



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA MOLECULAR

**"Caracterización de niveles séricos IgM, IgG e IgA vs SARS-  
CoV-2 en población del "HRAEI"**

TESIS

Que presenta

ALVAREZ MARTÍNEZ NELLY XIADANI

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE  
BIOMEDICINA MOLECULAR

Director de la Tesis:

Dr. Leopoldo Santos Argumedo

Ciudad de México

Noviembre, 2022

## Agradecimientos

Agradezco al Fondo conjunto de cooperación México-Uruguay por el financiamiento del macroproyecto "Generación y aplicación de herramientas serológicas, moleculares y rastreo de contactos y movilidad para el estudio, mitigación y contención de la epidemia de COVID-19 en 6 hospitales de 3 entidades de México", del cual se desprendió mi trabajo de investigación. Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por haberme otorgado beca de estudiante de tiempo completo (779909), así como al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional, por haberme admitido en el programa de Biomedicina molecular.

Agradezco a toda mi familia académica, sobretodo a mis hermanos de generación, Ana, Sandra, Ángel y Leo, quienes estuvieron en todo momento hombro con hombro. Gracias a mis amigos por solazar mi andar científico, sobre todo a Laura, Miguel, Sara, Bety, Diana, Mizael, Carlos y Lenin, quienes hicieron el mundo de la investigación más amigable, me ayudaron a mirar el proyecto desde diferentes perspectivas y siempre tenían un consejo para mí. Un especial agradecimiento al Dr. Héctor Romero y al Dr. Erick Sánchez por su contribución experimental en este proyecto.

Agradezco a mis asesores, las Dras. Leticia Cedillo y Carmen Sánchez y al Dr. Vianney Ortíz, por siempre brindarme de su tiempo y paciencia, por sus invaluable consejos y por contagiarme de su pasión por la investigación.

Por último, pero no menos importante, agradezco al Dr. Oscar Medina, por ser el primer investigador en abrirme las puertas de su laboratorio, y participar en mi formación académica. Particularmente agradezco al Dr. Leopoldo Sánchez, por contribuir en delinear y esculpir mi camino en la investigación y por su dedicación en el asesoramiento de este proyecto.

## Dedicatorias

Sin duda alguna, no hubiese disfrutado de este viaje de no haber sido por mi familia, a quienes dedico esta tesis. Principalmente a mis padres por su apoyo incondicional y a mi esposo Misraim, por acompañarme en mis desvelos e incentivarme a cumplir todas mis metas para alcanzar mis sueños.

## Índice

<a href="#">Resumen</a>	1
<a href="#">Abstract</a>	2
1. <a href="#">Introducción</a>	3
2. <a href="#">SARS-CoV-2</a>	7
2.1. <a href="#">Epidemiología</a>	7
2.2. <a href="#">Características del virus</a>	9
2.3. <a href="#">Ciclo de Replicación</a>	11
2.4. <a href="#">Enfermedad COVID-19</a>	13
2.5. <a href="#">Variantes</a>	14
3. <a href="#">Respuesta inmunológica vs SARS-CoV-2</a>	16
3.1. <a href="#">Respuesta innata</a>	16
3.2. <a href="#">Respuesta adaptativa</a>	17
4. <a href="#">Vacunas</a>	20
5. <a href="#">Justificación</a>	24
6. <a href="#">Hipótesis</a>	25
7. <a href="#">Objetivos</a>	25
7.1. <a href="#">Objetivo general</a>	25
7.2. <a href="#">Objetivo específico</a>	25
8. <a href="#">Estrategia experimental</a>	26
8.1. <a href="#">Producción de Proteínas</a>	27
8.2. <a href="#">ELISAS</a>	27
9. <a href="#">Resultados</a>	29
9.1. <a href="#">Curvas ROC</a>	29
9.2. <a href="#">Detección de anticuerpos IgM, IgG e IgA vs SARS-CoV-2 en pacientes del HRAEI</a>	37
9.2.1. <a href="#">Seroprevalencia vs SARS-CoV-2 entre mujeres y hombres de la población del HRAEI</a>	37
9.2.2. <a href="#">Seroconversión vs SARS-CoV-2 por grupo etario en población del HRAEI</a>	39
9.2.3. <a href="#">Seroconversión vs SARS-CoV-2 en la distinta población del HRAEI</a>	40
9.2.4. <a href="#">Seroconversión vs SARS-CoV-2 entre inmunidad humoral adquirida por vacunación e inmunidad híbrida en la comunidad del HRAEI</a>	43
10. <a href="#">Discusión</a>	46
11. <a href="#">Conclusión</a>	50
12. <a href="#">Perspectivas</a>	50
13. <a href="#">Bibliografía</a>	51
14. <a href="#">Anexos</a>	
14.1. <a href="#">Consentimiento informado</a>	57
14.2. <a href="#">Cuestionario</a>	58
14.3. <a href="#">Cálculo del tamaño de muestra</a>	59



## **Caracterización de niveles séricos IgM, IgG e IgA vs SARS-CoV-2 en población del "HRAEI"**

Nuestra generación se vió probada por el hallazgo de SARS-CoV-2, causante de la enfermedad COVID-19. Los reflectores por este virus, fueron gracias a su alta trasmisión y morbimortalidad. Conforme evolucionó la pandemia muchas preguntas surgieron, entre ellas, cuál era el estado serológico vs SARS-CoV-2 en nuestro país. El presente trabajo se realizó en el HRAEI, este hospital de 3er nivel (reconvertido en hospital COVID-19) tiene una población heterogénea. En el se realizó un cribado en búsqueda de COVID-19 mediante prueba de antígeno rápido, al mismo tiempo, se tomó muestra de sangre con el fin de obtener una panorámica de la respuesta inmune humoral. Se realizó un estudio de cohorte transversal cuasi experimental, eligiendo como población de estudio a 40 pacientes ambulatorios, 55 familiares acompañantes de éstos, 168 trabajadores de la salud y 154 administrativos del HRAEI. Se realizó ELISA indirecta para determinar anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA contra la proteína N y los dominios S1 y RBD de la proteína S del virus SARS-CoV-2. Se obtuvieron 417 sueros entre el 29 de noviembre de 2021 y el 21 de febrero de 2022, en este tiempo ya se contaba con esquema de vacunación completo vs SARS-CoV-2 en los mayores de edad. Se encontró un aumento en los isotipos IgG e IgA vs proteína S, en toda la población de estudio. En el caso del isotipo IgM vs S1, la población que mostró mayor nivel de anticurepos fueron los trabajadores del HRAEI independiente de su área de trabajo ( $p < 0.0001$ ). Los datos demuestran que no hay diferencias significativas en la seroprevalencia por área de trabajo, lo que sugiere que la transmisión comunitaria puede desempeñar un papel superior a la exposición por la actividad laboral. Por otro lado, la detección de aticuerpos vs SARS-CoV-2 en las muestras de la población del HRAEI, así como un mayor nivel de anticuerpos IgM, se relaciona directamente con la exposición al virus como convivientes. Estos resultados permiten especular que la inmunidad poblacional (llamada también de rebaño) puede alcanzarse gracias a la exposición ambiental a SARS-CoV-2 y mediante campañas de vacunación.

## Characterization of IgM, IgG and IgA serum levels vs SARS-CoV-2 in the "HRAEI" population

Our generation was challenged by the discovery of SARS-CoV-2, which causes the disease COVID-19. The reflectors for this virus were due to its high transmission, morbidity and mortality. As the pandemic progressed, many questions emerge, including what the serological status vs. SARS-CoV-2 in our country was. The present work was carried out at the HRAEI, this tertiary level hospital (converted into a COVID-19 hospital) has a heterogeneous population. A screening for COVID-19 disease was performed using a rapid antigen test, at the same time, a blood sample was taken in order to obtain an overview of the humoral immune response. A quasi-experimental cross-sectional cohort study was carried out. We selected 40 outpatients, 55 family members who attend with them, 168 healthcare workers and 154 HRAEI administrative staff as the study population. Indirect ELISA was assed to determine antibodies of the IgM, IgG and IgA classes against the N protein, and the S1 and RBD domains of the S protein of the SARS-CoV-2 virus. Thus, 417 sera were obtained between November 29, 2021 and February 21, 2022, at which time there was already a complete vaccination schedule against SARS-CoV-2 in elderly. An increase in IgG and IgA isotypes was found in the entire study population. In the case of the IgM vs S1 isotype, the administrative staff and healthcare workers of the HRAEI were the population that exhibits the highest level of antibodies regardless their workplace. The data shows that there are not significant differences in seroprevalence by work area, suggesting that community transmission may play a major role than exposure by work activity besides vaccination background. On the other hand, the detection of antibodies against SARS-CoV-2 in the samples of HRAEI population is related directly to virus exposure due to co-working. These results allow us to speculate that population immunity, also called herd immunity, can be achieved thanks to environmental exposure to SARS-CoV-2 and through vaccination campaigns.

## 1. Introducción

En diciembre de 2019, inició la mayor pandemia de nuestro siglo ocasionada por el Coronavirus tipo 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2) causante de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Este coronavirus se identificó por primera vez en humanos en la ciudad de Wuhan, China a través de un brote de neumonía atípica. Los reflectores por este virus se dieron a nivel mundial debido a su alto nivel de transmisión. En México, se reportó el primer caso importado el 27 de febrero de 2020.<sup>1,2,3</sup> De acuerdo a la OMS, los síntomas más comunes de COVID-19 son fiebre, fatiga, tos seca y dificultad para respirar, algunos pacientes pueden tener dolor de cabeza, secreción nasal, faringodinia (dolor de garganta), congestión nasal, malestar general, dolor muscular y/o articular, vómito y diarrea, también se ha reportado pérdida del sentido del olfato (anosmia) y del gusto (ageusia). Al inicio de la pandemia, se asumió que las principales rutas de transmisión de SARS-CoV-2 eran a través de gotículas y fómites sobre la base del número de reproducción básico ( $R_0$ ) relativamente bajo en comparación con el del sarampión. Posteriormente se documentó el predominio de la transmisión aérea a través de aerosoles ( $\leq 5\mu\text{m}$ ) producidos por personas infectadas al realizar alguna actividad respiratoria como lo es exhalar, hablar, cantar, gritar, toser o estornudar; estos aerosoles permanecen suspendidos en el aire, para luego ser inhalados por otro individuo continuando la cadena de contagio.<sup>4,5,6</sup> Las manifestaciones clínicas pueden ser leves, moderadas o severas, o en su defecto, no mostrar ningún síntoma (asintomáticas).<sup>7,8</sup> La sintomatología puede iniciar a partir de los días 2-14 días, después de la infección, este período de ventana de la replicación viral tan largo, conduce a resultados falsos negativos en las pruebas diagnósticas y en dificultad para prevenir la propagación del virus. El diagnóstico de COVID-19, tiene como estándar de oro, una técnica molecular basada en la detección y amplificación del material genético viral llamada Reacción en Cadena de la polimerasa con Transcriptasa Reversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés), esta prueba ayuda a diagnosticar

una infección activa por COVID-19 y su sensibilidad depende de la presencia de una cantidad suficiente de genoma viral en la muestra del paciente, la cual, se toma de la nasofaringe y orofaringe. Pero también hay que considerar el tiempo pos infección. Otro tipo de pruebas que se han realizado durante la pandemia son los ensayos serológicos basados en anticuerpos específicos contra las proteínas virales. Estas pruebas identifican a las personas que han estado expuestas al virus, por lo que desarrollan una respuesta inmune adaptativa contra el virus, como parte de una infección activa o previa.<sup>1</sup>

SARS-CoV-2 es un beta coronavirus envuelto. El genoma es un RNA de cadena sencilla de sentido positivo, el cual codifica proteínas estructurales y no estructurales. De las estructurales, está la proteína espiga o de pico (S) y la proteína de la nucleocápside (N). La proteína N se encuentra dentro de la partícula viral asociada al RNA, mientras que la proteína S se encuentra en la superficie viral y es la responsable de unirse al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), su receptor de entrada a la célula huésped. La proteína S está formada por dos subunidades funcionales: la subunidad 1 (S1) responsable de la unión al receptor y la subunidad 2 (S2) quien media la fusión viral con la membrana celular. La serina proteasa transmembrana tipo 2 (TMPRSS2), presente en la membrana celular del huésped, facilita la entrada de SARS-CoV-2 al escindir a la proteína S provocando cambios conformacionales que permiten la fusión con la membrana de la célula y depositar al interior el genoma viral. El genoma de SARS-CoV-2 cuenta con al menos 14 marcos de lectura abiertos (ORF). En el primer ORF (de 5´-3´), la mayor parte del RNA viral codifica para poliproteínas PP1A y PP1AB que posteriormente son escindidas por proteasas tipo 3-quimi tripsina y tipo papaína en 16 proteínas no estructurales. Estas proteínas forman el complejo replicación-transcripción que sintetiza el molde de RNA de sentido negativo completo usado para producir RNA de sentido positivo, a partir del cual se traducen las proteínas estructurales y accesorias virales. Las cuatro proteínas estructurales son: la proteína S que media la entrada viral y

es altamente inmunogénica, la proteína de la envoltura (E) que forma un canal iónico esencial para la maduración y propagación; la proteína de membrana (M) es responsable del ensamblaje estructural terciario de la membrana externa y se une a la proteína N; la proteína N, se une al RNA viral. Estas proteínas se ensamblan en viriones completos. Que posteriormente son encapsulados y exocitados. Varias proteínas accesorias codificadas por otros ORFs de SARS-CoV-2 contribuyen a la patogénesis viral, regulan la transcripción, son antagonistas de la respuesta antiviral y de sesgar la respuesta inmune del huésped a su favor. Cuando los nuevos viriones son exocitados al espacio extracelular, además de infectar células vecinas, se depositan en la luz del sistema respiratorio para poder salir en forma de aerosoles o gotículas perpetuando el contagio.<sup>7,9</sup>

La inmunidad innata es la primera en detectar los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) de SARS-CoV-2 a través de los receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs). Este reconocimiento activa vías de señalización que permiten activación de factores de transcripción incluyendo el factor nuclear  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), proteína activadora 1 (AP-1) y factores reguladores de IFN (IRFs). Estas moléculas permiten la producción de proteínas pro-inflamatorias como IL-6, TNF, IL-8 y otros mediadores inflamatorios. IRF permiten la expresión de numerosos genes, sobre todo los de IFNs tipo I y tipo III, quienes tienen potente actividad antiviral y capacidad de regular células efectoras inmunes.<sup>10</sup> La respuesta innata tiene tres propósitos principales: restricción de la replicación viral de las células infectadas, creación de un estado antiviral tisular local, incluido el reclutamiento de células efectoras del sistema inmune innato y servir de puente para la activación de la respuesta inmune adaptativa. Una de las células que permite este puente, es la célula dendrítica; ésta capta y procesa los antígenos para llevarlos a los nódulos linfoides donde activan a las células T. Las células T CD4<sup>+</sup> cooperadoras activadas expresan el receptor de quimiocina CXCR5 para migrar al folículo primario e interactuar con los

linfocitos B que ya se han activado por el mismo antígeno. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> cooperadores foliculares (T<sub>FH</sub> por sus siglas en inglés), son una subpoblación de linfocitos que podría decirse son las células orquestadoras de las reacciones del centro germinal. Este es un sitio en donde se inicia el proceso de proliferación de los linfocitos B y de su interacción con células dendríticas foliculares. Los linfocitos B se someten a extensas rondas de hipermutación somática y selección que culminan en la maduración de la afinidad de sus receptores de antígeno. La célula B activada puede seguir 2 caminos de diferenciación y ser una célula plasmática secretora de anticuerpos o una célula B de memoria. La respuesta de linfocitos B en pacientes con COVID-19 ocurren concomitantemente con la respuesta de los linfocitos T cooperadores foliculares alrededor de la segunda semana postinfección. La producción de anticuerpos neutralizantes dirigidos vs la proteína S de SARS-CoV-2, bloquean la entrada del virus a la célula. Los linfocitos B también se activan y producen anticuerpos de forma temprana en la zona extrafolicular, proceso en el cual no se requiere de la ayuda de los linfocitos T. Esta respuesta se caracteriza por montarse rápidamente con poca dificultad. El linfocito B maduro al interactuar con antígeno y activarse, toma el camino de célula plasmática de vida corta, produciendo la primera ola de anticuerpos específicos que es importante para la protección y defensa tempranas contra patógenos. Esto permite que se detecte seroconversión en los pacientes con COVID-19 desde el día 4-8 después del inicio de síntomas, siendo los anticuerpos vs proteína N los primeros en aparecer, seguidos de los dirigidos vs proteína S.<sup>11,12,13</sup> La respuesta humoral es un elemento clave en la inmunidad contra el SARS-CoV-2, este conocimiento, aunado al entendimiento en la patogenia del virus, permitió el desarrollo de vacunas eficaces contra el mismo. En México, la campaña de vacunación inició el 24 de diciembre de 2020, siendo la proteína S de la primera cepa de SARS-CoV-2 aislada en Wuhan, China, la base de las vacunas actualmente autorizadas en nuestro país. La excepción es la vacuna Sinovac, que utiliza el método clásico de virus completo inactivado.<sup>14</sup>

