



**Centro de investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**ANÁLISIS DE ANTICUERPOS CONTRA SARS-CoV-2 EN
PACIENTES INFECTADOS SIN VACUNAR Y VACUNADOS
CON O SIN INFECCIÓN**

Por:

Lic. Mónica Alejandra Estrada Cárdenas

Tesis aprobada por la

Coordinación de Nutrición

como requisito para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

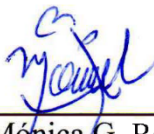
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Mónica Alejandra Estrada Cárdenas, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias



Dr. Jesús Hernández López
Director de tesis



Dra. Verónica Mata Haro
Integrante del comité de tesis



M.C. Mónica G. Reséndiz Sandoval
Integrante del comité de tesis



Dra. Olivia Valenzuela Antelo
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Análisis de Anticuerpos Contra SARS-CoV-2 en Pacientes Infectados sin Vacunar y Vacunados con o sin Infección" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Mónica Alejandra Estrada Cárdenas, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos



Dra. Graciela Caire Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico brindado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) por permitirme desarrollar este proyecto y brindar un lugar para generar nuevo conocimiento.

Al Dr. Jesús Hernández por aceptarme en su laboratorio y brindarme la oportunidad de crecer como profesional y como persona.

A la M.C. Mónica Reséndiz por su paciencia y dedicación a la enseñanza.

Al comité de tesis por sus aportaciones y observaciones.

A mis compañeros de laboratorio, quienes también fueron mis maestros.

A mis amigas, Diana Hinojosa, Hellen Vidaña y Greda Morán, quienes me ayudaron y acompañaron en este camino.

A mi esposo Octavio Navarro, quien me apoya en todos mis proyectos e ideas.

A mis hermanos Paulina Estrada y Gabriel Gómez, que me impulsan a hacer cosas nuevas.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
CONTENIDO	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE CUADROS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUCCIÓN	10
2. ANTECEDENTES	12
2.1. Estructura del SARS-CoV-2	13
2.2. Variantes del SARS-CoV-2.....	15
2.3. Seroprevalencia	17
2.4. Vacunas Contra el COVID-19	19
2.4.1. Vacunas de RNA Mensajero	20
2.4.2. Vacunas a Base de Vector Viral	22
2.4.3. Vacunas a Base de Virus Inactivados	23
2.4.4. Vacuna Subunitaria.....	23
3. HIPÓTESIS	24
4. OBJETIVO	25
4.1. Objetivo General	25
4.2. Objetivos Particulares.....	25
5. PARTICIPANTES Y MÉTODOS	26
5.1. Diseño del Estudio.....	26
5.2. Participantes	26
5.3. ELISA.....	27
5.4. Análisis Estadístico	28
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
6.1. Anticuerpos IgG Anti-N	30
6.2. Anticuerpos IgG Anti-RBD.....	34
6.3. Efecto de la Edad, Sexo, Severidad de la Infección y Antecedente de Vacunación Sobre los Niveles de Anticuerpos IgG Anti-N e IgG Anti-RBD de la Variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5	44
7. CONCLUSIONES	47
8. RECOMENDACIONES	48
9. BIBLIOGRAFÍA	49

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pagina
1.	Anticuerpos IgG anti-N en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna.....	31
2.	Anticuerpos IgG anti-N por sexo y edad.....	33
3.	Anticuerpos IgG anti-N de acuerdo con la severidad de la infección por COVID-19.....	34
4.	Anticuerpos IgG anti-RBD para diferentes variantes del SARS-CoV-2 en el total de las muestras de suero.....	36
5.	Anticuerpos IgG anti-RBD por grupo de sujetos para las variantes del SARS-CoV-2.....	37
6.	Anticuerpos IgG anti-RBD por variante del SARS-CoV-2 y grupo de sujetos...	38
7.	Anticuerpos IgG anti-RBD por sexo para las variantes del SARS-CoV-2.....	40
8.	Anticuerpos IgG anti-RBD por edad para las variantes del SARS-CoV-2.....	41
9.	Anticuerpos IgG anti-RBD por variante del SARS-CoV-2 de acuerdo con la severidad de la infección por COVID-19.....	43

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Variantes del SARS-CoV-2 y presencia durante la pandemia en México.....	16
2.	Vacunas contra el COVID-19 aprobadas y disponibles en México.....	20
3.	Muestras de suero clasificadas por edad, sexo y antecedente de infección confirmada en sujetos infectados sin vacunar y por IgG anti-N en sujetos vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna.....	27
4.	Seroprevalencia para IgG anti-N y antecedente de infección confirmada en pacientes infectados sin vacunar y referida en sujetos vacunados con CanSino y vacuna de Refuerzo Moderna.....	30
5.	Seroprevalencia para IgG anti-RBD para diferentes variantes del SARS-CoV-2 en pacientes infectados sin vacunar y vacunados.....	35
6.	Modelo de regresión lineal múltiple estratificado por sexo para anticuerpos IgG anti-N del SARS-CoV-2 en sujetos infectados sin vacunar y vacunados con CanSino con valores positivos para anticuerpos IgG anti-N (n= 423).....	44
7.	Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Wuhan del SARS-CoV-2 (n=633).....	45
8.	Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Delta del SARS-CoV-2 (n=633).....	46
9.	Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Ómicron XBB.1.5 del SARS-CoV-2 (n=633).....	46

RESUMEN

El virus del SARS-CoV-2 provocó la pandemia de principios de 2020, causando más de 6.9 millones de muertes a nivel mundial. Este virus expresa cuatro proteínas estructurales, la de membrana (M), envoltura (E), nucleocápside (N) y spike (S); la proteína N es altamente inmunogénica y al no encontrarse en las vacunas más utilizadas, puede funcionar como un parámetro para determinar infección pasada. En la proteína S se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD), relevante por su papel en el reconocimiento de la célula blanco y como objetivo terapéutico en el desarrollo de vacunas y tratamientos contra la COVID-19. La aparición de nuevas variantes del virus requiere continuar con la serovigilancia, para conocer la eficacia a largo plazo de las vacunas y su capacidad para provocar una respuesta inmune adecuada. El objetivo del presente estudio fue evaluar anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD contra diferentes variantes del SARS-CoV-2 en muestras de suero de sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna con o sin antecedente de infección por COVID-19; para determinar si la edad, sexo, severidad de la infección y antecedente de vacunación influyen en los niveles de anticuerpos. Se analizaron 723 muestras de suero mediante ELISA indirecto para detectar anticuerpos IgG anti-N e IgG anti-RBD para las variantes Wuhan-Hu-1, Delta y Ómicron XBB.1.5 del SARS-CoV-2, los resultados se expresaron en absorbancia (OD). La prevalencia para anticuerpos IgG anti-N fue de 62.5% en el total de muestras. Los anticuerpos IgG anti-RBD presentaron menor prevalencia para la variante Delta y Ómicron XBB.1.5 que para la variante Wuhan. El sexo masculino y la severidad de la infección por COVID-19 influyeron positivamente en los niveles de anticuerpos IgG anti-N ($p < 0.05$). En los anticuerpos IgG anti-RBD, las dosis de vacunas aplicadas y la severidad de la infección por COVID-19 mostraron tener efecto positivo sobre los anticuerpos para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 ($P < 0.05$). Esto podría indicar la necesidad de aplicar vacunas de refuerzo y utilizar vacunas en base de las nuevas variantes del virus a intervalos regulares de tiempo para mantener una respuesta inmune adecuada.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, anticuerpos IgG, proteína de nucleocápside, proteína Spike.

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus caused a pandemic in early 2020, with a death toll of 6.9 million deaths worldwide. This virus expresses four structural proteins, membrane (M), envelope (E), nucleocapsid (N) and spike (S). The N protein is highly immunogenic and since it is not found in the most used vaccines, it can function as a parameter to determine past infection. The receptor binding domain (RBD) is found in the S protein, relevant for its role in the recognition of the target cell and as a therapeutic target in the development of vaccines and treatments against COVID-19. The emergence of new variants of the virus requires continuing serosurveillance to know the long-term effectiveness of the vaccines and their ability to provoke an adequate immune response. The objective of the present study was to evaluate anti-N and anti-RBD IgG antibodies against different variants of SARS-CoV-2 in serum samples from unvaccinated infected subjects, vaccinated with CanSino and with Moderna booster vaccine with or without a history of infection due to COVID-19; to determine if age, sex, severity of infection and vaccination history influence antibody levels. The sample size included 723 serum samples that were analyzed by indirect ELISA to detect IgG anti-N and IgG anti-RBD antibodies for the Wuhan-Hu-1, Delta, and Omicron XBB.1.5 variants of SARS-CoV-2, the results were expressed in absorbance (OD). The prevalence of anti-N IgG antibodies was 62.5% in the total samples. Anti-RBD IgG antibodies had a lower prevalence for the Delta and Omicron XBB.1.5 variants than for the Wuhan variant. Male sex and severity of COVID-19 infection positively influenced anti-N IgG antibody levels ($p < 0.05$). In anti-RBD IgG antibodies, the doses of vaccines applied, and the severity of the COVID-19 infection showed to have a positive effect on the antibodies for the Wuhan, Delta, and Omicron XBB.1.5 variant ($P < 0.05$). This could indicate the need to apply booster vaccines and use vaccines based on new virus variants at regular time intervals to maintain an adequate immune response.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, IgG antibodies, nucleocapsid protein, Spike protein.

1. INTRODUCCIÓN

El 31 de diciembre del 2019 se reportaron en Wuhan, China una serie de casos de neumonía atípica cuyo agente etiológico se identificó como un coronavirus (WHO., 2020a). El agente etiológico recibió el nombre de Síndrome Respiratorio Agudo Severo Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) por el Grupo de Estudio de *Coronaviridae* del Comité Internacional en Taxonomía de Virus (CSG., 2020). Debido al aumento de casos a nivel mundial, el 11 de marzo del 2020, el SARS-CoV-2 fue declarado pandemia por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO., 2020a). La situación epidemiológica mundial a mayo del 2023 según la OMS fue más de 766 millones casos confirmados acumulados y 6.9 millones muertes acumuladas por COVID-19 (WHO., 2023b). La situación en México para mayo del 2023 fue de más de 7.6 millones de casos confirmados acumulados y más de 334 mil muertes acumuladas por COVID-19 (WHO., 2023c). El desenlace impredecible y transmisibilidad del virus provocó una rápida congestión en los sistemas de salud. Esto llevó a la prevención como estrategia principal para el control de la pandemia, siendo el pilar el desarrollo y aplicación de vacunas. A mayo del 2023 se habían aplicado a nivel mundial más de 13 mil millones de dosis de diversos tipos de vacunas aprobadas por la OMS, las cuales han demostrado capacidad para generar una respuesta inmune adecuada contra el SARS-CoV-2 original (Wuhan-Hu-1), disminuyendo así la mortalidad y gravedad de la enfermedad inclusive frente a las nuevas variantes (WHO., 2023b; OPS., 2023).

A finales del 2020, se comenzaron a identificar mutaciones recurrentes en el SARS-CoV-2, principalmente en la proteína S. Estas se denominaron variantes (Alfa, Beta, Gamma y Delta) y se acompañaron de aumento en la transmisibilidad, severidad de la enfermedad, cambios en la presentación clínica y capacidad de escapar a la respuesta inmune humoral generada ya sea por vacunación o infección previa (WHO., 2023a; Tao *et al.*, 2021). En noviembre del 2021 apareció la variante Ómicron, la cual posteriormente ocasionó la mayoría de los casos de COVID-19, con una mayor transmisibilidad y capacidad de escape que sus antecesoras. A pesar de ello, se ha encontrado que presenta una menor severidad y duración de los síntomas, especialmente en los pacientes con antecedente de infección previa o vacunación contra COVID-19 (Menni *et al.*, 2022). Con la disminución constante del número de casos confirmados y muertes por COVID-19, el 5 de mayo del 2023 la OMS declaró el fin del COVID-19 como emergencia sanitaria internacional y lo

pasó a considerar como un problema de salud establecido en la población. Dentro de las recomendaciones que se brindaron, destacan la integración de la vacuna contra COVID-19 en los programas de vacunación y la continuación de la investigación para mejora de las vacunas y comprensión de las secuelas por COVID-19 (PAHO., 2023).

Las diferentes vacunas desarrolladas, las nuevas variantes del virus y la respuesta inmune generada, ya sea por infección, vacunación o ambas, hacen necesario nuevas estrategias de prevención de la enfermedad, desarrollo y aplicación de vacunas. La serovigilancia permite obtener la información sobre la inmunidad generada de una forma rápida, económica y con bajos riesgos que otorga la información requerida para desarrollar estrategias para el manejo de la infección por COVID-19. Por ello es preciso continuar con la detección de anticuerpos contra las nuevas variantes del SARS-CoV-2 en diversas poblaciones y ver cómo se comporta la inmunidad generada, ya sea por infección o vacunación contra las nuevas variantes del virus.

2. ANTECEDENTES

El COVID-19, la enfermedad provocada por el SARS-CoV-2, se transmite por gotas (aerosoles) provenientes de las vías respiratorias de personas infectadas y cuenta con un periodo de incubación de 3 a 5 días, pudiendo llegar hasta 14 días posteriores a la exposición. Esta suele presentarse principalmente con un cuadro clínico leve y necesitar tratamiento sintomático. Dentro de los síntomas más comunes de la COVID-19 se encuentran fiebre, tos, anorexia, astenia, disnea y mialgias; pudiendo presentarse otros síntomas como cefalea, faringodinia, congestión nasal, diarrea, náuseas y vómito (OMS.,2023).

La infección por COVID-19 se ha clasificado de acuerdo con la presentación clínica de la enfermedad como asintomática, leve, moderada, grave y crítica (OMS., 2023). La infección asintomática se define como un caso confirmado por laboratorio sin síntomas, se ha estimado que la proporción de personas que permanece así representan el 20% de los infectados por SARS-CoV-2 (Buitrago-García *et al.*, 2020). De los pacientes sintomáticos, el 40% presenta sintomatología leve, sin datos de neumonía o hipoxia. La enfermedad moderada representa el 40% de los casos y estos presentan datos clínicos de neumonía con taquipnea y disnea con una saturación arterial de oxígeno (SpO_2) $\geq 90\%$. Las pacientes con enfermedad grave son aproximadamente el 15% de los casos y se caracterizan por signos clínicos de neumonía con taquipnea >30 respiraciones/min, disnea grave o una $SpO_2 < 90\%$ (OMS., 2023). Los pacientes con un cuadro clínico crítico son el 5% y presentan deterioro del estado de salud que se puede presentar como un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), disfunción orgánica múltiple, coagulopatías y datos de sepsis (OMS, 2023).

Dentro de los factores de riesgo para presentar complicaciones por la enfermedad, se encuentra el contar con antecedente de enfermedad pulmonar, enfermedad hepática, condiciones metabólicas (Diabetes mellitus, obesidad), cardiopatías, inmunodeficiencias, condiciones neurológicas e hipertensión arterial. Otros factores asociados con infección por COVID-19 complicada son el embarazo, el tabaquismo y la edad mayor a 60 años (OMS., 2023). En el caso de los sujetos mayores de 60 años, el aumento en prevalencia de la mortalidad y presentaciones graves de la enfermedad no solo se puede atribuir a la mayor presencia de comorbilidades, sino también a la inmunosenescencia; que además de disminución de la eficiencia de la respuesta inmune innata,

también se presenta un cambio en las subpoblaciones de células T que puede llevar a una alteración de la respuesta inmune ante las infecciones. Los pacientes con presentaciones graves de la infección por COVID-19 presentan linfopenia y retraso o alteración de la regulación de la respuesta (Moss., 2022; Smorenberg *et al.*, 2021; Secretaría de Salud., 2023a).

Si bien se espera que los sujetos con más comorbilidades presenten una infección más severa COVID-19, el panorama epidemiológico en México en 2019 indica que son las mujeres quienes presentan mayor prevalencia de enfermedades no transmisibles; mientras que son los hombres los que tienen la mayor tasa de mortalidad por COVID-19 (62%) (Secretaría de Salud., 2019; Secretaría de Salud., 2023a). Es necesario entonces tomar en cuenta el hecho de que las mujeres tienen una respuesta inmune celular y humoral más eficiente que los hombres, lo que podría influir en la presentación clínica de la enfermedad (Mukherjee & Pahan, 2021). Esto indica la necesidad de identificar como influyen las características de la población con la edad, el sexo, la severidad de la infección y el estado de vacunación, y como interaccionan en el desarrollo de la respuesta inmune contra el SARS-CoV-2.

