

Determinación de anticuerpos con el equipo comercial SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott) como marcador subrogante de Anticuerpos Neutralizantes en potenciales donantes de PCC-19.

Universidad Nacional de Córdoba: Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella” FCM/ CONICET—Dra. Sandra Gallego, Bioq. Sebastián Blanco, Dra. Brenda Konigheim, Dra. Lorena Spinsanti, Dr. Adrian Díaz, Bioq. Juan Aguilar, Dr. Mauricio Beranek, Dra. María Elisa Rivarola. **Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales** - Dr. Arnaldo Mangeaud.

Hospital Rawson- Ministerio de Salud: Med. Esp. Infect. Miguel Díaz, Bioq. Esp. Hematol. César Collino, Bioq. Esp. Cecilia Zini, Bioq. Aldo Barrera.

Ministerio de Salud de la Provincia Córdoba: Ministro de Salud Dr. Diego Cardozo; Secretaria de Prevención y Promoción de la Salud Bioq. Esp. Virol. María Gabriela Barbás, Jefa de Epidemiología Mag Laura Lpez.

Laboratorio Central: Bioq. Natalia Gómez, Bioq. Esp. Virol Soledad Almada

Fundación Banco Central de Sangre, Córdoba: Med. Esp. Med. Tranf. Luis Horacio Carrizo, Bioq. Esp. Virol. Mildre Valle.

Frente a la ausencia de opciones para el tratamiento específico y efectivo de COVID-19, la administración de Plasma de Convaleciente COVID-19 (PCC-19) en forma temprana y con altos títulos de Anticuerpos Neutralizantes, continúa siendo vital en el tratamiento de la enfermedad asociada a la infección por SARS-CoV-2 (1,2).

El Ministerio de Salud de la Nación ha emitido Recomendaciones para el “Uso apropiado del plasma de pacientes recuperados de COVID-19 con fines terapéuticos” (3) para normalizar la utilización de este hemocomponente. Dichas recomendaciones establecen como requisito que las donaciones de plasma de pacientes recuperados de la infección por SARS-CoV-2 deben realizarse condicionadas a la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2, para determinar la aptitud del plasma antes de su utilización. Así, se busca asegurar el uso de PCC-19 que contengan títulos altos de IgG anti SARS-CoV-2 para el tratamiento, al principio del curso de la enfermedad, de los pacientes hospitalizados.

Como previamente se ha comunicado, en el Instituto de Virología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba (InViV) se desarrolló una

Técnica de Neutralización Viral por Reducción de Placas (TNRP) para la detección y cuantificación de Anticuerpos Neutralizantes (AcNT) contra el SARS-CoV-2 (4). Este ensayo biológico es considerado un método Gold Standard para medir la inhibición de la infección viral a la célula (neutralización) por medio de anticuerpos específicos. Si bien es posible utilizar técnicas alternativas para la determinación de AcNT, las mismas, antes de poder ser empleadas en la selección de los plasmas, deben evaluarse y compararse con la TNRP para determinar su capacidad en la detección de este tipo específico de anticuerpos, definiendo el rango de lecturas que son equivalentes a determinados títulos de AcNT. Debido a que se ha demostrado que la eficiencia terapéutica del plasma de convaleciente está sujeta a una concentración mínima de AcNT presente en dicho plasma, y siendo el título mínimo aceptable recomendado por los organismos internacionales 1:80 (5), al utilizar técnicas alternativas a la Gold Standard, es necesario determinar qué valor de lectura (o rango de valores) por dicha técnica permite predecir con alta probabilidad el título óptimo de AcNT.

Dado que uno de los equipos comerciales que está siendo ampliamente utilizado en la actualidad en diversos centros de salud del país para el tamizaje de los PCC-19, es el ensayo cualitativo y cuantitativo (definido por el inserto publicado por el fabricante) que detecta anticuerpos contra la proteína S del virus SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, Sligo, Ireland), realizamos en el laboratorio del InViV la evaluación de la performance de dicho equipo comercial contra el ensayo de TNRP. Con esta comparación de métodos se verificó la estimación de la concentración de IgG anti-SARS-CoV-2 respecto a títulos de AcNT informada por el fabricante (Inserto equipo SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, Sligo, Ireland)).

