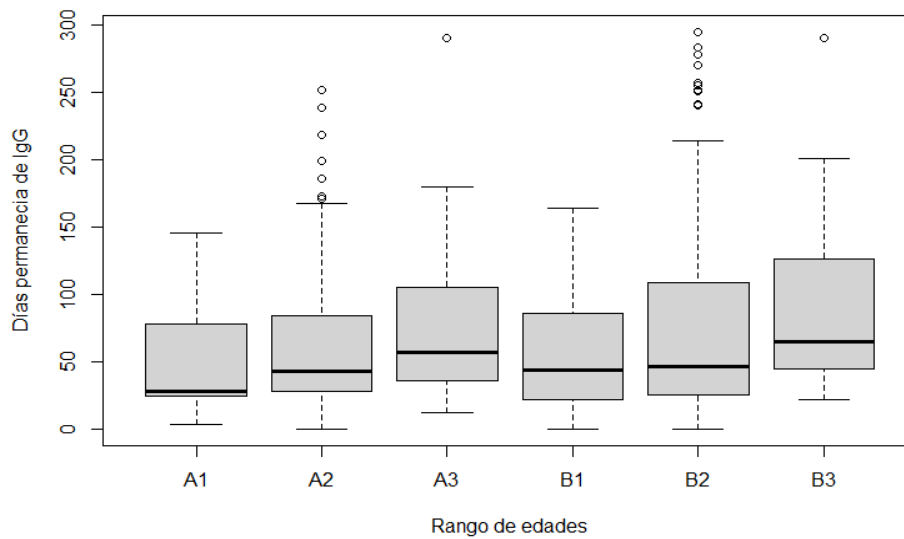


Para IgG igualmente no se obtuvo diferencia significativa entre los grupos de edades y sexo ($p=0.077$) (Figura 8).

Figura 8. Comparación de persistencia de anticuerpos IgG de la población general (hospitalizados y externos), por grupo de edad y sexo.

	A1	A2	A3	B1	B2
A2	0.33	-	-	-	-
A3	0.30	0.33	-	-	-
B1	0.74	0.55	0.30	-	-
B2	0.30	0.46	0.66	0.32	-
B3	0.11	0.11	0.42	0.11	0.30

A1: 18-29 Femenino
B1: 18-29 Masculino
A2: 30-64 Femenino
B2: 30-64 Masculino
A3: >64 Femenino
B3: >64 Masculino



DISCUSIÓN

Al evaluar la persistencia de anticuerpos de tipo IgG, en los pacientes externos e internos, se llegó a la conclusión de que los hombres tuvieron mayor tiempo de persistencia de anticuerpos en todos los grupos de edad.

En el caso de los pacientes externos, el grupo de edad que presentó un mayor porcentaje de pacientes con persistencia de anticuerpos de tipo IgG por más de 90 días, fue el grupo de mayores de 65 años con un 34.6%, seguido del grupo de 30-64 años con un 26%, y el grupo de 18-29 años con un 20.3%.

El grupo de edad en el que se registró el mayor número de días de persistencia de anticuerpos fue el grupo de 30-64 años en un paciente de sexo masculino con 295 días (9.8 meses), seguido por un hombre mayor de 65 años con persistencia de IgG por 290 días (9.6 meses). El grupo de pacientes jóvenes de 18-29 años tuvo un registro máximo de persistencia de anticuerpos de tipo IgG de 164 días (5.4 meses).

En cuanto a IgG en los pacientes hospitalizados, se evaluaron 29 pacientes y el 31%, presentaba persistencia anticuerpos más allá de 90 días, siendo de ellos el 77.7% de sexo masculino y perteneciendo todos ellos al grupo de edad de 30-64 años. En ellos se registró un tiempo máximo de persistencia de IgG de 252 días (8.4 meses), con una concentración de 6.5 UA/ml en un hombre del grupo de edad de 30-64 años, seguido de una persistencia de 146 días con una concentración de 6.4 UA/ml en una mujer del grupo de edad de 18-29 años.