## 2. SARS-CoV-2

### 2.1 Epidemiología

En diciembre de 2019, se produjo un brote de enfermedad respiratoria aguda atípica en la ciudad de Wuhan provincia de Hubei, República Popular de China. Estos pacientes presentaban un cuadro clínico de fiebre, tos seca, dificultad para respirar (disnea), dolor de cabeza y neumonía, el cual resultaba en insuficiencia respiratoria progresiva secundaria a daño alveolar llegando incluso a la muerte. Los médicos que atendieron estos casos determinaron que estas manifestaciones de neumonía no correspondían a un cuadro típico de acuerdo con los síntomas clínicos y otros criterios como fiebre, leucopenia, trombocitopenia, infiltrados pulmonares progresivos que no mejoraban tras tratamiento con antibióticos durante 72 horas. El seguimiento epidemiológico de los primeros 27 pacientes hospitalizados con manifestaciones clínicas compatibles estaban ligados al mercado de alimentos de Wuhan en donde no solo se venden mariscos, sino también animales vivos incluidas aves de corral y animales de vida silvestre por lo que se determinó como el probable foco rojo de los contagios. Zhou y colaboradores, obtuvieron una muestra de líquido de lavado broncoalveolar de un paciente con cuadro severo de neumonía, del cual utilizando secuenciación "next-generation" se identificó la secuencia del agente etiológico (GenBank número de acceso MN908947).<sup>15,16</sup> Años atrás, a finales de 2002 e inicios de 2003 en China se había presentado un brote de una enfermedad respiratoria en humanos con manifestaciones clínicas similares en un mismo ambiente invernal, el agente causal identificado en ese entonces fue el Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus (por sus siglas en inglés, SARS-CoV), al comparar la secuencia de éste con el nuevo microorganismo presentó una homología de alrededor del 80%, por lo que a este nuevo virus se le dio el nombre de Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (por sus siglas en inglés, SARS-CoV-2), y a la enfermedad que causa se le denominó enfermedad por

coronavirus 19 (por sus siglas en inglés, COVID-19). Esta neumonía atípica, tuvo reflectores a nivel mundial debido a la alta eficiencia de transmisión de SARS-CoV-2. La abundancia de viajes internacionales, permitió la rápida propagación mundial del COVID-19. Para el 26 de enero de 2020, se encontraban 2,761 personas infectadas en China de las cuales perecieron 80, sumándose 33 personas infectadas en 10 diferentes países. El 11 de marzo de 2020, la OMS caracterizó oficialmente a COVID-19 como una pandemia. Según el tablero de COVID-19 del Centro de Ciencia e Ingeniería de Sistemas de la Universidad Johns Hopkins, al 11 de agosto de 2020, 216 países y regiones de los seis continentes habían informado más de 20 millones de casos de COVID-19, y más de 733,000 pacientes habían fallecido.<sup>17</sup> En México, el primer caso se reportó el 27 febrero de 2021, declarándose alerta roja epidemiológica el 1 de abril del mismo año, al día 9 de mayo de 2021 se reportan 2.36 millones de infectados y 219 mil muertes por COVID-19; los países con mayor número de casos son Estados Unidos, India y Brasil, a nivel mundial el número total de casos es de 150 millones de los cuales 3.29 millones han fallecido.<sup>18,19</sup>

La habilidad de contener un patógeno emergente, depende en parte de su número reproductivo básico  $R_0$ , definido como el número promedio de casos secundarios que surgen de un caso primario en una población completamente susceptible. La estimación de  $R_0$  para una enfermedad emergente no es sencilla, hacerlo de manera sólida requiere calcular qué tan rápido se propaga el virus a través de una población y tener una medida del tiempo entre una infección y la siguiente, lo que se conoce como el intervalo de generación. Para SARS-CoV-2 fue difícil la determinación del  $R_0$  ya que del 18 al 31% de individuos enfermos cursaban asintomáticos, conservando una gran transmisibilidad del virus. La determinación del  $R_0$  para SARS-CoV-2 se basó en la información que se tenía de los coronavirus previos (SARS-CoV y MERS), los análisis epidemilógicos estimaron un  $R_0$  dentro 2 y 4. Esto se ha visto reflejado en la alta transmisibilidad del virus.<sup>20</sup>

## 2.2 Características del virus

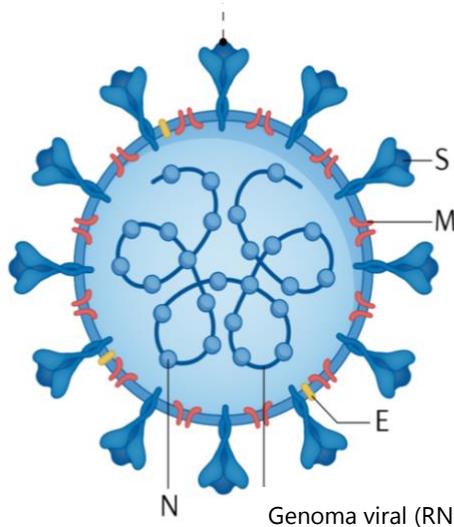
Los coronavirus pertenecen al género *Betacoronavirus* de la familia *Coronaviridae* del orden de *Nidovirales*. La proteína estructural spike está ubicada en la superficie externa del virión, simulando la corona del sol producida tras un eclipse solar, por ello el nombre. En las últimas dos décadas otros coronavirus habían provocado brotes, el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV) surgió a finales de 2002 en China, en comparación a SARS-CoV-2 mostró una letalidad alta y transmisibilidad baja, por lo que pudo controlarse adecuadamente el brote. Una década después surgió el Síndrome Respiratorio de Medio Oriente mostrando una letalidad aún mayor que los otros dos SARS-CoV, con una transmisibilidad baja y aunque no se ha erradicado por completo, se han mantenido controlados los brotes. Los tres tienen en común el origen zoonótico, de SARS-CoV-2 se sabe de la similitud del 96% en genoma completo con RaTG13, un coronavirus que infecta a los murciélagos. Pese a esto, aún no se sabe cual fue el intermediario por el cuál saltó al humano. Estudios indican que el pangolín pudo haber sido el intermediario entre el murciélago y el humano. Los coronavirus tienen un tamaño de entre 65-125nm de diámetro, compuestos por RNA de cadena sencilla positiva, el tamaño del material genético va de los 26 a 32 mil pares de base. Están sub agrupados en cuatro familias; alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ) y delta ( $\delta$ ). Siendo SARS-CoV-2 un nuevo betacoronavirus, comparte una identidad de secuencia del genoma del 79% con SARS-CoV1 y del 50% con MERS-CoV.<sup>21,22</sup>

La descripción general de la estructura viral de SARS-CoV-2 y su genoma es fundamental para abordar la patogenia. Como se describió anteriormente, SARS-CoV-2 es un RNA virus envuelto de cadena sencilla de sentido positivo protegido con una nucleocápside. La estructura genómica está organizada en 30kb de longitud, y una estructura 5'-cap y 3'-poly-A que forma la cola; este es el más grande entre los virus de RNA. Está compuesto por

cuatro proteínas estructurales, la proteína espiga o spike (S), proteína de envoltura (E), proteína de membrana (M) y nucleocápside (N), junto con 16 proteínas no estructurales y 5-8 proteínas accesorias. **La proteína N** se encuentra adosada al material genético formando la nucleocápside, (N es una proteína altamente conservada entre los diferentes coronavirus y se le conoce, además, con actividad antagónica de IFN $\gamma$ ). La **proteína M** esta involucrada en el empaquetamiento del RNA y da estructura a la membrana del virus. La **proteína E** es hidrofóbica y es importante en la fisiopatogenia, en pequeñas cantidades forma canales iónicos (viroporinas).

**La glicoproteína S** se ensambla en homotrímeros, S monomérica es una glicoproteína transmembrana tipo I, con 66 N-glicanos por trímero de proteína S y pertenece a las llamadas proteínas de fusión viral de clase I ejemplificadas por la proteína hemaglutinina del virus de la influenza; cada monómero está formado por la subunidad S1 amino (N)-terminal, que facilita la incorporación del virus a la célula huésped y una subunidad carboxilo (C)-terminal S2 que contiene un péptido de fusión, un dominio citoplásmico y es responsable de la fusión de la membrana de la envoltura del virus. La subunidad S1 se divide además en un dominio de unión al receptor (RBD) y un dominio N-terminal (NTD). RBD es un dominio peptídico fundamental en la patogénesis de la infección, ya que representa un sitio de unión para la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) que es el receptor del virus y sirve como blanco principal de los anticuerpos neutralizantes producido por la infección natural o la vacunación. La proteína S, adopta una conformación "cerrada" en la cual mantiene el dominio RBD escondido, cambios conformacionales, le permiten a un dominio RBD de los tres, adoptar una conformación "abierta" para poder hacer contacto con su receptor. La proteína S tiene dos sitios principales de escisión; el sitio S1/S2 que divide la subunidad S1 de la subunidad S2 y el sitio S2' dentro de la subunidad S2. El sitio de escisión S2' es fundamental para provocar un cambio conformacional que permite la fusión con la membrana. Estudios muestran que la escisión S1/S2

mediante furinas previo a exocitosis de los nuevos viriones, le permiten mantener una conformación "abierta" para hacer contacto eficientemente con el receptor ACE2 de las células vecinas. Esto explica el movimiento parecido a una bisagra en el que el RBD de la proteína S cambia de su posición cerrada en el trímero a una expuesta o abierta para acceder y unirse de manera eficiente a su receptor ACE2.<sup>23,24,25,26</sup>



**Figura 1. Estructura de SARS-CoV-2.** Se observa a las 4 proteínas estructurales, Proteína S, M y E ubicadas en la envoltura externa, mientras que la proteína N se encuentra al interior adosada al genoma viral. Modificado de Jackson et al; 2022.

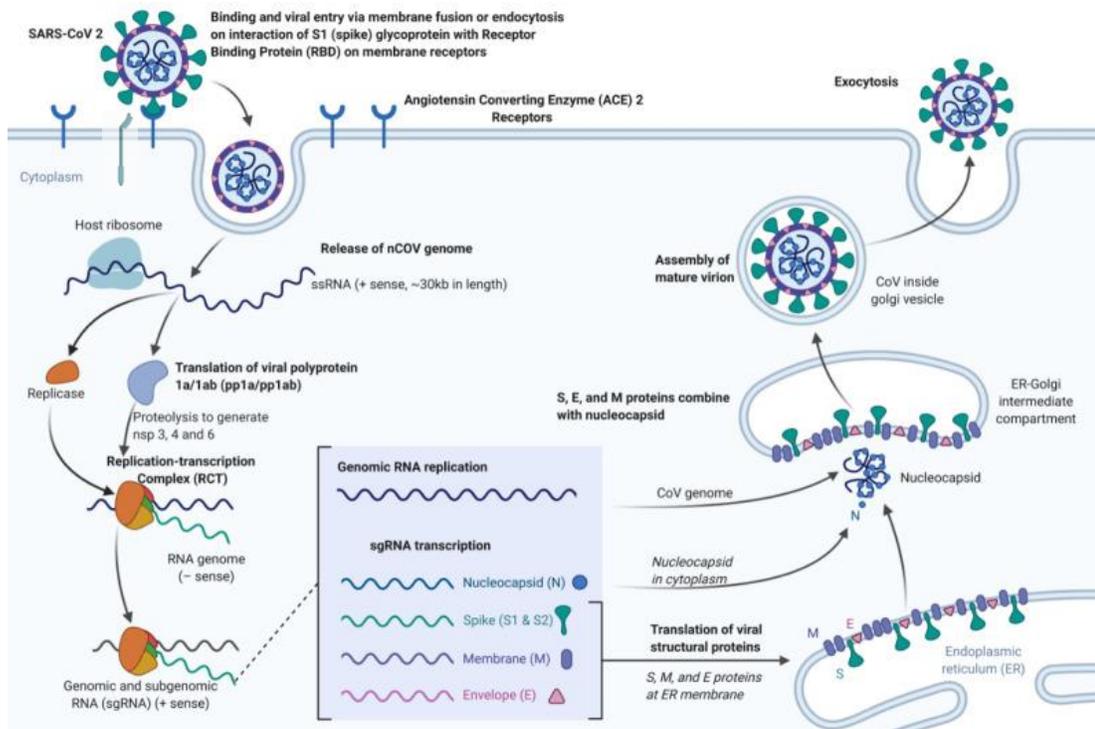
### 2.3 Ciclo de Replicación

Los virus necesitan proteínas de entrada para penetrar en las células donde se replicarán. El SARS-CoV-2 se afianza en la superficie de la célula huésped primero a través de factores de unión (por ejemplo, ácido siálico, sulfato de heparán, etc.) y luego a su receptor específico el ACE2, a través de interacciones con la glicoproteína S. Se ha descrito recientemente que cambios conformacionales producidos mecánicamente pueden permitir a la proteína S, exponer su dominio RBD para hacer contacto con el receptor ACE2, adicionalmente la proteasa transmembrana serina 2 (TMPTSS2) con actividad de serina proteasa, escinde en el sitio S2', desencadenando un cambio conformacional extenso e irreversible permitiendo a S2 mediar la

fusión de membranas permitiendo la entrada del RNA viral a la célula. La escisión en el sitio S2' es esencial en la patogenia viral.<sup>27,28</sup>

Al entrar en la célula hospedera, se inicia la replicación del ARN viral con la síntesis de la poliproteína 1a/1ab (pp1a/pp1ab). La transcripción ocurre a través del complejo de replicación-transcripción (RCT) organizado en vesículas de doble membrana y mediante la síntesis de secuencias de RNA subgenómicos (sgRNA). Por el contrario, la terminación de la transcripción ocurre en las secuencias reguladoras de la transcripción, ubicadas entre los llamados marcos de lectura abiertos (ORF) que funcionan como plantillas para la producción de RNAm subgenómicos. En un genoma de CoV atípico, pueden estar presentes al menos seis ORF. Entre estos, un cambio de marco entre ORF1a y ORF1b guía la producción de polipéptidos pp1a y pp1ab que son procesados por la proteasa similar a la quimotripsina codificada viralmente (3CLpro) o la proteasa principal (Mpro), así como una o dos proteasas similares a la papaína para producir 16 proteínas no estructurales con funciones de síntesis y modificación de RNA (NSP 1-16).

Además de ORF1a y ORF1b, otros ORF codifican proteínas estructurales, incluidas proteínas S, membrana, envoltura y nucleocápside y cadenas proteicas accesorias. Los homotrímeros de proteínas S componen los picos en la superficie viral, guiando el enlace a los receptores del huésped. Estas proteínas pasan por el retículo endoplásmico y aparato de golgi para su maduración.<sup>29</sup> Las proteínas virales y el RNA del genoma viral, se montan posteriormente en viriones en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi y luego se transportan a través de vesículas para ser exocitados. Cuando los nuevos viriones son exocitados al espacio extracelular, además de infectar células vecinas, se depositan en la luz del sistema respiratorio para poder salir en forma de aerosoles o gotitas, perpetuando el contagio.<sup>30, 31</sup>



**Figura 2. Esquema representativo del Ciclo de replicación de SARS-CoV-2.** (1). SARS-CoV-2 se une al receptor ACE2, con la escisión de S por TMPRSS2 logra fusionarse con la membrana. (2). El virus libera su genoma en el citoplasma. Se traduce la poliproteína pp1a/pp1b en 16 proteínas no estructurales que forman el complejo de replicación-transcripción. A partir del RNA subgenómico producción, se transcriben las proteínas estructurales, se ensambla en el aparato de Golgi el virión completo y se exocita en vesículas. Modificado de Cascella; et al;2022. Contribución de MD Rohan Bir Singh.

## 2.4 Enfermedad COVID-19

Los síntomas de COVID-19 aparecen en las personas dentro de los dos a catorce días posteriores a la exposición al virus. Una persona infectada con el coronavirus es contagiosa para los demás hasta dos días antes de que aparezcan los síntomas, y sigue siendo contagiosa para los demás durante 10–20 días, según su sistema inmunológico y la gravedad de su enfermedad.<sup>32,33</sup> Las manifestaciones clínicas más comunes son fiebre y tos, seguidos de mialgia y fatiga. Con menos frecuencia, los pacientes pueden presentar producción de esputo, dolor de cabeza o síntomas abdominales como diarrea. COVID-19 tiene una presentación clínica heterogénea, de ésta depende la gravedad de la enfermedad, la cual puede ir desde asintomático (que en ningún momento tiene síntomas y se diagnostica por cribado),

enfermedad leve, moderada (pueden tratarse de forma ambulatoria), COVID-19 severo y crítico, lo cual requiere de manejo intrahospitalario. La evolución de la enfermedad depende de la triada ecológica (huésped, patógeno y ambiente), siendo las comorbilidades en el caso del huésped, las que podrían sumar en una mayor gravedad de la enfermedad. En México, el sobrepeso y obesidad han sido los factores de riesgo mayormente asociados a morbi-mortalidad. En el caso del patógeno, han surgido distintas variantes; estas son producidas por mutaciones pueden permitir que el coronavirus se propague más rápido de persona a persona, como en el caso de las variantes delta y omicrón. Más infecciones pueden provocar que más personas se enfermen gravemente y también crear más oportunidades para que el virus desarrolle más mutaciones. En la tabla 1. se muestran los síntomas asociados a la gravedad de COVID-19.<sup>34</sup>

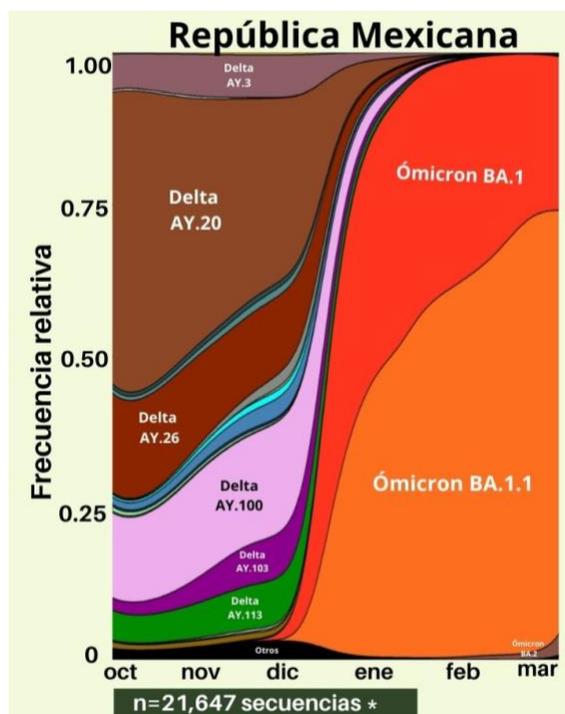
**Tabla1. Clasificación clínica de Covid-19**

<b>Asintomático</b>	<b>PCR+</b> <b>Sin ningún síntoma o signo clínico</b>	<b>Imagen de tórax normal</b>
<b>Leve</b>	-Síntomas de infección aguda del sistema respiratorio superior (fiebre, tos, faringodinia, odinofagia, rinorrea, estornudos) -Síntomas atípicos como anosmia y/o ageusia, mialgias	-Síntomas digestivos (náusea, hemesis, dolor abdominal, diarrea)
<b>Moderado</b>	<b>Neumonía (fiebre recurrente, tos) sin hipoxia obvia</b>	<b>TAC con lesiones</b>
<b>Severo</b>	<b>Neumonía con hipoxia (disnea, FR <math>\geq 30</math>x´</b>	<b>SpO<sub>2</sub> &lt; 94%</b>
<b>Crítico</b>	<b>Síndrome de dificultad respiratoria aguda, (SDRA o ARDS)</b>	<b>Puede haber shock, falla orgánica múltiple</b>

## 2.5 Variantes

A lo largo de la pandemia, se han identificado diferentes variantes de SARS-CoV-2, algunas de las cuales se les ha denominado variantes de preocupación (Variant of Concern: VOC por sus siglas en inglés) Según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, se le denomina VOC a la variante responsable del aumento de la transmisibilidad, el curso grave de la enfermedad, la reducción de la eficacia de los tratamientos, entre

otros factores alarmantes. La variante identificada como Omicron (B.1.1.529) en noviembre 2021, se le catalogó como VOC, tras generar preocupación acerca de la continuidad de la eficiencia de las vacunas, el futuro curso de la pandemia, y una alternativa potencial en la estrategia de vacunación. Esto debido a que tan solo en la proteína S suma 30 diferentes mutaciones ubicadas principalmente en el dominio de unión al receptor de la proteína S, en comparación con la cepa original de Wuhan. Curiosamente, algunas de las mutaciones ya se encontraron en VOC anteriores que ayuda a los anticuerpos neutralizantes. Cinco variantes diferentes de SARS-CoV-2 se han considerado VOC en diferentes momentos.<sup>35</sup> Según el Consorcio Mexicano de Vigilancia Genómica, en el tiempo de recolección de las muestras de este proyecto, (29 de noviembre de 2021 y el 21 de febrero de 2022) se encontraban en circulación las variantes Delta y Omicrón.