Se evaluaron un total de 397 muestras de plasma correspondientes a potenciales donantes de plasma, los cuales se clasificaron en tres grupos: 1- 253 (63,73%) individuos recuperados de la infección por SARS-CoV-2; 2- 63 (15,87%) individuos recuperados de la infección por SARS-CoV-2 que recibieron una dosis de la vacuna Sputnik-V (muestra tomada transcurridos 14 días de la fecha de inmunización); 3- 81 (20,40%) individuos recuperados de la infección por SARS-CoV-2 que recibieron dos dosis de la vacuna Sputnik-V (muestra tomada a los 21 días de la inmunización).

Todas las muestras fueron ensayadas por TNRP frente al virus salvaje SARS-CoV-2 (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0001/2020, GISAID ID: EPI_ISL_499083) utilizando células Vero

CI76 (ATCC CRL-587). Los AcNT fueron titulados, estableciéndose como el título a la máxima dilución del plasma con capacidad de neutralizar al menos el 80% de las Unidades Formadoras de Placa (UFP) inoculadas, como previamente ha sido descripto (6). La determinación de anticuerpos tipo IgG contra la proteína S del virus por el equipo SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott) se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Los resultados se describen en tablas y gráficos con frecuencias absolutas y porcentajes. Para probar las asociaciones entre los valores obtenidos por el ensayo de Abbott (AU/mL) y los títulos de AcNT, se realizaron análisis de correlación de Spearman. Las probabilidades de predicción de títulos altos de AcNT ($\geq 1:80$) por parte del ensayo de Abbott, se establecieron mediante regresiones logísticas. Se utilizó el soft R-Medic (7) y en todos los casos el nivel de significación fue del 5%.

Se encontró una correlación positiva significativa entre los valores de anticuerpos anti S por el kit de Abbott y los títulos de AcNT ($r=0,8569$ y $p<0,001$) (Figura 1).

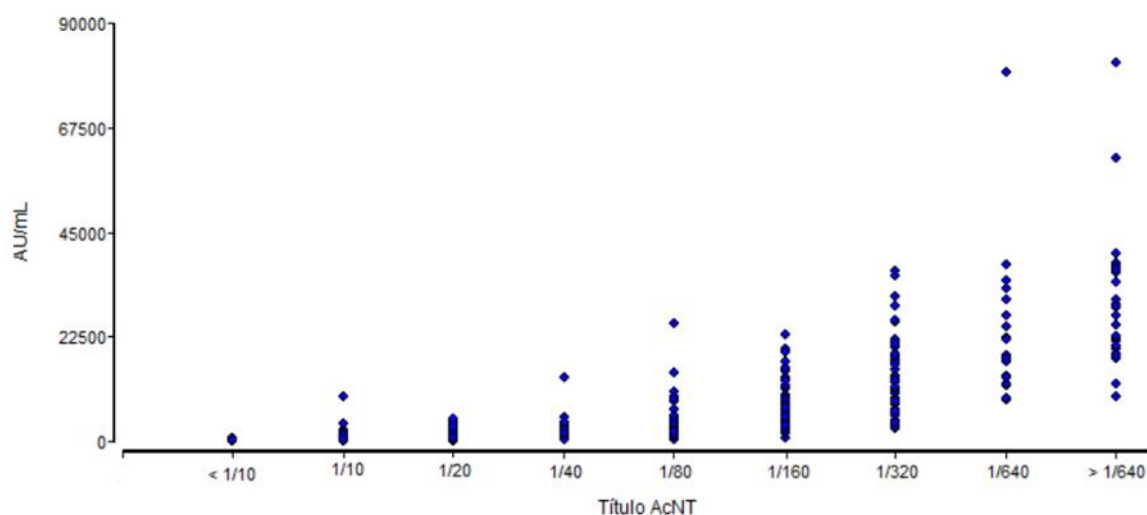


Figura 1. Correlación entre las lecturas por Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant y los títulos de AcNT en la totalidad de las muestras analizadas ($n= 397$).

Al evaluarse los tres grupos por separado se obtuvieron valores similares de correlación entre las (AU/mL) de anticuerpos anti S y los AcNT (Figuras 2,3 y 4).