Según un estudio de Gaebler y cols. Se evaluó la persistencia de anti RBD y anti-N por ELISA con disminución significativa de los anticuerpos hacia los 1.3-6.2 meses de la infección. En este mismo estudio se evaluó la actividad neutralizante de los anticuerpos encontrando que la actividad neutralizante está directamente relacionada con los anti RBD, aunque disminuye significativamente luego de 6 meses de la infección inicial.(21)

Si bien la prueba de anticuerpos anti SARS-COV-2 MAGLUMI que se estuvo realizando en el laboratorio de patología clínica, no evalúa anticuerpos anti RBD como en la investigación de Gaebler, si va dirigida contra los antígenos de la nucleocápside (N) y espiga S1 y S2 de SARS COV-2. De acuerdo a los datos obtenidos de esta investigación, se corroboró y se encontró que los anticuerpos anti SARS COV2 de tipo IgG pueden persistir por más de 6 meses, encontrando incluso en nuestros datos una persistencia de ellos de hasta 9.8 meses.

En un estudio realizado por Iyer. y cols. se observó persistencia de anticuerpos IgG anti-RBD más allá de 90 días, altamente correlacionada con los títulos de anticuerpos neutralizantes, que también demostraron un deterioro mínimo persistiendo durante un período de seguimiento de 2.5 meses.(26).

De acuerdo a Kumar y cols. en un estudio, que evaluó la respuesta de anti spike y anti RBD a los 35 y 86 días en promedio del inicio de los síntomas, mostró que, a los 86 días, todo el grupo

mantenía niveles anti-RBD tipo IgG, con disminución IgM e IgA. Logrando 50% de actividad de neutralización en una dilución de 1: 160 en ambos puntos de tiempo.(22)

La proteína N es más pequeña que la proteína S, y es altamente inmunogénica, la ausencia de sitios de glicosilación en ella da como resultado la producción de anticuerpos neutralizantes específicos de N en una etapa temprana de la infección aguda.(22)

Para los anticuerpos de tipo IgM en los pacientes externos de esta investigación se evidenció, una persistencia máxima de IgM de 257 días (8.5 meses) en un hombre del grupo de edad de 30-64 años con una concentración baja de 2.4UA/ml; seguido de 131 días (4.3 meses), en el grupo de las mujeres de >65 años con una elevada concentración de 104.6 UA/ml. Aunque la duración promedio para los hombres en todos los grupos de edad fue de 48.4 días y para mujeres de 32 días.

En el caso de los pacientes hospitalizados, la persistencia de anticuerpos IgM solo se pudo evaluar en el grupo de 30-64 años de edad, ya que el 100% de los pacientes pertenecían a este grupo etario. Observando que el tiempo máximo de persistencia de IgM fue de 131 días en un hombre, en promedio 40 días.

La mayor persistencia en días de los anticuerpos de tipo IgM se encontró en el grupo de los pacientes externos en un paciente masculino con una persistencia de 257 días con concentraciones de 2.4 UA/ml del grupo de 30-64 años. No obstante, en los pacientes hospitalizados también se registró una persistencia larga de IgM prolongada de 131 días con una concentración de 4.2 UA/ml de igual manera en el grupo de edad de 30-64 años.

Según un estudio reportado por Gabriel Maine y cols, los niveles de IgM disminuyen de manera constante 4-5 semanas después de la aparición de los síntomas, y la tasa positiva cae al 30,8% a los > 3 meses (90 días), mientras que para IgG se observó que él 92,3% de pacientes permanece positivos 3-6 meses después del inicio de los síntomas.(27).

En nuestro estudio llama la atención la persistencia de los anticuerpos de tipo IgM, ya que el máximo tiempo de persistencia registrado fue de 257 días y un 11.5% de la población de pacientes externos presentaba persistencia de IgM más allá de 90 días.

Este hallazgo se menciona también en un estudio realizado por Dobaño Carlota y cols. que evaluó la persistencia de anticuerpos de 149-270 días después de los síntomas para anti RBD y S con una seropositividad de 60.6% para IgM, 76.3% para IgA y 90.1% para IgG, encontrando una seropositividad sostenida para IgM e IgA. En este mismo estudio se evaluaron 64 pacientes no vacunados luego de 322-379 días, quienes tenían persistencia de IgG 95%, IgA 83% e IgM 25%.

De acuerdo a un estudio realizado por Yao y Cols se encontraron en 70% de su población estudiada, anticuerpos específicos post infecciosos contra el domino RBD y S, 11 meses después de la infección inicial. (28)

Considerando que los niveles de anticuerpos por vacunación suelen ser más altos que los provocados después de una infección natural, se especula que la memoria inmunitaria por la vacunación de primera generación, también podría ser duradera y mantener la inmunidad protectora, al menos durante el primer año.(29)

En nuestro estudio la persistencia de la respuesta inmune que se observó fue de 257 días para IgM y de 295 días para IgG, lo cual es indicativo de una prolongada síntesis de anticuerpos por infección natural. Que soporta la teoría de que la respuesta inmune por vacunación podría ser prolongada y protectora en nuestra población, incluyendo a la población geriátrica, que también mostró el mayor porcentaje de individuos con persistencia de anticuerpos más allá de 90 días.