**Figura 3. Frecuencia relativa de variantes de SARS-CoV-2 en México.** Se analizaron 21,647 secuencias de personas con COVID-19. En el eje de las x se marca la temporalidad en meses, en el eje de las y se representa la frecuencia relativa de las diferentes variantes secuenciadas. Tomado de @CoViGen Mex.

La variante Delta antecedió a omicrón, fue secuenciada por primera vez en India a finales del año 2020, ésta necesitó poco tiempo para ejercer predominio a nivel mundial gracias a que las personas infectadas con delta

emitían una mayor carga viral, lo que se traduce en poder contagiar a un mayor número de personas que las personas infectadas con la versión original del SARS-CoV-2, además, el tiempo de incubación se acortó, lo que facilitó su propagación.<sup>36,37</sup>

### 3. Respuesta inmunológica vs SARS-CoV-2

#### 3.1 Respuesta innata

La respuesta inmune innata es la primera línea de defensa contra las infecciones. El pulmón es un tejido que se encuentra expuesto constantemente al ambiente debido al re-cambio de gases durante la inhalación y exhalación, por lo tanto, al igual que el intestino, tiene mayor riesgo a una invasión por patógenos virales o bacterianos. Los coronavirus tienen la capacidad de inducir inflamación y daño al tejido, llevando a una disfunción pulmonar. Tanto las células del sistema inmune innato, como las células dendríticas y macrófagos, forman la primera línea de defensa al reconocer los PAMPs a través de sus PRRs.<sup>38</sup> Las respuestas inmunitarias innatas limitan la entrada, traducción, replicación y ensamblaje viral, ayudan a identificar y eliminar las células infectadas y coordinan y aceleran el desarrollo de la inmunidad adaptativa. En respuesta a los mecanismos innatos de eliminación de virus, los coronavirus (CoV) poseen estrategias de evasión para limitar el control del huésped y mejorar la replicación y la transmisión.<sup>39</sup>

Los pasos en la entrada y replicación viral presentan varias oportunidades para que el sistema inmunitario innato detecte los componentes virales. Por ejemplo, las proteínas S, E y M del virión se exponen a los sensores de la superficie de la célula huésped durante el paso de unión (TLR3, TLR4) y los sensores citoplásmicos del huésped podrían detectar proteínas virales y ácidos nucleicos antes de su compartimentación por parte de las proteínas no estructurales (NLRP3). Estos pasos de detección facilitan la

activación de las vías de señalización inflamatorias, la producción de citocinas y la muerte celular.<sup>14</sup>

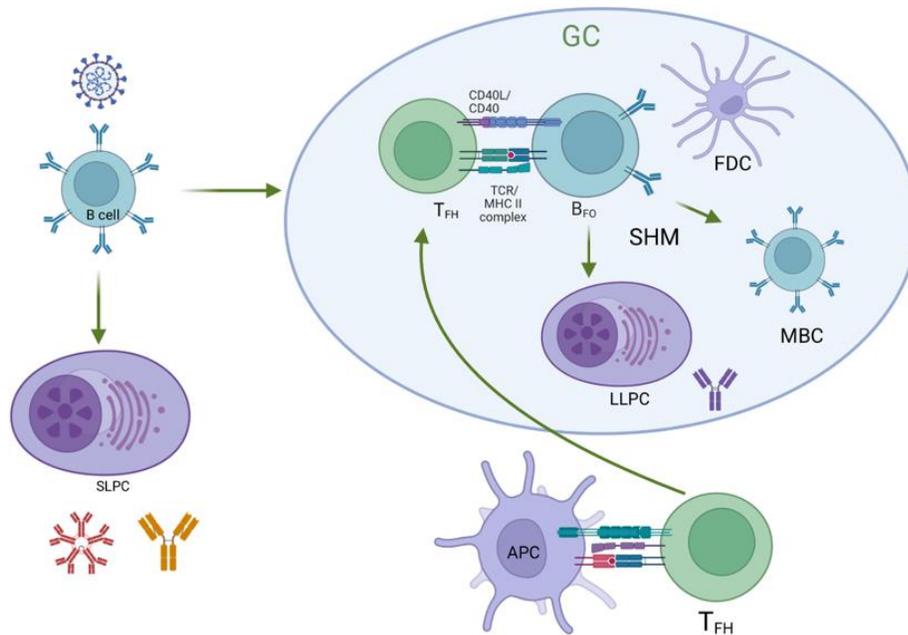
### 3.2 Respuesta adaptativa

La respuesta inmune adaptativa se caracteriza por la expansión clonal de linfocitos B y T antígeno-específicos y generación de memoria a largo plazo.<sup>40</sup> El papel de las células B en la infección por virus es dinámico, incluyendo la producción de citocinas, presentación de antígenos y secreción de anticuerpos. Los linfocitos B pasan por varios estadios en su desarrollo, van de células pro-B, las células pre-B, las células B inmaduras y por último una célula B madura inexperta. A su vez, hay subpoblaciones de células B maduras; las células B-2 se originan en la médula ósea y contienen a las células B foliculares ( $B_{F0}$ ) y las células B de la zona marginal ( $B_{ZM}$ ). Los linfocitos B maduros inexpertos que salieron de la médula ósea, van patrullando los tejidos linfoides secundarios a través de las vénulas endoteliales altas, hasta encontrarse con su antígeno cognado. Después de la interacción de la célula B con su antígeno, esta debe activarse, y lo puede hacer a través de dos mecanismos, uno T-dependiente, que como su nombre lo dice, requiere de la ayuda de células T, y otro T-independiente, es decir, no depende de ellas para su activación. En general, las células  $B_{ZM}$  participan en respuestas T-independientes para producir inmunidad a corto plazo, mientras que las células  $B_{F0}$  participan en respuestas T-dependientes para producir una protección duradera contra la reinfección con el mismo patógeno.<sup>41</sup>

Los linfocitos B se localizan en sitios que parecen estar especializados en atraer y mantener clonas en proliferación. En el caso de los ganglios linfáticos, estos linfocitos B se ubican en los cordones medulares, ahí puede llegar su antígeno a través de la linfa o de proveniente de la circulación. En esta zona extrafolicular, la célula B se activa de forma T independiente. Esta respuesta se caracteriza por montarse rápidamente con poca dificultad, el

linfocito B maduro al interactuar con antígeno y activarse, toma el camino de célula plasmática de vida corta, produciendo la primera ola de anticuerpos específicos de antígeno que es importante para la protección y defensa tempranas contra patógenos.<sup>42,43</sup>

Por otro lado, en los tejidos en donde ocurre una infección, las células dendríticas captan y procesan los antígenos, para llevarlos a los nódulos linfoides donde activan a las células T. Las células T CD4<sup>+</sup> cooperadoras activadas, expresan el receptor de quimiocina CXCR5 para migrar al folículo primario e interactuar con los linfocitos B que ya se han activado por el mismo antígeno. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> cooperadores foliculares (T<sub>FH</sub> por sus siglas en inglés), son una subpoblación de linfocitos que participan en la generación del centro germinal (CG). En el CG inicia el proceso de proliferación de los linfocitos B y su interacción con células dendríticas foliculares. Allí las células B se someten a extensas rondas de hipermutación somática y selección que culminan en la maduración por afinidad del BCR. Las células B con maduración de la afinidad, pueden unir antígenos más eficientemente gracias a la diversificación del repertorio. Las células B forman interacciones cognadas con las células T<sub>FH</sub> para recibir señales de selección positiva, que luego promueve su diferenciación a célula B secretora de anticuerpos de larga vida (células plasmáticas (LLPC) o célula B de memoria (B<sub>M</sub>). Las células T<sub>FH</sub>, producen característicamente la citocina IL-21, pero también la expresión de otras citocinas como IL-2, IFN $\gamma$ , IL-4 e IL-10, las cuales son fundamentales para el cambio de isotipo.<sup>44,45,46,47</sup> Después de la respuesta en el centro germinal, los LLPC migran y se ubican en la médula ósea y podrían producir Abs neutralizantes continuamente para protección de reinfección. Turner, J.S. y colaboradores encontraron que los LLPC específicos de SARS-CoV-2 podrían permanecer de 7 a 11 meses en la médula ósea y proporcionar una protección eficaz en la infección leve por COVID-19.



**Figura 4. Respuesta humoral vs SARS-CoV-2.** La respuesta humoral contra SARS-CoV-2, depende del reconocimiento del virus por parte del BCR de los linfocitos B, para poder activarse y madurar hacia células productoras de anticuerpos de corta vida (respues T-independiente, extrafolicular), o formar un centro germinal y elegir uno de los dos caminos de maduración ayudados por un linfocito T (T-dependiente) ya sea hacia células productoras de anticuerpos de larga vida o células B de memoria.

Desde el inicio de la pandemia se han identificado anticuerpos de pacientes con COVID-19, contra la proteína spike de SARS-CoV-2, la glicoproteína antigénica más importante del virus. Dichos anticuerpos se unen e inhiben la entrada en las células huésped al bloquear estéricamente la interacción de RBD con ACE2. Varios estudios realizados en pacientes con COVID-19 severo, han reportado que hay una mayor respuesta contra proteína S que contra la proteína N, además de una mejor respuesta de B<sub>M</sub> de larga vida vs S, sugiriendo que entre más severo sea el cuadro de COVID-19, la protección contra re-infección podría ser mayor.<sup>41</sup> Si bien RBD es el objetivo dominante de los anticuerpos neutralizantes, se ha visto que el dominio N-terminal (NTD) de S, también es blanco de anticuerpos neutralizantes (nAbs). El SARS-CoV-2 provoca una sólida respuesta de las células B, como lo demuestra la detección rápida y casi universal de IgM, IgG e IgA específicas del virus y los anticuerpos IgG nAbs en los días posteriores a la infección. La

seroconversión ocurre en la mayoría de los pacientes con COVID-19 entre 7 y 14 días después del inicio de los síntomas, y los títulos de anticuerpos persisten en las semanas posteriores a la eliminación del virus. Canónicamente, en una infección viral, la generación de IgM sérica es dominante sobre los otros isotipos de inmunoglobulinas específicas en la primoinfección.<sup>48,49</sup> Sin embargo, la producción de anticuerpos séricos de IgM, IgA e IgG contra las proteínas S y N de SARS-CoV-2 ocurre casi simultáneamente en los pacientes con COVID-19, gracias a la rápida respuesta extrafolicular y posterior mantenimiento de la respuesta de centro germinal.<sup>50</sup>

La respuesta de las células B a un virus no solo sirve para proteger del desafío inicial, a través de la secreción de anticuerpos que limitan la entrada del virus a la célula, sino también para ofrecer inmunidad extendida contra la reinfección. Las células B de memoria, toman un papel importante en una subsecuente exposición a SARS-CoV-2. Si las células B<sub>M</sub> son altamente reactivas a su antígeno, generan nuevas células plasmáticas de alta afinidad, lo que conlleva un cuadro clínico leve e incluso asintomático de la enfermedad, por lo que la inducción y estimulación de estas células es clave en el desarrollo de vacunas.<sup>51</sup> Se han identificado células B<sub>M</sub> dirigidas contra la proteína spike, nucleoproteína (NP) y las proteínas del marco de lectura abierto 8 (ORF8). Más allá de su longevidad, los B<sub>M</sub> específicas contra spike continúan adaptándose al SARS-CoV-2 hasta 6 meses después de la infección, de manera consistente con la persistencia del antígeno y los centros germinales en curso.<sup>52, 53</sup>

#### 4. Vacunas

La pandemia de SARS-CoV-2 ha causado una pérdida significativa de vidas, una profunda irrupción de vidas y medios de subsistencia, y daños económicos, sociológicos y psicológicos generalizados. La alta

transmisibilidad del virus, la presencia de individuos asintomáticos y la aparición de nuevas variantes, han prolongado el camino hacia la "normalidad", la historia nos ha mostrado que la vacunación es un arma poderosísima para erradicar enfermedades, Edward Jenner fue el primero en mostrarlo tras la vacunación para combatir la viruela, enfermedad que actualmente se encuentra erradicada. El principio fundamental de la vacunación es administrar un componente del agente que queremos combatir, que no cause la enfermedad que queremos prevenir, pero que, si sea lo suficientemente bueno para provocar una respuesta inmune robusta que provea protección contra el agente en cuestión, con el fin de atenuar la severidad de la enfermedad o de ser posible, evitarla. Desarrollar una vacuna con estas características, es una tarea titánica. En la actual pandemia se puso a prueba al gremio científico quien salió adelante ya que, en menos de 12 meses, ya se encontraban 13 vacunas en ensayos clínicos fase III. El avance tecnológico, la experiencia acumulada durante el desarrollo de vacunas contra coronavirus relacionados como el MERS y SARS-CoV-1, así como las plantas de producción existentes hicieron esto posible.<sup>54</sup>

Las vacunas que fueron aprobadas para uso en humanos y que actualmente forman parte del esquema de vacunación vs SARS-CoV-2 incluyen a las vacunas basadas en RNA mensajeros como lo son Moderna Spikevax y Pfizer-BioNTech's Comirnaty. Otras basadas en vectores de adenovirus recombinantes como Vaxzevria de Oxford-Astra-Zeneca; la vacuna Janssen de Johnson & Johnson farma; CanSino; y Sputnik-V, esta última de Gamaleya Research Center. Por otro lado, Sinovac optó por producir su vacuna con el método tradicional usando virus inactivado. El objetivo de todas estas vacunas, independientemente del método de producción utilizado era inducir y promover la respuesta inmune adaptativa y particularmente de anticuerpos neutralizantes.<sup>2</sup>

En el contexto de la actual pandemia de COVID-19, la llamada inmunidad híbrida inducida por una combinación de infección previa por SARS-CoV-2 y la posterior vacunación contra el COVID-19 proporciona una mayor protección contra la reinfección y el COVID-19 grave, en comparación a inmunidad únicamente adquirida por enfermedad previa o solo la vacunación.<sup>55</sup> Una pregunta que estuvo en boga durante toda la pandemia era si las vacunas mantendrían su papel protector pese a las variantes de SARS-CoV-2 que han ido surgiendo. Rosati y colaboradores, realizaron un seguimiento durante 14 meses a pacientes que se enfermaron entre marzo y mayo 2020, en Grecia. Ellos midieron mediante ensayos de ELISA, anticuerpos contra la proteína N y S de SARS-CoV-2 de la cepa original, tomaron muestra de los mismos individuos en dos ocasiones, a los dos y catorce meses de inicio de los síntomas y en ambas tomas se detectaron anticuerpos contra ambos antígenos, siendo mayores los niveles de anticuerpos vs proteína S. Además, los sueros obtenidos, también se probaron en ensayos de Elisa contra proteína N y S con las respectivas mutaciones de las variantes de preocupación alpha, delta, beta y mu, los cuales se siguieron detectando, (aunque en menor medida contra la variante beta). Sin embargo, este estudio muestra que la policlonalidad de los anticuerpos, permite mantener niveles detectables de anticuerpos pese a las mutaciones del virus.<sup>56</sup>

La vacunación en México inició el 24 de diciembre de 2020, siendo el personal de salud los primeros en recibirla, debido a que son personas con alto riesgo a enfermarse de COVID-19 por la exposición que tienen al atender pacientes con la enfermedad. Los hospitales representan puntos críticos potenciales para la transmisión de SARS-CoV-2, primordialmente para los trabajadores de la salud. En Morges, Suiza se realizó un estudio en febrero-marzo de 2021 en el Ensemble Hospital de la Côte, tras la segunda ola de COVID-19, con el objetivo de identificar los grupos con mayor riesgo, dentro y fuera del entorno de atención a pacientes. En el estudio participó población del hospital con perfiles de riesgo muy diferentes para la exposición al SARS-CoV-

2. Se hicieron ELISAS IgG vs proteína S, utilizando el sistema Luminex. Se analizaron 594 muestras de voluntarios sin vacunación, de los cuales, 45.3% tenían una prueba serológica vs SARS-CoV.2 positiva. Entre los síntomas reportados por los participantes, se observó una fuerte asociación para la alteración del olfato y gusto, con anticuerpos positivos anti-SARS-CoV-2. Cuando se hizo una comparación estratificando al personal entre los que atendían pacientes positivos a COVID-19 y los que no, se mostró una seroprevalencia de 53.7% y 25.2%, respectivamente, con el correspondiente OR de 3.1. para personas expuestas directamente. Dicho estudio concluyó que la segunda ola de la pandemia de SARS-CoV-2 afectó significativamente a los trabajadores de la salud y propusieron acelerar las campañas de vacunación combinadas con el cribado de personal, sobre todo el no vacunado, para detectar a los individuos asintomáticos como estrategia dual para optimizar la seguridad de los pacientes y del personal hospitalario al minimizar el riesgo de transmisiones nosocomiales.<sup>57</sup>

En nuestro país, una estrategia para luchar contra la pandemia fue realizar pruebas solo a sujetos sintomáticos, por lo que realmente se desconoce la cifra precisa de personas que han padecido COVID-19. Los métodos serológicos basados en pruebas de anticuerpos (anti-SARS-CoV-2) pueden proporcionar una estimación más precisa del tamaño de la epidemia al detectar casos diagnosticados y no diagnosticados. Detectar anticuerpos séricos contra la proteína N, permitirá identificar a las personas que han padecido COVID-19. Por otro lado, la búsqueda de anticuerpos contra los dominios S1 y RBD de la proteína S, permitirá conocer el estado serológico obtenido a través de la vacunación.