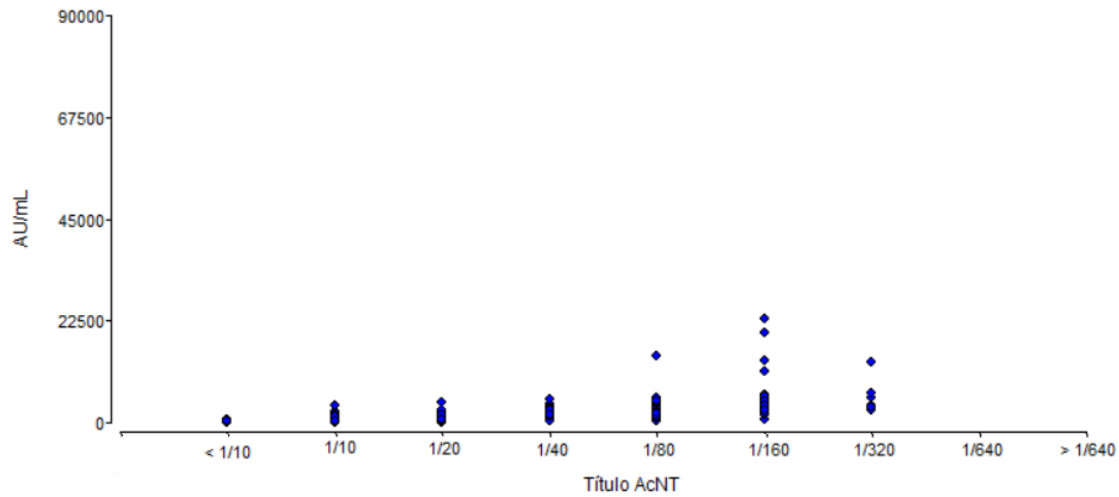


Figura 2. Correlación entre las lecturas por Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant y los títulos de AcNT ($r=0,64$; $p<0,001$), en las muestras de individuos infectados recuperados ($n= 253$).

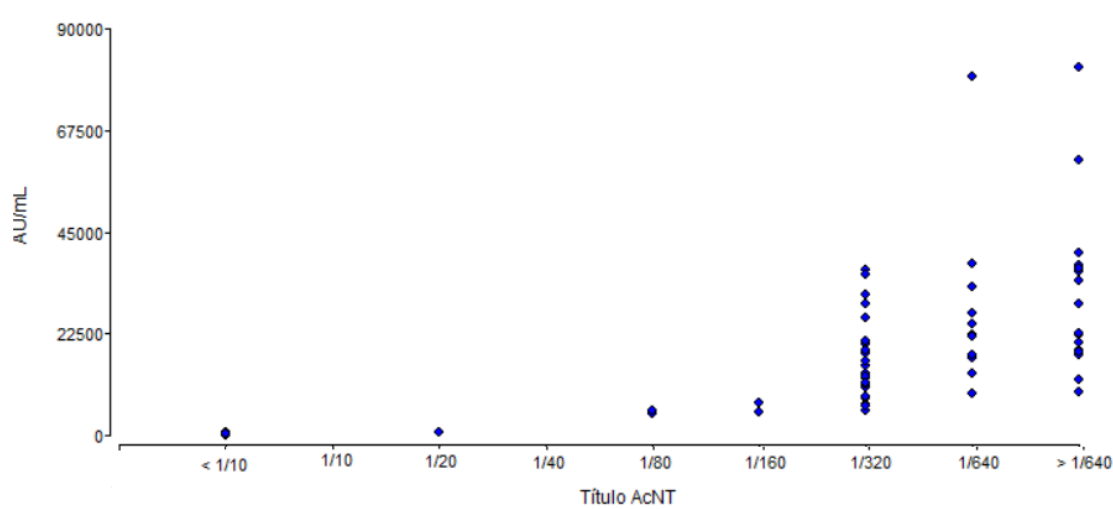


Figura 3. Correlación entre las lecturas por Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant y los títulos de AcNT ($r=0,66$; $p<0,001$), en las muestras de individuos Infectados recuperados y una dosis de Sputnik V ($n=63$).