2.1. Estructura Viral del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 es un virus que pertenece a la familia *Coronaviridae*, género betacoronavirus junto con el SARS-CoV (Síndrome Respiratorio Agudo y Grave) y MERS-CoV (síndrome Respiratorio del Medio Oriente), los cuales causaron infecciones respiratorias que generaron preocupación en 2002 y 2012, respectivamente. El SARS-CoV-2 comparte muchas de las características conservadas de los coronavirus, por lo que sus antecesores ayudaron a dilucidar su estructura y mecanismos patológicos (CSG, 2020). El genoma del SARS-CoV-2 reportado en China en diciembre del 2019 (Wuhan-Hu-1) (GenBank MN908947), presentó hasta un 86.9% de coincidencia en su secuencia de nucleótidos con un SARS-like CoV (bat-SL-CoVZC45, MG772933.1) encontrado en murciélagos (Wu *et al.*, 2020). Esto refuerza la sospecha del posible origen zoonótico del SARS-CoV-2 debido a contacto con murciélagos en China.

El SARS-CoV-2 está formado por una cadena única de ácido ribonucleico (RNA) positiva de 29.9 kb, rodeado por una cápsula cubierta de proteínas que le otorgan su apariencia característica de

corona y cuenta con un diámetro de 25 a 125 nm. Este virus utiliza la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ACE2, por sus siglas en inglés, Angiotensin Converting Enzyme 2) como receptor para ingreso al interior de la célula. Dos tercios de su genoma está compuesto por marcos de lectura abierta (ORFs por sus siglas en inglés) 1a y 1b que codifican 16 proteínas no estructurales (NSPs) y forman el complejo de replicasa. Además, cuenta con ORFs que codifican proteínas accesorias. Las proteínas estructurales necesarias para la formación del virión son: la glicoproteína de membrana (M), la glicoproteína de envoltura (E), la proteína de nucleocápside (N) y la glicoproteína spike (S) (Finkel *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2020; Naqvi *et al.*, 2020).

La proteína M se encarga de estabilizar a la proteína N, la cual está en el núcleo de los viriones (complejo proteína N-RNA), dándole forma al virión y participa en la incorporación de S al virus. La proteína E participa en el ensamble y liberación del virión (Chen *et al.*, 2020; Naqvi *et al.*, 2020). La proteína N tiene funciones como la de empacar el genoma viral en la ribonucleocápside y junto con las proteínas M y E participa en la formación, liberación del virión e ingreso a la célula hospedero. La proteína N, cuenta con dos dominios de unión a RNA en la posición amino y carboxilo terminal con carga positiva, lo que facilita su unión con ácidos nucleicos. Además, funciona como antagonista del interferón (IFN), interfiere con el RNA y la apoptosis, sirviendo como regulador del ciclo viral, por lo que es benéfica para la replicación del virus (Bai *et al.*, 2021; Zeng *et al.*, 2020). Esta proteína es altamente inmunogénica, presentando elevada seropositividad hacia la tercera semana posterior a la infección y puede ser utilizada para identificar infección previa por COVID-19, especialmente en personas que no cuentan con aplicación de vacunas por virus inactivados. Esto le ha conferido un rol importante en la vigilancia epidemiológica como un marcador de infección previa por SARS-CoV-2 en la población (Qaqish *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2020).

La proteína S es homotrimérica con N-glicanos enlazados, creando picos que sobresalen de la membrana. Los homotrímeros sirven para modular el acceso a las proteasas del hospedero y la unión de los anticuerpos neutralizantes, a su vez cada monómero cuenta con dos subunidades funcionales, S1 y S2. La subunidad S1 contiene el dominio de unión a receptor (RBD) que presenta una posición cerrada/abajo y abierta/arriba, esta influye en la afinidad al receptor ACE2. Posteriormente, S2 es escindida por la proteasa transmembrana de serina 2 (TMPRSS 2) de la superficie celular, lo cual activa el dominio S2, para la fusión de la membrana del virus y de la célula hospedero. La subunidad S1 se divide a su vez en un dominio amino terminal (NTD)

expuesto en la superficie de la membrana y el dominio carboxilo terminal (CTD) (Hoffmann *et al.*, 2020; Lan *et al.*, 2020; Walls *et al.*, 2020). Esta proteína ha cobrado importancia por su inmunogenicidad que la vuelve un excelente antígeno en la elaboración de vacunas, ya que es el blanco principal de los anticuerpos neutralizantes y es donde se presentan las mutaciones más relevantes de este virus (Hoffmann *et al.*, 2020; Lan *et al.*, 2020; Walls *et al.*, 2020).

2.2. Variantes del SARS-CoV-2

A finales de 2020, comenzaron a reportarse mutaciones recurrentes en el virus del SARS-CoV-2 que podían influir en su virulencia, siendo una de las primeras reportadas la D614G. Estas se llamaron variantes y pueden incluir una o más mutaciones. Las variantes fueron clasificadas por la OMS para su seguimiento en variantes de interés (VOI) y de preocupación (VOC). Las primeras presentan cambios en el genoma que pudiesen afectar las características del virus, tienen una transmisión con prevalencia creciente o poseen características que indican un riesgo a la salud. Las VOC presentan aumento en su transmisibilidad, incremento en la virulencia o cambios en la presentación clínica de la enfermedad y disminuyen la eficacia de las medidas de salud pública, vacunas, tratamientos y medios diagnósticos. Las VOC que causaron aumento de casos a nivel mundial fueron Alfa, Beta, Gamma, Delta y la más reciente Ómicron con sus subvariantes. La OMS decidió que las VOC que ya no son detectadas o se presentan con baja incidencia fueron reclasificadas como variantes bajo monitoreo (VBM), junto con las nuevas variantes cuyo impacto aún se desconoce (CDC., 2023; WHO., 2023d; WHO., 2023a).

Las mutaciones localizadas en la proteína S son relevantes ya que, más del 90% de la actividad neutralizante tiene el RBD como blanco (Piccoli *et al.*, 2020). Las mutaciones en la proteína S por sustitución de aminoácidos, inserciones o deleciones pueden provocar disminución en la capacidad de los anticuerpos para reconocer el antígeno por alteración del epítipo. También pueden presentarse mutaciones que aumenten la afinidad al receptor ACE2, cambios en la glicosilación que bloqueen la unión de anticuerpos y alteraciones en la estructura alostérica que afecten la unión de los anticuerpos (Harvey *et al.*, 2021). La mutación D614G reportada en enero del 2020 y la cual se encuentra en la mayoría de las nuevas variantes, se cree que presenta una conformación arriba

y abierta de la proteína S, aumentando afinidad y capacidad de unión al receptor al ACE2. Se han encontrado mutaciones relacionadas con disminución de la capacidad neutralizante de los anticuerpos, ya sea por alteración del reconocimiento o de la capacidad de unión de estos al virus (Harvey *et al.*, 2021.; Tian *et al.*, 2022; Garcia-Beltran *et al.*, 2021).

La variante Ómicron detectada en Sudáfrica en noviembre del 2021, mostró un aumento en la infectividad, lo que la convirtió en la VOC dominante. La variante Ómicron B.1.1.52 posee 30 mutaciones en la proteína S, de las cuales 15 se encuentran en RBD y una en NTD. Estas mutaciones le han conferido mayor transmisibilidad al aumentar la afinidad de RBD al receptor de ACE2, así como resistencia contra anticuerpos neutralizantes (nAbs) (Cao *et al.*, 2022). La variante Ómicron del SARS-CoV-2 ha presentado mutaciones que no son suficientes para considerarlo una nueva variante, estas mutaciones recurrentes de Ómicron se denominaron sublinajes o subvariantes. En el cuadro 1 podemos observar las variantes dominantes en México y los periodos en los que se presentaron aumento en el número de casos en el país, siendo la subvariante Ómicron XBB.1.5 la que se encuentra en circulación actualmente (Secretaría de Salud., 2023b). Esta subvariante ha demostrado gran disminución en la capacidad neutralizante de suero de sujetos vacunados y/o infectados en comparación con sus antecesoras. A su vez, se ha observado que los sujetos con infección y dosis adicionales de vacunas, especialmente de mRNA bivalentes, presentan una respuesta más eficiente que aquellos vacunados con una sola dosis (Hernández *et al.*, 2023; Kurhade *et al.*, 2023).

Cuadro 1: Variantes del SARS-CoV-2 y presencia durante la pandemia en México.

OMS	Pango	Aumento de casos en México	Tasa de incidencia	Tasa de mortalidad
Wuhan	Wuhan-Hu-1	Febrero 2020 - septiembre 2020	6.4	0.75
	B.1.1.519	Septiembre 2020 - abril 2021	11.9	1.04
Delta	B.1.617.2	Junio 2021 – octubre 2021	10.7	0.44
Ómicron	BA.1	Diciembre 2021 – febrero 2022	13.4	0.44
Ómicron	BA.5	Marzo 2022 – agosto 2022	9.6	0.03
Ómicron	BA.4	Marzo 2022 – agosto 2022	9.6	0.03
Ómicron	BQ.1	Diciembre 2022 – marzo 2023	2.9	0.02
Ómicron	XBB.1.5	Actualmente en circulación		

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Tasa de incidencia y tasa de mortalidad por 1000 habitantes.

(CDC., 2023; Secretaría de Salud., 2021; Secretaría de Salud., 2022; Secretaría de Salud., 2023a, Secretaría de Salud., 2023b; WHO., 2023a)

A pesar del aumento de la evasión inmune e infectividad de las nuevas variantes de Ómicron, se ha observado una disminución constante en la severidad y mortalidad de la infección por COVID-19 en México y a nivel mundial (Wolter *et al.*, 2022; Secretaría de Salud., 2023a). La protección generada por infección o vacunación previa, que tal vez no previenen la reinfección, pero pueden ser la causa de la disminución en la severidad de la infección por COVID-19. Esto ha llevado al final del COVID-19 como pandemia, pero ha generado la necesidad de determinar los siguientes pasos para su control como infección endémica.

2.3. Seroprevalencia

La vigilancia serológica (serovigilancia) permite conocer cómo se distribuye la transmisión de las enfermedades y el impacto que tienen las estrategias para prevenirlas o tratarlas. Esto se realiza por medio de pruebas serológicas, las cuales por medio de una muestra de suero valoran la respuesta inmune mediante la detección de anticuerpos frente a un agente infeccioso, permitiendo conocer la prevalencia de dicha enfermedad y tomar decisiones para su manejo (CDC., 2022). Durante la pandemia se generó cooperación a nivel mundial para mantener un flujo de información constante sobre el comportamiento del SARS-CoV-2. Organismos como la OMS, GISAID y los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) obtienen información de instituciones de salud de países afiliados y por el análisis de publicaciones de centros de investigación.

Un estudio de seroprevalencia para SARS-CoV-2 en Hong Kong en mayo del 2022, durante un aumento de casos por la variante Ómicron, obtuvo una seroprevalencia para IgG anti-RBD del 89.3%. En este mismo estudio se valoró la prevalencia para infección natural por COVID-19 mediante detección de IgG anti-ORF8, el cual solo se encuentra en virus activos, obteniendo una prevalencia del 24.3%. Se tomó la decisión de no utilizar IgG anti-N por el uso de vacunas de virus inactivados en esa región (Poon *et al.*, 2022). En Estados Unidos se mantuvo una serovigilancia constante mediante el análisis de muestras de donadores de sangre, contando para finales del 2022 con una seroprevalencia para IgG anti-S del 96%. También valoraron seroprevalencia por infección natural mediante el uso de anticuerpos IgG anti-N, ya que en Estados Unidos no se utilizan vacunas

de virus inactivados, reportando una seroprevalencia del 70.2% (CDC., 2022).

En México en diciembre del 2020, al inicio de la vacunación contra la COVID-19 se estimó una seroprevalencia del 33.5% para anticuerpos IgG anti-S1/S2 (Muñoz-Medina *et al.*, 2021). En el 2022, un estudio estimó una seroprevalencia del 94.4% y del 98.1% para IgG anti-N e IgG anti-S respectivamente en participantes de diferentes regiones de México, el cual evaluó 7,737 muestras de sangre capilar, no encontraron diferencia estadísticamente significativa por sexo o edad en la población vacunada. Este estudio evaluó también el estado de vacunación de 34,044 individuos y se estimó que hasta un 20% de la población estudiada no contaba con vacunación contra el COVID-19, siendo en su mayoría menores de 18 años. En cuanto a la población vacunada, hasta un 30% cuenta con dos dosis de vacunas y el 33.6% con más de tres dosis de alguna vacuna contra el COVID-19, siendo las vacunas más utilizadas AstraZeneca y Pfizer (Carnalla *et al.*, 2023).

Entre los beneficios de las pruebas serológicas encontramos que son poco invasivas y que sus resultados son sensibles y específicos, al combinar estas pruebas con información de la población estudiada se puede conocer las características que influyen en la respuesta inmune. La prueba más utilizada es el Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), ya que permite detectar y cuantificar anticuerpos específicos y antígenos solubles. En el caso del SARS-CoV-2 se han utilizado anticuerpos IgG anti-RBD para vigilar la inmunidad generada, ya sea por vacunación o infección. Para conocer el antecedente de infección se utiliza la proteína N del SARS-CoV-2, puesto que permite tener una idea de la población que se ha infectado en áreas donde no se han aplicado vacunas de virus inactivados. Se ha reportado que los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 son detectables a partir de los 5 a 14 días posterior al inicio de los síntomas, siendo la mayoría de los sujetos seropositivos a partir de los 14 días. Los niveles de los anticuerpos IgG anti-N, anti-S1 y anti-RBD del SARS-CoV-2 comienzan a disminuir hacia los 4-7 meses posterior a la infección o vacunación y se ha estimado que pueden perdurar hasta 15 meses. Se ha encontrado que los niveles de los anticuerpos y la duración de la seropositividad están relacionados con la severidad de la infección por COVID-19 (Chansaenroj *et al.*, 2021; Gerhards *et al.*, 2021; Varona *et al.*, 2021).

En cuanto a los factores que pudiesen afectar la presencia, niveles y persistencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2, se han reportado la edad, el sexo y la severidad de la enfermedad como los principales. Diversos estudios han reportado que el sexo masculino, mayor edad y la severidad de la enfermedad por COVID-19 aumentan la persistencia y los niveles de los anticuerpos IgG anti-

N y anti-RBD por más tiempo (Gerhards *et al.*, 2021; Klein *et al.*, 2020; Varona *et al.*, 2021). Mientras que otros estudios sobre los niveles de anticuerpos indican lo contrario, al encontrar que pertenecer al sexo femenino y una edad menor a 45 años es lo que influye en mayores niveles de anticuerpos; y otros no encuentran diferencia por sexo y edad (Chansaenroj *et al.*, 2021; Gerges *et al.*, 2022; Movsisyan *et al.*, 2022). Si bien el efecto del sexo sobre los niveles de anticuerpos es evasivo, es un hecho que el sexo masculino y los sujetos mayores de 60 años fueron la población más afectada en México por la pandemia por COVID-19 (Secretaría de Salud., 2023a). La severidad de la enfermedad la cual se ha asociado a su vez con la presencia de una alta carga viral, aumentos marcadores inflamatorios y linfopenia, es considerada uno de los principales factores para determinar los niveles de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 y su persistencia a largo plazo (Fajnzylber *et al.*, 2020; Gerhards *et al.*, 2021; Moss, 2022).

La vigilancia serológica permite conocer la respuesta inmune, ya sea por vacunación o infección en la población de forma poco invasiva y determinar el alcance de las estrategias implementadas para el control de la infección por COVID-19. Estudios como el de Carnalla *et al.* en 2023, donde se estudió la prevalencia de anticuerpos IgG anti-N (94.4%) y anti-S (98.1%) a finales del 2022 en México y el estado de vacunación de la población (79.8%) la seroprevalencia en el país y los factores que influyen en la aceptación de las vacunas. Es importante también determinar cómo influyen factores como la edad, sexo, vacunación y antecedente de infección por COVID-19 dentro de cada individuo sobre su capacidad de producir anticuerpos para adaptar las estrategias de protección a grupos vulnerables.