## 5. Justificación

Después de tres olas de COVID-19 a las que se ha enfrentado la población de México (hasta noviembre 2021), no se tienen cifras exactas de las personas que han padecido la enfermedad en nuestro país. Por otra parte, una vez iniciadas las campañas de vacunación tampoco hay datos del número de personas que desarrollaron anticuerpos específicos. El detectar anticuerpos séricos contra la proteína N, permitirá identificar a las personas que han padecido COVID-19. Por otro lado, la búsqueda de anticuerpos contra los dominios S1 y RBD de la proteína S, permitirá conocer la seroconversión debida a la vacunación.

Mediante una técnica de ELISA indirecta es posible identificar a las personas que padecieron COVID-19, asimismo, obtener una panorámica de la respuesta inmune humoral en una población heterogénea en un hospital de tercer nivel (reconvertido en hospital COVID). En dicho hospital sería posible identificar zonas de alto riesgo a la exposición al virus entre el personal médico que atiende pacientes con COVID-19, y el personal administrativo que supone tendrían un menor riesgo de infección por SARS-CoV-2. Así mismo, también es importante conocer la situación serológica los usuarios del hospital y sus familiares, quienes transitoriamente forman parte de la comunidad hospitalaria. La evaluación serológica de las personas que transitan las distintas zonas hospitalarias permitiría evaluar cómo se mueve el virus en esta comunidad y tomar medidas que restrinjan las posibilidades de infección.

## 6. Hipótesis

Los anticuerpos vs proteína S prevalecerán en la población debido al alto índice de vacunación y antecedente de COVID-19. Los trabajadores del HRAEI mostrarán anticuerpos séricos contra proteína N, por su estrecho contacto con SARS-CoV-2.

## 7. Objetivos

### 7.1 Objetivo General

Determinar la presencia de anticuerpos séricos IgM, IgG e IgA vs SARS-CoV-2, en personal administrativo, trabajadores de la salud, pacientes ambulatorios y familiares del HRAEI.

### 7.2 Objetivo específico

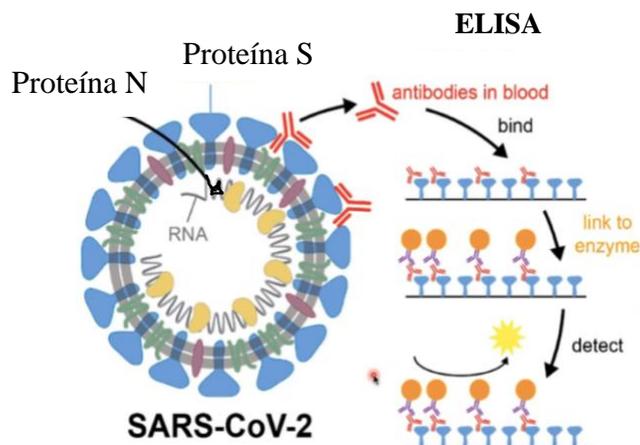
7.2.1 Detectar anticuerpos IgM, IgG e IgA contra la proteína N y los dominios S1 y RBD de la proteína S.

7.2.2 Realizar una correlación entre los anticuerpos IgM, IgG e IgA contra la proteína N y los dominios S1 y RBD de la proteína S entre los individuos que se encuentran en las distintas zonas del ambiente hospitalario.

## 8. Estrategia experimental

Se realizó un estudio piloto de cohorte transversal cuasi experimental. Se eligió como población de estudio a los pacientes, familiares acompañantes de éstos, personal de la salud y administrativo del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca debido a la reconversión temprana del mismo para atender pacientes COVID-19. En el departamento de Biomedicina Molecular del CINVESTAV se realizaron las pruebas serológicas para determinar anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA contra la proteína N y los dominios S1 y RBD de la proteína S del virus SARS-CoV-2 causante de la enfermedad denominada COVID-19. Se tomaron muestras sanguíneas (de 5mL) en tubos sin anticoagulante y posteriormente se separó el suero de cada muestra el cual se almacenó a -80°C grados. Todos los sueros se obtuvieron entre el 29 de noviembre de 2021 y el 21 de febrero de 2022. Además, se le pidió a los participantes, firmar consentimiento informado (Anexo 14.1) y llenar un cuestionario epidemiológico (Anexo 14.2). Se obtuvieron 417 sueros de voluntarios del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca.

Para el escrutinio de anticuerpos vs SARS-CoV-2 se realizó la prueba de ELISA indirecta (Figura 5).



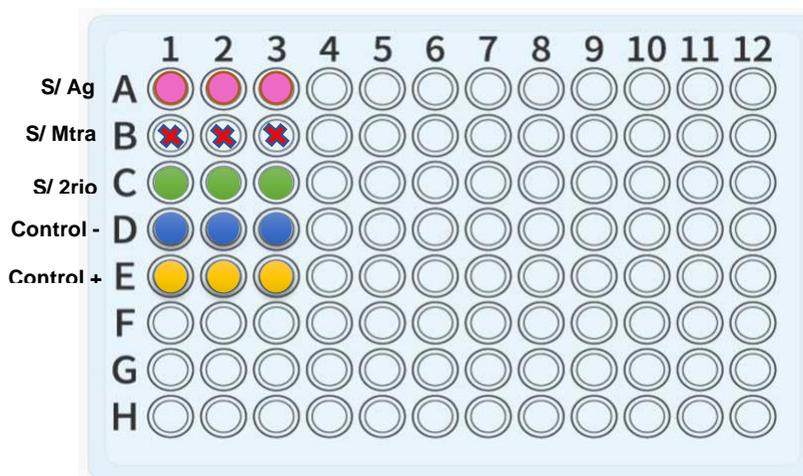
**Figura 5. Prueba serológica indirecta de inmunoensayo enzimático** (por sus siglas en inglés, ELISA). Se utilizan los dominios RBD y S1 de la proteína S, así como la proteína N de SARS-CoV-2 como Ag para recubrir la placa. Como analito se agrega el suero de los pacientes. Posteriormente se coloca el anticuerpo secundario acoplado a HRP, por último, se agrega el sustrato de la enzima acompañado de TMB, se detiene la reacción con ácido sulfúrico y se leen las densidades ópticas.

## 8.1 Producción de Proteínas

El dominio RBD y S1 de la proteína S al igual que la proteína N utilizadas para recubrir la placa fueron producidas por el laboratorio de la Dra. Leticia Cedillo del departamento de Biomedicina Molecular de CINVESTAV.<sup>58</sup>

## 8.2 ELISAS

Este ensayo utiliza tres diferentes proteínas para el recubrimiento específico de pozos de una placa de microtitulación (Thermo Scientific Nunc, MaxiSorp Surface, de 96 pozos). Los pozos se recubren con los dominios RBD o S1 de la proteína S o con la proteína N. Se sensibilizó una placa por antígeno para cada uno de los isotipos (IgM, IgG e IgA) con el siguiente diseño:



**Figura 6. Diseño de placa para ELISA indirecto.** Se sensibiliza cada placa con un antígeno diferente (N, S1 o RBD), y se detectan los isotipos IgM, IgG e IgA por antígeno de forma independiente. Es decir 3 placas por antígeno por 3 isotipos igual a 9 placas por muestra. Los sueros se colocan por triplicado.

Se dejó incubando la placa con el antígeno durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se realizaron 3 lavados con 250 µL de PBS-t 0.05% por pozo. Posteriormente se realizó un bloqueo para disminuir interacciones inespecíficas durante 2 horas a temperatura ambiente con solución KPL 1x modificada (PBS-t 0.05% + imidazol 0.004M + leche al 3%).

Mientras transcurrió el tiempo de bloqueo se prepararon los sueros de los diferentes pacientes. En primer lugar, las muestras se descongelaron y se

re suspendieron por vortex durante 10 segundos. Como pretratamiento, las muestras se sometieron a un ciclo de centrifugado a 13 000 rpm durante 10 minutos. Esto se realizó con el fin de separar la capa de lípidos que pudiera contener la muestra. Una vez que los sueros estaban pre-tratados se diluyeron en PBS-1x + leche 1% (dilución 1:100 para IgA, 1:50 para IgM y 1:800 para IgG) y se incubaron a 37°C durante una hora. Las muestras se colocaron por triplicado, de acuerdo con el diseño de placa. Para conocer la dilución óptima a utilizada, se partió de la estandarización del Dr. Erick Saúl Sánchez Salguero hecha en el laboratorio y se ajustó cada uno de los isotipos (IgM, IgG e IgA), contra los tres antígenos diferentes (N, S1 y RBD). Se utilizaron diferentes diluciones de suero y se eligió la dilución en la que se apreciaba una diferencia clara entre los sueros en los que se detectaba anticuerpo contra el antígeno en cuestión y los sueros en los que no había detección.

Los sueros controles para las muestras consisten en: un control positivo (Control+) que es un suero de paciente con reporte de PCR+ para SARS-CoV-2 con alta reactividad Ag-Ab, un control negativo (Control-) el cual es un suero de paciente tomado en 2017, cuando aún no se detectaba el virus. Los controles se someten al mismo pretratamiento y dilución que las muestras problema.

Al termino de las dos horas del bloqueo a temperatura ambiente, se realizaron 3 lavados con PBS-t 0.05% y se procedió a adicionar 50 µL de la dilución de las muestras en los pozos correspondientes, según el diseño de placa (muestras por triplicado). Se Incubaron las placas durante 1 hora a 37°C. Se realizaron 3 lavados con PBS-t al 0.05%, posteriormente se colocó el anticuerpo secundario anti-IgG humano acoplado a HRP (Peroxidasa de Rábado picante), hecho en cabra, lote:147168 Jackson Immuno Research a una dilución 1:20,000, el anti-IgM humano acoplado a HRP, hecho en cabra, lote: 137051 de Jackson Immuno Research a una dilución 1:20,000, el anti-IgA humano acoplado a HRP, hecho en cabra, lote: 1484621 de Jackson

Immuno Research a una dilución 1:5,000. Para llegar a esta dilución de anticuerpo secundario, previamente se titularon los isotipos con cada uno de los antígenos. Se coloca 50  $\mu$ L del anticuerpo secundario correspondiente y se incubó durante 1 hora a 37°C. Se realizaron 3 lavados con PBS-t 0.05%. Se colocó sustrato para la enzima HRP (peroxido) acompañado de un cromógeno, la tetrametilbenzidina (TMB) (Santa Cruz número de catálogo sc-286967A) que produce un producto de color azul cuya intensidad está relacionada con la cantidad de analito en la muestra. Se agrega una solución de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$  0.2M) para detener la reacción enzimática (cambiando el color a amarillo) y se leen las densidades ópticas (OD) a 450 nm en el Multiskan<sup>TM</sup>Sky (Thermo Scientific, número de catálogo N18965). Todos los lavados se realizan en el Wellwash (Thermo Scientific, número de catálogo N15775).

## 9. Resultados

### 9.1 Curvas ROC

Las condiciones utilizadas en el ensayo de ELISA indirecta se basaron en la estandarización del Dr Erick Saúl Sánchez Salguero. El punto de corte de los ensayos de ELISA se determinó a través del análisis de curvas ROC. Se consideraron 54 muestras verdaderas negativas (sueros pre-pandémicos 2017) para el isotipo IgG vs proteína N, y dominios S1 y RBD de la proteína N. Las mismas 54 muestras verdaderas negativas se utilizaron para el isotipo IgA vs N y S1. De estos sueros pre-pandémicos, se utilizaron 27 para el isotipo IgA vs RBD y para el isotipo IgM vs N, S1 y RBD.

Para los verdaderos positivos, se tomaron en cuenta 471 muestras de personas con las siguientes características, eran pacientes con COVID-19, individuos vacunados o con ambas. De estas, se filtraron las personas vacunadas con Sinovac para los isotipos IgM, IgG e IgA vs proteína N; con

base en ello se seleccionaron 5 muestras de pacientes con COVID-19 y 6 muestras de vacunados con Sinovac para IgM vs N, las 460 muestras restantes no se tomaron en cuenta, debido a que no había presencia de este isotipo contra la proteína N en particular. Con el mismo criterio, para IgG vs N, se seleccionaron 34 muestras de personas con COVID-19, 6 personas vacunadas con Sinovac y 3 personas con ambos criterios. Al igual que IgM vs N, el resto de las muestras no se tomaron en cuenta, ya que no se detectaron anticuerpos IgG vs N. Siguiendo con los mismos criterios, para IgA vs N, se seleccionaron 14 muestras de personas con COVID-19 y un vacunado con sinovac; Los 456 restantes, no se utilizaron por la misma razón que en los isotipos anteriores. (Resumen en tabla 2.)

Tabla 2. Compendio de muestras con detección de anticuerpos vs COVID-19 utilizadas para la construcción de curvas ROC.

471 sueros	IgM			IgG			IgA		
	Detección de Ab			Detección de Ab			Detección de Ab		
Proteína N	Vacunados Sinovac	COVID-19 +	Ambos	Vacunados Sinovac	COVID-19 +	Ambos	Vacunados Sinovac	COVID-19 +	Ambos
	6	5	0	6	34	3	1	14	0
471 sueros	Vacunados	COVID-19 +	Ambos	Vacunados	COVID-19 +	Ambos	Vacunados	COVID-19 +	Ambos
Dominio S1	58	27	1	192	23	57	72	5	18
Dominio RBD	41	1	28	113	7	32	88	5	17

Se tenían 471 sueros disponibles para la construcción de curvas ROC, estos pertenecían a personas diagnosticadas con COVID-19 y/o con esquema completo de vacunación (Astra, Sinovac, Moderna, Pfizer, Sputnik V, CanSino). En el caso de los anticuerpos vs proteína N, solo se tomaron en cuenta las muestras de individuos vacunados con Sinovac. Se realizó ELISA de las tres inmunoglobulinas (IgM, IgG e IgA) vs los tres antígenos de SARS-CoV-2 (Proteína N y dominio S1 y RBD de la proteína S. Las muestras con O.D. >0.1 fueron seleccionadas para realizar las curvas ROC, las muestras con O.D <0.1 fueron descartadas.

Las muestras verdaderas positivas de los isotipos IgM, IgG e IgA vs los dominios S1 y RBD eran las mismas 471 anteriores, utilizando los mismos criterios de elección, con la particularidad de tomar en cuenta a todos los vacunados. En este tenor, para IgM vs S1, se filtraron 27 sueros de individuos con COVID-19, 58 muestras de personas vacunadas y una con ambos criterios. Para el isotipo IgM vs RBD, se eligió una muestra de una persona con COVID-19, 41 muestras de personas vacunadas, y 28 de individuos vacunados y enfermos. (Resumen en tabla 2.)

Para el isotipo IgG vs S1, se filtraron 23 sueros de personas enfermas con COVID-19, 57 muestras de personas vacunas y enfermas con COVID-19 y 192 individuos vacunados. En el caso del isotipo IgG vs RBD, se tomaron en cuenta 7 muestras de individuos enfermos con COVID-19, 113 sueros de personas vacunadas y 32 personas con ambas características. (Resumen en tabla 2.)

Para IgA vs S1, se tomaron 5 muestras de personas con COVID-19, 72 sueros de individuos vacunados y 18 sujetos con ambas características. Por otro lado, para IgA vs RBD se eligieron 5 muestras de pacientes con COVID-19, 88 sueros de pacientes vacunados y 17 muestras de individuos con ambas características. El resto de las muestras no se tomó en cuenta, por la misma razón que la de los isotipos anteriores, no había presencia de anticuerpos por el antígeno. (Resumen en tabla 2)

Las cruvas ROC, son una técnica gráfica para describir y comparar la precisión de una prueba, con el fin de ayudarte a decidir el límite de discriminación a partir del cual decidimos que una muestra problema es positiva o negativa para el diagnóstico de cierta enfermedad. Para dibujar una curva ROC es necesario conocer la razón de verdaderos positivos (VPR), es decir, la probabilidad de que la muestra del sujeto enfermo, efectivamente sea positiva. Esto también se conoce como la sensibilidad de una prueba, es decir, la fracción de muestras identificadas correctamente como positivas. La VPR se obtiene mediante la formula estadística; el cociente de verdaderos positivos (VP), entre VP + Falsos negativos (FN). Otro dato necesario, es la especificidad, quien hace referencia a la fracción de personas sin la enfermedad, que la prueba identifica correctamente como negativa. La especificidad es equivalente a 1- falsos positivos (FPR), los cuales alucen a la muestra de un sujeto enfermo con un resultado negativo, cuando realmente sí tiene la patología. El FPR se obtiene con la fórmula estadística del cociente de verdaderos negativos (VN), entre Falsos positivos (FP) + VN. Al momento de

graficar, se representa en el eje de las "x" FPR y en el eje de las "y" los VPR. El método perfecto de predicción se situaría en un punto en la esquina superior izquierda, representando un 100% de sensibilidad (ningún falso negativo) y un 100% también de especificidad (ningún falso positivo). La diagonal divide el espacio ROC. Los puntos por encima de la diagonal representan resultados verdaderos positivos, puntos por debajo de la pendiente representan resultados verdaderos negativos.<sup>59</sup> Las curvas ROC se construyeron en el programa Prism 8.1.0.

El punto de corte para ELISA indirecta IgM anti-N fue de 0.05 (D.O. 450 nm.) con una sensibilidad del 90.91% (95% intervalo de confianza (IC) 62.26-99.53%) y una especificidad del 100% (95% IC 87.54-100%). Dos de las muestras verdaderas positivas, se encontraban en el límite de detección. Todas las muestras verdaderas negativas, se encontraban debajo del punto de corte.

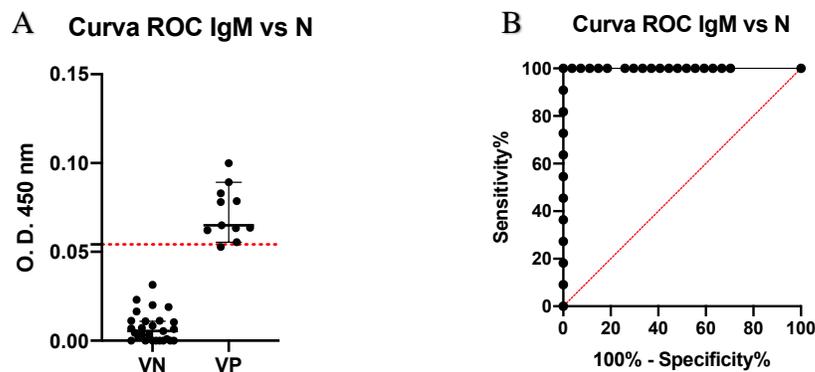


Figura 7. **Curva ROC ELISA indirecta IgM vs proteína N.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan dos muestras VP sobre el punto de corte, mientras que todas las VN se encuentran por debajo del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad en el eje de las "y" y la especificidad en el eje de las "x", cada uno de los puntos representa una muestra.