La comprensión de la respuesta de memoria al SARS-CoV-2 después de la infección natural, es fundamental para desarrollar vacunas efectivas. Se ha mostrado en varios estudios que la respuesta de anticuerpos persiste 6-8 meses después de la infección, asociados a un riesgo reducido de reinfección. Se han detectado células T en la mayoría de los pacientes, pero la respuesta de ésta disminuye en 3 a 5 meses, mientras que las células B de memoria específicas del virus aumentan o se mantienen sin cambios 5-6 meses después de la infección. La respuesta de las células T y B de memoria más allá de los ocho meses o casi un año después de la infección no está clara. (28)

En un estudio llevado a cabo por Muenza se mostró que pacientes con anticuerpos post infecciosos montan una sólida respuesta de anticuerpos neutralizantes (nAb) que alcanza su punto máximo en los días 23 y 27, capaz de potenciarse con dos dosis de CoronaVac (Sinovac) o una dosis de las vacunas BNT162b2 (BioNTech / Pfizer), lo que sugiere una inducción sustancial de las respuestas de memoria de las células B. Así mismo los individuos vacunados con dos dosis presentan niveles similares de anticuerpos neutralizantes en comparación con los individuos seropositivos de 4.2 a 13.3 meses después de la infección con SARS-CoV-2. (30)

Al evaluar la persistencia de anticuerpos obtenida en los pacientes externos, se observó que el grupo de más de 65 años, tuvo el mayor porcentaje de pacientes con persistencia de anticuerpos mayor a 90 días, tanto para IgG con el 34.6% de la población, así como para IgM con 11.5%, seguido del grupo de edad de 30-64 años, con persistencia de IgM más allá de 90 días en 11% de la población y de IgG en un 26%.

Para IgG en pacientes tanto hospitalizados como externos, se pudo observar que el grupo de mayores de 65 años, tiene una mayor persistencia de anticuerpos que el grupo de los jóvenes. El análisis *post-hoc* reveló que existe diferencia significativa entre existen diferencias entre los tres grupos de edades con un valor de $p=0.02$.

De igual manera para IgM el análisis *post-hoc* reveló que existe diferencia significativa entre los tres grupos de edad con un valor $p=0.008$.

Llama la atención el hecho de que los pacientes mayores de 65 años tengan el mayor porcentaje de población con duración de anticuerpos por más de 90 días, seguido del grupo de 30-64 años.

Aunque, se suele pensar que el sistema inmunológico envejecido tenía una capacidad disminuida del sistema inmunológico para responder ante un antígeno específico.

De acuerdo a lo revisado en la literatura, la edad es un factor de riesgo de enfermedad grave y muerte, siendo la población anciana la más susceptible. Las personas sanas mayores de 60 años, presentan una inflamación crónica, debido a que células senescentes, que ya no se dividen, se acumulan en todos los órganos durante el envejecimiento y contribuyen a un proceso inflamatorio.(31)

En el anciano hay reducción de número de células vírgenes de sangre periférica, con aumento en las células de memoria y envejecimiento inflamatorio que dan el sello distintivo de la inmunosenescencia, que es la reducción progresiva de la capacidad de desencadenar respuestas celulares y de anticuerpos eficaces contra infecciones y vacunas. (32)

La inmunosenescencia e inflamación, así como la mayor susceptibilidad a las comorbilidades, pueden contribuir a un mayor riesgo de COVID-19 grave en personas mayores, sus mediadores inflamatorios conducen a respuestas inmunes intensificadas. (30)

En el estudio llevado a cabo por Mary K Foley y cols, se estudiaron 15 adultos de edad extrema cercanos a los 100 años, que obtuvieron una respuesta exitosa, de anticuerpos anti espiga (subclase IgA, IgG e IgM) capaz de neutralizar funcionalmente el virus SARS-CoV-2 nativo. (33)

En nuestro estudio al comparar la persistencia de anticuerpos IgG e IgM por sexo se encontró que no había diferencia estadísticamente significativa, entre la persistencia de anticuerpos de hombres y mujeres.

En nuestro estudio también al comparar la respuesta inmune entre los pacientes hospitalizados y externos, se pudo notar que tanto para anticuerpos de tipo IgG como IgM el grupo de pacientes externos tuvo registrada la mayor persistencia de anticuerpos, sin embargo, esto no tuvo significancia estadística.