2.4. Vacunas Contra el COVID-19

El desarrollo de vacunas tiene como meta provocar una respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 mediante el uso de la proteína S como antígeno con el propósito de proteger contra la infección y la presentación grave de la enfermedad. Se han desarrollado vacunas utilizando métodos tradicionales como virus vivos atenuados y vectores virales, y se ha puesto en marcha el uso de nuevas vacunas como las de RNA mensajero y de subunidades virales. En México se encuentran aprobadas para su uso las vacunas especificadas en el cuadro 2, en las cuales se indica un esquema

de una a dos dosis dependiendo de la vacuna, con un intervalo de 2 a 12 semanas. La vacunación contra el COVID-19 en México inició el 24 de diciembre del 2020 y se estima que a enero del 2023 se cuenta con una cobertura de la población mayor a 18 años del 91% (Secretaría de Salud., 2023a).

Cuadro 2: Vacunas contra el COVID-19 aprobadas y disponibles en México.

Vacuna	Nombre común	Plataforma de diseño	Dosis
BNT162b2	Pfizer	mRNA	2
Spikevax	Moderna	mRNA	2
AZD1222	Astra	Vector viral no replicante	2
Gam-COVID-Vac	SputnikV	Vector viral no replicante	2
Ad5-nCoV	CanSino	Vector viral no replicante	1
Ad26.CoV2.S	Janssen	Vector viral no replicante	1
CoronaVac	Sinovac	Virus inactivado	2
BBV152 Covaxin	Covaxin	Virus inactivado	2
CIGB66	Abdala	Subunidades	3

Secretaría de Salud., 2023a

Las vacunas desarrolladas generaron una respuesta inmune robusta contra la variante original del SARS-CoV-2 pero, la aparición de nuevas variantes del virus ha generado preocupación sobre la respuesta de la inmunidad generada contra estas. Se ha observado disminución de los niveles de IgG anti-RBD y nAbs de pacientes infectados y/o vacunados contra nuevas variantes de SARS-CoV-2 en comparación a la variante original (Cameroni *et al.*, 2022; Gerges *et al.*, 2022). Esto no significa que las vacunas no funcionen, ya que se ha observado que las dosis adicionales mejoran la respuesta frente a las nuevas variantes. Con el final de la pandemia por COVID-19 como emergencia sanitaria y su ingreso a la vigilancia epidemiológica del país, se hace necesario determinar las medidas para su manejo a largo plazo e integración de las vacunas contra el COVID-19 al esquema de vacunación.

2.4.1. Vacunas de RNA Mensajero

Estas vacunas fueron innovadoras por la forma en que utilizaron mRNA para que células expresen

la proteína S del SARS-CoV-2. Actualmente, se cuenta con BNT162b2 (Pfizer) de Pfizer-BioNTech y mRNA-1273 (Moderna) de Moderna, las cuales consisten en mRNA encapsulado en una nanopartícula lipídica que codifica la proteína S del SARS-CoV-2. Esta se expresará en la superficie de la célula que acepte el material genético (Polack *et al.*, 2020; Baden *et al.*, 2021). Uno de los retos que presentó el desarrollo de estas vacunas, fue la inmunogenicidad y labilidad del RNA. Esto se solucionó al utilizar N1-metil-pseudouridina, que aumenta su capacidad de traducción y reduce su estimulación al sistema inmune, sobre todo la respuesta mediada por TLRs (Karikó *et al.*, 2008).

En modelos murinos el tejido con mayor concentración de mRNA está en los ganglios linfáticos, siendo traducido principalmente por monocitos, macrófagos y células dendríticas. Se ha encontrado que se puede expresar el mRNA hasta por 7 días posterior a la inmunización (Li *et al.*, 2022). Se ha observado una respuesta robusta y estable por células T CD8+, acompañada de diferenciación de células T efectoras, con la capacidad de reconocer diferentes epítomos desde la primera inmunización. Por su parte, los anticuerpos neutralizantes y células B antígeno específicas, se detectan a partir de la segunda dosis (Oberhardt *et al.*, 2021).

El esquema de vacunación con Pfizer o Moderna consta de dos dosis y cuentan con una eficacia superior al 94% para prevenir la infección por COVID-19 y 95% para evitar la presentación severa de la enfermedad para la variante original del SARS-CoV-2 (Polack *et al.*, 2020; Baden *et al.*, 2021). Se ha reportado disminución de los niveles de anticuerpos IgG anti-S1 y anti-S2, así como nAbs a seis meses de la aplicación de un esquema con vacuna tipo mRNA. Por otra parte, se ha observado también disminución de la capacidad de los anticuerpos para reconocer nuevas variantes del SARS-CoV-2 siendo más marcada para las subvariantes de Ómicron (Evans *et al.*, 2022; Tré-Hardy *et al.*, 2021).

En busca de alternativas para mantener una respuesta inmune adecuada, se han propuesto dosis adicionales de vacunas mRNA, esquemas combinados con otros tipos de vacunas para mejorar la respuesta inducida y el desarrollo de nuevas vacunas. Las vacunas mRNA bivalentes de Moderna y Pfizer-BioNTech aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration) que ya se encuentran en uso, contienen mRNA por partes iguales de la variante Wuhan-Hu-1 y una subvariante de Ómicron. En diversos estudios se han valorado los nAbs contra diferentes variantes del SARS-CoV-2 en sujetos con 3 a 4 dosis de vacuna mRNA y sujetos vacunados con 2 a 3 dosis de vacuna mRNA (Wuhan.Hu-1) más refuerzo con la vacuna mRNA bivalente (Ómicron BA.1 o BA.4/5). Se

ha encontrado que aquellos con aplicación de vacuna mRNA bivalente presentaban menor riesgo a hospitalización y mayores niveles de anticuerpos para las nuevas variantes en comparación con la vacuna de mRNA original. Una de las limitantes mencionadas es la dificultad para ser concluyentes con los resultados por la falta de homogeneidad en los sujetos (Arbel *et al.*, 2023; Chalkias *et al.*, 2022; Kurhade *et al.*, 2023).

Si bien las vacunas bivalentes parecen ser una solución al escape inmune, se debe tomar en cuenta que el SARS-CoV-2 ha demostrado una gran capacidad para mutar y evadir la respuesta inmune. Esto podría indicar la necesidad de tener que adaptar este tipo de vacunas a las nuevas variantes de manera constante.

2.4.2. Vacunas a Base de Vector Viral

Las vacunas de vector viral contra el SARS-CoV-2, utilizan adenovirus como vector que expresan la proteína S estabilizada (Mendonça *et al.*, 2021). Como se observa en el cuadro 2 las vacunas de vector viral aprobadas y disponibles en México son las conocidas comúnmente como Astra, CanSino, Janssen y SputnikV. Estas vacunas han demostrado buena capacidad para inducir una respuesta inmune con producción de anticuerpos IgG, IgM y nAbs. La eficacia general de Astra se estimó en un 74%, 66.4% para Janssen y 57.5% para una dosis de CanSino, clasificándose como seguras y eficaces para prevenir el COVID-19 sintomático y severo. Una segunda dosis de las vacunas de vector viral induce un aumento en la producción de anticuerpos IgG y anticuerpos neutralizantes (Falsey *et al.*, 2021; Sadoff *et al.*, 2021; Halperin *et al.*, 2022).

Las vacunas de vector viral han demostrado buena capacidad para inducir una respuesta inmune adecuada contra la variante Wuhan-Hu-1. Sin embargo, se ha encontrado que en sujetos vacunados con vacunas de vector viral los nAbs disminuyen con el tiempo y pierden capacidad para reconocer las nuevas variantes de Ómicron. La aplicación de dosis adicionales de vacunas o la combinación con otros tipos de vacunas e infección nueva por COVID-19 producen un aumento en los niveles de anticuerpos y capacidad para reconocer las nuevas variantes del SARS-CoV-2 (Cameroni *et al.*, 2022; Hernández *et al.*, 2023; Kitchin *et al.*, 2022).

2.4.3. Vacunas a Base de Virus Inactivado

CoronaVac es una de las vacunas aprobadas por la OMS para su uso de emergencia. Esta consta de un virus completo de SARS-CoV-2 inactivado con hidróxido de aluminio. Sus estudios de fase 2 demostraron una seroconversión del 92% a los 14 días y del 97% a los 28 días (Tanriover *et al.*, 2021). Las ventajas de este tipo de vacunas son la no transmisibilidad, no replicabilidad del virus y la oportunidad de inducir una respuesta humoral completa. Esto debido a que se tiene contacto con todos los antígenos del virus, en especial la proteína N, que es muy inmunogénica.

En un estudio de fase 3, CoronaVac de Sinovac, mostro una eficacia para la prevención de COVID-19 del 83.5% en comparación al placebo. Generó anticuerpos neutralizantes y anti-RBD en el 87.5% de los participantes (Tanriover *et al.*, 2021). Al comparar la vacuna BBIBP-CorV de Sinopharm, la segunda vacuna de virus inactivados aprobada por la OMS con la vacuna de mRNA Moderna, se encontró que esta última logró títulos positivos en el 99.3% de los pacientes y Sinopharm en 85.7%, mostrando que las vacunas de mRNA son más eficientes para inducir una respuesta inmune (Alqassieh *et al.*, 2021).

2.4.4. Vacuna Subunitaria

La vacuna Novavax (NVX-CoV2373) es producida a partir de nanopartículas recombinantes del SARS-CoV-2, está compuesta por el homotrímero de la proteína S completo y una matriz adyuvante. Esta tiene la capacidad de inducir anticuerpos IgG anti-S y respuesta de células TCD4+ orientadas a T cooperadoras (Keech *et al.*, 2020).

Un estudio que comparó la capacidad neutralizante de suero de pacientes vacunados con Noravax o Moderna contra la variante Alfa del SARS-CoV-2, mostró mayor capacidad de neutralización en Novavax que en Moderna. Novavax presentó un 95.6% de eficacia contra el SARS-CoV-2 original y 85.6% contra la variante Alfa (Shen *et al.*, 2021). Esto podría sugerir que se deben tomar en cuenta las diversas propiedades de las vacunas para determinar los beneficios que pueden proporcionar en cuanto a la respuesta inmune que desencadenan. Esto podría servir para encontrar combinaciones que induzcan una respuesta inmune más eficiente.

3. HIPÓTESIS

Los anticuerpos producidos contra SARS-CoV-2 disminuyen su capacidad de reconocimiento frente a las nuevas variantes del virus, estos efectos ven comprometidos por factores como edad, sexo, infección previa, severidad de la infección y vacunación.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD contra diferentes variantes del SARS-CoV-2 en muestras de suero de sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna con o sin antecedente de infección por COVID-19; para determinar si factores como edad, sexo, severidad de la infección y antecedente de vacunación influyen en los niveles de anticuerpos.

4.2. Objetivos Particulares

1. Analizar los niveles de anticuerpos IgG anti-N como parámetro para determinar una infección previa por SARS-CoV-2 en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna.
2. Analizar los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD del SARS-CoV-2 de la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna.
3. Estimar la seroprevalencia para anticuerpos IgG anti-N e IgG anti-RBD para la variante Wuhan, Delta y Ómicron del SARS-CoV-2 en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna.
4. Observar cómo influyen factores como edad, sexo, severidad de la infección y antecedente de vacunación en los niveles de anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna.

5. PARTICIPANTES Y MÉTODOS

5.1. Diseño de Estudio

Este estudio es de tipo transversal observacional en el que se evaluaron los niveles de anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD de tres variantes del SARS-CoV-2 (Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5) en muestras de suero de sujetos infectados sin vacunar a principios del 2020 y vacunados con y sin antecedente de infección obtenidas en 2022. Este estudio cuenta con aprobación del comité de ética para el análisis de las muestras y uso de la información de los sujetos (CEI/005-2/2020).

5.2. Participantes

Se analizaron 723 muestras de suero, de las cuales 196 provinieron de sujetos infectados sin vacunar recolectadas a principios del 2020, los cuales cuentan con diagnóstico de COVID-19 confirmado por PCR (reacción en cadena de la polimerasa). De estos sujetos, 41 muestras fueron recolectadas dentro de las dos primeras semanas posteriores al inicio de los síntomas y 155 contaban con más de 28 días desde el inicio de sus síntomas. De las muestras analizadas, 312 corresponden a sujetos vacunados con CanSino en mayo de 2021, previo a la aplicación de la vacuna de refuerzo Moderna en enero del 2022. De estos, 125 sujetos referían haber cursado con infección previa por COVID-19. Por último, se analizaron 211 muestras de sujetos vacunados con CanSino, recolectadas un mes posterior a la aplicación de la vacuna de refuerzo Moderna. De estos sujetos, 74 referían haber cursado con infección previa por COVID-19.

Se dispone de información de los sujetos como sexo, edad, severidad de la infección por COVID-19 y antecedente de infección confirmado por PCR en el caso de los sujetos infectados sin vacunar y referido en el caso de los participantes vacunados. Según el cuadro clínico de los sujetos con antecedente de infección por COVID-19, se clasificaron a los sujetos que cursaron con un cuadro sintomático y leve como sin neumonía, y aquellos que cursaron con un cuadro clínico moderado, leve y crítico como con neumonía. La información de los participantes se puede ver con más detalle

en el cuadro 3. Se diluyeron las muestras de suero a 1:20 en PBS estéril, para evitar la contaminación y degradación de las muestras originales. Las diluciones y su posterior manejo se realizaron en una campana de bioseguridad II y se conservaron a -20 °C.

Cuadro 3: Muestras de suero clasificadas por edad, sexo y antecedente de infección confirmada en sujetos infectados sin vacunar y por IgG anti-N en sujetos vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna.

	Todas las muestras	Infectados sin vacunar	Vacunados con CanSino	Con vacuna de refuerzo Moderna
Total	723	196	316	211
Sexo				
Femenino	435 (60.1%)	53 (27%)	230 (72.7%)	152 (72%)
Masculino	288 (39.8%)	143 (72.9%)	86 (27.2%)	59 (27.9%)
Edad				
18–30 años	101 (13.9%)	43 (21.9%)	38 (12%)	20 (9.4%)
31–40 años	234 (32.3%)	67 (34.1%)	99 (31.3%)	68 (32.2%)
41-50 años	239 (33%)	53 (27%)	111 (35.1%)	75 (35.5%)
Mas de 51 años	149 (20.6%)	33 (16.8%)	68 (21.5%)	48 (22.7%)
Severidad de la infección por COVID-19	463 (64%)	196 (100%)	153 (48.4%)	114 (54%)
Sin neumonía	308 (42.6%)	77 (39.2%)	131 (41.4%)	100 (47.3%)
Con neumonía	65 (9%)	29 (14.7%)	22 (6.9%)	14 (6.6%)
Desconocido	90 (12.4%)	90 (45.9%)	0 (0%)	0 (0%)
Sin infección	260 (35.9%)	0 (0%)	163 (51.5%)	97 (45.9%)

5.3. ELISA

Para determinar los niveles de IgG anti-N o anti-RBD mediante ELISA indirecto, se utilizaron las proteínas N o RBD de alguna de las variantes del SARS-CoV2 (Wuhan, Delta u Ómicron XBB.1.5). Estas proteínas fueron expresadas, purificadas y caracterizadas en el laboratorio de inmunología del CIAD (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo) utilizando el proceso indicado por Melgoza-González et al. (2021).

Para la prueba de ELISA se utilizaron microplacas MaxiSorp, en las cuales se fijaron 50 µl por pocillo de la proteína a una concentración de 2 µg/ml con buffer carbonato-bicarbonato (pH 9.5) y se dejó incubar de 18-19 h a 4°C. Posteriormente se decantó y lavó una vez con 250 µl buffer de fosfatos (PBS) por pocillo. Se bloqueó con 100 µl por pocillo de buffer de bloqueo (2% de albúmina

de suero bovino, 3% de glucosa y 0.02% de azida de sodio en PBS con Tween20 al 0.05%) y se incubó 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se decantó y lavó una vez con 250 µl de PBS por pocillo. La placa fue utilizada o almacenada en un empaque con desecante a 4°C hasta su uso (Melgoza-González *et al.*, 2021).

Se evaluaron los anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD de tres variantes del SARS-CoV-2 (Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5) mediante ELISA indirecto, con base en el método de Melgoza-González *et al.* (2021) con algunas modificaciones. Las muestras de suero humano se llevaron a una dilución 1:100 en PBS con Tween20 al 0.05 % y leche al 1 %. Se colocaron 50 µl de la dilución en la microplaca previamente bloqueada y se incubó 30 min con agitación a temperatura ambiente. Posteriormente, se decantaron y lavaron 5 veces con 250 µl de PBS con Tween20 0.1 %. Se adicionaron 50 µl de IgG-HRP (IgG peroxidado en dilución 1:10,000, Cat. No. A0170; Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) e incubó 30 min a temperatura ambiente con agitación y protegido de la luz. Se decantó y realizaron 5 lavados más con 250 µl de PBS Tween20 al 0.1 % para posteriormente agregar 50 µl de TMB (3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina) e incubó 20 min a temperatura ambiente protegido de la luz. La reacción se detuvo con 50 µl de ácido sulfúrico 1M (H₂SO₄) y posteriormente se leyó la densidad óptica (O.D) a 450 nm mediante un espectrofotómetro automatizado.