El punto de corte para ELISA indirecta IgM anti S1 fue de 0.05 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 91.86% (95% IC 84.14-96.0%) y una especificidad del 100% (95% IC 87.54-100%). Veintisiete muestras verdaderas positivas, se encuentran en el límite de detección. Todas las muestras verdaderas negativas, se encuentran debajo del punto de corte.

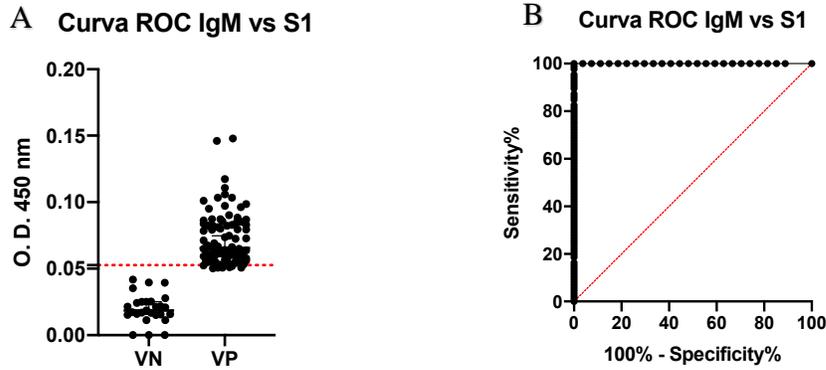


Figura 8. Curva ROC ELISA indirecta IgM vs dominio S1 de la proteína S. En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan veintisiete muestras VP sobre el punto de corte, mientras que todas las VN se encuentran por debajo del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA IgM anti RBD fue de 0.0552 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 91.84% (95% IC 80.81-96.78%) y una especificidad del 85.19% (95% IC 67.52-94.08%). Veintidós muestras verdaderas positivas, se encuentran en el límite de detección. Una de las muestras verdaderas negativas se encontró sobre el punto de corte y tres por arriba del mismo.

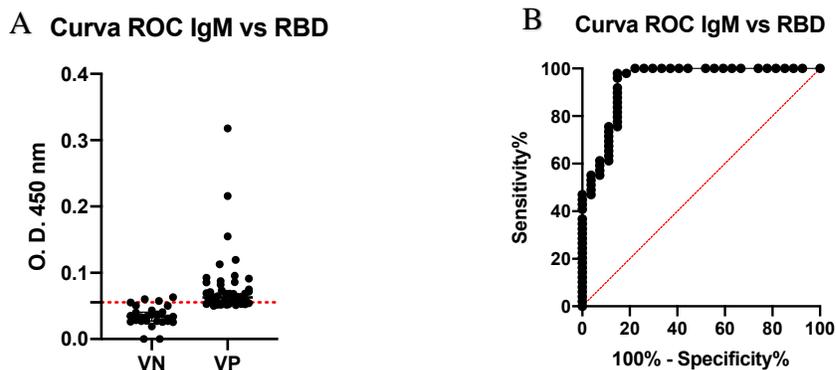


Figura 9. Curva ROC ELISA indirecta IgM vs dominio RBD de la proteína S. En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan cincuenta y cuatro muestras VP sobre el punto de corte, mientras que todas las VN se encuentran por debajo del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgG anti-N fue de 0.09 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 72.09% (95% IC 57.31–83.88%) y una especificidad del 98.15% (95% IC 90.23-99.92%). Ocho muestras verdaderas

positivas, se encuentran debajo del límite de detección. Dos muestras verdaderas negativas se encuentran sobre el límite de detección y una se encuentra por arriba del punto de corte.

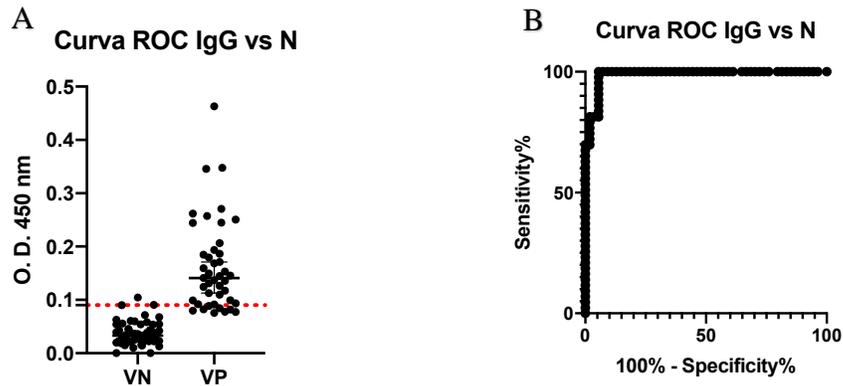


Figura 10. **Curva ROC ELISA indirecta IgG vs proteína N.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan ocho VP sobre el punto de corte, mientras que dos VN se encuentran sobre del punto de corte y una por arriba. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgG anti-S1 fue de 0.10 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 99.63% (95% IC 97.95–99.98%) y una especificidad del 100% (95% IC 93.36-100%). Once muestras verdaderas positivas, se encuentran sobre el punto de corte. Todas las muestras verdaderas negativas se encuentran por debajo del punto de corte.

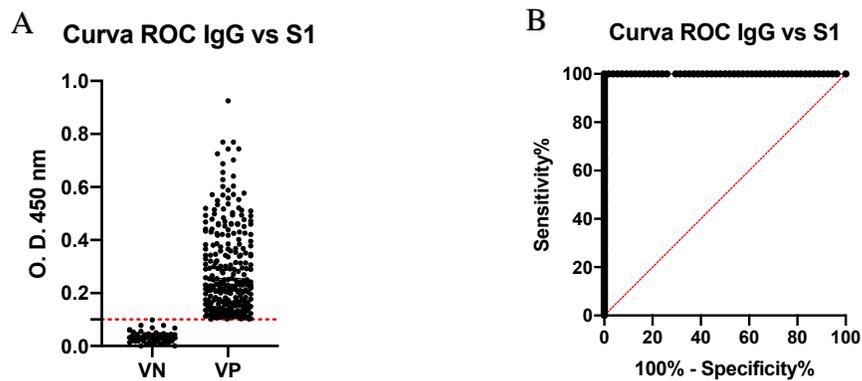
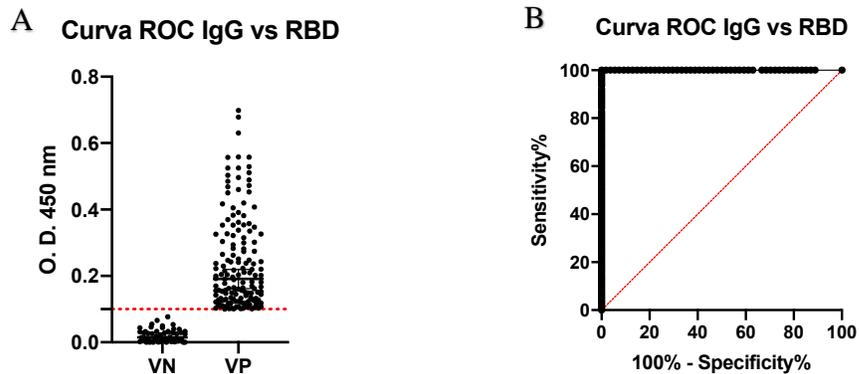


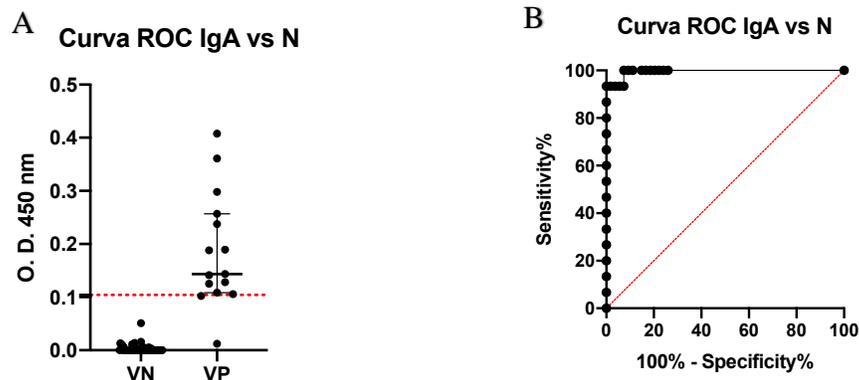
Figura 11. **Curva ROC ELISA indirecta IgG vs dominio S1 de la proteína S.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan once VP sobre el punto de corte. Ninguna muestra VN se encuentran arriba del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgG anti-RBD fue de 0.10 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 99.34% (95% IC 96.37–99.97%) y una especificidad del 100% (95% IC 93.36-100%). Diecisiete muestras verdaderas positivas, se encuentran sobre el punto de corte. Todas las muestras verdaderas negativas se encuentran por debajo del punto de corte.



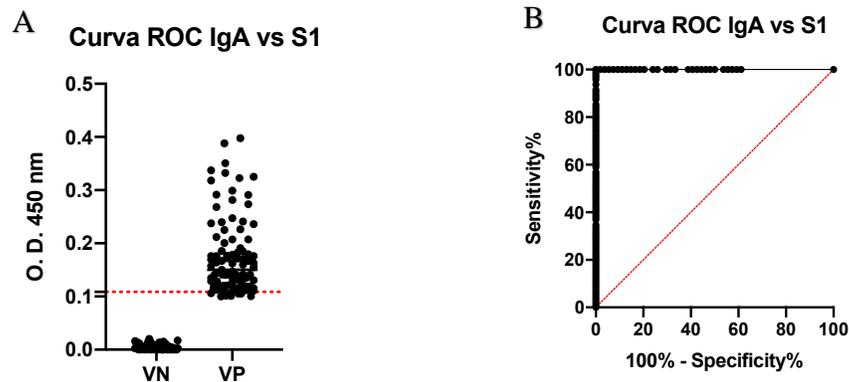
**Figura 12. Curva ROC ELISA indirecta IgG vs dominio RBD de la proteína S.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan diecisiete VP sobre el punto de corte. Ninguna muestra VN se encuentran arriba del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgA vs N fue de 0.10 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 86.67% (95% IC 62.12–97.63%) y una especificidad del 100% (95% IC 93.36-100%). Diecisiete muestras verdaderas positivas, se encuentran sobre el punto de corte. Todas las muestras verdaderas negativas se encuentran por debajo del punto de corte.



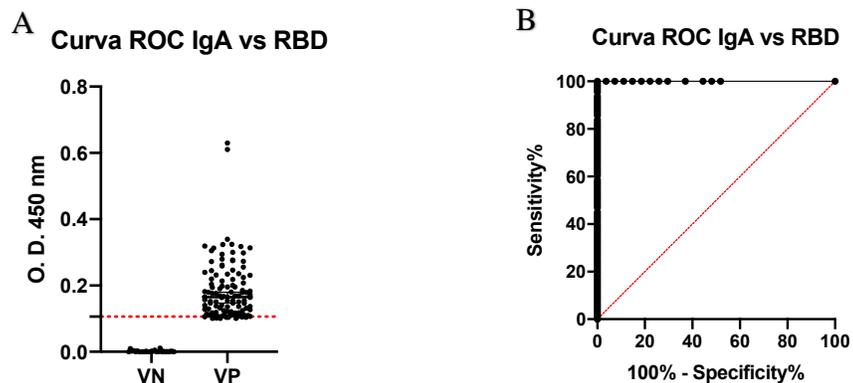
**Figura 13. Curva ROC ELISA indirecta IgA vs proteína N.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan tres VP sobre el punto de corte. Ninguna muestra VN se encuentran arriba del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgA anti S1 fue de 0.10 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 91.58% (95% IC 84.25–95.67%) y una especificidad del 100% (95% IC 93.36-100%). Ocho muestras verdaderas positivas, se encuentran sobre el punto de corte. Todas las muestras verdaderas negativas se encuentran por debajo del punto de corte.



**Figura 14. Curva ROC ELISA indirecta IgA vs dominio S1 de la proteína S.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan ocho VP sobre el punto de corte. Ninguna muestra VN se encuentran arriba del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

El punto de corte para ELISA indirecta IgA anti RBD fue de 0.10 (D.O. 450 n.m.) con una sensibilidad del 91.89% (95% IC 85.31–95.68%) y una especificidad del 100% (95% IC 87.54-100%). Trece muestras verdaderas positivas, se encuentran sobre el punto de corte. Todas las muestras verdaderas negativas se encuentran por debajo del punto de corte.



**Figura 15. Curva ROC ELISA indirecta IgA vs dominio RBD de la proteína S.** En A vemos la dispersión de O. D. (Densidad óptica) tanto de los verdaderos negativos (VN) como de los verdaderos positivos (VP). Se indica el punto de corte en la línea punteada, en donde se visualizan trece VP sobre el punto de corte. Ninguna muestra VN se encuentran arriba del punto de corte. En B vemos la representación de la Curva ROC con la sensibilidad y especificidad en porcentaje.

Una vez establecido el punto de corte mediante las curvas ROC, para poder establecer positividad de las muestras, se le restó el promedio del blanco (S/Antígeno, S/muestra, S/secundario; por triplicado), al promedio del triplicado obtenido en densidad óptica de los sueros; lo que depura señales inespecíficas o de fondo.

## 9.2 Detección de anticuerpos IgM, IgG e IgA vs SARS-CoV-2 en pacientes del HRAEI

Se obtuvieron 417 sueros de la población del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. Las muestras se tomaron entre el 29 de noviembre de 2021 y el 21 de febrero de 2022. Estos sueros pertenecen a 154 administrativos, 168 trabajadores de la salud, 40 pacientes ambulatorios y 55 familiares de pacientes. Del total de sueros, 399 contaban con esquema de vacunación completo, 155 refirieron haber enfermado de COVID-19 previamente (inmunidad híbrida) y se registraron 35 reinfecciones, siendo los trabajadores de la salud en donde más había (20 individuos). Entre la población, 257 eran mujeres y 160 hombres. La edad de los participantes se concentraba entre los 19 y 59 años. Durante el protocolo, al mismo tiempo de la toma de muestra de sangre, se les realizó prueba de antígeno rápido con la cual, resultaron 62 mujeres positivas a COVID-19 y 33 hombres. Todos cursaron con COVID-19 leve, sin necesidad de requerir oxígeno suplementario u hospitalización.

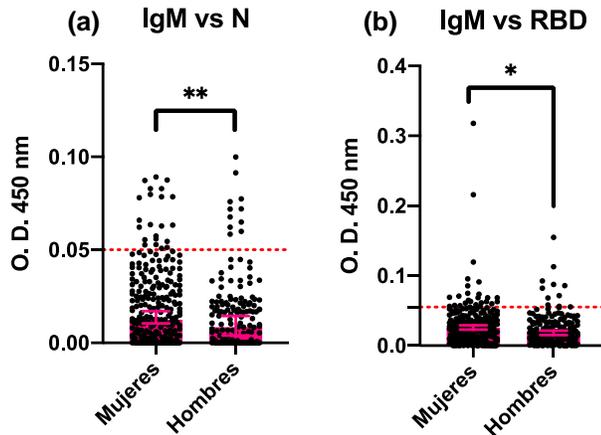
### 9.2.1 Seroprevalencia vs SARS-CoV-2 entre mujeres y hombres de la población del HRAEI

Se detectó presencia de anticuerpos IgM, IgG e IgA vs proteína N y dominio S1 y RBD de la proteína S de SARS-CoV-2 (Tabla 3). Se determinó la seroprevalencia entre mujeres y hombres de la población del HRAEI, se evaluó la significancia estadística con la prueba de Mann Whitney, utilizando

Tabla 3. Prevalencia de los isotipos IgM, IgG e IgA vs SARS-CoV-2 en población del HRAEI.

<b>Características</b>	<b>IgM</b>			<b>IgG</b>			<b>IgA</b>		
	N	S1	RBD	N	S1	RBD	N	S1	RBD
<b>Total 417</b>	33(7.91%)	86(20.62%)	48(11.51%)	25(5.9%)	248(59.47%)	145(34.77%)	3(0.71%)	87(20.86%)	103 (24.7%)
<i>Mujeres 257</i>	22	58	34	14	159	88	1	51	60
<i>Hombres 160</i>	11	28	14	11	89	57	2	36	43
<b>Edad</b>									
<i>18-29</i>	16	39	22	12	96	52	0	36	41
<i>30-39</i>	13	36	18	7	83	45	0	29	28
<i>40-49</i>	2	5	3	5	38	23	2	11	15
<i>50-59</i>	1	6	5	1	26	21	1	8	17
<i>60 +</i>	1	0	0	0	5	4	0	3	2
<b>Población del hospital</b>									
<i>Administrativos</i>	18	35	18	13	87	56	1	30	45
<i>Trabajadores de la salud</i>	10	40	23	10	112	52	1	37	35
<i>Px ambulatorio</i>	2	1	2	1	23	14	1	8	9
<i>Familiar</i>	3	10	5	1	26	23	0	12	14
<b>Ag rápido +</b>	5 (5.26%)	28 (29.47%)	8 (8.42%)	6 (6.31)	57 (60%)	32 (36.84%)	0 %	18 (18.94%)	17 (17.89%)
<i>Administrativos</i>	1	8	2	2	14	9	0	4	6
<i>Trabajadores de la salud</i>	2	16	4	4	36	17	0	13	8
<i>Px ambulatorio</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	1
<i>Familiar</i>	2	4	2	0	6	6	0	0	2
<b>Antecedente COVID-19</b>	16(3.83%).	39(9.35%)	23(5.51%).	11(2.63%).	114(27.33%).	72(17.26%).	1 (0.23%).	45(10.79%).	54(12.94%)
<i>Administrativos</i>	8	18	9	6	36	24	0	13	21
<i>Trabajadores de la salud</i>	5	18	11	3	53	28	0	20	18
<i>Px ambulatorio</i>	1	1	2	1	13	10	1	7	7
<i>Familiar</i>	2	2	1	1	12	10	0	5	8

la mediana aritmética, mediante el programa PRISM 8. Se observó una mayor seropositividad en mujeres en el isotipo IgM vs N e IgM vs RBD. En el resto de los isotipos no se observó diferencia significativa. (Figura 16).

