

ANÁLISIS EVOLUTIVO DE LA RESPUESTA VACUNAL AL SARS-CoV-2 EN ADULTOS

TRABAJO DE FIN DE GRADO

GRADO EN MEDICINA



Universidad de Valladolid

Autor: Guillermo de Marcos Cortón

Tutores: Dr. Iván Sanz Muñoz

Dr. José María Eiros Bouza

Hospital Clínico Universitario de Valladolid

Centro Nacional de Gripe



ÍNDICE

Resumen.....	4
1. Introducción.....	6
2. Características del SARS-CoV-2.....	6
a. Origen y estructura.	
b. Patogenia y clínica.	
3. Respuesta inmunológica.....	8
a. Inmunidad innata frente al SARS-CoV-2.	
b. Inmunidad adaptativa frente al SARS-CoV-2.	
c. Inmunidad inducida por la vacuna.	
4. Antecedentes del estudio.....	10
5. Hipótesis y objetivos.....	11
6. Materiales y métodos.....	11
a. Diseño del estudio.	
i. Vacunas administradas.	
ii. Descripción de los grupos analizados.	
b. Técnicas de análisis y de medida.	
c. Análisis estadístico.	
7. Resultados.....	16
8. Discusión de resultados.....	19
9. Conclusiones.....	21
10. Referencias bibliográficas.....	23
11. Anexo: Figuras y tablas.....	25
12. Póster.....	29

RESUMEN

Introducción y antecedentes

La pandemia de COVID-19 ha producido con su paso un crecimiento exponencial de estudios científicos de inmunidad. Primero, frente a la infección natural por el virus, para la creación de la vacuna. Después, para analizar la respuesta inducida por ella y compararla con la respuesta inmunológica ante la exposición natural al virus. Tras la revisión de estudios en los que se analiza la respuesta humoral inducida por la vacuna y por el SARS-CoV-2, se ha visto la necesidad de realizar un análisis en poblaciones de adultos sanos de entre 18 y 65 años, como la muestra de nuestro estudio.

El principal objetivo de este trabajo es determinar la respuesta de producción de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 y la duración de éstos en personas adultas vacunadas. Además, describir la respuesta humoral inducida por la vacuna en tres grupos de individuos en función de sus pautas vacunales y su exposición a la infección natural.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio de 908 individuos adultos sanos entre 24 y 65 años. Las vacunas administradas fueron en su gran mayoría las basadas en ARNm, *Pfizer* (BNT162B2) y *Moderna* (ARNm-1273-MODERNA), las cuales fueron utilizadas en un 95,6% de la muestra, con una mayoría clara de *Pfizer* (91,4%). Para evaluar y cuantificar la respuesta humoral, lo que se realizó fue un análisis de anticuerpos IgG contra tres antígenos del SARS-CoV-2 (S1, N y RBD). Para ello, se eligieron los reactivos *3-plex S1-N-RBD* para SARS-CoV-2-IgG (*Luminex, Austin, TX, EE. UU.*). La medición se realizó con unidades arbitrarias de medida y el ensayo de detección se trata de un ELISA modificado, ya que éste se realiza en combinación con un citómetro de flujo para cuantificar el título de anticuerpos.

Resultados

En primer lugar, en cuanto al análisis global de la respuesta humoral, se observó que, en la tercera toma de muestras, el título de anticuerpos aumentó, tanto el de los anti-S1 y anti-RBD como el de anti-N (infección natural). Este aumento progresivo de la protección humoral ocurre en los 3 grupos hasta homogeneizarse entre sí, a pesar de que el grupo de individuos que no había padecido la infección natural previamente a la primera toma partía de un título mucho menor de anti-S1 y anti-RBD.

En segundo lugar, en función de la administración de la tercera dosis o *booster*, no se advirtió ninguna diferencia en el título de anticuerpos frente a S1 y RBD ni entre los tres

grupos, ni entre los vacunados con *booster* y los no vacunados. Lo mismo ocurrió con los anticuerpos anti-N.

En tercer lugar, en función de la edad de los individuos, se contempla que el título de anticuerpos disminuye a medida que aumenta la edad en las primeras tomas y se iguala en la tercera. Lo mismo ocurre haciendo un análisis comparativo entre los diferentes subgrupos de edad (18-35/36-45/46-65 años) dentro de cada grupo de los anteriormente descritos.

Conclusiones

La tercera dosis, junto con las reinfecciones naturales, da lugar a que la cantidad de anticuerpos de los tres grupos estudiados sea muy homogénea. La poca diferencia en el título de anticuerpos entre los vacunados con tercera dosis y los no vacunados es debido a que la infección actúa como “dosis *booster*” en aquellos que no la recibieron. Por último, esta dosis de refuerzo o la infección natural han conseguido que la inmunidad colectiva también se homogeneizara en función de la edad, ya que únicamente en la tercera toma de muestras es cuando desaparecen las diferencias en este sentido.

Palabras clave: Anticuerpo; Vacuna COVID-19; SARS-CoV-2; Respuesta humoral; *Booster*.

1. Introducción.

La pandemia provocada por el SARS-CoV-2 ha marcado un antes y un después en la forma de entender la salud a nivel global. El brote de COVID-19 fue notificado por primera vez en Wuhan (China) el 31 de diciembre de 2019 (2). Se trata de la segunda pandemia de nuestro siglo, y cambia la forma de entender la salud debido a que en la actualidad nuestro mundo está completamente globalizado e intercomunicado. El SARS-CoV-2 se trata del virus que provoca la enfermedad denominada COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*).

En España, los datos epidemiológicos a fecha de 5 de mayo de 2023 muestran un total de 13.845.825 casos confirmados notificados y 120.964 fallecidos (1,3). A nivel mundial se han registrado alrededor de 765,2 millones de casos y alrededor de 7 millones de muertes confirmadas (4).

En cuanto a la vacunación, relevante para el objetivo de este estudio, se han administrado un total de 105.799.888 de dosis, con 40.737.245 personas con la pauta de vacunación completa en toda España (5). En Castilla y León, el número de dosis administradas es de 6.035.528 y el número de personas con la pauta completa es de 2.176.878, teniendo de estas dosis de recuerdo 1.583.378 personas (6).

Por otra parte, tanto en España como en Castilla y León, se han ido registrando ondas pandémicas. Una de las más llamativas y donde se registró un mayor número de positivos a SARS-CoV-2, fue en el periodo entre el 14 de octubre de 2021 y el 14 de marzo de 2022, fechas en las cuales se comenzó a realizar este estudio. Esto es algo que se tiene en cuenta a lo largo de todos los análisis de datos y de anticuerpos frente al virus (1,5).

Y como es lógico a nivel científico, esta pandemia ha traído consigo una explosión de estudios e investigaciones sobre inmunidad frente al virus. Primero, para conseguir una vacuna, y más tarde, para analizar la respuesta inmunológica frente a las vacunas obtenidas, comparándola con la respuesta a la infección. También, otros muchos sobre memoria inmunológica y la respuesta humoral a lo largo del tiempo.