Para determinar el antecedente de infección mediante IgG anti-N, se utilizó el punto de corte establecido por el laboratorio de inmunología de CIAD para positivos a IgG anti-N de 0.413 OD y para IgG anti-RBD de 0.48 OD, siendo este último establecido para la variante Wuhan-Hu-1. Se decidió emplear el mismo punto de corte para IgG anti-RBD en la variante Delta y Ómicron XBB.1.5 debido a que se usa como punto de referencia la variante Wuhan-Hu-1. Los sujetos vacunados se dividieron en infectados o no infectados en base los resultados obtenidos para IgG anti-N, mientras que los sujetos infectados sin vacunar se mantuvieron en la categoría de infectados independientemente de este resultado, ya que contaban con diagnóstico por PCR.

5.4. Análisis Estadístico

La distribución de las absorbancias para cada grupo de anticuerpos (IgG anti-N e IgG antiRBD) no cumple con criterios de normalidad por lo que para calcular la diferencia entre dos variables de

grupos independientes se realizó por medio de Mann-Whitney de dos colas y para más de dos variables se utilizó Kruskal-Wallis. La comparación entre grupos se realizó mediante comparaciones múltiples de Dunn. Se realizó el análisis estadístico de esta información mediante el software GraphPad Prism 9. Todos los análisis estadísticos se consideraron estadísticamente significativos al presentar un valor de p menor o igual a 0.05 ($p \leq 0.05$).

Para conocer el efecto de las variables independientes (edad, sexo, estado de vacunación y severidad de la infección) sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD de las variantes Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 se utilizó regresión lineal múltiple. Para la regresión lineal múltiple se retiraron de la base de datos 90 sujetos del grupo de infectados sin vacunar que no contaban con información sobre la severidad de la enfermedad. Se clasificaron los sujetos vacunados como infectados o no infectados de acuerdo con sus niveles de anticuerpos IgG anti-N. Los sujetos vacunados que refirieron no tener antecedente de infección y que contaron con resultados positivos para anticuerpos IgG anti-N se clasificaron a su vez como infectados sin datos de neumonía.

Se realizó un análisis de asociación potencial entre la variable dependiente con cada una de las variables independientes, tomando como criterio de ingreso al modelo una $p < 0.2$. Posteriormente para la creación del modelo preliminar se utilizó el análisis automatizado (Stepwise). A los modelos preliminares se les evaluó la modificación del efecto ($p < 0.1$), colinealidad ($VIF > 10$) y los supuestos (linealidad, normalidad y homocedasticidad). Esto se realizó con el programa estadístico STATA 14.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Anticuerpos IgG Anti-N

La prevalencia de anticuerpos IgG anti-N en las 723 muestras de suero fue del 62.5%, siendo esta mayor en el grupo de infectados sin vacunar (Cuadro 4). En el grupo de sujetos infectados sin vacunar se encontró una prevalencia para anticuerpos IgG anti-N inferior a la esperada por el antecedente de infección confirmada por PCR (Cuadro 4). Esto pudiera deberse al momento en que fue obtenida la muestra y a la severidad de la infección por COVID-19 en este grupo de sujetos. Se ha observado que hasta en el 84.2% de los sujetos con COVID-19 aún no se detectan anticuerpos dentro de las dos primeras semanas posterior al inicio de los síntomas, y que hasta un 22.2% de los casos leves y un 2.6% de los casos con infección severa no presentan seroconversión (Sun *et al.*, 2020; Elslande *et al.*, 2021).

Cuadro 4: Seroprevalencia para IgG anti-N y antecedente de infección confirmada en pacientes infectados sin vacunar y referida en sujetos vacunados con CanSino y vacuna de refuerzo Moderna

Participantes	Prevalencia para IgG anti-N (%)	Antecedente de infección referido (%)
Infectados sin vacunar (n= 196)	94.3	100
Vacunados con CanSino (n= 316)	48.4	39.55
Vacuna de refuerzo Moderna (n= 211)	54.02	35
Total (n= 723)	62.5	54.63

En los sujetos vacunados con CanSino y en aquellos con vacuna de refuerzo Moderna se obtuvo una prevalencia para anticuerpos IgG anti-N mayor a lo esperado por el antecedente de infección referida por los sujetos (Cuadro 4). Esto sugiere que 8.85% de los sujetos vacunados con CanSino y 19.02% de aquellos con vacuna de refuerzo Moderna cursaron con infección asintomática por COVID-19, siendo esto similar al 20% que estimó Buitrago-García en 2020 en sujetos únicamente infectados (Buitrago-García *et al.*, 2020). En este caso sería necesario valorar si la infección por COVID-19 en los grupos de sujetos vacunados ocurrió previo o posterior a la vacunación, ya que

las vacunas como CanSino y Moderna han demostrado capacidad de evitar la presentación sintomática de la infección y reducción de las presentaciones graves de esta (Baden, 2020; Halperin *et al.*, 2022). Se valoró la prevalencia de anticuerpos IgG anti-N de los 209 sujetos vacunados con CanSino (50.23%) que contaban con muestra de seguimiento un mes posterior a la aplicación de la vacuna de refuerzo Moderna (54.06%). Estos presentaron un aumento del 3.83% en la prevalencia para anticuerpos IgG anti-N, indicando que en ese periodo presentaron infección por COVID-19.

Se encontró que los sujetos infectados sin vacunar presentaron mayores valores de anticuerpos IgG anti-N que los vacunados con CanSino ($p < 0.0001$) y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna ($p < 0.0001$) (Figura 1). Se ha reportado que los títulos de anticuerpos IgG anti-N suelen ser mayores y perdurar por más tiempo en sujetos con casos más severos de infección por COVID-19 que en aquellos con casos leves o asintomáticos (Chansaenroj *et al.*, 2021; Movsisyan *et al.*, 2022). Esto es compatible con lo aquí encontrado, ya que los sujetos infectados sin vacunar presentaron casos más severos de infección por COVID-19, mientras que los sujetos vacunados con CanSino y con refuerzo Moderna tuvieron en su mayoría una presentación más leve y contaron con casos asintomáticos (Cuadro 3).

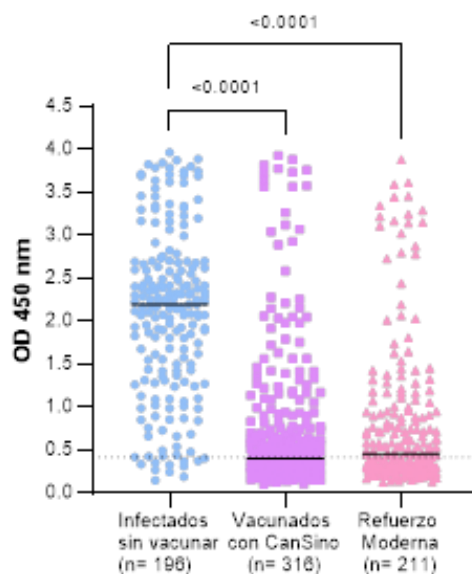


Figura 1: Anticuerpos IgG anti-N en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna.

Al valorar estos resultados por sexo, se obtuvieron mayores valores de anticuerpos IgG anti-N en los sujetos infectados sin vacunar del sexo masculino que en aquellos del sexo femenino ($p < 0.0001$) (Figura 2a). No se encontró diferencia estadísticamente significativa por sexo en los sujetos vacunados con CanSino ($p > 0.05$) (Figura 2b) y en aquellos con vacuna de refuerzo Moderna ($p > 0.05$) (Figura 2c). La información en cuanto a los anticuerpos IgG anti-N del SARS-CoV-2 en relación con el sexo es diversa, ya que algunos estudios mencionan que no hay diferencia debido al sexo, mientras que otros atribuyen un aumento sobre los niveles de anticuerpos, ya sea al sexo masculino o al femenino (Chansaenroj *et al.*, 2021; Gerhards *et al.*, 2021; Movsisyan *et al.*, 2022). En cuanto a lo aquí encontrado en los sujetos infectados sin vacunar, se podría atribuir a una respuesta inmune adecuada por parte de los sujetos del sexo femenino, por lo tanto una presentación menos grave de la enfermedad que el sexo masculino, lo que concluyó en mayores niveles de anticuerpos en estos últimos (Mukherjee & Pahan, 2021). Esta diferencia no es notable en los sujetos vacunados ya que la vacunación al desarrollar una respuesta inmune adecuada disminuye las presentaciones severas de la enfermedad y al establecer una respuesta inmune apropiada podría estar nivelando las variaciones ocasionadas por el sexo (Baden, 2020; Halperin *et al.*, 2022).

Diversos estudios en los que se ha estudiado la relación de los anticuerpos IgG anti-N con la edad, reportaron una correlación positiva ya que se encuentra elevación de sus valores principalmente en los mayores de 60 años, ya que suelen presentar también cuadros más severos de COVID-19 (Chansaenroj *et al.*, 2021; Movsisyan *et al.*, 2022; Varona *et al.*, 2021). En cuanto a los resultados por grupo de edad, no se encontró diferencia estadísticamente significativa en los niveles de anticuerpos IgG anti-N en los sujetos infectados sin vacunar ($p > 0.05$) (Figura 2d), vacunados con CanSino ($p > 0.05$) (Figura 2e) y en aquellos con vacuna de refuerzo Moderna (Figura 2f) ($p > 0.05$); sin embargo, se puede observar una tendencia a aumentar en los sujetos infectados sin vacunar, la cual no está presente en los sujetos vacunados, sugiriendo nuevamente efecto de la vacunación sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-N al prevenir el cuadro clínico severo de la enfermedad.

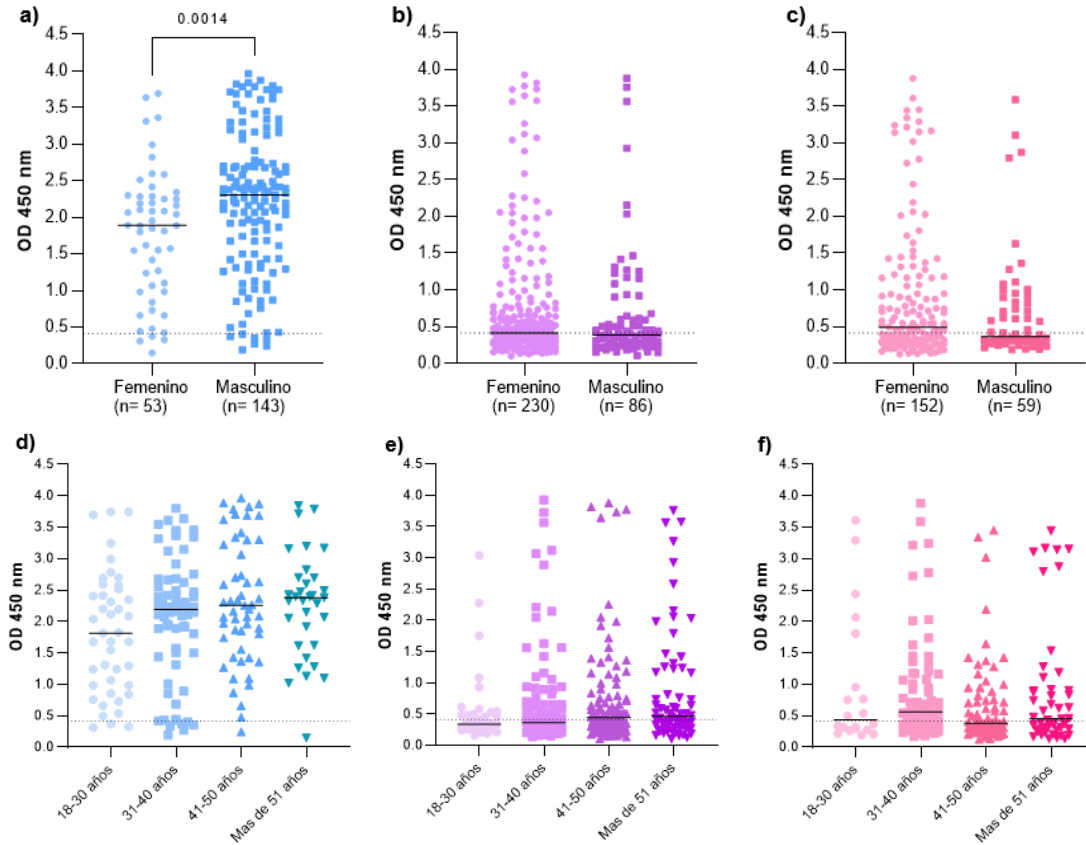


Figura 2: Anticuerpos IgG anti-N por sexo y edad. Anticuerpos IgG anti-N en sujetos infectados sin vacunar (a), vacunados con CanSino (b) y con vacuna de refuerzo Moderna (c) por sexo. Anticuerpos IgG anti-N en sujetos infectados sin vacunar (d), vacunados con CanSino (e) y con vacuna de refuerzo Moderna (f) por grupo de edad.

Se valoraron los niveles de anticuerpos IgG anti-N de acuerdo con la severidad de la enfermedad por COVID-19. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los sujetos que no cursaron con neumonía y aquellos que cursaron con neumonía en los sujetos infectados sin vacunar ($p > 0.05$) (Figura 3a), vacunados con CanSino ($p > 0.05$) (Figura 3b) y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna ($p > 0.05$) (Figura 3c). Esto difiere de lo reportado en otros estudios, donde los sujetos con infección severa o con datos de neumonía presentan mayores valores de anticuerpos IgG anti-N que aquellos con infección leve o sin neumonía (Chansaenroj *et al.*, 2021; Gerhards *et al.*, 2021; Movsisyan *et al.*, 2022). En el caso de los sujetos vacunados es comprensible ya que el objetivo de las vacunas es generar una respuesta inmune adecuada ante la reexposición, mientras que en los sujetos infectados sin vacuna difiere de lo esperado.

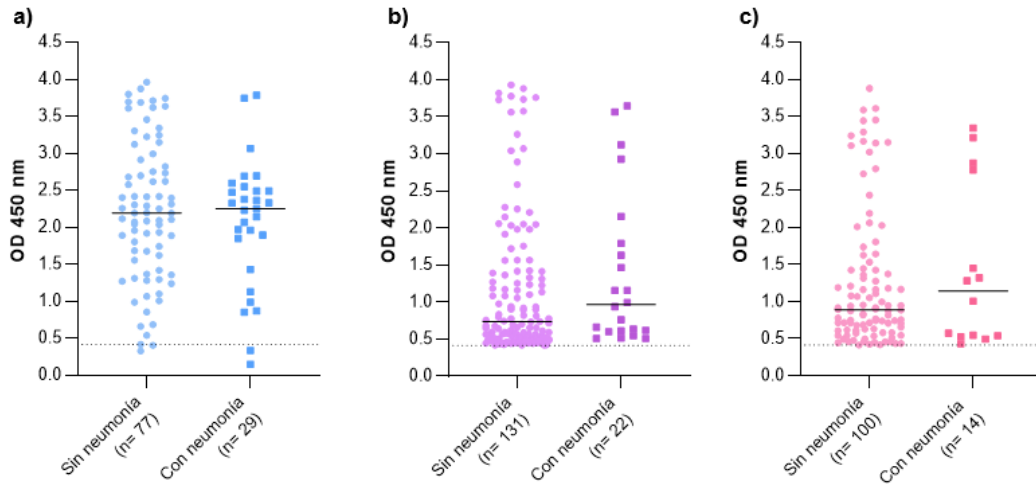


Figura 3: Anticuerpos IgG anti-N de acuerdo con la severidad de la infección por COVID-19. Anticuerpos IgG anti-N en sujetos infectados sin vacunar (a), vacunados con CanSino (b) y con vacuna de refuerzo Moderna (c) por severidad de la infección por COVID-19.

