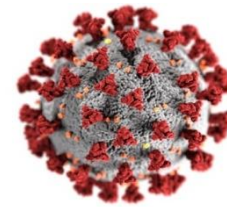


Anticuerpos frente a SARS-COV-2 en leche materna después de la vacunación con Abdala

Maylin Pérez-Bernal¹, Carlos Hernández¹, Rafael Ibargollín¹, Midalis Martínez², Migdiala Soria², Magali Delgado¹, Onel Valdivia¹, Dayamí Dorta¹, Andy Domínguez¹, Enrique Pérez¹, Yeosvany Cabrera¹

¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spíritus, Cuba

²Hospital General “Camilo Cienfuegos”, Sancti Spíritus, Cuba



En este trabajo se investigó la presencia en leche materna de anticuerpos anti-RBD de SARS-CoV-2, de isotipos IgA e IgG, 5 y 9 semanas después de la vacunación con las tres dosis de Abdala, en comparación con los anticuerpos de la leche materna de mujeres recuperadas de COVID-19, al menos 40 días después de la infección. Como control negativo del estudio, se utilizó leche materna de mujeres que no habían sido vacunadas con Abdala ni infectadas con el coronavirus.

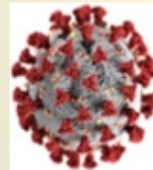
Las muestras de leche materna fueron recolectadas en el Servicio de Neonatología del Hospital General “Camilo Cienfuegos”, Sancti Spíritus, Cuba.



103 madres vacunadas con 3 dosis de Abdala



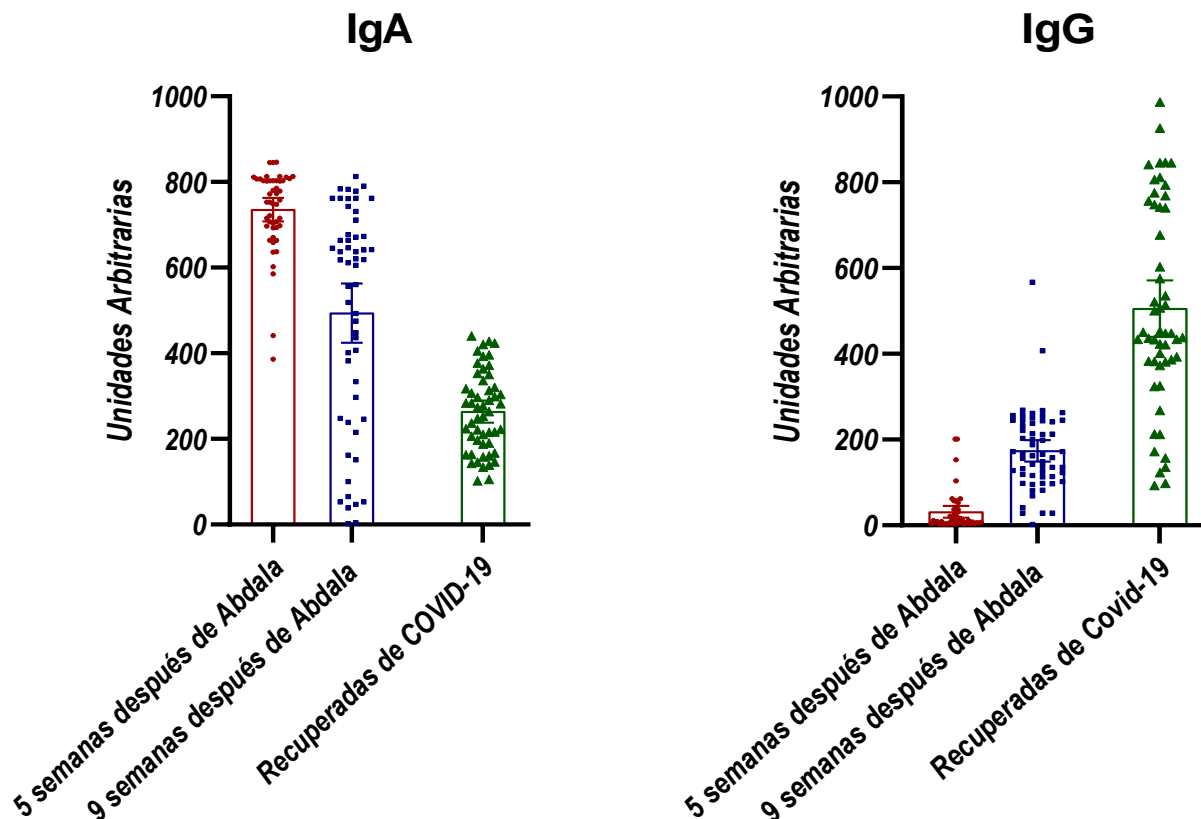
50 muestras independientes fueron colectadas 5 semanas después de la 3ra dosis; 53 se colectaron 9 semanas después