2. Características del SARS-CoV-2.

2.1. Origen y estructura.

El SARS-CoV-2 forma parte del amplio grupo de los coronavirus (CoVs) pertenecientes a la orden Nidovirales. Dentro de esta orden corresponde a la familia *Coronaviridae*, subfamilia *Coronavirinae*, género *Betacoronavirus* y subgénero *Sarbecovirus*. Son virus con membrana formados por ARN positivo de una única hélice. En cuanto a sus proteínas estructurales, las principales se tratan de la de membrana (M), la de envoltura (E), la nucleocápside (N) que

liga el ARN y conforma su cápside y la proteína de la espícula (S) (Figura 1). Además, posee su proteína replicasa que no se trata de una proteína estructural, y que es la encargada de replicar su material genético (7).

La proteína S (spike/espícula) es la encargada de la fijación del virus a las células que infecta y de su entrada en ellas. Se compone de dos subunidades. La subunidad S1 reconoce los receptores celulares y se une a ellos y la subunidad S2 permite la fusión del virus a la membrana de la célula del huésped. La subunidad S1 presenta un dominio de unión a los receptores de las células infectadas, el dominio RBD (*Receptor Binding Domain*), el cual se fija al receptor ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) que se encuentra en neumocitos y enterocitos, entre otras células corporales (Figura 2). Al unirse a este receptor, es cuando se desencadena la cascada que permite la fusión para la posterior penetración en la célula y comienzo de su replicación. Esta cascada consiste en que después de la unión del RBD de la S1 al receptor ACE2, se produce un cambio de conformación de la subunidad S2, que ayuda a la unión del virus a las células infectadas (7–9).

Por esta razón, las vacunas están basadas en estas proteínas S con su dominio RBD y por eso en este estudio, para analizar la inmunidad inducida por las mismas, se cuantifican los anticuerpos anti-S y anti-RBD. La inmunidad producida por la infección también aumenta el título de anticuerpos frente a proteína S, entre otras proteínas que forman parte del virión. En algunos ensayos serológicos, la proteína N (nucleocápside) es también utilizada ya que al no formar parte de la vacuna solo aparecen sus anticuerpos si ha habido una infección natural. Por lo tanto, es la que permite en este estudio saber si la inmunidad se trata de inmunidad adquirida de forma natural por la infección o de forma artificial por la vacuna.

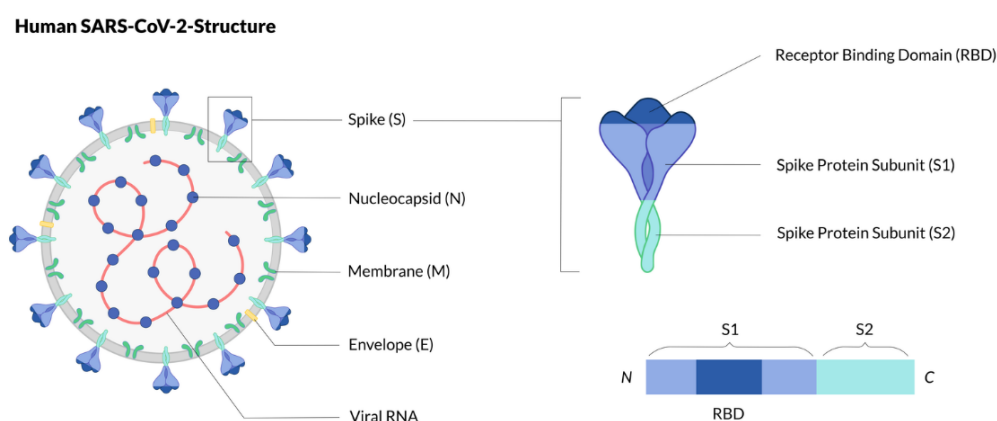


Figura 1. Estructura proteica del SARS-CoV-2. Se representan las proteínas que forman el virus. Entre ellas destacamos por su relevancia en el estudio la proteína S, en la que se puede ver en el esquema aumentado de su estructura molecular las subunidades S1 (con su dominio RBD) y la subunidad S2. Imagen extraída de (10).

2.2. Patogenia y clínica.

La infección por SARS-CoV-2 tiene tres etapas. La primera es asintomática en los días iniciales de la infección, pero contagiosa. El virus se une a las células del epitelio respiratorio y comienza a replicarse siguiendo el proceso que se ha comentado en el anterior apartado de unión de su dominio RBD a los receptores ACE2 de las células infectadas (11) (Figura 2). La replicación local del virus puede inducir una respuesta inmunitaria innata limitada. En los dos días siguientes comienza la segunda fase en la que ya se pueden observar manifestaciones clínicas y en la que se empiezan a producir citocinas de respuesta innata. En el tercer periodo, alcanza las zonas en las que se encuentran los neumocitos, en las que se fija al receptor ACE2 y comienza el proceso de infección de las células explicado anteriormente (Figura 2). Por lo tanto, en este momento alcanza conductos alveolares, sacos alveolares y alvéolos infectando sobre todo neumocitos tipo II y macrófagos provocando su apoptosis (11).

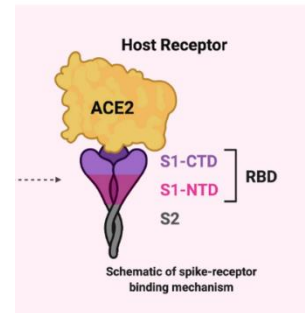


Figura 2. En esta figura podemos ver la base de su patogenia para entrar en las células hospedadoras e infectarlas. Se representa cómo es el dominio RBD de la subunidad S1. Este se une a los receptores ACE2 que se encuentran en neumocitos y demás células. Imagen extraída de (9).

3. Respuesta inmunológica.

3.1. Inmunidad innata frente al SARS-CoV-2.

El sistema inmune innato expresa receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs) que utiliza para ante una infección poder detectar patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Hay varios tipos de PRRs entre los que destacan los receptores tipo Toll (TLR) o los RIG-I (*retinoic cid inducible gene-1*). En el caso del SARS-CoV-2, sus PAMPs están asociados a su ARN y son reconocidos por receptores como RIG-I o TLR (TLR2, TLR3 y TLR7). Esto provoca que se activen factores de transcripción como son el factor nuclear kappa B (NFkB) o el factor regulador del interferón 3 (IRF3) que inducen la formación de quimiocinas y citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6). Esto también estimula a las células NK (*natural killer*), responsables de eliminar directamente células infectadas. Además, se induce la expresión de interferones como el IFN I, importante a la hora de ampliar toda la respuesta antiviral. El control del SARS-CoV-2 es efectivo siempre y cuando este proceso funcione correctamente, pero hay casos en los que el virus consigue evadir la respuesta innata, retardando o amortiguando la activación de IFN-I. Este mecanismo de evasión de la inmunidad por parte del virus junto con la producción elevada de citocinas puede provocar lo que se conoce como síndrome de liberación de citocinas o “tormenta de citocinas” que se observa en pacientes con un curso grave de la enfermedad. Este fallo provocado en el IFN-I

puede tener también consecuencias en la correcta activación de la respuesta adaptativa (11–14)

3.2. Inmunidad adaptativa frente al SARS-CoV-2.

Este tipo de respuesta inmunológica es importante a partir de varios días después de la exposición al virus, que es cuando se activa. Está formada por células T CD4+, células B productoras de anticuerpos y células T CD8+. Las células T CD4+ se encargan de activar linfocitos B dependientes de T además de otras funciones inmunitarias y las células T CD8+ destruyen las células infectadas de manera directa. En la infección por SARS-CoV-2, las respuestas de T CD4+ son mayores que las de T CD8+ (15).