6.2. Anticuerpos IgG Anti-RBD

Por el periodo en que se obtuvieron las muestras y el reporte epidemiológico del país, se puede inferir que los sujetos infectados sin vacunar presentaron infección previa por la variante original del SARS-CoV-2 o aquella con la mutación D614G. En cambio, aquellos vacunados con CanSino es más probable que hayan cursado con infección por COVID-19 a causa de la variante Delta o uno de sus antecesores. Mientras que aquellos con vacuna de refuerzo Moderna que presentaron elevación de los valores de anticuerpos IgG anti-N en comparación con su muestra previa, pudieron haber cursado con infección por COVID-19 debido a la variante Delta u Ómicron BA.1 las cuales circulaba en el país en ese momento (Secretaría de Salud., 2023a).

La prevalencia para anticuerpos IgG anti-RBD en sujetos infectados sin vacunar para la variante Wuhan fue del 88.77%, presentando una disminución del 9.69% para la variante Delta y del 39.29% para la variante Ómicron XBB.1.5 en comparación a la variante Wuhan (Cuadro 5). Los sujetos vacunados con CanSino presentaron una prevalencia para IgG anti-RBD del 63.92% para la variante Wuhan, disminuyendo un 2.85% para Delta y un 14.87% para Ómicron XBB.1.5 con respecto a Wuhan. La disminución en la diferencia de seroprevalencia, en especial entre la variante Wuhan y Delta, puede deberse a una mejor respuesta por parte de los sujetos con inmunidad híbrida

hacia el SARS-CoV-2, en especial si cursaron con infección por alguna de las nuevas variantes. Los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna presentaron una seroprevalencia del 100% para la variante Wuhan y Delta, y solo una disminución del 0.95% para la variante Ómicron XBB.1.5. Esto muestra la capacidad de las vacunas de refuerzo para estimular una respuesta inmune frente a las reexposiciones al virus (Wang *et al.*, 2023).

Cuadro 5: Seroprevalencia para IgG anti-RBD para diferentes variantes del SARS-CoV-2 en pacientes infectados sin vacunar y vacunados

	Wuhan (%)	Delta (%)	Ómicron XBB.1.5 (%)
Infectados sin vacunar (n= 196)	88.77	79.08	49.48
Vacunados con CanSino (n=316)	63.92	61.07	49.05
Vacuna de refuerzo Moderna (n= 211)	100	100	99.05

Se analizaron los anticuerpos IgG anti-RBD de las 723 muestras de suero para las variantes Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5. Se encontró mayor cantidad de anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan que para la variante Delta y Ómicron XBB.1.5 ($p < 0.05$) (Figura 4). A su vez los valores de anticuerpos IgG anti-RBD fueron mayores para la variante Delta que para la variante Ómicron XBB.1.5 ($p < 0.05$). Por lo que en estos sujetos no solo encontramos disminución en la seroprevalencia, sino también en los niveles de anticuerpos obtenidos para las nuevas variantes. Esto es congruente a lo encontrado con estudios de neutralización con pseudovirus, donde también se observa disminución en los niveles de anticuerpos neutralizantes para las nuevas variantes del SARS-Cov-2 en relación con sus predecesores independientemente del estado de vacunación (Gerges *et al.*, 2022; Hernández *et al.*, 2023; Kurhade *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023).

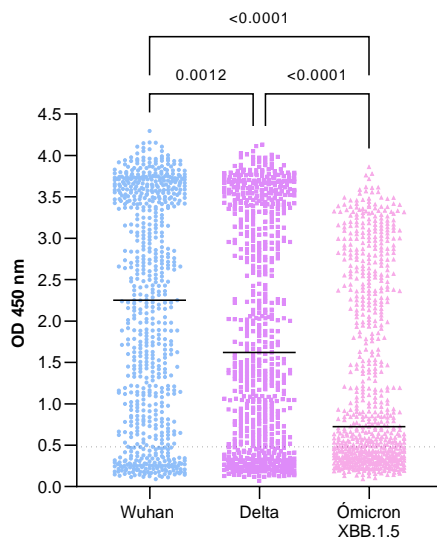


Figura 4: Anticuerpos IgG anti-RBD para diferentes variantes del SARS-CoV-2 en el total de las muestras de suero. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna (n= 723).

Se analizaron a su vez los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD para las tres variantes en cada grupo de sujetos. Se encontró que en los sujetos infectados sin vacunar (Figura 5a) los valores de anticuerpos para IgG anti-RBD para la variante Wuhan fueron mayores que para la variante Delta y Ómicron XBB-1-5 ($p < 0.0001$), a su vez fueron más altos para la variante Delta que para la variante Ómicron XBB.1.5 ($p < 0.0001$). En cuanto a los sujetos vacunados con CanSino (Figura 5b) y aquellos con vacuna de refuerzo Moderna (Figura 5c) se obtuvieron valores inferiores de anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Ómicron XBB.1.5 que para la variante Delta y Wuhan ($p < 0.05$), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa entre estos últimos ($p > 0.05$). Estos resultados fueron consistentes con lo reportado en otros estudios de anticuerpos IgG anti-RBD y de anticuerpos neutralizantes frente a nuevas variantes donde si bien el reconocimiento persiste, este es menor frente a las nuevas variantes, principalmente de Ómicron en comparación con las variantes ancestrales (Hernández *et al.*, 2023; Kurhade *et al.*, 2023). Es notable que en los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna el 99.05% de los sujetos permanecieron seropositivos, mostrando la importancia de las vacunas de refuerzo.

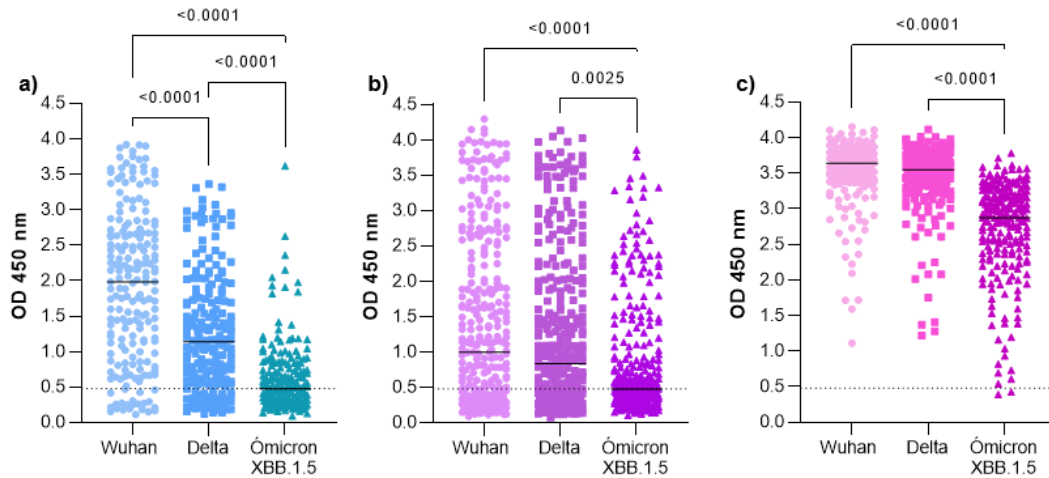


Figura 5: Anticuerpos IgG anti-RBD por grupo de sujetos para las variantes del SARS-CoV-2. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 en sujetos infectados sin vacunar (a), vacunados con CanSino (b) y con vacuna de refuerzo Moderna (c).

Se analizaron los niveles de anticuerpos por variante entre los grupos de sujetos. Se observó que para la variante Wuhan (Figura 6a), los anticuerpos IgG anti-RBD son mayores en aquellos con vacuna de refuerzo Moderna que en aquellos sujetos infectados sin vacunar ($p < 0.0001$) o aquellos vacunados con CanSino ($p < 0.0001$). A su vez, los sujetos infectados sin vacunar presentaron valores superiores de anticuerpos IgG anti-RBD que aquellos vacunados con CanSino ($p < 0.0004$). Ya se ha reportado que la cantidad de anticuerpos es inferior en los sujetos con dosis única de diferentes tipos de vacuna que en aquellos con infección natural en estudios con la variante original del virus (Bates *et al.*, 2022; Melgoza-González *et al.*, 2021).

Los anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Delta (Figura 6b), fueron mayores para los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna que para aquellos infectados sin vacunar ($p < 0.0001$) y aquellos vacunados con CanSino ($p < 0.0001$), no encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre estos dos últimos ($p > 0.05$). Para la variante Ómicron XBB.1.5 (Figura 6c) se obtuvieron resultados similares, encontrándose que los valores de los anticuerpos detectados para los sujetos infectados sin vacunar y vacunados con CanSino eran similares. Se ha reportado en estudios para nAbs que las dosis de refuerzo aumentan la respuesta inmune tanto para la variante original como para las variantes nuevas, incluyendo Ómicron en menor medida que sus antecesoras (Chalkias *et al.*, 2022; Hernández *et al.*, 2023).

Se puede observar que para la variante Wuhan (Figura 6a) los sujetos infectados sin vacunar

presentan mayores niveles de anticuerpos que aquellos vacunados con CanSino, lo cual se pierde para la variante Delta (Figura 6b). Si bien ya se han reportado mayores niveles de anticuerpos en sujetos infectados que en aquellos con dosis única de alguna vacuna, es necesario hacer notar que las muestras de los sujetos vacunados con CanSino se obtuvieron 8 meses posterior a la aplicación de la vacuna (Bates *et al.*, 2022; Keshavarz *et al.*, 2022; Melgoza-González *et al.*, 2021). Esto pudo en parte provocar detección de niveles inferiores de anticuerpos a los que se pudiesen haber obtenido entre los 4 y 5 meses posterior a la aplicación de la vacuna (Varona *et al.*, 2021).

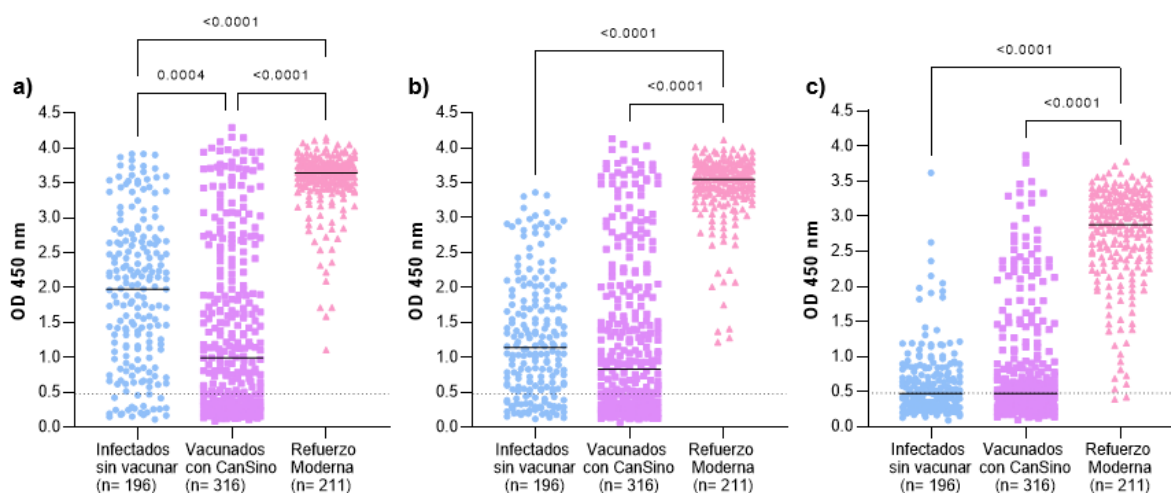


Figura 6: Anticuerpos IgG anti-RBD por variante del SARS-CoV-2 y grupo de sujetos. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (a), Delta (b) y Ómicron XBB.1.5 (c) en sujetos infectados sin vacunar, vacunados con CanSino y con vacuna de refuerzo Moderna.

Al valorar los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD de los sujetos infectados sin vacunar por sexo para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 (Figura 7a, 7b, 7c), se obtuvieron mayores valores de anticuerpos en los sujetos del sexo masculino ($n= 143$) que en aquellos del sexo femenino ($n= 53$) ($p < 0.05$). En cuanto a los sujetos vacunados con CanSino (Figura 7d, 7e, 7f), no se encontró diferencia estadísticamente significativa debido al sexo para ninguna de las variantes del SARS-CoV-2 estudiadas ($p > 0.05$). En los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna, a diferencia de aquellos infectados sin vacunar, se encontraron mayores niveles de anticuerpos IgG anti-RBD en el sexo femenino que en el sexo masculino para la variante Wuhan ($p < 0.05$) (Figura 7g) y Delta ($p < 0.05$) (Figura 7h). No se encontró diferencia estadísticamente significativa por sexo

para la variante Ómicron XBB.1.5 en sujetos con vacuna de refuerzo Moderna ($p > 0.05$) (Figura 7i).

Nuevamente, se encuentra con información dividida en cuanto al efecto del sexo sobre los niveles de anticuerpos. Estudios como el de Gerges y colaboradores en 2022 que valoro anticuerpos IgG anti-RBD en sujetos vacunados con Pfizer o Astra, no encontró diferencia al comparar los niveles de anticuerpos por sexo. Mientras que Klein y colaboradores en 2020 quienes también valoraron los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD y anti-S en donadores de plasma convaleciente por COVID-19, encontró relación entre el sexo masculino y los niveles de anticuerpos. En este caso esto pudiese ser explicado por el hecho de que los sujetos infectados sin vacunar del sexo masculino presentaron mayor cantidad de casos severos por COVID-19 que los del sexo femenino, siendo ya conocida la influencia de la severidad sobre los niveles de anticuerpos (Klein *et al.*, 2020; Varona *et al.*, 2021). En cuanto a los sujetos vacunados al contar con protección contra infección grave por COVID-19 y contar con una respuesta más eficiente por reexposición es comprensible el hecho de que no haya diferencia por sexo (Baden, 2020; Halperin *et al.*, 2022). Mientras que en los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna donde se observan mayores valores de anticuerpos IgG anti-RBD para Wuhan y Delta podría deberse una mejor respuesta inmune por parte del sexo femenino ante una exposición a un antígeno controlada (Mukherjee & Pahan, 2021).

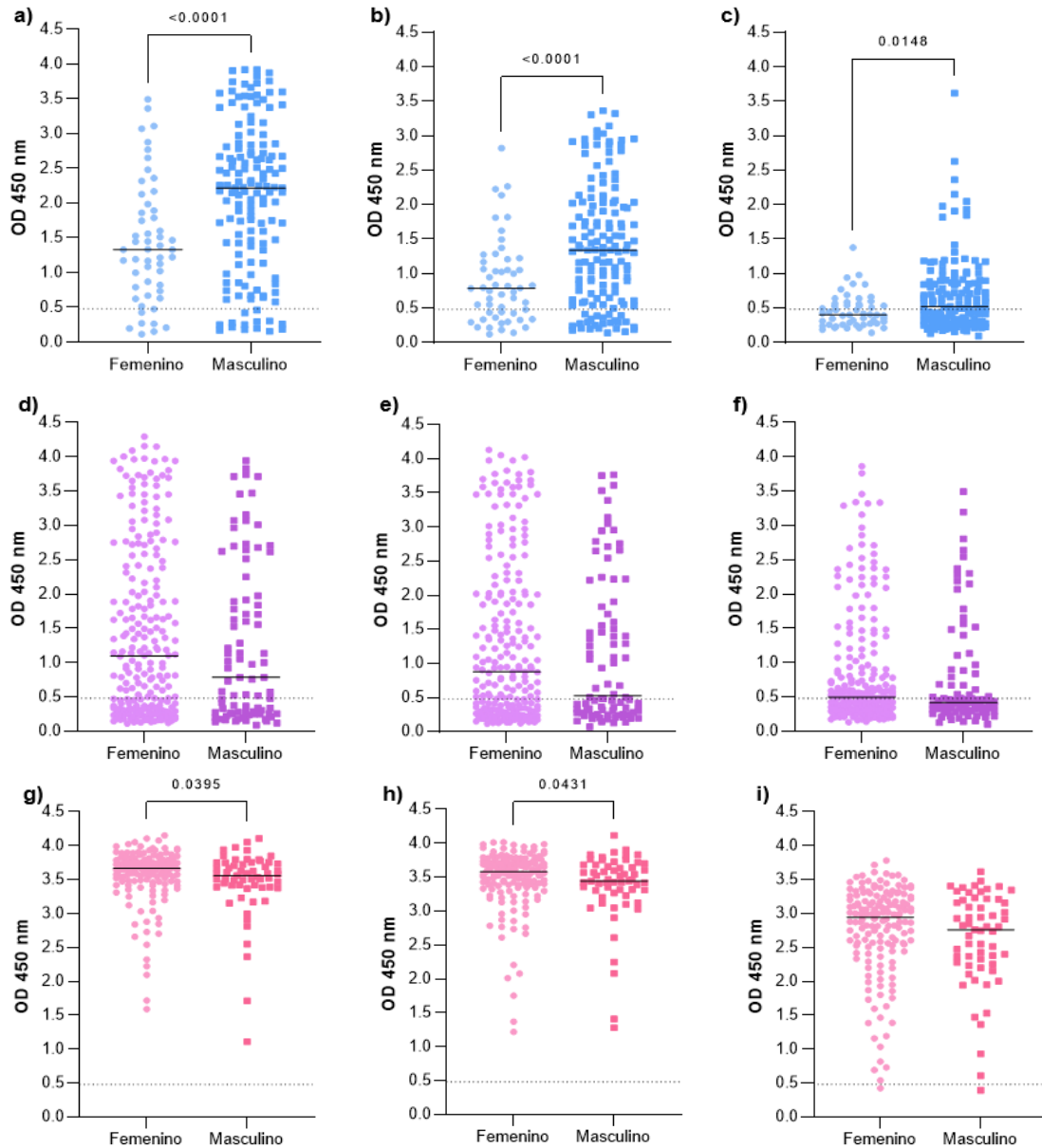


Figura 7: Anticuerpos IgG anti-RBD por sexo para las variantes del SARS-CoV-2. Anticuerpos IgG anti-RBD la variante Wuhan (a), Delta (b) y Ómicron XBB.1.5 (c) en sujetos infectados sin vacunar. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (d), Delta (e) y Ómicron XBB.1.5 (f) en sujetos vacunados con CanSino. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (g), Delta (h) y Ómicron XBB.1.5 (i) en sujetos con vacuna de refuerzo Moderna.