	Madres vacunadas (N= 103)	Madres no vacunadas y recuperadas de COVID-19 (N=52)
Edad, mediana (IQR), años	26 (21-32)	25 (21-29)
Saludables, %	78.64	32.69
Con enfermedades crónicas, %	21.36	67.31

ELISA para la detección de anticuerpos IgA e IgG anti-SARS-CoV-2 en leche materna

1. Recubrimiento la placa Costar 3590 con RBD en tampón carbonato-bicarbonato pH 9.8. Incubar 2h/ 37°C. Lavar 3 veces con PBS-Tween 0.05%
2. Bloqueo con albúmina bovina 1% en PBS, 1h/ 37°C. Aplicar 1 lavado.
3. Adición de las muestras de leche materna, diluidas 1:50, los controles negativos y el blanco del ensayo (diluyente de muestras y controles). Incubar 1h/ 37°C. Aplicar 3 lavados.
4. Adición del anticuerpo CBSSIgAH-HRP o del anti-humano IgG-HRP (comercial Dako). Incubar 1h/ 37°C. Aplicar 4 lavados.
5. Adición del sustrato OPD e incubar 20 min/ (22-25) °C en oscuridad.
6. Detener la reacción con ácido sulfúrico 2M. Lectura de absorbancia a 492 nm.



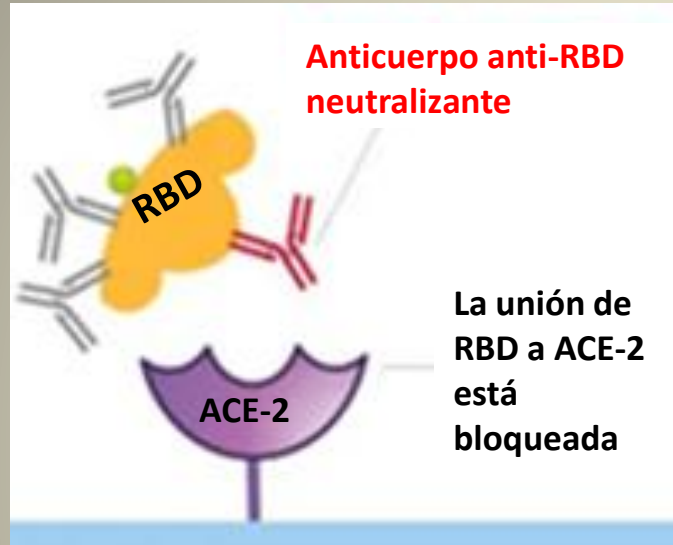
Respuesta de anticuerpos IgA e IgG anti-RBD del SARS-CoV-2 en la leche materna de madres vacunadas con tres dosis de Abdala y de madres recuperadas de COVID-19.

Se realizó ANOVA de un factor con prueba de comparaciones múltiples de Tukey para demostrar las diferencias significativas en las Unidades Arbitrarias de ambos isotipos de anticuerpos en madres vacunadas y recuperadas de COVID-19. Los datos se presentan como la media y el 95 % del IC de las Unidades Arbitrarias de anticuerpos.