En relación a lo que más interesa dentro de la inmunidad en este estudio, que es la respuesta inmune humoral, está mediada por anticuerpos que se forman frente a los epítomos presentes en la proteína de la espícula (proteína S o Spike) y frente a la proteína de la nucleocápside (proteína N). Los que están dirigidos frente al dominio RBD de la proteína S, demuestran capacidad neutralizante, y se han identificado IgA, IgM e IgG con esta característica. Por otro lado, también se analizan en esta investigación los anti-S1, que es la parte de la estructura de la proteína S donde se encuentra el dominio RBD. Estos anticuerpos también interactúan con las células NK desencadenando una respuesta de citotoxicidad (11,13–15).

Por otro lado, atendiendo a las células de memoria de linfocitos B y T preparadas para generar anticuerpos o células efectoras en caso de reinfección, se han identificado en la mayoría de las personas entre cinco y ocho meses después de la infección (16,17).

3.3. Inmunidad inducida por la vacuna.

Las vacunas ARNm, que son las que se han administrado a la mayoría de los participantes del estudio, dan lugar al desarrollo de linfocitos B y altos niveles de anticuerpos IgM e IgG frente a RBD y S1.

Las vacunas de vectores adenovirales, que son una minoría en este estudio, también provocan respuestas de anticuerpos específicos de RBD y S1, sirviendo de manera semejante a las de ARNm a la hora de analizar la inmunidad (18).

Por otra parte, tanto las basadas en ARNm como las de vectores virales, generan inmunidad innata, la cual se cree que es más fuerte cuanto más inflamación produzca la vacuna dando sintomatología con su administración. Esta inmunidad innata acaba estimulando también la adaptativa a partir de la producción del interferón I, entre otras citoquinas, como se ha explicado en el primer apartado de este punto (19).

4. Antecedentes de este estudio.

Como antecedentes a este estudio, hay numerosas investigaciones en relación con la seroepidemiología del SARS-CoV-2 en adultos o estudios de anticuerpos post-vacunales, orientados hacia diferentes puntos de vista, pero semejantes entre sí.

Hay estudios que concluyen que después de la segunda dosis, descienden los anticuerpos, además de que se producen nuevas infecciones (20). Otros, que sugieren que una sola dosis de vacunación es suficiente en los individuos que han padecido COVID-19 previamente. Esto es porque el título de anticuerpos es semejante entre personas con infección previa y una sola dosis administrada y personas no infectadas con dos dosis administradas (21,22). Todos ellos recomiendan que se estudie la evolución en la cantidad de anticuerpos de individuos vacunados a lo largo del tiempo y posteriormente a la dosis de recuerdo, que es el objetivo en esta investigación.

Por otra parte, hay investigaciones que analizan qué es lo que ocurre con la respuesta humoral con las dosis de refuerzo, pero en grupos seleccionados de edad, como por ejemplo en residencias de ancianos. Éstos concluyen que estas dosis de refuerzo son importantes en estos grupos de edad, ya que la respuesta inmunológica es mucho mejor que con la primera o segunda dosis (23).

Por otro lado, hay trabajos que centran la investigación en la protección que aporta la tercera dosis ante determinadas variantes del virus como es la Ómicron. Se concluye que proporciona un mayor título de anticuerpos neutralizantes con la tercera dosis que con las anteriores (24).

Por lo que respecta a la memoria inmunológica, los linfocitos B de memoria frente al dominio RBD fueron equivalentes en vacunados a los encontrados en individuos que habían adquirido anticuerpos de la infección natural por SARS-CoV-2 (25). Además, se ha estudiado que estas células B de memoria duran por lo menos 6 meses. (26).

Tras el análisis de los trabajos de investigación existentes, se observó que aún existía falta de información en la población adulta sana de entre 18 y 65 años sobre el efecto de la vacunación anti-COVID-19 en la producción y duración de los anticuerpos. De hecho, hay estudios que recomiendan investigar sobre lo que se ha realizado en este, el determinar la respuesta humoral obtenida con la vacunación (21,22). Por ello, se propuso este estudio en el que se evalúa la evolución en la cantidad de anticuerpos a lo largo del tiempo con las diferentes pautas vacunales e infecciones accidentales en una población adulta sana.

5. Hipótesis y objetivos.

- Hipótesis: La vacunación frente a la COVID-19 produce una respuesta similar en la producción de anticuerpos y en la duración de éstos en individuos adultos independientemente del número de dosis de vacuna y de la exposición previa al SARS-CoV-2.
- Objetivo principal: Determinar la respuesta de producción de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 y la duración de éstos en individuos adultos vacunados con vacuna COVID-19.
- Objetivos secundarios:
 - Describir la respuesta de anticuerpos tras la vacunación en tres grupos diferentes de individuos adultos. El primero se trata de personas sin contacto previo con el virus (con dos dosis de vacuna administradas), el segundo de aquellas infectadas previamente (con una sola dosis) y el tercero, de infectadas, pero sin conocimiento de ello (con dos dosis de vacuna).
 - Analizar la duración de los anticuerpos en un periodo de 6 meses.
 - Estudiar la existencia de infecciones durante este periodo a través del análisis de los anticuerpos frente a la proteína N.
 - Observar las diferencias en la respuesta y duración de los anticuerpos en función de la edad.

6. Materiales y métodos.

6.1. Diseño del estudio.

Se realiza un estudio prospectivo observacional de casos y cohortes. Los individuos que forman parte de la muestra son trabajadores de la empresa RENAULT ESPAÑA S.A. de las ciudades de Valladolid y Palencia, en España. Se trata de una población de adultos sanos entre los 24 y 65 años. El estudio fue realizado entre los meses de octubre de 2021 y julio de 2022.

Los criterios de inclusión de los participantes fueron cualquier trabajador de la empresa, los cuales tienen más de 24 años, vacunado con al menos una dosis frente a COVID-19 y que voluntariamente acepte participar firmando un consentimiento informado escrito. Esta muestra fue conseguida aprovechando que se estaba realizando la campaña de vacunación de gripe en la empresa en la que se les comentó a los trabajadores si estaban

interesados en formar parte de la investigación. Por lo tanto, el reclutamiento se realizó a través de información en la compañía y de promoción a través de correo electrónico, aprovechando esta campaña de vacunación, y se incluyó a todos los individuos que desearon participar. El único criterio de exclusión fue aquel individuo que se quisiera vacunar y no pudiese debido a contraindicaciones para la administración de la vacuna.

Es necesario señalar en este apartado que nuestro trabajo ha sido aprobado por el Comité de Ética del Área de Salud Este de Valladolid (Cod: PI 21-2442). Todos los participantes han firmado un consentimiento informado escrito previamente a la vacunación y a la toma de muestras. Además, esta investigación se ha llevado a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Por otro lado, como el objetivo es analizar la evolución de los anticuerpos, es necesaria la determinación de varias muestras de suero espaciadas en el tiempo. Los resultados finales son producto de la determinación de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 tras varias muestras obtenidas. Concretamente, se recogió un suero en octubre de 2021 (coincidiendo con la campaña de vacunación antigripal), un suero de 30 a 40 días después y un suero adicional 6 meses después de la primera toma de muestra.