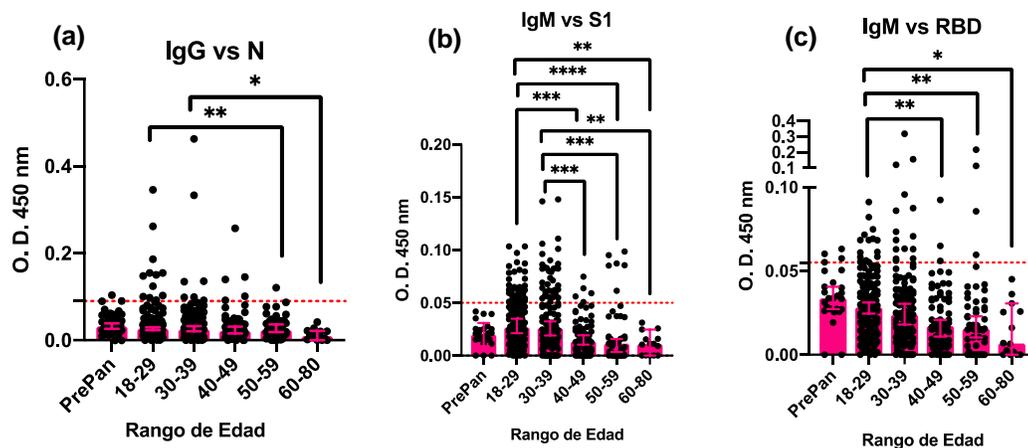


**Figura 16. Seroprevalencia vs SARS-CoV-2 entre mujeres y hombres del HRAEI.** Solo se observó diferencia entre sexo en el isotipo IgM, a y b). El nivel de anticuerpos detectados fue mayor en las muestras correspondientes a mujeres, que en la de los hombres. Mujeres n= 257, Hombres n=160. Refirieron antecedente de COVID-19 93 mujeres y 64 hombres.

### 9.2.2 Seroconversión vs SARS-CoV-2 por grupo etario en población del HRAEI

En cuanto a la edad, se establecieron grupos etarios por rango consecutivo. Se evaluó la significancia estadística con la prueba de Kruskal-Wallis, utilizando la mediana aritmética, mediante el programa PRISM 8. En el isotipo IgG vs proteína N, se observó un mayor nivel en el grupo de 18-29 años en comparación al grupo de 50-59 años y de 60-80 años.

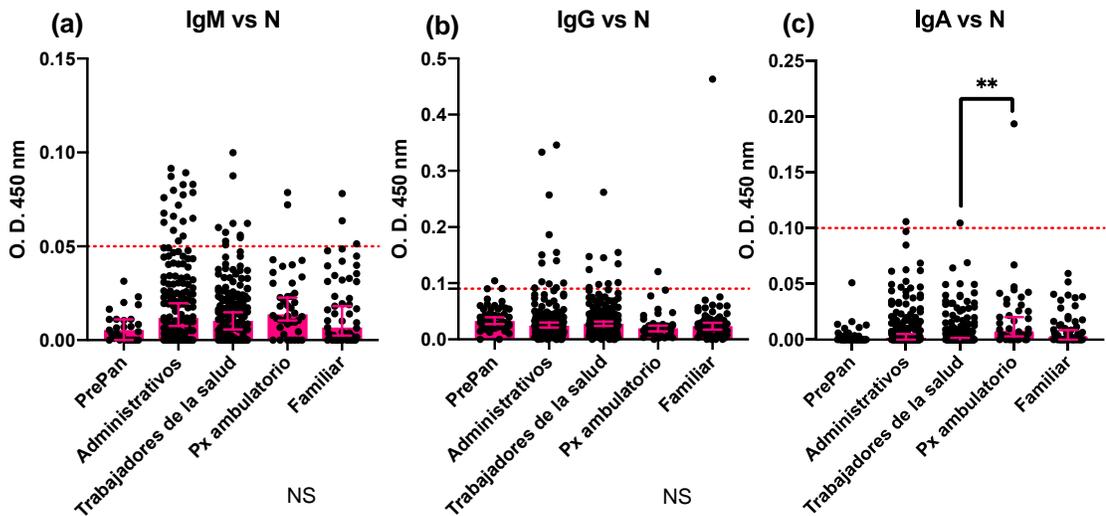
Por otro lado, el isotipo IgM fue en donde se observó una mayor diferencia entre grupos, IgM vs dominio S1 se encontró en mayor nivel en el grupo de 18-29 años en comparación al grupo de 50-59 años y de 60-80 años, el grupo de 30-39 años tuvo un mayor nivel de seropositividad en comparación al grupo de 50-59 años y 60-80 años. En el isotipo IgA no hubo una diferencia significativa (Figura 17).



**Figura 17. Seropositividad vs SARS-CoV-2 entre grupos etarios del HRAEI.** El rango de edad en donde se detectó mayor nivel de anticuerpos fue en jóvenes de 18-29 años. a). Refirieron antecedente de COVID-19 56 jóvenes de 18-29 años, 61 jóvenes de 30-39 años, 19 individuos entre 40-49 años, 20 personas entre 50-59 años y un adulto mayor de 60-80 años. b y c). Al momento de la toma de muestra tenían prueba de antígeno rápido positiva, 41 jóvenes de 18-29 años, 32 jóvenes de 30-39 años, 11 individuos entre 40-49 años, 7 personas entre 50-59 años y ningún adulto mayor de 60-80 años. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. Control - sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG vs N,  $n=27$  IgM vs S1 y RBD. 18-29 años  $n=145$ , 30-39 años  $n=127$ , 40-49 años  $n=70$ , 50-59 años  $n=51$ , 60-80 años  $n=14$ . Se agrupó a la población con respecto a la estrategia de vacunación en nuestro país.

### 9.2.3 Seroconversión vs SARS-CoV-2 en la distinta población del HRAEI

Se evaluó la seropositividad entre la diferente población hospitalaria, la significancia estadística entre las comparaciones se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis, utilizando la mediana aritmética, mediante el programa PRISM 8. Los anticuerpos contra la proteína N fueron los de menor prevalencia, en comparación del resto de los antígenos. La prevalencia contra N fue de 7.91% para IgM, 5.9% para IgG y 0.71% para IgA. Estratificando por área del hospital, los isotipos IgM e IgG vs N no mostraron diferencia significativa entre ellos. (figura 18a y 18b). En el caso de IgA vs N, los pacientes ambulatorios tuvieron un mayor nivel en comparación a los trabajadores de la salud (figura 18c). Cabe señalar que uno de los pacientes ambulatorios con presencia de anticuerpos IgA vs N, cursó previamente con COVID-19.

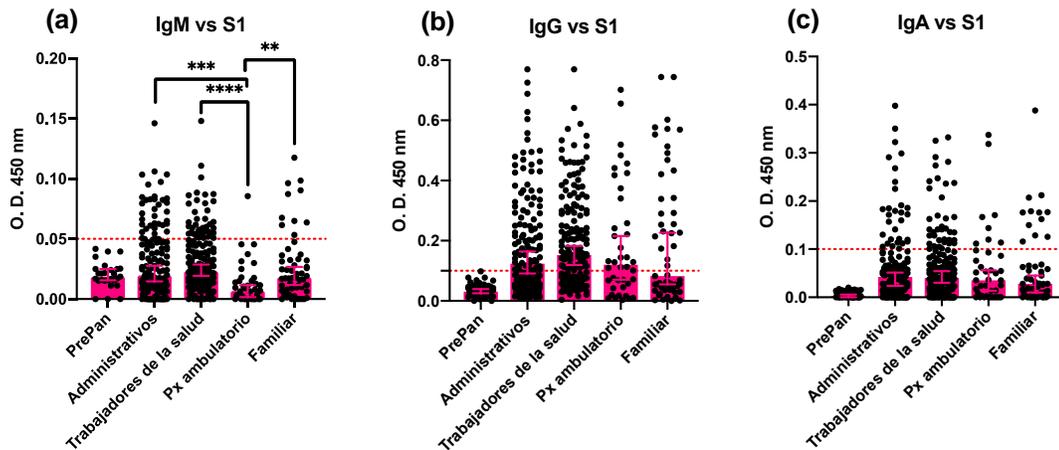


**Figura 18. Seroprevalencia de proteína N, comparando la diferente población del HRAEI.** a y b. No hay diferencia significativa en la seroconversión del isotipo IgM e IgG vs proteína N en la comunidad hospitalaria. c). Se aprecia significancia de dos cruces entre trabajadores de la salud y pacientes ambulatorios, cabe señalar que el paciente con mayor nivel de anticuerpos IgA vs N, tenía antecedente de COVID-19. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control -: sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG e IgA vs N,  $n=27$  IgM vs N, Administrativos  $n=154$ , Trabajadores de la salud  $n=168$ , Px ambulatorio  $n=40$ , Familiar  $n=55$ . Fueron vacunados con Sinovac 39 administrativos, 5 trabajadores de la salud, 2 Px ambulatorios y 6 familiares. Del total de participantes ( $n=417$ ), refirieron antecedente de COVID-19 51 Administrativos, 71 trabajadores de la salud, 16 px ambulatorios y 17 familiares.

Los pacientes que cursaban con infección activa por SARS-CoV-2 diagnosticada por prueba de antígeno rápido, tuvieron un nivel de anticuerpos contra la proteína N menor que el resto de la población y no hubo una diferencia significativa entre las diferentes áreas del hospital. La prevalencia por isotipo vs antígeno N se muestra en la tabla 3.

Los anticuerpos contra el dominio S1 tuvieron una mayor prevalencia en comparación a los anticuerpos contra el dominio RBD y la proteína N, sin embargo, no hubo una diferencia significativa entre la población hospitalaria, a excepción del isotipo IgM, en donde el nivel de los sueros de los administrativos y trabajadores de la salud contra el antígeno S1, fueron mayores que los de los pacientes ambulatorios. Cabe señalar, que de los administrativos con presencia de anticuerpos IgG vs S1, 36 tenían antecedente de COVID-19, 53 trabajadores de la salud también habían

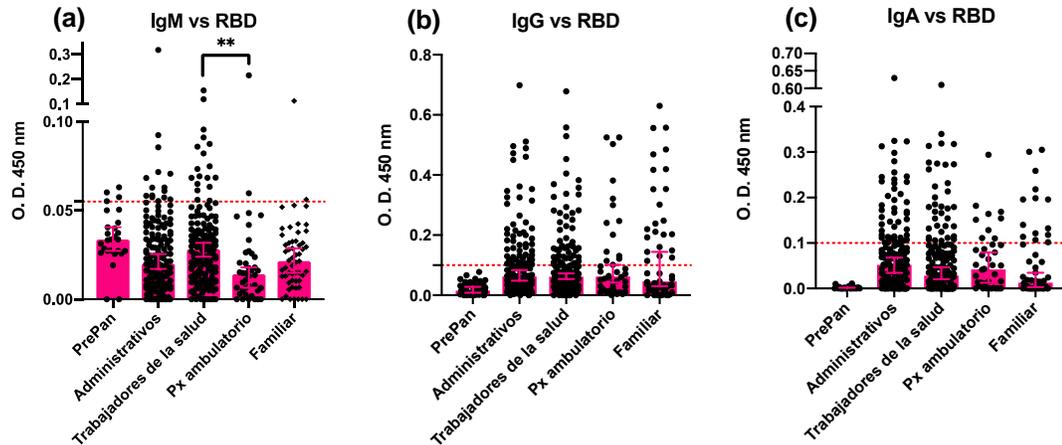
enfermado previamente de COVID-19, así como 13 pacientes ambulatorios y 12 familiares. El nivel de anticuerpos IgM vs S1 de los familiares fue mayor que el de los pacientes ambulatorios (Figura 19). La prevalencia por isotipo vs antígeno S1, se muestra en la tabla 3.



**Figura 19. Seroprevalencia de dominio S1 de la proteína S, comparando la diferente población del HRAEI.** a) Los administrativos, trabajadores de la salud y familiares tuvieron mayor seroprevalencia que los pacientes ambulatorios en el isotipo IgM vs S1. Todos contaban con esquema de vacunación completo. b y c). No hay diferencia significativa en la seroconversión del isotipo IgG e IgA vs dominio S1 en la comunidad hospitalaria. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control -: sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG e IgA vs S1,  $n=27$  IgM vs S1, Administrativos  $n=154$ , Trabajadores de la salud  $n=168$ , Px ambulatorio  $n=40$ , Familiar  $n=55$ . Fueron vacunados con Sinovac 39 administrativos, 5 trabajadores de la salud, 2 Px ambulatorios y 6 familiares. Del total de participantes ( $n=417$ ), refirieron antecedente de COVID-19 51 Administrativos, 71 trabajadores de la salud, 16 px ambulatorios y 17 familiares.

Los individuos con prueba de antígeno rápido tuvieron un nivel menor de anticuerpos contra la proteína S1 que el resto de la población. En el isotipo IgG vs S1 tanto los administrativos como los trabajadores de la salud tuvieron una mayor seroprevalencia que los pacientes ambulatorios. La prevalencia por isotipo se muestra en la tabla 3.

Los anticuerpos contra el dominio RBD tuvieron una prevalencia menor que los anticuepros contra el dominio S1, sin embargo, no hubo una diferencia significativa entre la población hospitalaria, a excepción del isotipo IgM, en donde el nivel de los sueros de trabajadores de la salud contra el antígeno RBD, fueron mayores que los de los pacientes ambulatorios. (Figura 20). La prevalencia por isotipo vs antígeno RBD, se muestra en la tabla 3.



**Figura 20. Seroprevalencia de dominio RBD de la proteína S, comparando la diferente población del HRAEI.** a) La seroprevalencia en los trabajadores de la salud, fue mayor que la de los pacientes ambulatorios. Todos contaban con esquema de vacunación completo. b y c). No hay diferencia significativa en la seroconversión del isotipo IgG e IgA vs dominio RBD en la comunidad hospitalaria. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control -: sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG e IgA vs S1,  $n=27$  IgM vs S1, Administrativos  $n=154$ , Trabajadores de la salud  $n=168$ , Px ambulatorio  $n=40$ , Familiar  $n=55$ . Fueron vacunados con Sinovac 39 administrativos, 5 trabajadores de la salud, 2 Px ambulatorios y 6 familiares. Del total de participantes ( $n=417$ ), refirieron antecedente de COVID-19 51 Administrativos, 71 trabajadores de la salud, 16 px ambulatorios y 17 familiares.

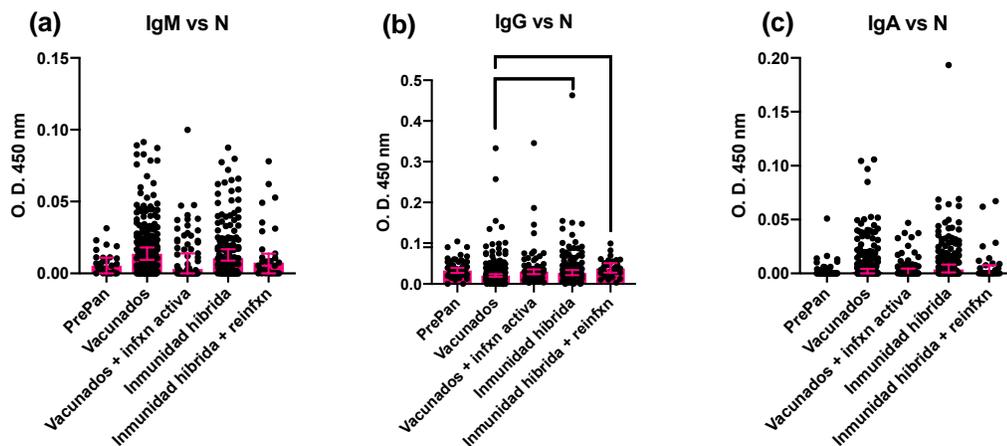
Los pacientes enfermos con COVID-19 diagnosticado por prueba de antígeno rápido, tuvieron un nivel menor de anticuerpos contra la proteína RBD que el resto de la población. La prevalencia por isotipo vs antígeno RBD se muestra en la tabla 3.

#### 9.2.4 Seroconversión vs SARS-CoV-2 entre inmunidad humoral adquirida por vacunación e inmunidad híbrida en la comunidad del HRAEI.

Se evaluó la seropositividad en grupos de individuos, ya sea que tuvieran esquema de vacunación completo, individuos vacunados que además dieron positivo a COVID-19 por prueba de antígeno rápido al momento de la toma de muestra (vacunación+infección), otro grupo que además de esquema de vacunación completo, refirieron antecedente de COVID-19 (inmunidad híbrida), y un último grupo de individuos que además de referir inmunidad híbrida dieron positivo a COVID-19 por prueba de antígeno rápido al momento de la toma de muestra (inmunidad híbrida+infección). La significancia

estadística entre las comparaciones se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis, utilizando la mediana aritmética, mediante el programa PRISM 8.

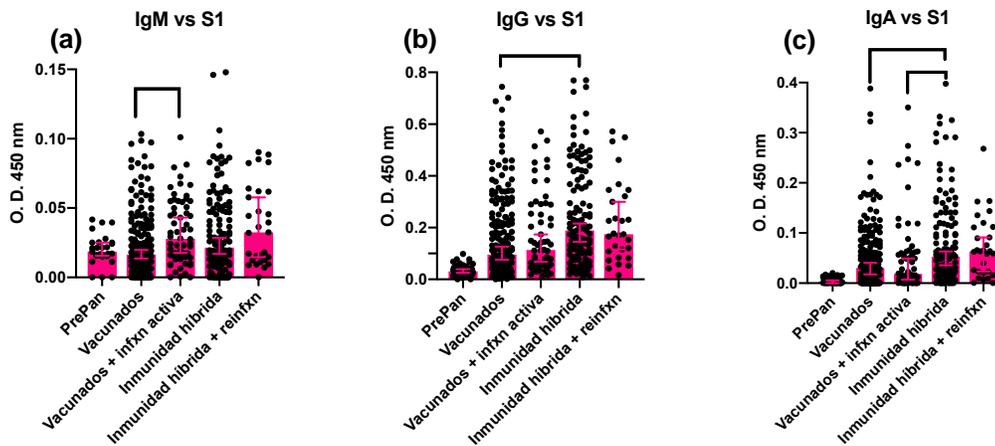
El nivel de anticuerpos contra la proteína N fue menor en comparación al resto de los antígenos. Entre los grupos, no hubo diferencias estadísticamente significativas en los isotipos IgM e IgA vs N. En general, el nivel de anticuerpos IgG vs N, fue menor en el grupo de vacunados. (figura 21).