Método subrogado de neutralización (sVNT) usando ACE2:

Se evalúa la capacidad de los anticuerpos de inhibir la unión del dominio de unión al receptor (RBD) a la proteína ACE2

in vitro



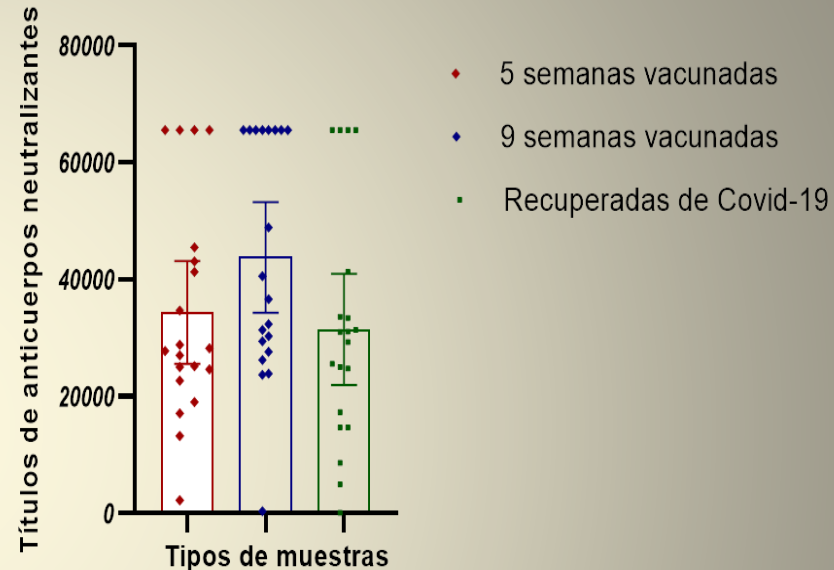
El punto de corte del sVNT se definió como el valor Absorbancia (492nm) por debajo del cual las muestras se consideraron inhibitoras de la reacción RBD-ACE-2.

El punto de corte (PC) se calculó mediante la fórmula:

$$CP = m(A_{492nm}) - t(0.99; una\ cola) \times SD$$

Donde: $m(A_{492nm})$ es la media de ocho valores de A_{492nm} del control positivo; SD es la desviación estándar

El título de anticuerpos neutralizantes de cada muestra se determinó por interpolación del punto de corte en la curva de dilución de la muestra, ajustada por una regresión logística de cinco parámetros.



Títulos de anticuerpos neutralizantes anti-RBD detectados por sVNT. Se realizó ANOVA de un factor con prueba de comparaciones múltiples de Tukey para evaluar si existían diferencias significativas entre las muestras ($P \leq 0,05$). Los datos se presentan como la media y el 95 % del IC de los títulos.

Los títulos de anticuerpos neutralizantes no difirieron entre las vacunadas y las recuperadas de COVID-19 ($P = 0,1223$).

Conclusiones

- 1) Este es el primer reporte sobre la respuesta inmune anti-SARS-CoV-2 en leche materna tras la administración del esquema completo de una vacuna de subunidades proteicas anti-COVID-19, la vacuna cubana Abdala.
- 2) Los altos niveles de anticuerpos IgA anti-RBD permanecen hasta la novena semana después de la vacunación, y el isotipo IgG de estos anticuerpos aumenta durante ese tiempo.
- 3) Los anticuerpos potencialmente neutralizantes están presentes en la mayoría de las muestras de leche materna evaluadas. Los títulos de anticuerpos neutralizantes son similares a los encontrados en muestras de leche materna recolectadas de madres recuperadas de COVID-19, lo que significa que la vacunación con Abdala podría proporcionar una protección comparable a la conferida por la infección por SARS-CoV-2, y la lactancia lograría un efecto protector contra COVID-19 en la población no vacunada de recién nacidos y lactantes.