Como suele ser habitual en estudios científicos de este tipo, cuando se realizan muestreos seriados, es normal que se pierda un porcentaje de participantes que no desean seguir en el estudio por razones diversas. Una de ellas es que cuando se realiza de esta forma, es más fácil que los sujetos a estudio pierdan el interés por participar en él. Entre la primera y la segunda toma, no ha habido mucho cambio en la muestra, ya que solamente abandonaron el estudio 87 personas. Sin embargo, entre la primera y la última ha habido un abandono de 238 participantes en total, lo que supone 151 personas más que en la segunda. Por lo tanto, desde los 908 participantes iniciales, en la tercera muestra hubo 671. En conclusión, ha habido un *drop-out* de 238 personas. Esto supone para el estudio que lo han finalizado un 73,8% de los que formaron parte de la primera muestra. El número de sujetos de la última toma se considera suficiente para el objetivo a estudio de esta investigación.

6.1.1. Vacunas administradas.

De los 908 participantes iniciales en el estudio, la mayoría (91,4%) ha sido vacunada con *Pfizer*. En orden de mayor número de vacunados a menor, las 4 vacunas que han sido administradas a los participantes son (Figura3):

- *Pfizer (BNT162B2 – BioNTech/BNT Pfizer)* – 830 personas (91,4%)

Es una vacuna desarrollada entre *BioNTech* (Alemania) y *Pfizer* (USA). Está creada a partir de una molécula de ARN mensajero que codifica para la proteína del

virus con más relevancia, que es la proteína S (*Spike*), estabilizada y envuelta en una nanopartícula lipídica (7). De ahí, que administrándola nuestro organismo cree anticuerpos tanto para la subunidad S1 de la proteína S, como para su dominio de unión a receptores (RBD). Se trata de dos de los anticuerpos que se analizan en este estudio, los anti-S1 y anti-RBD.

- *Moderna (ARNm-1273-MODERNA)* – 39 personas (4,2%)

Consiste, de manera conceptual, en una vacuna similar a la anterior, formada también por una molécula de ARN mensajero que codifica al antígeno S-2P que incluye el lugar de unión S1-S2.

- *Astra Zeneca (ChAdOx1 – Universidad de Oxford/Astra Zeneca)* – 22 personas (2,4%)

Se trata de un tipo de vacuna diferente. Es una vacuna de vectores virales, actuando el vector como vehículo del material genético que expresará la proteína S del SARS-CoV-2.

- *Janssen (Ad26.CoV2.S)* – 17 personas (1,9%)

Consiste en una vacuna similar a la anterior, cuyo vector es un adenovirus.

Por lo tanto, lo que más predomina en nuestros participantes son las vacunas basadas en ARNm que codifica para partes de la proteína S, las cuales suponen un 95,6% de las administradas (*Pfizer* y *Moderna*) (Figura 3).

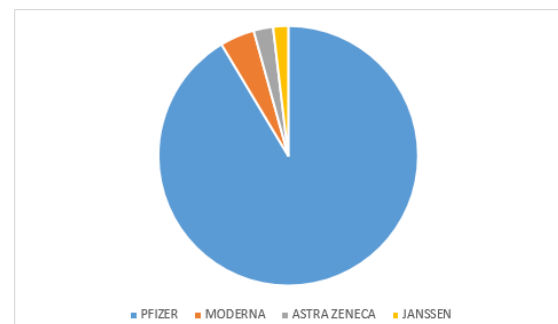


Figura 3. Porcentaje de vacunados con cada tipo de vacuna de las utilizadas en el estudio. Se puede ver un claro predominio de la vacuna Pfizer por encima de las otras 3 vacunas administradas. Fuente: elaboración propia.

6.1.2. Descripción de los grupos analizados.

Para llevar a cabo el análisis de los datos, se han clasificado a los sujetos en tres grupos diferentes basándose en el contacto y experiencia previa con el virus.

- Grupo 1 (G1). Está formado por aquellas personas que no habían tenido contacto previo con el virus antes de la primera toma de suero. Esto es posible saberlo gracias a los diferentes anticuerpos que crea nuestro organismo frente al virus o la vacuna, como se ha explicado anteriormente.

- Grupo 2 (G2). Se incluyen aquellos individuos que sí que habían estado previamente infectadas y tenían la certeza de ello por un diagnóstico de laboratorio o clínico.
- Grupo 3 (G3). En el que se consideran aquellos sujetos que no sabían que habían estado infectados por el virus pero que tenían anticuerpos frente a proteínas no incluidas en la vacuna.

Hay una diferencia importante entre los grupos 2 y 3. Mientras al grupo 2, por haber pasado la infección, se le había administrado únicamente una dosis vacunal, al grupo 3, por desconocimiento de haber estado infectados, recibieron dos dosis separadas por un mes. Las consecuencias de esto sobre los títulos de los anticuerpos se analizarán más adelante.

En lo que concierne al número de sujetos en la tercera toma, fue de 435 (64,8%) personas del grupo 1, 59 (8,8%) del grupo 2 y 174 (25,9%) del grupo 3 (Figura 4 y 5). Se puede observar que lo que predomina en todo el estudio es el grupo de personas que antes de la primera toma no habían tenido contacto previo con el virus, algo que cambiará en la segunda y tercera toma en la que se comprueba que una gran mayoría han pasado ya la infección, gracias al análisis de los anticuerpos frente al antígeno N.

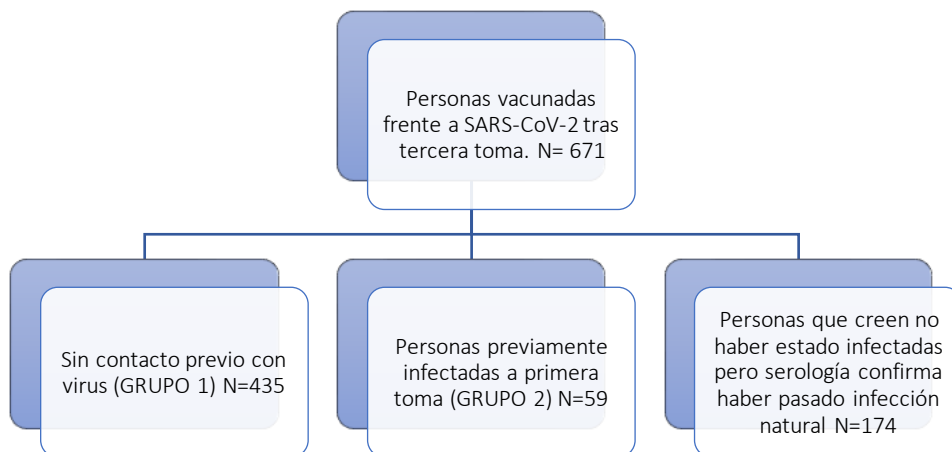


Figura 4. Número de individuos participantes en la tercera toma que forman parte de cada uno de los diferentes grupos en los que se ha dividido a la muestra. Fuente: elaboración propia.

En cuanto al *drop-out*, de las 238 personas que abandonaron el estudio, 174 (73,1%) fueron del grupo 1, 34 (14,3%) del grupo 2 y 60 (25,2%) del grupo 3 (Figura 6). Los porcentajes de pérdida de sujetos de cada grupo se parecen a los de la distribución inicial. Por lo tanto, no se observa una tendencia a que haya una relación entre el abandono del estudio y la pertenencia a un grupo u otro.



Figura 5. Cantidad de sujetos de cada grupo que había en la tercera toma de muestra. Fuente: elaboración propia.