**Figura 21. Seroconversión en individuos del HRAEI vía vacunación o inmunidad híbrida.** a y c). No hay diferencia significativa entre los grupos. b) El grupo con menor seropositividad, fue el de los vacunados, en comparación con el resto de la población. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control - sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG e IgA vs N,  $n=27$  IgM vs N. Vacunados  $n=183$ , Vacunados + infxn activa  $n=60$ , Inmunidad híbrida  $n=129$ , Inmunidad híbrida + reinfxn  $n=29$ . No se tomaron en cuenta 10 individuos debido a que se desconocía si habían o no enfermado previamente de COVID-19. Se eliminaron 7 personas menores de edad, debido a que no estaban vacunados.

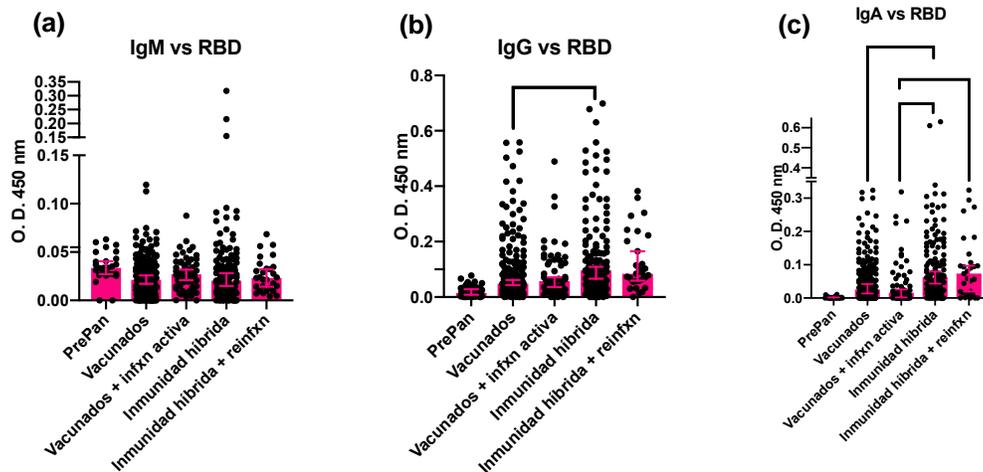
El nivel de los anticuerpos contra el dominio S1 fue mayor que el de los otros dos antígenos. Los individuos con inmunidad híbrida que además se encontraban cursando una reinfección por COVID-19, al igual que quienes estaban vacunados y cursaba con infección por COVID-19, diagnosticada por antígeno rápido, presentaron un mayor nivel de anticuerpos Isotipo IgM vs S1 en comparación a las personas únicamente vacunadas. El nivel de anticuerpos IgG vs S1 fue mayor en individuos con inmunidad híbrida, en comparación a personas únicamente vacunadas. En cuanto al nivel de anticuerpos IgA vs S1, fue mayor en sujetos con inmunidad híbrida, que en aquellos vacunados o

vacunados y enfermos de COVID-19, diagnosticado por prueba de antígeno rápido. (Figura 22).



**Figura 22. Seroconversión en individuos del HRAEI vía vacunación o inmunidad híbrida.** a) Vacunados mostraron mayor seropositividad. b y c) el grupo con mayor seropositividad fue el de inmunidad híbrida. Del grupo de vacunados, 15 individuos se les aplicó dosis de refuerzo entre 3-26 días antes de la toma de muestra de sangre. En cuanto al grupo de vacunados+infxn, a 21 sujetos se les aplicó dosis de refuerzo entre 0-30 días antes de la toma de muestra de sangre. Del grupo de inmunidad híbrida, a 15 personas se les aplicó dosis de refuerzo entre 0-26 días antes de la toma de muestra de sangre. Del grupo de inmunidad híbrida+infección, a 13 personas se les aplicó dosis de refuerzo en un lapso de 4-25 días antes de la toma de muestra de sangre. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control - sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG e IgA vs S1,  $n=27$  IgM vs S1. Vacunados  $n=183$ , Vacunados + infxn activa  $n=60$ , Inmunidad híbrida  $n=129$ , Inmunidad híbrida + reinfxn  $n=29$ . No se tomaron en cuenta 10 individuos debido a que se desconocía si habían o no enfermado previamente de COVID-19. Se eliminaron 7 personas menores de edad, debido a que no estaban vacunados.

La seroprevalencia del isotipo IgM contra el dominio RBD no tuvo diferencia significativa entre los diferentes grupos. Por otro lado, el nivel de anticuerpos IgG vs RBD fue mayor en el grupo de sujetos con inmunidad híbrida en comparación a los individuos vacunados. Por último, el nivel de anticuerpos IgA vs RBD, también fue mayor en los individuos con inmunidad híbrida en comparación a los vacunados y vacunados + infección por COVID-19 diagnosticada por prueba de antígeno rápido. (Figura 23). La prevalencia por isotipo vs antígeno RBD, se muestra en la tabla 3.



**Figura 23. Seroconversión en individuos del HRAEI vía vacunación o inmunidad híbrida.** a) no se muestra diferencia significativa entre los grupos. b y c) el grupo con mayor seropositividad fue el de inmunidad híbrida. El valor de P está indicado en la gráfica de la siguiente manera:  $P > 0.05$ , \*,  $P \leq 0.01$ , \*\*,  $P \leq 0.001$ , \*\*\*,  $P \leq 0.0001$ , \*\*\*\*. En donde no hay barra, estadísticamente no es significativo (NS). Control - sueros recolectados en año 2017  $n=54$  IgG vs RBD,  $n=27$  IgM e IgA vs RBD. Vacunados  $n=183$ , Vacunados + infxn activa  $n=60$ , Inmunidad híbrida  $n=129$ , Inmunidad híbrida + reinfxn  $n=29$ . No se tomaron en cuenta 10 individuos debido a que se desconocía si habían o no enfermado previamente de COVID-19. Se eliminaron 7 personas menores de edad, debido a que no estaban vacunados.

## 10. Discusión

La pandemia de COVID-19, ha afectado a millones de personas a nivel mundial. En México, después de tres olas de COVID-19 (hasta noviembre 2021), a las que se había enfrentado la población, no se tenían cifras exactas de las personas que habían padecido la enfermedad. Por otra parte, una vez iniciadas las campañas de vacunación tampoco hay datos del número de personas que desarrollaron anticuerpos específicos. Nuestro objetivo, fue detectar anticuerpos séricos contra la proteína N, y contra los dominios S1 y RBD de la proteína S de SARS-CoV-2 para identificar personas que enfermaron de COVID-19 y, además, conocer la seroconversión obtenida a través de la vacunación.<sup>60</sup> Este estudio transversal, cuasiexperimental, lo realizamos mediante técnica de ELISA indirecta con muestras del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca (reconvertido en hospital COVID). El HRAEI es un hospital con una población heterogénea, por ello nos interesaba evaluar como se mueve el virus en esta comunidad para dictar

medidas que restrinjan las posibilidades de infección. Cuatrocientos diecisiete sujetos aceptaron participar en el estudio, 154 eran sujetos administrativos del hospital, 168 individuos eran trabajadores de la salud con trato directo a pacientes COVID-19 y pacientes no COVID-19, 40 pacientes ambulatorios y 55 familiares de pacientes. La seroprevalencia de IgG e IgA contra los tres antígenos de SARS-CoV-2 (N, S1 y RBD) entre la comunidad hospitalaria no tuvo diferencia significativa (figuras 17-20), debido a que, en un hospital, la zona de hospitalización y administrativa, no están herméticamente aisladas, esto nos podría estar hablando de la dispersión del virus en el ambiente hospitalario dado que SARS-CoV-2 es un virus respiratorio que puede mantenerse suspendido en el aire en forma de aerosoles. Aunado a esto, se identificaron brotes de COVID-19 en grupos de trabajo específicos tanto del área administrativa como de la hospitalaria, por ejemplo; 4 personas en la sección de dirección, 6 individuos del grupo de personal, 2 personas de nutrición, 9 médicos obstetras, 4 médicos radiólogos, 3 pediatras, 4 urgenciólogos, 8 enfermeras y 5 médicos intensivistas. La mayoría refirió haberse contagiado en el lugar de trabajo, lo cuál correlaciona con datos obtenidos por Korona-Glowniak y colaboradores en 2022, quienes reportaron que una actividad específica dentro del hospital, no se relaciona a la seroprevalencia, sugiriendo un mayor rol la transmisión comunitaria en el ambiente hospitalario.<sup>61</sup> El isotipo IgM tuvo una mayor heterogeneidad entre la población, anticuerpos vs proteína N, se mantuvieron sin diferencias significativas entre la población, sin embargo, la mayoría de los individuos con seroprevalencia de IgM vs N, también tenían presencia de IgM vs S1 y RBD (Figura 21-23), siendo siete de estos individuos positivos a COVID-19 al momento de la toma de muestra, todos con síntomas leves que fueron manejados en casa. Cabe resaltar que se ha relacionado la gravedad de la infección con la intensidad y nivel de respuesta vs SARS-CoV-2, siendo directamente proporcional, por lo que el ser sujetos cursando con un cuadro leve, mantiene bajos sus niveles de anticuerpos. El grupo con mayor seroconversión fue el de trabajadores de la salud y administrativos, quienes

están un mayor tiempo en el ambiente hospitalario. El que hayan estado expuestos a enfermos con COVID-19 por el brote que hubo entre áreas específicas de trabajo en el hospital y no hayan enfermado, y los que se enfermaron de COVID-19 tuvieron síntomas leves tratados en casa, sugieren que anticuerpos IgM vs S1 y RBD podrían tener actividad neutralizante, como se ha descrito en el trabajo de Malika Hale y colaboradores (2022).<sup>62</sup> Al momento en que consentían participar en el estudio, se les tomaba muestra de sangre para evaluar la presencia de anticuerpos vs SARS-CoV-2 y además se les realizaba prueba rápida de antígeno. Veinte trabajadores administrativos, 58 trabajadores de la salud, 4 pacientes ambulatorios y 13 familiares de pacientes, resultaron positivos. Del total de positivos a SARS-CoV-2, 33 habían recibido dosis de refuerzo entre 0-30 días antes de la toma de muestra de sangre (Astra:25, Pfizer:2, Moderna:3), en ninguno de los sueros se detectó anticuerpos IgM o IgA vs N y únicamente en 5 de las muestras, se detectó anticuerpos IgG vs N, concordando con los datos de Anita Slomski (2022), quien sugiere que personas que recibieron dosis de vacuna mRNA previo a enfermar de COVID-19, limita la detección de anticuerpos vs proteína N de SARS-CoV-2. A diferencia de los datos de Slomski, los individuos contaban con vacunas que contienen la proteína S en adenovirus o vacuna de mRNA, sin embargo, se observa el mismo resultado, por lo que habría que considerar una cohorte más grande para poder establecer un valor significativo.<sup>63</sup> Al 06 de septiembre 2022, el 63.1% de personas a nivel mundial está vacunada y en México 62% de individuos cuentan con esquema completo de vacunación (sin refuerzo), por lo que debe considerarse el historial de vacunación cuando se utilizan las pruebas de anticuerpos como complemento diagnóstico para COVID-19.<sup>64</sup>

Durante la pandemia, se ha reportado que los individuos que han sufrido infección natural por COVID-19 y posteriormente fueron vacunados o visceversa (inmunidad híbrida) tienen una respuesta más eficiente y robusta de anticuerpos <sup>65</sup>. En nuestro estudio, había individuos con inmunidad híbrida,

además, de sujetos con inmunidad adquirida por vacunación que al momento de la toma de muestra cursaban con COVID-19 (vacunación + infección), y a personas con inmunidad híbrida que, al momento de la toma de muestra, cursaban con reinfección por COVID-19. El grupo de inmunidad híbrida presentó una mayor seroposirividad de IgG e IgA vs los dominios S1 y RBD, lo cuál no sorprende, debido a que las vacunas aplicadas en México contenían a la proteína S, independientemente de la forma en que se produjeron. Los pacientes que cursaban con COVID-19 al momento de la toma de muestra, independientemente de si solo habían sido vacunados o cursaban con reinfección, mostraron un menor nivel de anticuerpos, sugiriendo que podrían ser un grupo de riesgo en el que se tendrían que adoptar medidas como dosis de vacunación extra, si son trabajadores de salud, adecuado uso de mascarilla, evitar lugares cerrados poco ventilados e incluso disminuir interacción con pacientes con COVID-19. En el caso del isotipo IgM, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, sin embargo, la seroprevalencia de IgM vs N, mostró mayor nivel en sueros de personas vacunadas y con inmunidad híbrida, perteneciente a administrativos y trabajadores de salud. El ambiente hospitalario implica un medio de exposición al virus que se confirma con la seroprevalencia de anticuerpos dirigidos contra la proteína N, el que sea el isotipo IgM el de mayor seroconversión, sugiere con mayor fuerza su papel de neutralizante.

Nuestro estudio tuvo varias limitaciones. Por ejemplo, las muestras recopiladas de los pacientes no se seleccionaron de forma aleatoria, y solo se realizó en un hospital de tercer nivel reconvertido COVID-19. Se lanzó la convocatoria a todo el HRAEI, y una pequeña porción de la comunidad hospitalaria decidió participar en el protocolo. Esto podría dar lugar a una sobreestimación de la seroprevalencia si los trabajadores tuvieran una sobrerrepresentación de personas que habían experimentado síntomas en el pasado, ya que llenaron los cuestionarios de forma autónoma. Por otro lado, hubo cuestionarios que no fueron llenados de forma correcta, por lo que, en

algunas comparaciones, no se tomaron en cuenta y la n es menor, como en el caso de inmunidad híbrida vs vacunados, sujetos no indicaron si habían padecido previamente COVID-19 o no, por lo que fueron eliminados.

## 11. Conclusión

Nuestros datos demuestran que no hay diferencias significativas en la seroprevalencia por área de trabajo, lo que sugiere que la transmisión comunitaria puede desempeñar un papel superior a la exposición en la actividad laboral. Por otro lado, la detección de anticuerpos vs SARS-CoV-2 en las muestras de la población del HRAEI, se relaciona directamente con la exposición al virus como convivientes.

## 12. Perspectivas

Realizar ensayos de neutralización de las muestras en las que se detectaron anticuerpos vs SARS-CoV-2, con el fin de evaluar si estos impedirán la entrada del virus a la célula.

Secuenciar las muestras de los individuos positivos a COVID-19 para conocer la variante que los infectó.

### 13. Bibliografía

---

1. Esakandari, H., Nabi-Afjadi, M., Fakkari-Afjadi, J., Farahmandian, N., Miresmaeili, S-M. & Bahreini, E. (2020). A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *22(19):1-10*.
2. Adjobimey, T., Meyer, J., Sollberg, L., Bawolt, M., Berens, C., Kovacévic, A., Trudic, A., Parcina, M. & Hoerauf, A. (2022). Comparison of IgA, IgG, and Neutralizing Antibody Responses Following Immunization with Moderna, BioNTech, AstraZeneca, Sputnik-V, Johnson and Johnson, and Sinopharm's COVID-19 Vaccines. *Frontiers in Immunology. 13(917905);1-12*.
3. Herrera-Ortiz, A., Rojas-Delgado, H. U., García-Cisneros, S., Xibille-Friedmann, D. X., Martínez-Barnetche, J... & Sánchez-Alemán, M. A. (2022). Prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies and associated factors in healthcare workers of a Mexican Covid-19 hospital. *Salud pública de México. 64(4):348-356*.
4. Pather, K. A., Wang, C. C. & Schooley R. T. (2020). Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science 368(6498);1422-1424*. New Insights of Emerging SARS-CoV-2: Epidemiology, Etiology, Clinical Features, Clinical Treatment, and Prevention. *Frontiers in Cell and Developmental Biology. 8(410);1-22*.
5. Wiersinga, W. J., Rhodes, A., Cheng, A. C., Peacock, S. J., Prescott, H. C. (2020). Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA. 324(8):782-793*.
6. Wang, C. C., Prather, K. A., Sznitman, J., Jimenez, J. L., Lakdawala, S. S., Tufekci, Z. & Marr, L. C. (2021). Airborne transmission of respiratory viruses. *Science. 373(981):1-12*.
7. Parasher, A. (2020). COVID-19: Current understanding of its pathophysiology, clinical presentation and treatment. *Postgrad Med J. 0;1-9*.
8. Guo, G., Ye, L., Pan, K., Chen, Y., Xing, D., Yan, K., Chen, Z., Ding, N., Li, W., Huang, H., Zhang, L., Li, X. & Xue, X. (2020). New Insights of Emerging SARS-CoV-2: Epidemiology, Etiology, Clinical Features, Clinical Treatment, and Prevention. *Frontiers in Cell and Developmental Biology. 8(410): 1-22*.
9. Yuki, K., Fujiogi, M. & Koutsogiannaki, S. (2020). COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology. 215(108427):1-7*.
10. Christie, M. J., Irving, A. T., Forster, S. C., Marsland, B. J., Hansbro, P. M., Hertzog, P. J., Nold-Petry, C. A. & Nold, M. F. (2021). Of bats and men: Immunomodulatory treatment options for COVID-19 guided by the immunopathology of SARS-CoV-2 infection. *Sci. Immunol. 6;1-20*.
11. Tay, M. Z., Poh, C. M., Rénia, L., MacAry, P. A. & Ng, L. F. P. (2021). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Immunology. 20:363-374*.