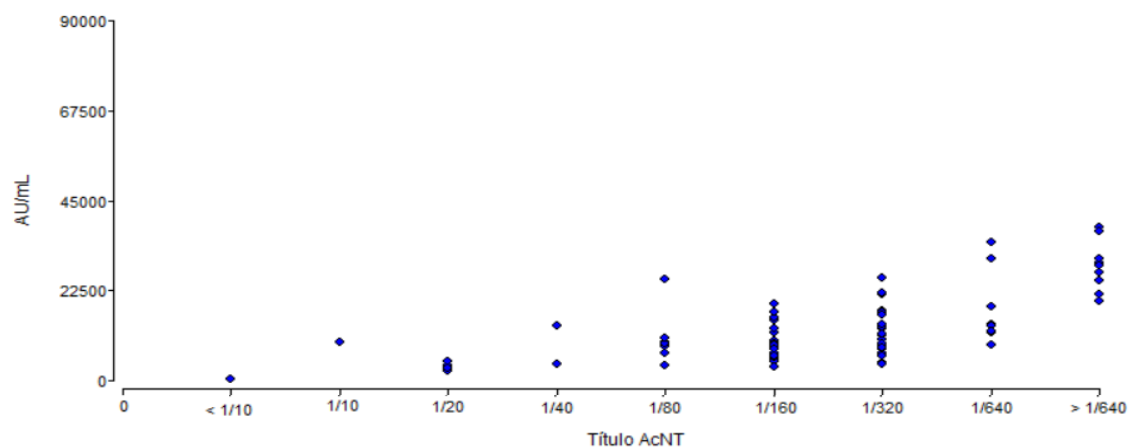


Figura 4. Correlación entre las lecturas por Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant y los títulos de AcNT ($r=0,66$; $p<0,001$), en las muestras de individuos infectados recuperados y dos dosis de Sputnik V ($n=81$).



Resultados del análisis de regresión logística que muestra las probabilidades con que los diferentes valores de (AU/mL) por el equipo **SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, Sligo, Ireland)** predicen títulos de AcNT $\geq 1:80$ en los diferentes grupos de potenciales donantes de plasma:

Anticuerpos anti S*	Probabilidad		
AU/mL	Infectados recuperados	Infectados recuperados y una dosis de Sputnik V	Infectados recuperados y dos dosis de Sputnik V
1000	0,1074	<0,0001	0,3781
1500	0,1762	<0,0001	0,4246
2000	0,2755	0,0035	0,4724
2300	0,3494	0,0313	0,5014
2500	0,4033	0,1226	0,5208
2700	0,4597	0,3771	0,5401
3000	0,5458	0,8451	0,5687
3500	0,6811	0,9953	0,6155
4000	0,7915	0,9999	0,6601
4500	0,8709	>0,9999	0,7021
5000	0,923	>0,9999	0,741
5500	0,9552	>0,9999	0,7794
6000	0,9743	>0,9999	0,8082
6500	0,9854	>0,9999	0,8364
7000	0,9917	>0,9999	0,8612
8000	0,9974	>0,9999	0,9014
9000	0,9991	>0,9999	0,9303
10000	0,9997	>0,9999	0,952

*Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant.

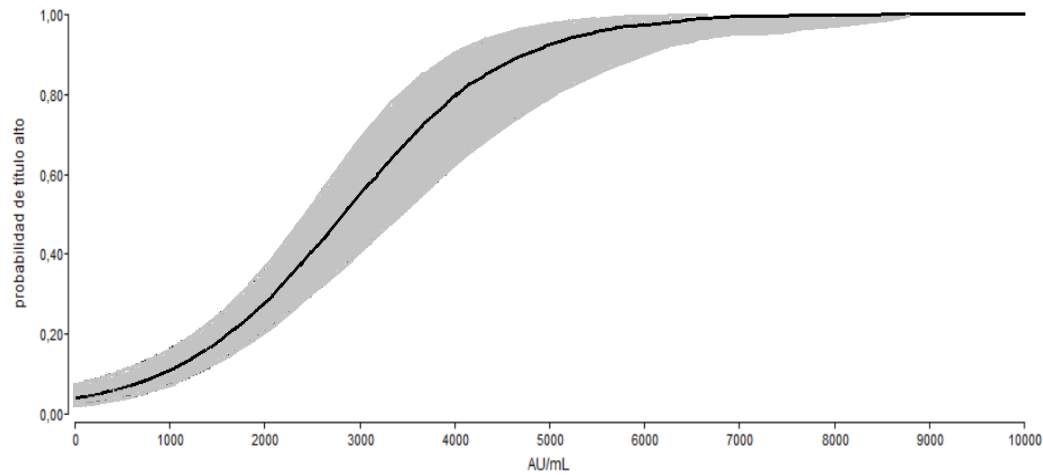


Figura 5. Curva de probabilidad de predicción de títulos altos de AcNT ($\geq 1:80$) mediante regresión logística, para muestras de individuos recuperados de la infección. Se presenta valor estimado e intervalo de confianza del 95%.