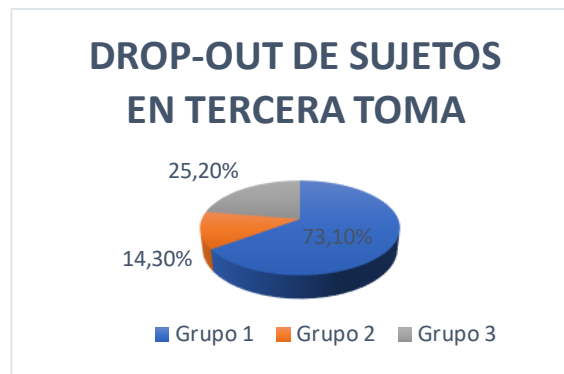


Figura 6. Drop-out de sujetos en tercera toma. Fuente: elaboración propia.

Por último, en cuanto a la clasificación de los participantes, para hacer el análisis de los datos en función de la edad, se decidió dividir a los individuos en tres grupos: de 18 a 35 años, de 36 a 45 y de 46 a 65 (Tabla 1), dado el intervalo de edad en el que pueden trabajar en esta empresa, para ayudar al manejo de los datos.

Tabla 1. Número de personas que forman parte de cada grupo de edad en los que se han clasificado los individuos. Fuente: elaboración propia.

Edad	Nº de personas
18-35 años	123 (13,5%)
36-45 años	474 (52,2%)
46-65 años	311 (34,3%)
Total	908

6.2. Técnicas de análisis y de medida.

Para evaluar y cuantificar los anticuerpos de los participantes, se llevó a cabo un análisis de anticuerpos IgG, frente a los tres antígenos del SARS-CoV-2 que anteriormente se han expuesto. Para ello, se utilizaron los reactivos *3-plex S1-N-RBD* para SARS-CoV-2-IgG (Luminex, Austin, TX, EE. UU.). Por lo tanto, el análisis cuantifica de forma relativa la presencia de anticuerpos IgG específicos contra:

- El dominio S1.
- El dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S.
- La proteína N.

La medición se cuantificó en unidades arbitrarias (UA/ μ l). El ensayo de detección se trata de un ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) modificado. En él, los anticuerpos se acoplan específicamente a microesferas magnéticas y, mediante un anticuerpo secundario biotinilado específico contra S1, RBD y N IgG, se detectan y cuantifican dichos anticuerpos. Para llevarlo a cabo se eligió el sistema *Luminex 100* (Luminex). Para determinar el límite

mínimo-máximo de la dilución inicial de esta técnica, se realizaron varias diluciones de muestras de suero y controles positivos, determinándose que 1/8.000 era la mejor dilución. Se incluyeron un control positivo y un control negativo por duplicado para cada ensayo. El control negativo (incluido en los reactivos) consistía en sueros prepandémicos negativos para SARS-CoV-2 y otros coronavirus humanos estacionales. Por otra parte, el control positivo (incluido también en los reactivos) se trató de un conjunto de muestras de suero positivas para el SARS-CoV-2. Para el punto de corte de la técnica se siguieron las especificaciones del fabricante, estableciendo el umbral positivo de 2000 AU/μl (27).

6.3. Análisis estadístico.

Para el estudio de la serología, fueron multiplicadas por 20 las Unidades Arbitrarias/μl para obtener un resultado equivalente a la dilución original del protocolo. Los valores que se utilizaron para el análisis estadístico fueron los de las UA/μl, realizando la mediana de éstos y el rango intercuartílico (IQR). Se eligió la prueba de Mann-White para examinar los datos comparando los valores de título de anticuerpos entre los diferentes grupos de estudio (G1, G2 y G3) y los subgrupos de edad. Por último, para calcular lo que ocurría con el nivel de anticuerpos en función de la edad se utilizó una regresión logística. El análisis estadístico se ha realizado con SPSSV27 (IBM, Armonk, NY, EE. UU.) y *GraphPad Prism V9* (GraphPad, San Diego, Ca, EE. UU.). El valor de significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

7. Resultados.

Los resultados consisten en los datos que se recogieron de la protección humoral frente a COVID-19 tras el tercer muestreo. Como se ha especificado anteriormente, la población está formada por individuos de entre 24 y 65 años sanos. En cuanto al sexo, de los 908 participantes iniciales 675 (74%) eran hombres y 232 (26%) mujeres, por lo que hay claro predominio masculino.

7.1. Análisis de la pauta vacunal en los individuos.

Los diferentes grupos de personas han ido recibiendo a lo largo del estudio la segunda y la tercera dosis de la vacuna. Se ha realizado un recuento del número de individuos que tras el tercer muestreo se les había administrado solamente la segunda dosis (pauta vacunal completa) y los que recibieron una tercera dosis o *booster* durante los primeros meses de 2022 (Anexo - Tabla 2). Este recuento se realiza porque el tercer muestreo se llevó a cabo a partir de abril de 2022, cuando ya se había administrado a la población de Castilla y León la dosis de recuerdo o *booster*.

La recepción de la tercera dosis (*booster*) ha sido muy buena (más del 70% de las personas incluidas) en los grupos 1 y 3. Sin embargo, no ha tenido buena aceptación por parte de aquellos que ya habían sufrido COVID-19 previamente y se habían vacunado más tarde con la segunda dosis de la pauta inicial (grupo 2) (Anexo - Tabla 2).

7.2. Determinación de la respuesta humoral.

En la respuesta humoral es esperable que haya diferencias en el título de anticuerpos entre aquellos sujetos que han recibido la tercera dosis y los que no, por lo tanto, uno de los estudios que se lleva a cabo en este apartado es el de esta diferencia. Por otro lado, también se realiza un análisis global, obviando las diferentes pautas vacunales de los individuos. Por lo tanto, los dos análisis que se han efectuado son el global, sin tener en cuenta las pautas vacunales, y el que se ejecuta en función de la administración de la tercera dosis. Además, dentro del global, se ha considerado también la respuesta frente al antígeno N para ver cuál ha sido la exposición a la infección durante el periodo de tiempo del trabajo.

7.2.1. Análisis global.

En cuanto al análisis global, obviando las diferentes pautas vacunales, el análisis de anticuerpos frente a COVID-19 tras la tercera toma de muestras hizo ver un incremento significativo en la cantidad de éstos. Esta inmunidad fue tanto frente al antígeno S1 como a RBD (Anexo - Figura 7). Se trata de un incremento de inmunidad de media del 30% en los tres grupos con respecto a los valores observados en la segunda toma. Es relevante que se haya producido este aumento en la inmunidad humoral, pero lo más destacable de estos datos es que haya ocurrido de una forma homogénea, lográndose un nivel de anticuerpos similar entre los tres grupos, como se deducirá en el análisis diferenciado posterior. Cabe destacar que, el grupo de personas que no había sufrido previamente COVID-19 y que había sido vacunado con dos dosis, tenía un nivel de anticuerpos mucho menor a los dos otros grupos, pero en la segunda toma de muestra igualaron sus valores (Anexo - Figura 7).

De los individuos incluidos en la tercera toma, 206 (30,7%) incrementaron en 2 o más veces sus anticuerpos frente al antígeno S1 y 181 frente al RBD (27,0%) con respecto a la anterior toma de muestra (Anexo - Figura 7).