- 
12. Sette, A. & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 184;861-880.
  13. Ng, K. W., Faulkner, N., Finsterbusch, K., Wu, M., Harvey, R., Hussain, S., Greco, M., Liu, Y., Kjaer, S., Swanton, C., Gandhi, S... & Kassiotis, G. (2022). SARS-CoV-2 S2-targeted vaccination elicits broadly neutralizing antibodies. *Sci. Transl. Med.* Eabn3715;1-15.
  14. Diamond, M. S. & Kanneganti, T-D. (2022). Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. *Nature Immunology*. 23;165-176.
  15. Zhou P., Yang X-L., Wang X-G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H-R., Zhu Y., ... & Shi Z-L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. 1:20.
  16. Shah, V. K., Firmal, P., Alam, A., Ganguly, D., & Chattopadhyay, S. (2020). Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Frontiers in Immunology*. 11(1949); 1-17.
  17. Hu B., Guo H., Zhou P., & Shi Z. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature, Microbiology*.19: 141-154.
  18. Vabret N., Britton G. J., Gruber C., Hegde S., Kim J., Kuksin M., Levantovsky R., ... & Samstein R. M. (2020). Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity* 52.
  19. Osuchowski, M. F., Winkler, M. S., Skirecki, T., Cajander, S., Shankar-Hari, M., Lachmann, G., ... & Rubio, I. (2021). The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *The lancet.com/respiratory*. 9:622-642.
  20. Koelle K., Martin M. A., Antia R., Lopman B. & Dean N. E. (2022). The changing epidemiology of SARS-CoV-2. *Science*. 375(6585);116-1121.
  21. Xiao K., Zhai J., Feng Y., Zhou N., Zhang X., Zou J-J., Li N., Guo Y., ... & Shen Y. (2020). Isolation of SARS-CoV-2 related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*. 583: 286-301.
  22. Valdez-Cruz N. A., García Hernández E., Espitia C., Cabos Marín L., Altamirano C., ... & Trujillo-Roldán M. A. (2021). Integrative overview of antibodies against SARS-CoV-2 and their possible applications in COVID-19 Prophylaxis and treatment. *Microb Cell Fact*. 20(88): 1-32.
  23. Li, F., (2016). Structure, function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol*. 3(1):237-261.
  24. Huang B., Ling R., Cheng Y., Wen J., Dai Y., Huang W., Zhang S., Lu X., Luo Y., & Jiang Y. (2020). Characteristics of the Coronavirus Disease 2019 and related therapeutic options. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*. 18.
  25. Jackson, C. B., Farzan, M., Chen, B. & Choe, H. (2022). Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 23:1-19.

- 
26. Cascella, M., Rajnik, M., Aleem, A., Dulebohn, S. C., Di Napoli, R. (2022). Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). National Center for Biotechnology Information. 1-158.
27. Takeda M. (2022). Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. *Microbiol and Immunol.* 66:15-23.
28. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrier, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrier, G., Wu, N-H., Nitsche A., Müller M. A., Drosten, C. & Pöhlmann S. (2020). SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 181;271-280.
29. McBride, R.; Van Zyl, M.; Fielding, B.C. (2014). The Coronavirus Nucleocapsid Is a Multifunctional Protein. *Viruses*, 6, 2991–3018.
30. Graham C., Seow J., Huettner I., Khan H., Kouphou N., Acors S., ... & Doores K. J. (2021). Neutralization potency of monoclonal antibodies recognizing dominant and subdominant epitopes on SARS-CoV-2 Spike is impacted by the B.1.1.7 variant. *Immunity.* 54:1-14.
31. Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J. & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. 371:1-6.
32. Infectious Diseases. (2022). What Is Coronavirus?. Johns Hopkins Medicine. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/coronavirus>
33. Lai, C-C., Shih, T-P., Ko, W-C., Tang, H-J. & Hsueh, P-R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 55(105924);1-9.
34. Aguilar, R. B., Hardigan, P., Mayi, B., Sider, D., Piotrkowski, J., Mehta, J. P., Dev, J., Seijo, Y., Lewis Camargo, A., Andux, L., Hagen, K. & Hernandez M. B. (2020). Current Understanding of COVID-19 Clinical Course and Investigational Treatments. *Frontiers in Medicine* 7;1-11.
35. Araf, Y., Akter, F., Tang, Y-d., Fatemi, R., Alam Parvez, M. S., Zheng, C. & Hossain M. G. (2022). Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *J Med Virol.* 94;1825-1832.
36. Li, B., Deng, A., Li, K., Hu, Y., Li, Z., Xiong, Q., Liu Z., Guo, Q., Zoi, L., Zhang, H., Zhang M., ... & Lu. J. Viral infection and transmission in a large, well-traced outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant. *medRxiv. Preprint.* 1:23.
37. Bollinger, R., Ray, S. & Maragakis, L. (2022). COVID Variants: What You Should Know. Johns Hopkins Medicine. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditionsanddiseases/coronavirus/a-new-strain-of-coronavirus-what-you-should-know>
38. Kawasaki, T., Ikegawa, M. & Kawai, T. (2022). Antigen Presentation in the Lung. *Frontiers in Immunology.* 13(860915);1-13.

- 
39. Abbas, A. K. (2012). *Innate Immunity. Cellular and Molecular Immunology. Seventh Edition.*, 55. Elsevier Saunders.
40. Van Kaer, L., Postoak, J. L., Song, W., & Wu, L. (2022). Innate and Innate-like Effector Lymphocytes in Health and Disease. *J. Immunol.* 209(2):199-207.
41. Chen, S., Guan, F., Candotti, F., Benlagha, K., Saraiva Camara, N. O., Herrada, A. A., James, L. K., Lei, J., Miller, H., Kubo, M., Ning, Q. & Liu, C. (2022). The role of B cells in COVID-19 infection and vaccination. *Frontiers in Immunology.* 1-13.
42. Vinuesa, C. G., Toellner, K. M. & Papa, I. (2016). Extrafollicular Antibody Responses. *Encyclopedia of Immunobiology.* 3:208-216.
43. MacLennan, I. C. M., Toellner, K-M., Cunningham, A. F., Serre, K., Sze, D. M-Y., Zuñiga, E., Cook, M. C. & Vinuesa, C. G. (2013). Extrafollicular antibody responses.
44. Sánchez-Salguero, E. S. & Santos-Argumedo, L. (2018) Human microbiota association with immunoglobulin A and its participation in immune response. *Revista Alergia México.* 65(3): 264-278.
45. Yu, D., Walker, L. S. K., Liu, Z., Linterman, M. A. & Li, Z. (2022). Targeting TFH cells in human diseases and vaccination: rationale and practice. *Nature immunology.* 23:1157-1168.
46. Alapan, Y. & Thomas, S. N. (2022). Mechanics drive lymph node expansion. *Nature immunology.* 23:1135-1143.
47. Feldman, J., Bals, J., Altomare, C. G., St. Denis, K., Lam, E. C., Hauser, B. M., Ronsard, L., Sangesland, M., Bracamonte Moreno, T., Okonkwo, V., Hartojo, N., Balazs, A. B., Bajic, G., Lingwood, D. & Schmidt, A. G. (2021). Naïve human B cells engage the receptor binding domain of SARS-CoV-2, variants of concern, and related sarbecoviruses. *Science Immunology.* 1-18.
48. Abbas, A. K. (2012). *Innate Immunity. Cellular and Molecular Immunology. Seventh Edition.*, 271-272. Elsevier Saunders.
49. Guo, L., Ren, L., Yang, S., Xiao, M., Chang, D., Yang, F., Dela Cruz, C. S., Wang, Y., Wu, C., ... (2020) Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases.* 1-8.
50. Vabret N., Britton G. J., Gruber C., Hegde S., Kim J., Kuksin M., ... & Samstein R. M. (2020) Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity.* 53:910-941
51. McGrath, J. J. C., Li, L. & Wilson P. C. (2022). Memory B cell diversity: insights for optimized vaccine design. *Trends in Immunology.* 43(5);343-354.
52. Dugan H. L., Stamper C. T., Lei Li, Changrob S., Asby N. W., Halfmann P. J., ... & Wilson P.C. (2021). Profiling B cell immunodominance after SARS-CoV-2 infection reveals antibody evolution to non neutralizing viral targets. *S1074-7613(21)00 198-9.*

- 
53. Turner, S., Kim, W., Kalaidina, E., Goss, C.W., Rauseo, A.M., Schmitz, A.J., Hansen, L., Haile, A., Klebert, M. K., Pusic, I., O'Halloran, J. A., Presti, R. M. & Ellebedy, A. H. (2021). SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. *Nature*. 595:421–25.
54. Teijaro, J. R. & Farber, D. L. (2021). COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. *Nature Reviews, Immunology*. 21;195-197.
55. Rodda, L. B., Morawski, P. A., Pruner, K.B., Fahning, M. L., Howard, C. A., Franko, N., Logue, J... & Pepper, M. (2022). Imprinted SARS-CoV-2-specific memory lymphocytes define hybrid immunity. *Cell*. 185;1-14.
56. Rosati, M., Terpos, E., Ntanasis-Stathopoulos, I., Agarwai, M., Bear, J., Burns, R., Hu, X., ... & Felber, B. K. (2021). Sequential Analysis of Binding and Neutralizing Antibody in COVID-19 Convalescent Patients at 14 Months after SARS-CoV-2 Infection. *Frontiers in Immunology*. 12(793953);1-9.
57. Jacot, D., von Rotz, U., Blondet, F., Aebischer, O., Matthieu, P., De Rham, M., Pantaleo, G., Marchetti, O. & Greub, G. (2022). SARS-CoV-2 seroprevalence in hospital healthcare workers in Western Switzerland at the end of the second pandemic wave. *Journal of Medical Microbiology*. 71:1-9.
58. García-Cordero, J., Mendoza-Ramírez, J., Fernández-Benavides, D., Roa-Velazquez, D., Filisola-Villaseñor, J. (2021). Recombinant Protein Expression and Purification of N, S1, and RBD of SARS-CoV-2 from Mammalian Cells and Their Potential Applications. *Diagnostics*. 11; (1808): 1-14.
59. Akobeng, A. K. (2007). Understanding diagnostic tests 3: Receiver Operating Characteristic curves. *Acta Paediatr*. 96(5):644-7.
60. Nuccetelli, M., Pieri, M., Gisone, F. & Bernardini, S. (2020). Combined anti-SARS-CoV-2 IgA, IgG, and IgM Detection as a Better Strategy to Prevent Second Infection Spreading Waves. *Immunological investigations*. 1-13.
61. Korona-Głowniak, I., Mielnik, M., Podgajna, M., Grywalska, E., Hus, M., Matuska, K., Wojtysiak-Duma, B., Duma, D., Głowniak, A. & Malm, A. (2022). SARS-CoV-2 Seroprevalence in Healthcare Workers before the Vaccination in Poland: Evolution from the First to the Second Pandemic Outbreak. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 19;(2319):1-13.
62. Hale, M., Netland, J., Chen, Y., Thouvenel, C. D., Nabel Smith, K., Rich, L. M., Vanderwall, E. R., Miranda, M. C., Eggenberger, J. ... & Rawlings, D. J. (2022). IgM antibodies derived from memory B cells are potent cross-variant neutralizers of SARS-CoV-2. *J. Exp. Med*. 219(9):1-14.
63. Slomski, A. (2022). Antibody Testing's Limits for Detecting Prior SARS-CoV-2 Infection. *JAMA*. 328(8):700-701.

---

64. Our World in data. (2022). [https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=OWID\\_WRL](https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=OWID_WRL).

65. Suyawanshi, R. & Ott, M. (2022). SARS-CoV-2 hybrid immunity: silver bullet or silver lining?. *Nature reviews, Immunology*. 1-2.

## 14. Anexos

### 14.1 Consentimiento informado



DIRECCIÓN GENERAL  
DIRECCIÓN DE PLANEACIÓN, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título del Protocolo/Tesis:** Generación y aplicación de herramientas serológicas y moleculares y rastreo de movilidad para el estudio de la epidemia de COVID-19 en el Hospital Regional de Alta especialidad Ixtapaluca.

**\*\*Investigador principal:** Dra. Martha Espinosa Cantellano y Dr. Gustavo Acosta Altamirano

**\*\*Teléfono de emergencia:** 5557473800 extensión: 3893 y 5585807539.

**\*\*Dirección:** Carr Federal México-Puebla Km. 34.5, Zoquiapan, 56530 Ixtapaluca, Méx.

**\*\*Nombre del paciente:** \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, en tonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

#### **\*\*1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.** *(Dar razones de carácter médico y social).*

La realización del proyecto conjunto por parte del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) y el Hospital Regional de Alta Especialidad Ixtapaluca (HRAEI) contribuye al análisis de la efectividad de la aplicación de estas herramientas tecnológicas con la finalidad de contar con métodos de diagnóstico y seguimiento más rápidos para una pronta resolución de casos, esto pudiera representar la contención en la dispersión de la infección por SARS-CoV-2.

#### **\*\*2. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

Se realiza este estudio con el fin de desarrollar estrategias de mitigación y de contención integral de la pandemia por COVID-19 en México, identificar linajes/variante, así como desarrollar y aplicar ensayos serológicos para la detección de anticuerpos totales y neutralizantes dirigidos contra el virus SARS-CoV-2

#### **\*\*3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Dado que la pandemia es un problema de carácter público, el beneficio es a todo personal que colabore en el HRAEI y al público en general que se encuentren en la zona hospitalaria, además de: identificar zonas de riesgo, implementar mecanismos automático por la App móvil, y que por medio del ensayo serológicos obtener la determinación de títulos de anticuerpos dirigidos contra SARS-CoV-2.

Este estudio consta de las siguientes fases:

- (1) Registro. (2) Toma de hisopado nasofaríngeo y sangre periférica en tubos morados para las técnicas planteadas.

Posterior a la *toma de sangre*, se puede presentar *dolor* o *se puede llegar a formar una equimosis o morete*. Para el *hisopado nasofaríngeo* puede ser *incómodo* y *causar tos o náuseas*, sin embargo todos estos efectos son pasajeros.

#### **\*\*4. PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES**

El tratamiento de sus datos personales de identificación y datos personales sensibles, se realiza con fundamento en lo establecido en el Título Primero "Disposiciones Generales" Capítulo I "Del Objeto de la Ley", artículo 1, 2 en sus fracciones I- IX, 3,4,5,6,7,8, Capítulo II Del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información y Protección de Datos Personales, artículo 14. Título segundo "Principios y Deberes" Capítulo I "De los Principios", artículo 16, 17, 18, 19, 20 y 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 fracción III, 28 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados publicado en Nueva Ley DOF 26-01-2017. Del Decreto por el que se crea el Hospital Juárez de México, como un Organismo Descentralizado de la Administración Pública Federal, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de enero de 2005. De igual manera, en el capítulo I "Disposiciones generales" Artículo 1, 2 fracción I, XV y artículo 3 fracción I, II, III, VI, VII, XI, XIV y capítulo VI "De los servicios médicos sustantivos y administrativos" artículo 40, 41, 42 y 43 en todas sus fracciones y del Estatuto Orgánico del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca, publicado en el Diario Oficial de la Federación 29 de Noviembre del 2021.

Los datos personales que le solicitaremos serán utilizados exclusivamente para las finalidades expuestas en este documento. Usted puede solicitar la corrección de sus datos o que sus datos se eliminen de nuestras bases o retirar su consentimiento para su uso. En caso de que los datos personales se compartan con otras instancias: Como parte de la colaboración de este estudio, su información será compartida con los investigadores del CINVESTAV. Si no está de acuerdo en que se compartan sus datos con dicha instancia, le pedimos nos lo comuniquemos enviando un mensaje al investigador principal a la siguiente dirección de correo: [mespinozac@investav.mx](mailto:mespinozac@investav.mx)

Sus datos personales y/o resultados que arroje el estudio, NO serán transferidos a ninguna persona física o moral.

Sus datos personales y/o resultados del estudio podrán ser transferidos al CINVESTAV, a la Dra. Martha Espinoza Cantellano titular del proyecto de investigación.

#### **\*\*5. PAUTA DE LA INFORMACIÓN**

La información que requiera a todo paciente que participe en este protocolo de investigación, podrá ser proporcionada con Dr. Gustavo Acosta Altamirano, Director de Planeación, Enseñanza e Investigación o el Dr. Pedro José Curi Curi Presidente del Comité de Ética en Investigación, que se encuentran ubicados en el edificio E del HRAEI.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido esta carta de consentimiento informado, me han explicado el estudio de investigación incluyendo el objetivo, los posibles riesgos y beneficios, y otros aspectos sobre mi participación en el estudio, me han respondido satisfactoriamente mis dudas. Autorizo se me permita grabar durante la toma de muestra únicamente con fin académico y como evidencia de la realización del protocolo en estudio.

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

Carretera Federal México -Puebla km. 34.5, Pueblo de Zoquiapan, C. P. 53530, Municipio de Ixtapaluca, Estado de México.  
Tel: (55) 5972 9800 [www.hraei.gob.mx](http://www.hraei.gob.mx)



14.2 Cuestionario



<u>Generación y aplicación de herramientas serológicas y moleculares y rastreo de movilidad para el estudio de la epidemia de COVID-19 en el Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca"</u>			
			<b>Folio No. CINV- 001</b>
<b>Datos personales</b>			
Nombre completo:			
Domicilio donde reside:		Calle, No., Alcaldía, C.P.	Ciudad:
Teléfono:		Correo electrónico:	
<b><u>Padece alguna enfermedad:</u></b>			
Estatura		Edad:	Peso:
<b>Datos epidemiológicos</b>			
Durante este periodo de confinamiento ¿ha enfermado de COVID-19?		<b>Si</b>	<b>No</b>
Fecha de inicio desíntomas:		Fecha de diagnóstico:	
¿ha convivido con alguien COVID-19 positivo?		<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Datos clínicos</b>			
En la última semana, ¿ha presentado tos, fiebre, dolor de cabeza, dolor de garganta, escurrimiento nasal?		<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Vacunación</b>			
¿Se ha vacunado vs COVID-19?		<b>Si</b>	<b>No</b>
¿Qué vacuna se aplicó? (pfizer, astra, moderna, cansino, sputnik)			
Fecha primera dosis			
Fecha segunda dosis			
¿Qué vacuna de refuerzo le aplicaron?			
<b>Perfil de Participante</b>			
Familiar de Paciente del HRAEI		Área en la que se encuentra el paciente: _____	
Trabajador Operativo del RAEI		Área al que se encuentra adscrito: _____	
Paciente del HRAEI		Área al que se encuentra adscrito: _____	
Médico (a)/ Residente			
Enfermera (o)			
Vendedor Ambulante			
Otra:		Especificar: _____	

---

### 14.3 Fórmula utilizada para el tamaño de la muestra

Fórmula para calcular el tamaño de muestra en una población finita

$$n = \frac{N Z^2 p q}{e^2 (N - 1) + Z^2 p q} = 376$$

- n= Tamaño de muestra
- N= Tamaño poblacional en riesgo = 15,000 - 100,000
- Z= parámetro estadístico que depende del nivel de confianza (NC)= 95%
- p= Proporción de interés = 0.30
- q= (1 - p) = 0.70
- e=error de estimación máximo aceptado = 5%