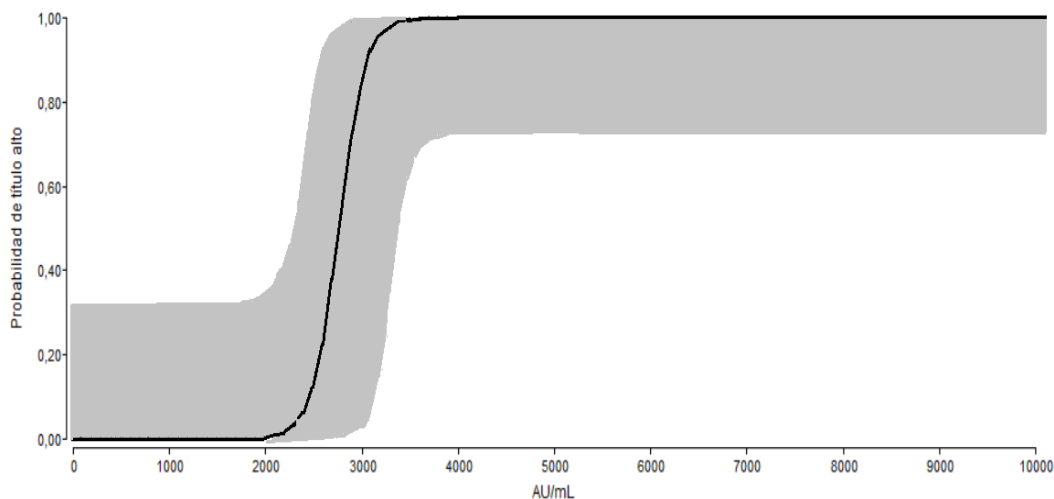


Figura 6. Curva de probabilidad de predicción de títulos altos de AcNT ($\geq 1:80$) mediante regresión logística, para muestras de individuos recuperados de la infección y una dosis de la vacuna Sputnik V. Se presenta valor estimado e intervalo de confianza del 95%.

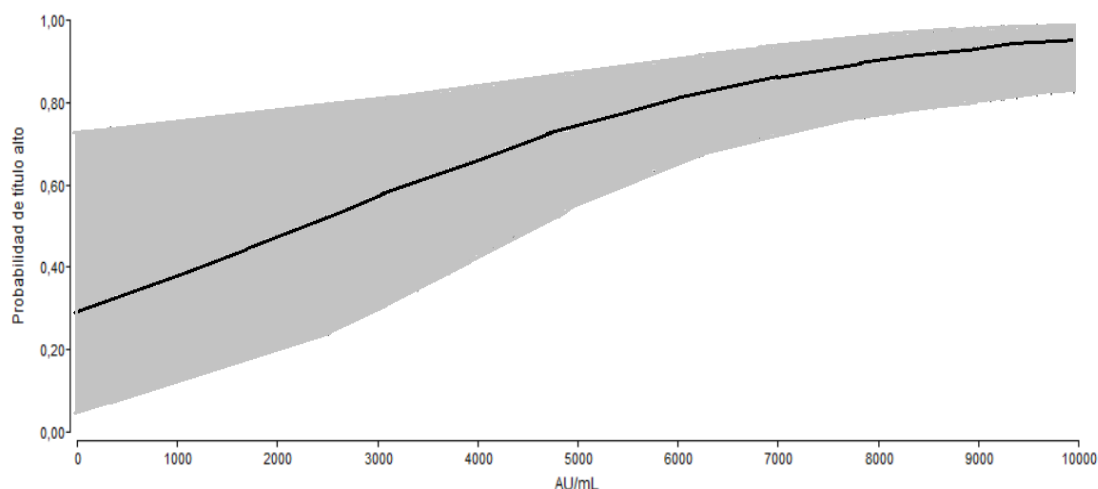


Figura 7. Curva de probabilidad de predicción de títulos altos de AcNT ($\geq 1:80$) mediante regresión logística, para muestras de individuos recuperados de la infección y dos dosis de la vacuna Sputnik V. Se presenta valor estimado e intervalo de confianza del 95%.