7.2.2. Análisis de la existencia de infecciones a nivel global (Ac anti-N).

También desde un punto de vista general, 599 individuos (89,1%) del total de integrantes de esta tercera toma de estudio incrementaron los anticuerpos frente a la proteína N, con respecto a la anterior toma de muestra (Anexo - Figura 8). La proteína N, como se ha explicado anteriormente, no está incluida en la vacuna. Por lo que el incremento de anticuerpos frente a ella se debe a la exposición natural al virus.

7.2.3. Análisis de los grupos diferenciando personas vacunadas y no vacunadas con tercera dosis.

En este apartado, no se realiza un análisis global como los anteriores, sino que se tiene en cuenta la pauta vacunal. Lo que se estudia es la respuesta en función de la administración o no de la dosis de recuerdo.

Se analiza la evolución de la cantidad de anticuerpos frente a los antígenos S1 y RBD (Anexo - Figuras 9 y 10, respectivamente) en los tres grupos, pero comparando entre aquellas personas que fueron vacunadas con la tercera dosis (*complete + booster*) y los que no (*complete vaccine dosage*). Lo que se observó fue que la evolución de la cantidad de anticuerpos fue idéntica entre ambos subgrupos, no detectándose diferencias significativas. Este hallazgo ha sido sorprendente porque lo esperable sería que hubiera diferencias entre los individuos que han recibido un *booster* de las que no lo han recibido.

7.2.4. Análisis de la existencia de infecciones en los diferentes grupos (Ac anti-N).

Uno de los objetivos de este trabajo era analizar las infecciones que se produjeron durante el periodo del estudio, de manera global los resultados se recogieron en el apartado "II" de este punto. Ahora se realiza el mismo análisis, teniendo en cuenta la diferente pauta vacunal (Anexo - Figura 11). Es decir, se establece el estudio comparativo, como en el anterior apartado (III), en la respuesta entre los que han recibido la dosis de refuerzo (*complete + booster*) y los que no (*complete vaccine dosage*) (Anexo - Figura 11).

Lo que se observó fue que la evolución era muy similar entre los individuos vacunados y no vacunados con *booster*. Además, en esta tercera toma, entre los tres grupos (G1, G2, G3) hubo un aumento similar de la respuesta humoral frente a N (Anexo - Figura 11).

7.2.5. Determinación de la cantidad de anticuerpos a medida que aumenta la edad.

Tanto en este apartado como en el siguiente (VI), se determina qué ocurre en los diferentes grupos de individuos en función de la edad. Primero se analizó qué ocurría con la cantidad de anticuerpos a medida que aumentaba la edad.

En el grupo 1 (personas que no habían pasado COVID-19 en la primera toma y que habían sido vacunadas con dos dosis), tras la primera toma, se observó que, de forma significativa, disminuía la cantidad de anticuerpos S1 y RBD a medida que aumentaba la edad. Tras la segunda toma, sin embargo, ocurrió lo contrario, los anticuerpos aumentaban a

medida que la edad lo hacía. Tras la tercera toma se observó que la cantidad de anticuerpos no variaba a medida que la edad aumentaba (Anexo - Figura 12).

En el caso del grupo 2 (personas que han sido infectadas por COVID-19 y se han vacunado con una sola dosis), la cantidad de anticuerpos frente a S1 y RBD no varió con la edad tras ninguna de las muestras obtenidas (Anexo - Figura 12).

El grupo 3 (personas que habían sufrido COVID-19 sin diagnóstico, y que por tanto habían sido vacunados con la pauta completa, 2 dosis), mostró un comportamiento idéntico al grupo 1 (Anexo - Figura 12).

7.2.6. Determinación de la cantidad de anticuerpos en cada grupo de edad.

Para seguir con el análisis de los datos en función de la edad, también se estudiaron las diferencias en la cantidad de anticuerpos S1, RBD y N en función del grupo de edad al que pertenecían los individuos (Anexo - Tabla 1 y Figura 13). Por lo tanto, se realiza un análisis de las tres muestras en cada grupo (G1, G2, G3) en el que se ha observado la cantidad de cada uno de los tres anticuerpos en función de cada subgrupo de edad (18-35/36-45/46-65 años) al que pertenecen los individuos. Lo que se puede deducir es que existen diferencias significativas entre los subgrupos de edad sobre todo en la primera y en la segunda toma, concordando con las tendencias observadas en el anterior análisis de regresión. Sin embargo, los tres grupos muestran en la tercera toma una homogeneidad absoluta en la cantidad de anticuerpos frente a los tres antígenos comparándolos por edad, a excepción del antígeno N entre el subgrupo más joven y el subgrupo mayor en el grupo 1.

8. Discusión de resultados.

En cuanto a la vacunación de la muestra, se puede concluir que la recepción de la tercera dosis o *booster* ha sido muy buena (más del 70% de las personas incluidas) en los grupos 1 y 3 (Tabla 2). Sin embargo, no ha tenido buena aceptación por parte de los sujetos que ya habían sufrido COVID-19 previamente y se habían vacunado más tarde con la segunda dosis de la pauta inicial (G2) (Anexo - Tabla 2). Esto es debido a que, al haber padecido la infección, la segunda dosis estaba indicado retrasarla por lo menos 8 semanas. Por lo tanto, los individuos de este grupo que sí tenían el conocimiento de haber padecido la infección entre la primera dosis y la segunda tuvieron que retrasar esta última. Por esto, los datos obtenidos del grupo 2 se consideran adecuados, ya que su pauta vacunal incluía solamente una dosis tras haber padecido COVID-19, y su dosis de refuerzo o tercera dosis no sucedió hasta principios de 2022, de la cual se vacunaron únicamente un 25,4% de los mismos.

En referencia a los objetivos del trabajo, el principal era determinar la respuesta y duración de anticuerpos en nuestra muestra. Lo que se concluyó fue un serorrefuerzo en la tercera toma frente a las anteriores, en la respuesta humoral tanto frente a antígeno S1 como frente al antígeno RBD (Anexo - Figura 7). Con los datos obtenidos se puede observar que, en esta tercera toma, ya sea por el efecto de la tercera dosis o *booster* de la vacuna los que la recibieron, o bien por infección natural los que enfermaron, tras el verano del 2022, todos los individuos presentan una protección más elevada que en anteriores muestras, y muy similar entre ellos. Esta similitud se ha producido a pesar de tener historiales de contacto con el virus y con la vacuna diferentes. Esto demuestra la gran importancia de la dosis de recuerdo o *booster*. Se puede observar que es necesaria para remontar la protección e igualarla entre los diferentes casos en la población.

Otro punto de los objetivos iniciales del trabajo era analizar la existencia de infecciones durante el periodo del estudio. Lo que se obtuvo es que de manera global un 89.1% había aumentado mucho el título de anticuerpos frente a la proteína N (Anexo - Figura 8). Con esto se deduce que todas estas personas se han infectado en el intervalo de tiempo entre la segunda toma (enero-febrero) y la tercera toma (mayo-julio). Se trata de algo sorprendente porque durante las Navidades de 2021 gran parte de la población estudiada se infectó, lo que muestra que las re-infecciones por SARS-CoV-2 son muy frecuentes, y más desde la aparición de la variante Ómicron. Sin embargo, no se ha podido corroborar mediante PCR la existencia de infección.