Aunque en la literatura donde se menciona que la mayor concentración de anticuerpos se encuentra en los pacientes con mayor gravedad y hospitalizados, y en este estudio se obtuvieron resultados diferentes, esto se puede explicar a la baja cantidad de individuos hospitalizados en comparación con la cantidad de pacientes externos.

CONCLUSIONES

En este trabajo se puede concluir que existe una diferencia significativa en el tiempo de persistencia de anticuerpos entre los diferentes grupos de edad evaluados; con una $p=0.008$ para IgM y una $p=0.02$ para IgG. Mostrando que el grupo de mayores de 65 años fue el que presentó un mayor porcentaje de individuos con persistencia de anticuerpos por más de 90 días, esto es comparable a hallazgos que han tenido otros autores, explicado por la teoría de que los adultos mayores debido a la inmunosenescencia y proceso inflamatorio asociado al envejecimiento celular, generan una respuesta inmune intensa que les permite generar anticuerpos específicos durante un largo tiempo.

Al evaluar a los pacientes con dos determinaciones en el tiempo se concluyó que el grupo de edad, en el que se identificaron concentraciones más elevadas tanto para IgM como IgG fue en el grupo de 30-64 años, encontrando una máxima concentración de IgM de 575 UA/ml e IgG de 43.3 UA/ml. Mientras que el grupo con menor concentración de anticuerpos en UA/ml fue el grupo de los mayores de 65 años. Para ambos anticuerpos, sus concentraciones disminuyen con el tiempo en los tres grupos de edad. Lo cual concuerda con los hallazgos que han tenido otros autores.

Al hacer la comparación de la persistencia de anticuerpos por sexo, se pudo ver que en los 2 primeros grupos de edad (18-29 años y 30-64 años) los hombres tuvieron mayor persistencia tanto de anticuerpos IgG e IgM que las mujeres, mientras que, en el grupo de edad de mayores de 65 años, las mujeres tuvieron mayor tiempo de persistencia de anticuerpos IgM que los hombres; y este hallazgo no tuvo significancia estadística.

En cuanto a la comparación de persistencia de anticuerpos entre pacientes hospitalizados y externos, si bien los pacientes externos mostraron una mayor persistencia en días de anticuerpos tanto IgG como IgM. Este hallazgo no tuvo significancia estadística.

Una limitante en éste estudio es que las pruebas que se realizaron en el laboratorio de patología clínica en el sistema MAGLUMI para la determinación de anticuerpos específicos, no evaluaban su capacidad neutralizante de estos. Sin embargo, de acuerdo a los reportes de la literatura hechos por diversos autores, se ha demostrado que los anticuerpos post infección, poseen actividad neutralizante, que es capaz de ser potenciada por la vacunación.

Entre los hallazgos más relevantes de esta investigación se encuentra la gran persistencia de anticuerpos de tipo IgG e IgM que se reportó máximo de 257 días para IgM y de 295 días para IgG, lo cual es indicativo de una respuesta inmune post infecciosa prometedora en cuanto a su duración y sugestiva de una respuesta inmune post vacunal suficiente por al menos un año, de acuerdo a lo reportado por otros autores, ya que aún se encuentra en proceso de investigación la posible duración de anticuerpos neutralizantes inducidos por la vacunación, así como de aquellos generados tras exposición natural al virus.

CONSIDERACIONES ÉTICAS Y PROTECCIÓN DE DATOS

Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

No se requiere uso de consentimiento informado puesto que los datos tomados para la investigación son retrospectivos y anónimos.

La manera mediante la cual se protegerán los datos personales de los pacientes será mediante el número de acceso generado en el sistema de información de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506.
2. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2021;19(3):141–54.
3. Halaji M, Farahani A, Ranjbar R, Heiat M, Dehkordi FS. Emerging coronaviruses: First SARS, second MERS and third SARS-COV-2. epidemiological updates of COVID-19. *Infez Med*. 2020;28:6–17.
4. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(November):1–17.
5. Kirtipal N, Bharadwaj S, Gu S. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. 2020;(January).
6. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol*.
7. Trougakos IP, Stamatelopoulos K, Terpos E, Tsitsilonis OE, Aivalioti E, Paraskevis D, et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J Biomed Sci*.
8. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–20.
9. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Campbell DJ, Rawlings DJ, Pepper M, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Article* Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19.
10. Covid- D. Informe Técnico Diario COVID-19 MÉXICO. 2021;
11. Asselah T, Durantel D, Pasmant E, Lau G, Schinazi RF. COVID-19: Discovery, diagnostics and drug development. *J Hepatol*. 2021;74:168–84.
12. Chau CH, Strobe JD, Figg WD. COVID-19 Clinical Diagnostics and Testing Technology. *Pharmacotherapy*. 2020;40(8):857–68.
13. Lu H, Stratton CW, Tang YW. An evolving approach to the laboratory assessment of COVID-19. *J Med Virol* [Internet]. 2020;92(10):1812–7.
14. Ma H, Zeng W, He H, Zhao D, Jiang D, Zhou P, et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2020;17(7):773–5.
15. Jayamohan H, Lambert CJ, Sant HJ, Jafek A, Patel D, Feng H, et al. SARS-CoV-2