Los hallazgos comunicados en este documento demuestran un buen rendimiento del equipo SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, Sligo, Irlanda). En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo en el que se evaluó la performance del equipo SARS-CoV-2 IgG (Architect Abbott) para la detección de anticuerpos contra la nucleocápside del virus y su correlación con la TNRP en 227 muestras de plasma de convalecientes, se observó para el citado equipo una sensibilidad aceptable, pero los valores predictivos positivos para AcNT fueron muy bajos tanto para lecturas ≥ 5 (VPP 36%) como para lecturas ≥ 6 (VPP 47%) (Datos no publicados). Como se esperaba, el desempeño del equipo que, por su configuración antigénica permite detectar anticuerpos anti-spike, es mejor que la del equipo que detecta anticuerpos anti-nucleocápside para predecir la presencia de AcNT en plasma humano.

En el inserto del equipo SARS-CoV-2 IgG II Quant, el fabricante comunica una probabilidad de 80% de detección de título alto de AcNT (1:250) utilizando una TNRP ID50 en una concentración de IgG anti-SARS-CoV-2 de 2150 AU/mL. Nuestros resultados muestran que, comparando el mismo equipo comercial de Abbott con una TNRP estandarizada y validada con una semilla viral de circulación en Argentina, se obtiene una probabilidad de detección de AcNT igual o mayor a 80% en una concentración de IgG anti-SARS-CoV-2 de 4500 AU/mL para el grupo de individuos recuperados, de 3000 AU/mL para el grupo de individuos recuperados que han recibido una dosis de la vacuna y de 6000 AU/mL para los individuos recuperados que han recibido dos dosis de la

vacuna Sputnik V. Debe notarse que de los grupos de individuos recuperados que han recibido una o dos dosis de la vacuna las muestras han sido obtenidas transcurridos 14 y 21 días desde la fecha de inmunización respectivamente.

Estos datos demuestran la importancia de realizar la evaluación metodológica analítica regional de equipos comerciales empleados como marcadores subrogantes para la detección de Anticuerpos Neutralizantes.

Referencias

1. Sahu KK, Jindal V, Siddiqui AD, Cerny J, Gerber JM. Convalescent plasma therapy: A passive therapy for an aggressive COVID-19. J Med Virol 2020; 92: 2251:53: <https://doi.org/10.1002/jmv.26047>
2. FDA-COVID-19 Convalescent Plasma EUA Decision Memo, 2020 <https://www.fda.gov/media/141480/download>.
3. Resolución 9, 2021. Ministerio de Salud de la Nación, Secretaria de Calidad en Salud. Boletín oficial N° 34573, primera sección. P 8-9. Publicado el 29 de enero de 2021.
4. Respuesta frente a la pandemia por SARS CoV 2 en Córdoba: detección de anticuerpos neutralizantes en individuos recuperados en el territorio de la provincia. 17 Julio de 2020. <https://cordoba.conicet.gov.ar/respuesta-frente-a-la-pandemia-por-sars-cov-2-en-cordoba/>); https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/RDUUNC_dd9da3ee7cb4ec9ab58800dc03cc8b78
5. Food and Drug Administration. Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. Guidance for Industry. FDA 2020 available on https://www.notifylibrary.org/sites/default/files/Investigational-COVID-19-Convalescent-Plasma_April_2020.pdf [Access 03-22-2021].
6. Sebastián Blanco, Juan Javier Aguilar, Brenda Salomé Konigheim, Luis Adrian Diaz, Lorena Spinsanti, Mauricio Beranek, César Collino, Lab Central Córdoba working group, Miguel Diaz, María Gabriela Barbás, Sandra Verónica Gallego. The extent of infectious SARS-CoV-2 shedding in an Argentinean cohort. Journal of Public Health 2021 | pp. 1–5 | doi:10.1093/pubmed/fdab145.
7. Mangeaud, A. & D. Elías Panigo. 2018. R-Medic. Un programa de análisis estadísticos sencillo e intuitivo. Revista Methodo 3 (1) 18-22. URL <http://www.r-medic.com>