Por lo que respecta a la comparación en la respuesta entre el haber sido administrada o no la dosis de refuerzo (Anexo - Figuras 9 y 10), se concluye que a pesar de que dentro de cada grupo hay un subgrupo que solamente ha recibido 2 dosis de vacuna (*complete vaccine dosage*) y otro subgrupo que ha recibido 3 dosis (*complete + booster*), la cantidad de anticuerpos tanto frente a antígeno S1 como frente a RBD, no fue significativamente diferente entre ellos (Anexo - Figuras 9 y 10).

Y volviendo al objetivo de nuestro trabajo del análisis de las infecciones, pero en función de la pauta vacunal, se observó que fue muy similar el aumento de la respuesta humoral frente al antígeno N entre los individuos con tercera dosis y los que no recibieron esta dosis de refuerzo (Anexo - Figura 11). Además, se obtiene una evolución también similar en el título de los anticuerpos anti-N entre los tres grupos de individuos (G1, G2, G3) (Anexo - Figura 11). Lo que parece significar es que las personas de ambos subgrupos fueron infectadas entre la segunda (enero-febrero) y la tercera toma (mayo-julio) en un porcentaje similar. Esto cuadra a nivel de infectados ya que ambas tomas se realizan en el periodo de mayor número de infecciones en la población, en una de las últimas ondas pandémicas, que

fue entre octubre de 2021 y finales de marzo de 2022 (onda Ómicron) (1). La elevada respuesta de anticuerpos frente a N que se ha observado entre las tomas 2 y 3 en individuos que no se han vacunado con tercera dosis puede ser la clave para explicar la ausencia de diferencias entre éstos y los que sí que recibieron la dosis *booster*. Lo que parecen implicar estos datos es que las infecciones naturales sufridas por gran parte de los participantes del estudio han incrementado los anticuerpos también frente a las proteínas S1 y RBD (que también se generan frente a la vacuna), igualando a los individuos que sí reforzaron su inmunidad con la tercera dosis. Los datos muestran que las infecciones sucedieron en una proporción similar entre vacunados y no vacunados con dosis de refuerzo. A partir de esto, resultaría interesante explorar si ha habido diferencias en la presentación clínica de ambos grupos.

La principal conclusión de este último bloque de estudio en relación con la exposición natural al virus es que la tercera dosis incrementó la cantidad de anticuerpos vacunales de manera similar a los que no recibieron esta dosis de recuerdo. Esto es debido probablemente a que la tasa de reinfección es tan elevada que las infecciones naturales actúan como “*booster*” en aquellos no vacunados, asemejándolos a los que sí lo están. Por tanto, la vacunación con dosis de refuerzo ha sido útil para incrementar la seroprotección frente al SARS-CoV-2, a pesar de que las reinfecciones han acompañado de manera paralela a ambos grupos.

Por otro lado, con referencia al análisis en función de la edad, se observó que los anticuerpos en las primeras tomas disminuyen a medida que aumenta la misma (Anexo - Figura 12). Esta situación cambia en la tercera toma en la que los resultados de los anticuerpos se igualan y desaparece este cambio a medida que aumenta la edad. Esto puede ser debido o a la dosis de refuerzo, que como se observó en otros estudios, es efectiva, y necesaria por lo tanto en las personas de edad más avanzada (23), o a la infección que se produjo en gran parte de los individuos de la muestra tras esta tercera toma que actuó como “*booster*”. Además, esto se puede observar también en el análisis que se hizo en el último apartado de los resultados, en el que se estudia la cantidad de anticuerpos de cada toma en los diferentes grupos (G1, G2, G3) y se compara, dentro de cada grupo, entre los diferentes subgrupos de edad (18-35/36-45/46-65 años). Este último análisis confirma el anterior: tanto las vacunaciones sucesivas como las infecciones naturales producen una protección homogénea en todos los estratos de población de entre 18 y 65 años.

9. Conclusiones.

Las conclusiones más importantes que se recogen en este trabajo se obtienen a partir de la tercera y última toma de muestras.

La primera de ellas es que un 70% de los participantes se vacunaron con la dosis *booster* de COVID-19. Este hecho es importante porque ha posibilitado una buena comparación de la respuesta humoral entre los que recibieron tercera dosis de recuerdo y los que no.

Como segunda conclusión, la tercera muestra recogida presenta el mayor título de anticuerpos registrado a lo largo del estudio, en un análisis global de los mismos. Además, de una manera completamente homogénea entre los tres grupos considerados, a pesar de haber tenido situaciones previas variadas tanto en vacunación como en infección natural.

Como tercera conclusión, al analizar los datos en función de la administración o no de la dosis de recuerdo (*booster*), los resultados señalaron una enorme similitud entre estos dos grupos. Es sorprendente, pues lo esperable habría sido encontrar un mayor título de anticuerpos en los vacunados con el *booster*. La explicación de este hallazgo parece ser que los dos grupos se han igualado debido a la infección natural, ya que ambos han tenido aumentos de anticuerpos anti-N en la última toma de muestras. En esta situación, ambos han aumentado sus títulos de anticuerpos, debido a la infección o a la vacunación, llegando hasta el límite superior de los mismos. Este límite puede corresponder a la cantidad máxima que una persona puede alcanzar de protección humoral o al límite de detección de la técnica empleada.

Como cuarta conclusión, respecto a la tercera dosis, los datos señalan que ha sido útil para seguir aumentando la protección frente al virus en personas adultas en edad laboral. Aun así, las reinfecciones han tenido como consecuencia un efecto muy similar. Por tanto, las dosis de refuerzo son útiles para homogeneizar a la población entre los que no se han infectado y los que sí lo han hecho. Además, con el *booster*, no existen los riesgos que conlleva el padecer la enfermedad de COVID-19 para disponer de anticuerpos, algo que es importante tener en cuenta.

Y como quinta y última conclusión, señalar, en referencia a la edad, que es un factor importante en la diferencia que se observa en la respuesta humoral, sobre todo en las primeras tomas de muestras. A pesar de esto, estas diferencias van disminuyendo al sucederse las vacunaciones, y las infecciones naturales, desapareciendo al final del estudio.