- pandemic: a review of molecular diagnostic tools including sample collection and commercial response with associated advantages and limitations. *Anal Bioanal Chem.* 2021;413(1):49–71.
16. Ishay Y, Kessler A, Schwartz A, Ilan Y. Antibody Response to Severe Acute Respiratory Syndrome- Corona Virus 2, Diagnostic and Therapeutic Implications. *Hepatol Commun.* 2020;4(12):1731–43.
 17. Snibe MAGLUMI 2019-nCov IgM (CLIA). In: Instructivo de uso del fabricante. REF: 1302 19016M;
 18. Snibe MAGLUMI 2019-nCoV IgG (CLIA). In: Instructivo de uso del fabricante.
 19. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, Negrini D, Zuin S, Cosma C, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: A longitudinal study. *Clin Chim Acta.* 2020;507(January):164–6.
 20. Els Duysburgh, Laure Mortgat, Cyril Barbezange, Katelijne Dierick, Natalie Fischer, Leo Heyndrickx, Veronik Hutse, Isabelle Thomas, Steven Van Gucht, Bea Vuylsteke, Kevin K Ariën ID. How Should a Safe and Effective COVID-19 Vaccine be Allocated? Health Economists Need to be Ready to Take the Baton. *PharmacoEconomics - Open.* 2020;4(4):557–61.
 21. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, Finkin S, Tokuyama M, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature [Internet].* 2021;591(7851):639–44.
 22. Ansari SF, Memon M, Kumar R, Memon S, Memon MK. Do COVID-19 Antibodies Provide Long-Term Protection? *Cureus.* 2021;2019(1):2019–21.
 23. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(6):845–8.
 24. Orner EP, Rodgers MA, Hock K, San M, Taylor R, Gardiner M, et al. Comparison of SARS-CoV-2 IgM and IgG seroconversion profiles among hospitalized patients in two US cities. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;99(4):1–7.
 25. Fejt V, Krátká Z, Zelená H FT. Age is not a disease: Evolution of protective antibodies against SARS-CoV-2 in seniors from the Břevnice nursing home. *Cas Lek Cesk.* 2020;159(7–8):303–11.
 26. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 2020;5(52):1–12.
 27. Maine GN, Maris K, Mallika S. Longitudinal characterization of the IgM and IgG humoral response in symptomatic COVID-19 patients using the Abbott Architect. *J Clin Virol.* 2020;(October).

28. Lin Yao¹, et al. Persistence of Antibody and Cellular Immune Responses in COVID-19 patients over Nine Months after Infection. *Oxford Univ Press Public Heal Emerg Collect.* 2021;1–35.
29. Dobaño C, Ramírez-Morros A, Alonso S, Vidal-Alaball J, Ruiz-Olalla G, Vidal M, et al. Persistence and baseline determinants of seropositivity and reinfection rates in health care workers up to 12.5 months after COVID-19. *BMC Med.* 2021;19(1):1–6.
30. Muenz NA, et al. Long-lasting neutralizing antibody responses in SARS-CoV-2 seropositive individuals are 2 robustly boosted by immunization with the CoronaVac and BNT162b2 vaccines. *medRxiv.* 2021;1–25.
31. Akbar AN, Gilroy DW. Aging immunity may exacerbate COVID-19. *Science* (80-). 2020;369(6501):256–7.
32. Aiello A, et al. Immunosenescence and its hallmarks: How to oppose aging strategically? A review of potential options for therapeutic intervention. *Front Immunol.* 2019;10(SEP):1–19.
33. Foley MK, et al. Centenarians and extremely old people living with frailty can elicit durable SARS-CoV-2 spike specific IgG antibodies with virus neutralization functions following virus infection as determined by serological study. *EClinicalMedicine*