Se analizaron los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 por edad para los diferentes grupos de sujetos estudiados. No se encontró diferencia estadísticamente significativa por grupo de edad en los sujetos infectados sin vacunar (Figura 8a, 8b, 8c), vacunados con CanSino (Figura 8d, 8e, 8f) y en aquellos con vacuna de refuerzo Moderna

(Figura 8g, 8h, 8i) para ninguna de las variantes ($p > 0.05$). Otros estudios indican que la edad influye sobre los niveles de anticuerpos, aumentando estos con la edad (Gerges *et al.*, 2022; Klein *et al.*, 2020). En este caso, el hecho de que no se encuentre diferencia por grupo de edad en ningún grupo de sujetos podría indicar la necesidad de estratificar de manera diferente los grupos de edad, para así observar mejor el comportamiento en los sujetos mayores de 60 años.

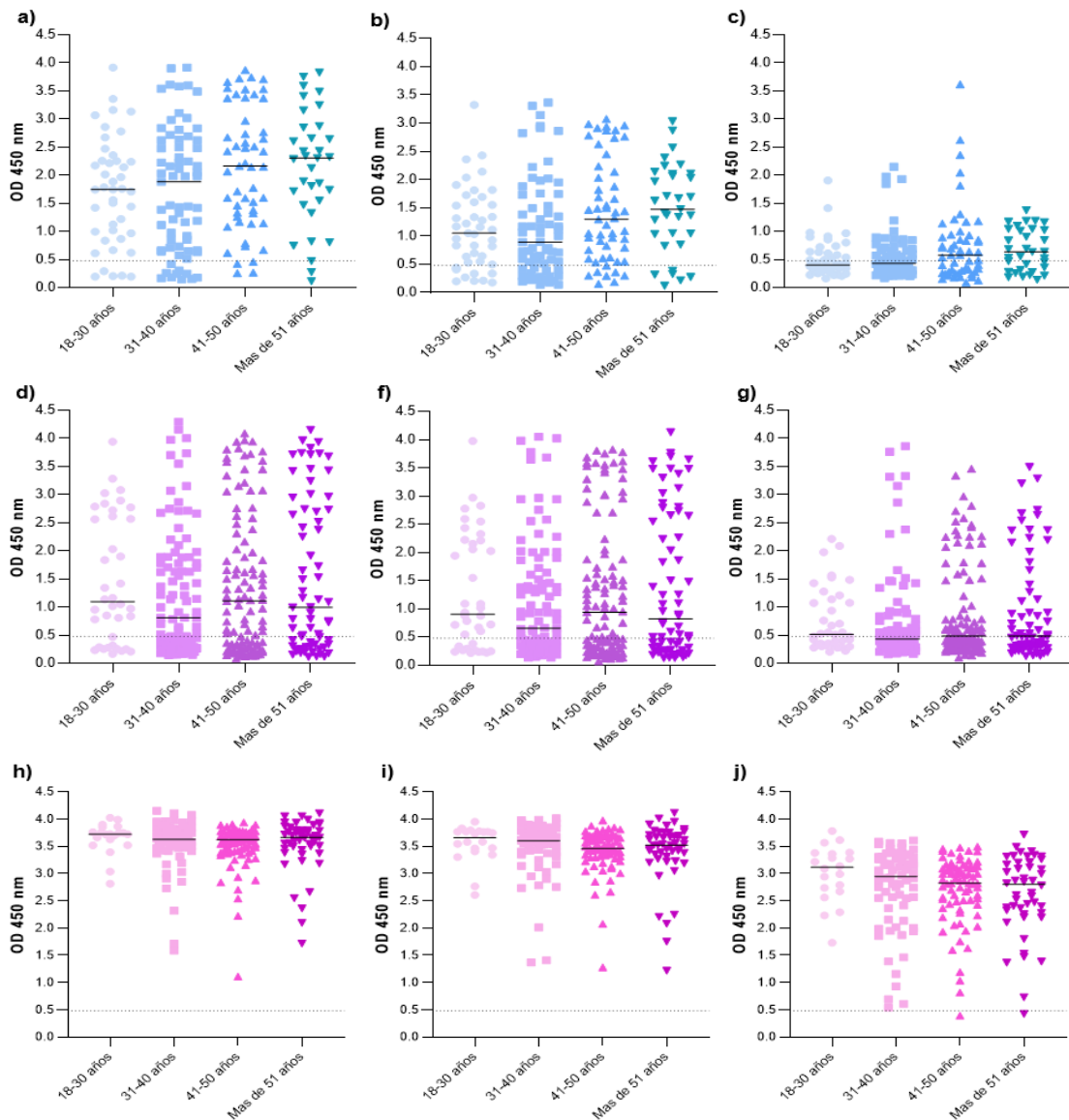


Figura 8: Anticuerpos IgG anti-RBD por edad para las variantes del SARS-CoV-2. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (a), Delta (b) y Ómicron XBB.1.5 (c) en sujetos infectados sin vacunar. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (d), Delta (e) y Ómicron XBB.1.5 (f) en sujetos vacunados con CanSino. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (g), Delta (h) y Ómicron XBB.1.5 (i) en sujetos con vacuna de refuerzo Moderna.

Se valoraron los anticuerpos IgG anti-RBD en los sujetos de acuerdo con su antecedente de infección. En los sujetos infectados sin vacunar no se encontró diferencia estadísticamente significativa en los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD entre sujetos con y sin neumonía para la variante Wuhan ($p > 0.05$) (Figura 9a), Delta ($p > 0.05$) (Figura 9b) u Ómicron XBB.1.5 ($p > 0.05$) (Figura 9c) del SARS-CoV-2. Se ha reportado ausencia de detección de anticuerpos o bajos títulos para IgG anti-S dentro de los primeros 15 días del inicio de los síntomas, principalmente en sujetos internados en la unidad de cuidados intensivos, los cuales presentan los mayores títulos posteriores a este periodo (Sun *et al.*, 2020). En este grupo de sujetos se cuenta con muestras que se obtuvieron dentro de la primera semana del inicio de los síntomas pudiendo explicar que algunas no tuviesen en ese momento valores más altos de anticuerpos IgG anti-RBD a diferencia de IgG anti-N que se puede detectar dentro de la primer semana de infección.

En los sujetos vacunados con CanSino (Figura 9d, 9e, 9f), se obtuvieron mayores niveles de anticuerpos IgG anti-RBD en los sujetos con antecedente de infección por COVID-19 que, en aquellos únicamente vacunados, siendo mayores en aquellos que refirieron haber cursado con neumonía ($p < 0.05$). La presencia de mayores niveles de anticuerpos en sujetos infectados y vacunados con CanSino fue consistente para la variante Wuhan ($p < 0.0001$) (Figura 9d), Delta ($p < 0.0001$) (Figura 9e) y Ómicron XBB.1.5 ($p < 0.0001$) (Figura 9f). Los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna presentaron también mayores valores de anticuerpos IgG anti-RBD en los sujetos con antecedente de infección que en aquellos únicamente vacunados para las variantes Wuhan ($p < 0.05$) (Figura 9g) y Delta ($p < 0.05$) (Figura 9h). La variante Ómicron XBB.1.5 en sujetos con vacuna de refuerzo Moderna (Figura 9i) no presentó diferencia estadísticamente significativa en los valores de anticuerpos IgG anti-RBD entre sujetos infectados y no infectados ($p > 0.05$). La inmunidad híbrida ha presentado mayores títulos de nAbs y anticuerpos IgG anti-S y anti-RBD que la generada únicamente por vacunación (Bates *et al.*, 2022; Ebinger *et al.*, 2021; Hernández *et al.*, 2023; Melgoza-González *et al.*, 2021). Probablemente debido a un estímulo de la respuesta inmune más eficiente por exposición una mayor variedad antígenos del virus durante la infección por COVID-19, la respuesta inmune generada por la infección y al estímulo proporcionado por la carga viral (Astuti & Ysrafil, 2020; Fajnzylber *et al.*, 2020).

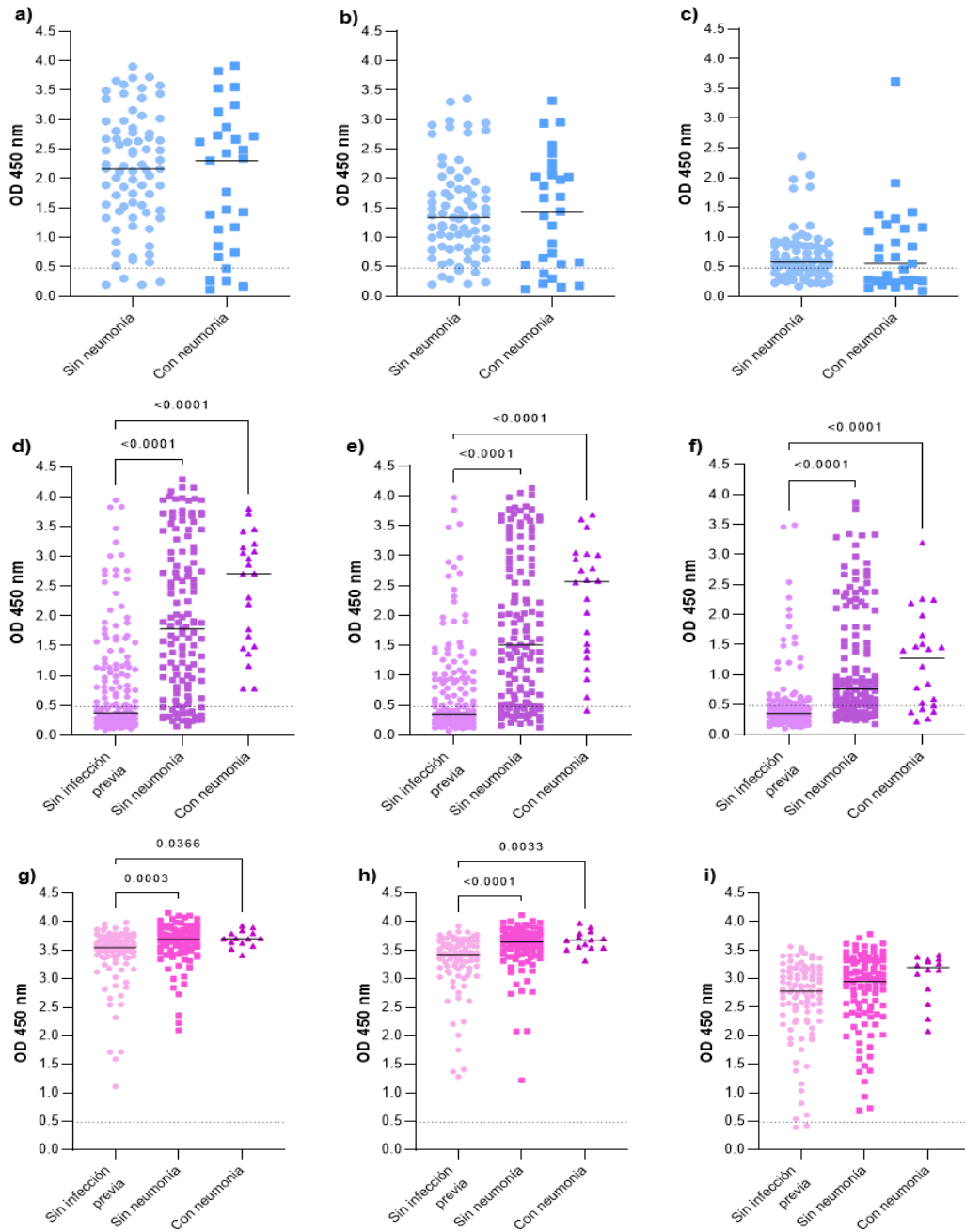


Figura 9: Anticuerpos IgG anti-RBD por variante del SARS-CoV-2 de acuerdo con la severidad de la infección por COVID-19. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (a), Delta (b) y Ómicron XBB.1.5 (c) en sujetos infectados sin vacunar. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (d), Delta (e) y Ómicron XBB.1.5 (f) en sujetos vacunados con CanSino. Anticuerpos IgG anti-RBD para la variante Wuhan (g), Delta (h) y Ómicron XBB.1.5 (i) en sujetos con vacuna de refuerzo Moderna.

6.3. Efecto de la Edad, Sexo, Severidad de la Infección y Antecedente de Vacunación Sobre los Niveles de Anticuerpos IgG Anti-N e IgG Anti-RBD de la Variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5

Al realizar el modelo de regresión lineal para anticuerpos IgG anti-N (Cuadro 6) se decidió considerar a los sujetos infectados sin vacunar y aquellos con vacuna CanSino, excluyendo a los sujetos de los cuales se desconocía la severidad de la enfermedad, obteniéndose dos modelos de regresión. En estos modelos se observó un aumento en los niveles de anticuerpos IgG anti-N (efecto positivo) debido al sexo y la severidad de la infección por COVID-19, siendo este mayor en el sexo masculino y en los sujetos que cursaron con neumonía para ambos sexos ($p < 0.05$). Esto concuerda con lo reportado en otros estudios de regresión donde se valora el efecto del sexo y la severidad de la enfermedad sobre los niveles y persistencia de los valores de anticuerpos IgG anti-N (Chansaenroj *et al.*, 2021; Gerhards *et al.*, 2021; Movsisyan *et al.*, 2022). El efecto del sexo sobre los niveles de anticuerpos puede deberse a factores propios a la respuesta inmune de este en comparación al femenino como se mencionó anteriormente, ya que en este caso al ajustar el modelo por las variables sexo y severidad se puede ver un efecto independiente del sexo (Mukherjee & Pahan, 2021). En cuanto a la severidad de la enfermedad, indica que los niveles de anticuerpos están relacionados con su progresión y la respuesta inmune generada.

Cuadro 6: Modelo de regresión lineal múltiple estratificado por sexo para anticuerpos IgG anti-N del SARS-CoV-2 en sujetos infectados sin vacunar y vacunados con CanSino con valores positivos para anticuerpos IgG anti-N (n= 423).

Variable independiente	Modelo 1 (ajustado)			Modelo 2 (ajustado)		
	Coefficiente β	IC 95%	p-valor	Coefficiente β	IC 95%	p-valor
Femenino (n= 260)						
Severidad						
No infectado	Ref.					
Sin neumonía	1.072	0.885 - 1.259	<0.001			
Con neumonía	1.101	0.759 - 1.444	<0.001			
Masculino (n= 162)						
Severidad						
No infectado				Ref.		
Sin neumonía				1.569	1.243 - 1.896	<0.001
Con neumonía				1.778	1.358 - 2.198	<0.001

Se obtuvieron dos modelos de regresión lineal múltiple para los anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Wuhan del SARS-CoV-2 (Cuadro 7). Se encontró efecto positivo de la severidad de la infección por COVID-19 sobre los niveles de anticuerpos, siendo este efecto mayor en los sujetos con neumonía ($p < 0.05$). Este resultado concuerda con lo encontrado en otros estudios donde se valora el efecto de la severidad de la enfermedad sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD. En estos se reporta también efecto de la edad y el sexo sobre los niveles de anticuerpos, mientras que en este modelo no se encontró ese efecto (Gerhards *et al.*, 2021; Klein *et al.*, 2020; Varona *et al.*, 2021). Se encontró efecto positivo de la aplicación de la vacuna de refuerzo Moderna sobre los niveles de anticuerpos, sin embargo, los valores de anticuerpos disminuyeron (efecto negativo) para la aplicación de la dosis única de vacuna CanSino en comparación con aquellos infectados ($p < 0.05$). Varios estudios han encontrado una respuesta similar, donde los niveles de anticuerpos anti-RBD y anti-S para sujetos sin infección por COVID-19 previa y con aplicación de una dosis de diferentes tipos de vacunas son inferiores que los de sujetos infectados a corto y largo plazo (Bates *et al.*, 2022; Keshavarz *et al.*, 2022; Melgoza-González *et al.*, 2021).

Cuadro 7: Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Wuhan del SARS-CoV-2 (n=633).

Variable independiente	Modelo 1 (ajustado)			Modelo 2 (ajustado)		
	Coefficiente β	IC 95%	p-valor	Coefficiente β	IC 95%	p-valor
Severidad						
No infectado	Ref.					
Sin neumonía	0.746	0.525 -0.967	<0.001			
Con neumonía	0.696	0.333 -1.060	<0.001			
Vacunación						
Sin vacunar				Ref.		
Vacunados con CanSino				-0.675	-0.895 – -0.461	<0.001
Con vacuna de refuerzo Moderna				1.461	1.228 – 1.694	<0.001

El modelo regresión lineal múltiple para la variante Delta del SARS-CoV-2 (Cuadro 8), mostró un efecto positivo de la severidad de la infección y el estado de vacunación contra el COVID-19 de los sujetos, siendo mayor en sujetos con neumonía y en aquellos con dosis de refuerzo Moderna (p

<0.05). Se observó el mismo comportamiento para la regresión lineal múltiple de la variante Ómicron XBB.1.5 (Cuadro 9), encontrando nuevamente efecto positivo de severidad de la infección y estado de vacunación sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD ($p < 0.05$). Esto a su vez es compatible con lo reportado para la variante Wuhan-Hu-1, donde las principales variantes con efecto positivo sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD o anti-S es la severidad de la enfermedad. En estos mismos estudios se ha reportado el efecto positivo de la edad y el sexo, principalmente masculino, sobre los niveles de anticuerpos (Gerhards *et al.*, 2021; Klein *et al.*, 2020; Varona *et al.*, 2021). En este estudio no se encontró efecto de la edad y el sexo sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD para ninguna de las variantes estudiadas ($p > 0.05$). Esto podría indicar la necesidad de estudiar el efecto de las variables dentro de cada grupo de sujetos, que es donde se identificó diferencia en los niveles de anticuerpos por sexo.

Cuadro 8: Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Delta del SARS-CoV-2 (n=633).

Variable independiente	Modelo (ajustado)		
	Coefficiente β	IC 95%	p-valor
Severidad			
No infectado	Ref.		
Sin neumonía	0.249	0.043 – 0.455	0.018
Con neumonía	2.386	2.172 – 2.6	<0.001
Vacunación			
Sin vacunar	Ref.		
Vacunados con CanSino	0.753	0.602 – 0.903	<0.001
Con vacuna de refuerzo Moderna	0.955	0.706 – 1.204	<0.001

Cuadro 9: Modelo de regresión lineal múltiple para anticuerpos IgG anti-RBD de la variante Ómicron XBB.1.5 del SARS-CoV-2 (n=633).

Variable independiente	Modelo (ajustado)		
	Coefficiente β	IC 95%	p-valor
Severidad			
No infectado	Ref.		
Sin neumonía	0.387	0.219 – 0.556	<0.001
Con neumonía	2.247	2.072 – 2.442	<0.001
Vacunación			
Sin vacunar	Ref.		
Vacunados con CanSino	0.462	0.339 – 0.585	<0.001
Con vacuna de refuerzo Moderna	0.581	0.377 – 0.785	<0.001

7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se encontró que los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD del SARS-CoV-2 disminuyen frente a las nuevas variantes, siendo esto más pronunciado para los sujetos infectados sin vacunar y en aquellos con dosis única de vacuna CanSino. En estos sujetos no solo se observó disminución en los niveles de anticuerpos ante a variante Delta y Ómicron XBB.1.5, también se encontró disminución en la seropositividad. En cuanto a los sujetos con vacuna de refuerzo Moderna, la disminución en los niveles de anticuerpo si bien fue significativa para la variante Delta y Ómicron XBB.1.5, estos conservaron una seropositividad del 99%.

Se encontró que el sexo masculino y la severidad de la infección por COVID-19, principalmente en aquellos que cursaron con neumonía influyen positivamente sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-N. Mientras que para IgG anti-RBD fue la severidad de la infección por COVID-19 y el antecedente de vacunación, principalmente en sujetos que cursaron con neumonía y aquellos con dosis de refuerzo Moderna las que influyeron de forma positiva sobre los niveles de anticuerpos. Esto fue igual para la variante Wuhan, Delta y Ómicron XBB.1.5 del SARS-CoV-2. No se encontró efecto del sexo sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-RBD de ninguna de las variables, así como tampoco se encontró efecto de la edad sobre los niveles de anticuerpos IgG anti-N y anti-RBD.

8. RECOMENDACIONES

El estudiar los anticuerpos neutralizantes ayudaría a complementar la información obtenida y permitiría estudiar la relación que estos tienen con los anticuerpos IgG. Sería recomendable realizar un cuestionario para revalorar la información previo a cada recolección de muestra, en especial si se cursó con infección por COVID-19 entre la recolección de muestras. Obtener información sobre las comorbilidades de los sujetos ampliaría la visión de los factores que afectan la respuesta inmune y como interactúan. Al solicitar la información sería preferible obtener la edad como variable continua en lugar de categórica, ya que permitiría crear estratos según se necesite y permitiría una mejor valoración de la información al realizar estudios de regresión.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Alqassieh, R., Suleiman, A., Abu-Halaweh, S., Santarisi, A., Shatnawi, O., Shdaifat, L., Tarifi, A., Al-Tamimi, M., Al-Shudifat, A.-E., Alsmadi, H., Al Sharqawi, A., Alnawaiseh, H., Anasweh, Y., Domaidah, F. A., Jaber, H. A., Al-Zarir, M. R., & Bsisu, I. (2021). Pfizer-BioNTech and Sinopharm: A comparative study on post-vaccination antibody titers. *Vaccines*, 9(11), 1223. <https://doi.org/10.3390/vaccines9111223>
- Arbel, R., Peretz, A., Sergienko, R., Friger, M., Beckenstein, T., Duskin-Bitan, H., Yaron, S., Hammerman, A., Bilenko, N., & Netzer, D. (2023). Effectiveness of a bivalent mRNA vaccine booster dose to prevent severe COVID-19 outcomes: a retrospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00122-6)
- Astuti, I., & Ysrafil. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 14(4), 407–412. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.020>
- Baden, L. R., El Sahly, H. M., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., Diemert, D., Spector, S. A., Rouphael, N., Creech, C. B., McGettigan, J., Khetan, S., Segall, N., Solis, J., Brosz, A., Fierro, C., Schwartz, H., Neuzil, K., Corey, L., ... COVE Study Group. (2021). Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 384(5), 403–416. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035389>
- Bai, Z., Cao, Y., Liu, W., & Li, J. (2021). The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and its role in viral structure, biological functions, and a potential target for drug or vaccine mitigation. *Viruses*, 13(6), 1115. <https://doi.org/10.3390/v13061115>
- Bates, T. A., McBride, S. K., Leier, H. C., Guzman, G., Lyski, Z. L., Schoen, D., Winders, B., Lee, J.-Y., Lee, D. X., Messer, W. B., Curlin, M. E., & Tafesse, F. G. (2022). Vaccination before or after SARS-CoV-2 infection leads to robust humoral response and antibodies that effectively neutralize variants. *Science Immunology*, 7(68). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abn8014>
- Buitrago-Garcia, D., Egli-Gany, D., Counotte, M. J., Hossmann, S., Imeri, H., Ipekci, A. M., Salanti, G., & Low, N. (2020). Occurrence and transmission potential of asymptomatic and pre symptomatic SARS-CoV-2 infections: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS Medicine*, 17(9), e1003346. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003346>
- Cameroni, E., Bowen, J. E., Rosen, L. E., Saliba, C., Zepeda, S. K., Culap, K., Pinto, D., VanBlargan, L. A., De Marco, A., di Iulio, J., Zatta, F., Kaiser, H., Noack, J., Farhat, N., Czudnochowski, N., Havenar-Daughton, C., Sprouse, K. R., Dillen, J. R., Powell, A. E., ... Corti, D. (2021). Broadly neutralizing antibodies overcome SARS-CoV-2 Omicron antigenic shift. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-03825-4>
- Cao, Y., Wang, J., Jian, F., Xiao, T., Song, W., Yisimayi, A., Huang, W., Li, Q., Wang, P., An, R., Wang, J., Wang, Y., Niu, X., Yang, S., Liang, H., Sun, H., Li, T., Yu, Y., Cui, Q., ... Xie, X. S. (2022). Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature*, 602(7898), 657–663. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04385-3>

- Carnalla, M., Basto-Abreu, A., Stern, D., Colchero, M. A., Bautista-Arredondo, S., Alpuche-Aranda, C. M., Martínez-Barnetche, J., Romero-Martínez, M., Cortés-Alcalá, R., López-Martínez, I., Aparicio-Antonio, R., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2023). Prevalencia de anticuerpos y vacunación contra SARS-CoV-2 en 2022 en México. *Salud pública de Mexico*, 65, s135–s145. <https://doi.org/10.21149/14834>
- CDC. (2022). About serology surveillance. Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado el 24 de abril de 2023 de: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/about-serology-surveillance.html>
- CDC. (2023). SARS-CoV-2 variant classifications and definitions. Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado de <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
- Chalkias, S., Harper, C., Vrbicky, K., Walsh, S. R., Essink, B., Brosz, A., McGhee, N., Tomassini, J. E., Chen, X., Chang, Y., Sutherland, A., Montefiori, D. C., Girard, B., Edwards, D. K., Feng, J., Zhou, H., Baden, L. R., Miller, J. M., & Das, R. (2022). A Bivalent Omicron-containing Booster Vaccine Against Covid-19. En bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.06.24.22276703>
- Chansaenroj, J., Yorsaeng, R., Posuwan, N., Puenpa, J., Wanlapakorn, N., Sudhinaraset, N., Sripramote, M., Chalongviriyalert, P., Jirajariyavej, S., Kiatpanabhikul, P., Saiyarin, J., Soudon, C., Thienfaidee, O., Palakawong Na Ayuthaya, T., Brukesawan, C., Chirathaworn, C., Intharasongkroh, D., Chaiwanichsiri, D., Issarasongkhram, M., ... Poovorawan, Y. (2021). Long-term specific IgG response to SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in recovered COVID-19 patients. *Scientific Reports*, 11(1), 23216. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02659-4>
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(10), 2249. <https://doi.org/10.1002/jmv.26234>
- CSG (Coronaviridae Study Group) of the International Committee on Taxonomy of Viruses. (2020). The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Ebinger, J. E., Fert-Bober, J., Printsev, I., Wu, M., Sun, N., Prostko, J. C., Frias, E. C., Stewart, J. L., Van Eyk, J. E., Braun, J. G., Cheng, S., & Sobhani, K. (2021). Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 27(6), 981–984. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01325-6>
- Evans, J. P., Zeng, C., Carlin, C., Lozanski, G., Saif, L. J., Oltz, E. M., Gumina, R. J., & Liu, S.-L. (2022). Neutralizing antibody responses elicited by SARS-CoV-2 mRNA vaccination wane over time and are boosted by breakthrough infection. *Science Translational Medicine*, 14(637), eabn8057. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abn8057>
- Fajnzyblber, J., Regan, J., Coxen, K., Corry, H., Wong, C., Rosenthal, A., Worrall, D., Giguel, F., Piechocka-Trocha, A., Atyeo, C., Fischinger, S., Chan, A., Flaherty, K. T., Hall, K., Dougan, M., Ryan, E. T., Gillespie, E., Chishti, R., Li, Y., ... The Massachusetts Consortium for Pathogen Readiness. (2020). SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19057-5>

- Falsey, A. R., Sobieszczyk, M. E., Hirsch, I., Sproule, S., Robb, M. L., Corey, L., Neuzil, K. M., Hahn, W., Hunt, J., Mulligan, M. J., McEvoy, C., DeJesus, E., Hassman, M., Little, S. J., Pahud, B. A., Durbin, A., Pickrell, P., Daar, E. S., Bush, L., ... AstraZeneca AZD1222 Clinical Study Group. (2021). Phase 3 safety and efficacy of AZD1222 (ChAdOx1 nCoV-19) Covid-19 vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 385(25), 2348–2360. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2105290>
- Finkel, Y., Mizrahi, O., Nachshon, A., Weingarten-Gabbay, S., Morgenstern, D., Yahalom-Ronen, Y., Tamir, H., Achdout, H., Stein, D., Israeli, O., Beth-Din, A., Melamed, S., Weiss, S., Israely, T., Paran, N., Schwartz, M., & Stern-Ginossar, N. (2021). The coding capacity of SARS-CoV-2. *Nature*, 589(7840), 125–130. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2739-1>
- Garcia-Beltran, W. F., Lam, E. C., St Denis, K., Nitido, A. D., Garcia, Z. H., Hauser, B. M., Feldman, J., Pavlovic, M. N., Gregory, D. J., Poznansky, M. C., Sigal, A., Schmidt, A. G., Iafrate, A. J., Naranbhai, V., & Balazs, A. B. (2021). Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell*, 184(9), 2523. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.006>
- Gerges, D., Kapps, S., Hernández-Carralero, E., Freire, R., Aiad, M., Schmidt, S., Winnicki, W., Reiter, T., Pajenda, S., Schmidt, A., Sunder-Plassmann, G., & Wagner, L. (2022). Vaccination with BNT162b2 and ChAdOx1 nCoV-19 induces cross-reactive anti-RBD IgG against SARS-CoV-2 variants including Omicron. *Viruses*, 14(6), 1181. <https://doi.org/10.3390/v14061181>
- Gerhards, C., Thiaucourt, M., Kittel, M., Becker, C., Ast, V., Hetjens, M., Neumaier, M., & Haselmann, V. (2021). Longitudinal assessment of anti-SARS-CoV-2 antibody dynamics and clinical features following convalescence from a COVID-19 infection. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 107, 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.04.080>
- Halperin, S. A., Ye, L., MacKinnon-Cameron, D., Smith, B., Cahn, P. E., Ruiz-Palacios, G. M., Ikram, A., Lanas, F., Lourdes Guerrero, M., Muñoz Navarro, S. R., Sued, O., Lioznov, D. A., Dzutseva, V., Parveen, G., Zhu, F., Leppan, L., Langley, J. M., Barreto, L., Gou, J., ... CanSino COVID-19 Global Efficacy Study Group. (2022). Final efficacy analysis, interim safety analysis, and immunogenicity of a single dose of recombinant novel coronavirus vaccine (adenovirus type 5 vector) in adults 18 years and older: an international, multicentre, randomised, double-blinded, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*, 399(10321), 237–248. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02753-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02753-7)
- Harvey, W. T., Carabelli, A. M., Jackson, B., Gupta, R. K., Thomson, E. C., Harrison, E. M., Ludden, C., Reeve, R., Rambaut, A., COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium, et al. (2021). SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(7), 409–424. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00573-0>
- Hernández, J., Dehesa-Canseco, F., Vázquez-López, A. B., Reséndiz-Sandoval, M., Caire-Juvera, G., Solís-Hernández, M., Valenzuela, O., Gómez-Gil, B., & Mata-Haro, V. (2023). Neutralization of Omicron BA.1, BA.5.1.6, BQ.1.3 and XBB1.1 induced by heterologous vaccination Ad5-nCoV and mRNA-1273. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 174. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01447-y>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens,

- T. S., Herler, 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(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Karikó, K., Muramatsu, H., Welsh, F. A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S., & Weissman, D. (2008). Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 16(11), 1833–1840. <https://doi.org/10.1038/mt.2008.200>
- Keech, C., Albert, G., Cho, I., Robertson, A., Reed, P., Neal, S., Plested, J. S., Zhu, M., Cloney-Clark, S., Zhou, H., Smith, G., Patel, N., Frieman, M. B., Haupt, R. E., Logue, J., McGrath, M., Weston, S., Piedra, P. A., Desai, C., ... Glenn, G. M. (2020). Phase 1-2 trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 383(24), 2320–2332. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2026920>
- Keshavarz, B., Richards, N. E., Workman, L. J., Patel, J., Muehling, L. M., Canderan, G., Murphy, D. D., Brovero, S. G., Ailsworth, S. M., Eschenbacher, W. H., McGowan, E. C., Mann, B. J., Nelson, M. R., Kadl, A., Woodfolk, J. A., Platts-Mills, T. A. E., & Wilson, J. M. (2022). Trajectory of IgG to SARS-CoV-2 after vaccination with BNT162b2 or mRNA-1273 in an employee cohort and comparison with natural infection. *Frontiers in Immunology*, 13, 850987. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.850987>
- Kitchin, D., Richardson, S. I., van der Mescht, M. A., Motlou, T., Mzindle, N., Moyo-Gwete, T., Makhado, Z., Ayres, F., Manamela, N. P., Spencer, H., Lambson, B., Oosthuysen, B., Kaldine, H., du Pisanie, M., Mennen, M., Skelem, S., Williams, N., Ntusi, N. A. B., Burgers, W. A., ... Moore, P. L. (2022). Ad26.COV2.S breakthrough infections induce high titers of neutralizing antibodies against Omicron and other SARS-CoV-2 variants of concern. *Cell Reports. Medicine*, 3(3), 100535. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100535>
- Klein, S. L., Pekosz, A., Park, H.-S., Ursin, R. L., Shapiro, J. R., Benner, S. E., Littlefield, K., Kumar, S., Naik, H. M., Betenbaugh, M. J., Shrestha, R., Wu, A. A., Hughes, R. M., Burgess, I., Caturegli, P., Laeyendecker, O., Quinn, T. C., Sullivan, D., Shoham, S., ... Tobian, A. A. R. (2020). Sex, age, and hospitalization drive antibody responses in a COVID-19 convalescent plasma donor population. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 6141–6150. <https://doi.org/10.1172/jci142004>
- Kurhade, C., Zou, J., Xia, H., Liu, M., Chang, H. C., Ren, P., Xie, X., & Shi, P.-Y. (2023). Low neutralization of SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75.2, BQ.1.1 and XBB.1 by parental mRNA vaccine or a BA.5 bivalent booster. *Nature Medicine*, 29(2), 344–347. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-02162-x>
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- Li, C., Lee, A., Grigoryan, L., Arunachalam, P. S., Scott, M. K. D., Trisal, M., Wimmers, F., Sanyal, M., Weidenbacher, P. A., Feng, Y., Adamska, J. Z., Valore, E., Wang, Y., Verma, R., Reis, N., Dunham, D., O'Hara, R., Park, H., Luo, W., ... Pulendran, B. (2022). Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BNT162b2

vaccine. *Nature Immunology*, 23(4), 543–555. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01163-9>

- Melgoza-González, E. A., Hinojosa-Trujillo, D., Reséndiz-Sandoval, M., Mata-Haro, V., Hernández-Valenzuela, S., García-Vega, M., Bravo-Parra, M., Arvizu-Flores, A. A., Valenzuela, O., Velázquez, E., Soto-Gaxiola, A., Gómez-Meza, M. B., Pérez-Jacobo, F., Villela, L., & Hernández, J. (2022). Analysis of IgG, IgA and IgM antibodies against SARS-CoV-2 spike protein S1 in convalescent and vaccinated patients with the Pfizer-BioNTech and CanSinoBio vaccines. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4), e734–e745. <https://doi.org/10.1111/tbed.14344>
- Mendonça, S. A., Lorincz, R., Boucher, P., & Curiel, D. T. (2021). Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic. *Npj Vaccines*, 6(1), 97. <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00356-x>
- Menni, C., Valdes, A. M., Polidori, L., Antonelli, M., Penamakuri, S., Nogal, A., Louca, P., May, A., Figueiredo, J. C., Hu, C., Molteni, E., Canas, L., Österdahl, M. F., Modat, M., Sudre, C. H., Fox, B., Hammers, A., Wolf, J., Capdevila, J., ... Spector, T. D. (2022). Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. *Lancet*, 399(10335), 1618–1624. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00327-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00327-0)
- Moss, P. (2022). The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nature Immunology*, 23(2), 186–193. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01122-w>
- Movsisyan, M., Chopikyan, A., Kasparova, I., Hakobjanyan, G., Carrat, F., Sukiasyan, M., Rushanyan, M., Chalabyan, M., Shariff, S., Kantawala, B., Keshishyan, A., Hovhannisyan, A., Hakobyan, A., Petrosyan, G., Minasyan, A., Muradyan, A., Mekinian, A., & Yenkoyan, K. (2022). Kinetics of anti-nucleocapsid IgG response in COVID-19 immunocompetent convalescent patients. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16402-0>
- Mukherjee, S., & Pahan, K. (2021). Is COVID-19 gender-sensitive? *Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 16(1), 38–47. <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09974-z>
- Muñoz-Medina, J. E., Grajales-Muñiz, C., Salas-Lais, A. G., Fernandes-Matano, L., López-Macías, C., Monroy-Muñoz, I. E., Santos Coy-Arechavaleta, A., Palomec-Nava, I. D., Duque-Molina, C., Madera-Sandoval, R. L., Rivero-Arredondo, V., González-Ibarra, J., Alvarado-Yaah, J. E., Rojas-Mendoza, T., Santacruz-Tinoco, C. E., González-Bonilla, C. R., & Borja-Aburto, V. H. (2021). SARS-CoV-2 IgG antibodies seroprevalence and Sera neutralizing activity in MEXICO: A national cross-sectional study during 2020. *Microorganisms*, 9(4), 850. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040850>
- Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., Atif, S. M., Hariprasad, G., Hasan, G. M., & Hassan, M. I. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, 1866(10), 165878. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>
- Oberhardt, V., Luxenburger, H., Kemming, J., Schulien, I., Ciminski, K., Giese, S., Csernalabics, B., Lang-Meli, J., Janowska, I., Staniek, J., Wild, K., Basho, K., Marinescu, M. S., Fuchs, J.,

- Topfstedt, F., Janda, A., Sogukpinar, O., Hilger, H., Stete, K., ... Hofmann, M. (2021). Rapid and stable mobilization of CD8+ T cells by SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *Nature*, 597(7875), 268–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03841-4>
- OMS. (2023). Manejo clínico de la COVID-19: orientaciones evolutivas, 13 de enero de 2023 [Clinical management of COVID-19: living guideline, 13 January 2023]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (WHO/2019-nCoV/clinical/2023.1). Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- OPS. (2023). Preguntas frecuentes: Vacunas contra la COVID-19. Recuperado el 2 de octubre de 2023, de <https://www.paho.org/es/vacunas-contra-covid-19/preguntas-frecuentes-vacunas-contra-covid-19>
- PAHO. (2023). Se acaba la emergencia por la pandemia, pero la COVID-19 continúa. Recuperado el 26 de mayo de 2023, de <https://www.paho.org/es/noticias/6-5-2023-se-acaba-emergencia-por-pandemia-pero-covid-19-continua>
- Piccoli, L., Park, Y.-J., Tortorici, M. A., Czudnochowski, N., Walls, A. C., Beltramello, M., Silacci-Fregni, C., Pinto, D., Rosen, L. E., Bowen, J. E., Acton, O. J., Jaconi, S., Guarino, B., Minola, A., Zatta, F., Sprugasci, N., Bassi, J., Peter, A., De Marco, A., ... Veessler, D. (2020). Mapping neutralizing and immunodominant sites on the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain by structure-guided high-resolution serology. *Cell*, 183(4), 1024–1042.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.037>
- Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. V., Cooper, D., Frenck, R. W., Jr, Hammitt, L. L., ... C4591001 Clinical Trial Group. (2020). Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
- Poon, R. W.-S., Chan, B. P.-C., Chan, W.-M., Fong, C. H.-Y., Zhang, X., Lu, L., Chen, L.-L., Lam, J.-Y., Cheng, V. C.-C., Wong, S. S. Y., Kok, K.-H., Yuen, K.-Y., & To, K. K.-W. (2022). SARS-CoV-2 IgG seropositivity after the severe Omicron wave of COVID-19 in Hong Kong: Seroprevalence after Omicron wave. *Emerging Microbes & Infections*, 11(1), 2116–2119. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2106899>
- Qaqish, A., Abbas, M. M., Al-Tamimi, M., Abbas, M. A., Al-Omari, M., & Alqassieh, R. (2022). SARS-CoV-2 antinucleocapsid antibody response of mRNA and inactivated virus vaccines compared to unvaccinated individuals. *Vaccines*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/vaccines10050643>
- Sadoff, J., Gray, G., Vandebosch, A., Cárdenas, V., Shukarev, G., Grinsztejn, B., Goepfert, P. A., Truyers, C., Fennema, H., Spiessens, B., Offergeld, K., Scheper, G., Taylor, K. L., Robb, M. L., Treanor, J., Barouch, D. H., Stoddard, J., Ryser, M. F., Marovich, M. A., ... ENSEMBLE Study Group. (2021). Safety and efficacy of single-dose Ad26.COV2.S vaccine against Covid-19. *The New England Journal of Medicine*, 384(23), 2187–2201. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101544>
- Secretaría de Salud. (2019). Gob.mx. Recuperado el 4 de octubre de 2023, de https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/pano-OMENT/panoepid_ENT2019.pdf

- Secretaría de Salud. (2021). Panorama epidemiológico de las enfermedades no transmisibles en México, 2019. Reporte de vigilancia genómica del virus SARS-CoV-2 en México. Secretaría de salud, México. Recuperado de https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2021/10/2021.10.18_ReporteVariantesCOVID_InDRE.pdf
- Secretaría de Salud. (2022). Reporte de vigilancia genómica del virus SARS-CoV-2 en México Distribución nacional y estatal de variantes al 30 de diciembre de 2022. Secretaría de salud, México. Recuperado de <https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2023/01/Portada221230VariantesCOVID.pdf>
- Secretaría de Salud. (2023a). Informe integral de covid-19 en México número 01-2023 | 1º de abril de 2023. Secretaría de salud, México. Recuperado el 7 de junio del 2023 de https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/covid19/Info-01-23-Int_COVID-19.pdf
- Secretaría de Salud. (2023b). Reporte de vigilancia genómica del virus SARS-CoV-2 en México Distribución Nacional y Estatal de variantes al 07 de abril 2023. Secretaría de salud, México. Recuperado de <https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2023/04/Variantes7Abril23.pdf>
- Shen, X., Tang, H., McDanal, C., Wagh, K., Fischer, W., Theiler, J., Yoon, H., Li, D., Haynes, B. F., Sanders, K. O., Gnanakaran, S., Hengartner, N., Pajon, R., Smith, G., Glenn, G. M., Korber, B., & Montefiori, D. C. (2021). SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 is susceptible to neutralizing antibodies elicited by ancestral spike vaccines. *Cell Host & Microbe*, 29(4), 529–539.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.002>
- Smorenberg, A., Peters, E. J. G., van Daele, P. L. A., Nossent, E. J., & Muller, M. (2021). How does SARS-CoV-2 targets the elderly patients? A review on potential mechanisms increasing disease severity. *European Journal of Internal Medicine*, 83, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2020.11.024>
- Sun, B., Feng, Y., Mo, X., Zheng, P., Wang, Q., Li, P., Peng, P., Liu, X., Chen, Z., Huang, H., Zhang, F., Luo, W., Niu, X., Hu, P., Wang, L., Peng, H., Huang, Z., Feng, L., Li, F., ... Chen, L. (2020). Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 940–948. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1762515>
- Tanriover, M. D., Doğanay, H. L., Akova, M., Güner, H. R., Azap, A., Akhan, S., Köse, Ş., Erdiñç, F. Ş., Akalın, E. H., Tabak, Ö. F., Pullukçu, H., Batum, Ö., Şimşek Yavuz, S., Turhan, Ö., Yıldırım, M. T., Köksal, İ., Taşova, Y., Korten, V., Yılmaz, G., ... CoronaVac Study Group. (2021). Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. *Lancet*, 398(10296), 213–222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01429-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01429-X)
- Tao, K., Tzou, P. L., Nouhin, J., Gupta, R. K., de Oliveira, T., Kosakovsky Pond, S. L., Fera, D., & Shafer, R. W. (2021). The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nature Reviews. Genetics*, 22(12), 757–773. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00408-x>
- Tian, D., Sun, Y., Zhou, J., & Ye, Q. (2022). The global epidemic of SARS-CoV-2 variants and their mutational immune escape. *Journal of Medical Virology*, 94(3), 847–857. <https://doi.org/10.1002/jmv.27376>

- Tré-Hardy, M., Cupaiolo, R., Wilmet, A., Antoine-Moussiaux, T., Della Vecchia, A., Horeanga, A., Papeux, E., Vekemans, M., Beukinga, I., & Blairon, L. (2021). Immunogenicity of mRNA-1273 COVID vaccine after 6 months surveillance in health care workers; a third dose is necessary. *The Journal of Infection*, 83(5), 559–564. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.08.031>
- Van Elslande, J., Oyaert, M., Ailliet, S., Van Ranst, M., Lorent, N., Vande Weygaerde, Y., André, E., Lagrou, K., Vandendriessche, S., & Vermeersch, P. (2021). Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 136(104765), 104765. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104765>
- Varona, J. F., Madurga, R., Peñalver, F., Abarca, E., Almirall, C., Cruz, M., Ramos, E., & Castellano-Vazquez, J. M. (2021). kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibodies over time. Results of 10 month follow up in over 300 seropositive Health Care Workers. *European Journal of Internal Medicine*, 89, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.05.028>
- Walls, A. C., Park, Y.-J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Velesler, D. (2020). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Wang, Q., Iketani, S., Li, Z., Liu, L., Guo, Y., Huang, Y., Bowen, A. D., Liu, M., Wang, M., Yu, J., Valdez, R., Lauring, A. S., Sheng, Z., Wang, H. H., Gordon, A., Liu, L., & Ho, D. D. (2023). Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. *Cell*, 186(2), 279-286.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.018>
- WHO. (2020a). Novel Coronavirus (2019-nCoV) SITUATION REPORT - 1 21 JANUARY 2020. www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10
- WHO. (2020b). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 51. www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10
- WHO. (2023a) Updated working definitions and primary actions for SARSCoV2 variants. Who.int. Recuperado el 7 de julio de 2023, de <https://www.who.int/publications/m/item/updated-working-definitions-and-primary-actions-for--sars-cov-2-variants>
- WHO. (2023b). Coronavirus (COVID-19) dashboard. Recuperado el 26 de mayo de 2023, de <https://covid19.who.int/>
- WHO. (2023c). ArcGIS Dashboards. Recuperado el 26 de mayo de 2023, de <https://who.maps.arcgis.com/apps/dashboards/c147788564c148b6950ac7ecf54689a0>
- WHO. (2023d) Updated working definitions and primary actions for SARSCoV2 variants. World Health Organization. Recuperado el 6 de julio del 2023 de <https://www.who.int/publications/m/item/historical-working-definitions-and-primary-actions-for-sars-cov-2-variants>
- Wolter, N., Jassat, W., Walaza, S., Welch, R., Moultrie, H., Groome, M., Amoako, D. G., Everatt, J., Bhiman, J. N., Scheepers, C., Tebeila, N., Chiwandire, N., du Plessis, M., Govender, N., Ismail, A., Glass, A., Mlisana, K., Stevens, W., Treurnicht, F. K., ... Cohen, C. (2022). Early

assessment of the clinical severity of the SARS-CoV-2 omicron variant in South Africa: a data linkage study. *Lancet*, 399(10323), 437–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00017-4)

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.-M., Wang, W., Song, Z.-G., Hu, Y., Tao, Z.-W., Tian, J.-H., Pei, Y.-Y., Yuan, M.-L., Zhang, Y.-L., Dai, F.-H., Liu, Y., Wang, Q.-M., Zheng, J.-J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y.-Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

Zeng, W., Liu, G., Ma, H., Zhao, D., Yang, Y., Liu, M., Mohammed, A., Zhao, C., Yang, Y., Xie, J., Ding, C., Ma, X., Weng, J., Gao, Y., He, H., & Jin, T. (2022). Corrigendum to “Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein”. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 614, 225. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.05.058>