10. Referencias bibliográficas.

1. ISCIII. Informe nº 177. Situación de COVID-19 en España. [Internet]. 2023 [citado 19 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes%20COVID-19/INFORMES%20COVID-19%202023/Informe%20n%C2%BA%20177%20Situaci%C3%B3n%20actual%20de%20COVID-19%20en%20Espa%C3%B1a%20a%205%20de%20mayo%20de%202023.pdf>
2. Nuevo coronavirus 2019 [Internet]. [citado 11 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019>
3. Ministerio de Sanidad - Profesionales - Situación actual Coronavirus [Internet]. [citado 11 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm>
4. COVID-19 Data Explorer [Internet]. Our World in Data. [citado 11 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://ourworldindata.org/explorers/coronavirus-data-explorer>
5. Situación epidemiológica coronavirus (COVID-19) en Castilla y León [Internet]. [citado 11 de mayo de 2023]. Disponible en: <https:// analisis.datosabiertos.jcyl.es/explore/dataset/situacion-epidemiologica-coronavirus-en-castilla-y-leon/>
6. Ministerio de Sanidad Español. GIV COVID-19. Gestión integral de la vacunación COVID-19 [Internet]. 2023. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Informe_GIV_comunicacion_20230428.pdf
7. Picazo JJ. Vacuna frente al COVID-19. *Rev Esp Quimioter.* 2021;34(6):569-98.
8. Hernández CR, Moreno JCS. Inmunidad frente a SARS-CoV-2: caminando hacia la vacunación. *Rev Esp Quimioter.* 2020;33(6):392-8.
9. Coronavirus SARS-CoV-2 (Coronavirus de COVID-19) - Anticuerpos neutralizantes protectores, específicos frente a SARS-CoV-2 (COVID-19); Prueba de anticuerpos neutralizantes por microneutralización. - IVAMI [Internet]. [citado 7 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.ivami.com/es/microbiologia-clinica/6361-coronavirus-sars-cov-2-covid-19-prueba-de-anticuerpos-especificos-prueba-de-anticuerpos-neutralizantes-neutralizacion-en-cultivo-celular-sars-cov-2>
10. SARS-CoV-2 coronavirus proteins [Internet]. [citado 11 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.lubio.ch/applications/coronavirus-research/viral-proteins>
11. Hosseini A, Hashemi V, Shomali N, Asghari F, Gharibi T, Akbari M, et al. Innate and adaptive immune responses against coronavirus. *Biomed Pharmacother.* diciembre de 2020;132:110859.
12. Pastrian-Soto G. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int J Odontostomatol.* septiembre de 2020;14(3):331-7.
13. Primorac D, Vrdoljak K, Brlek P, Pavelić E, Molnar V, Matišić V, et al. Adaptive Immune Responses and Immunity to SARS-CoV-2. *Front Immunol* [Internet]. 2022 [citado 8 de mayo de 2023];13. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.848582>
14. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, et al. SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity. *Front Immunol.* 3 de enero de 2022;12:809244.
15. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 18 de febrero de 2021;184(4):861-80.

16. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 6 de enero de 2021;eabf4063.
17. Rapid generation of durable B cell memory to SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in COVID-19 and convalescence - PMC [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7877496/>
18. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, Flaxman AL, Folegatti PM, Owens DR, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet Lond Engl*. 19 de diciembre de 2020;396(10267):1979-93.
19. Teijaro JR, Farber DL. COVID-19 vaccines: modes of immune activation and future challenges. *Nat Rev Immunol*. 2021;21(4):195-7.
20. Sabater-Vidal S, Tirado-Balaguer MD, Soria-Martín R, Arnedo-Pena A, Gil-Galdón A, Bellido-Cambrón MC, et al. Anticuerpos postvacunales frente a SARS-CoV-2 en una cohorte de trabajadores de un hospital general. *Arch Prev Riesgos Laborales*. diciembre de 2022;25(4):358-78.
21. Dinc HO, Saltoglu N, Can G, Balkan II, Budak B, Ozbey D, et al. Inactive SARS-CoV-2 vaccine generates high antibody responses in healthcare workers with and without prior infection. *Vaccine*. 3 de enero de 2022;40(1):52-8.
22. Gobbi F, Buonfrate D, Moro L, Rodari P, Piubelli C, Caldler S, et al. Antibody Response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Subjects with Prior SARS-CoV-2 Infection. *Viruses*. 5 de marzo de 2021;13(3):422.
23. Chong Y, Goto T, Tani N, Yonekawa A, Ikematsu H, Shimono N, et al. Pronounced antibody elevation after SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA booster vaccination in nursing home residents. *Influenza Other Respir Viruses*. noviembre de 2022;16(6):1066-71.
24. Furukawa K, Tjan LH, Kurahashi Y, Sutandhio S, Nishimura M, Arie J, et al. Assessment of Neutralizing Antibody Response Against SARS-CoV-2 Variants After 2 to 3 Doses of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine. *JAMA Netw Open*. 9 de mayo de 2022;5(5):e2210780.
25. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, Muecksch F, Barnes CO, Finkin S, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*. abril de 2021;592(7855):616-22.
26. Goel RR, Painter MM, Apostolidis SA, Mathew D, Meng W, Rosenfeld AM, et al. mRNA Vaccines Induce Durable Immune Memory to SARS-CoV-2 and Variants of Concern. *Science*. 3 de diciembre de 2021;374(6572):abm0829.
27. Sanz-Muñoz I, López-Mongil R, Sánchez-Martínez J, Sánchez-de Prada L, González MDG, Pérez-SanJose D, et al. Evolution of antibody profiles against SARS-CoV-2 in experienced and naïve vaccinated elderly people. *Front Immunol* [Internet]. 2023 [citado 15 de mayo de 2023];14. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1128302>

11. ANEXO: FIGURAS Y TABLAS.

Grupo de estudio	Pauta solo 2 dosis (pauta completa)	Pauta 3 dosis (booster)	Total
NO COVID (G1)	108 (24,8%)	327 (75,2%)	435
COVID + 1 dosis (G2)	44 (74,6%)	15 (25,4%)	59
COVID + 2 dosis (G3)	35 (20,1%)	139 (79,9%)	174

Tabla 2. Número de individuos que han recibido la pauta completa y la tercera dosis (booster) de la vacuna frente a COVID-19 en cada uno de los grupos del estudio. Fuente: elaboración propia.

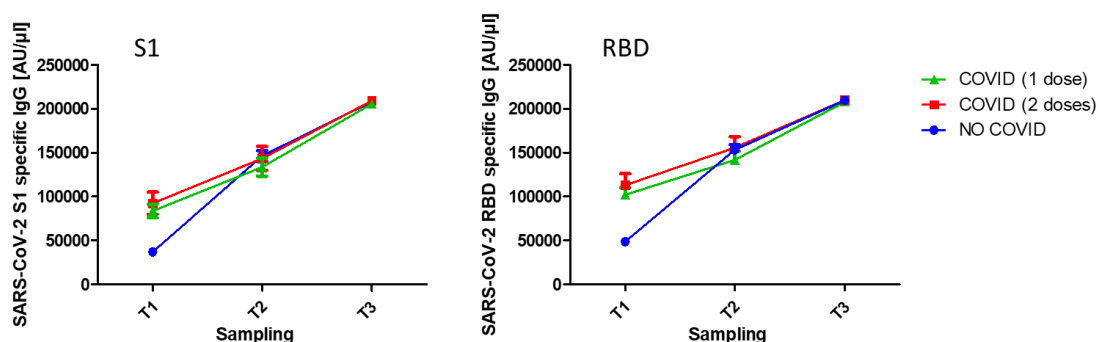


Figura 7. Valores de los anticuerpos IgG frente a los antígenos S1 y RBD (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; NO COVID, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); COVID (1 dose), COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); COVID (2 doses), positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna). Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

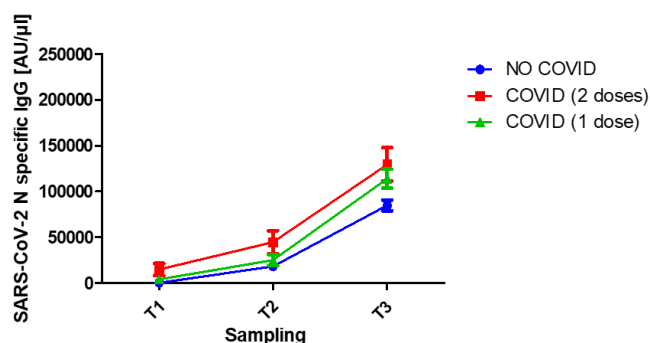


Figura 8. Valores de los anticuerpos IgG frente al antígeno N (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna). Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

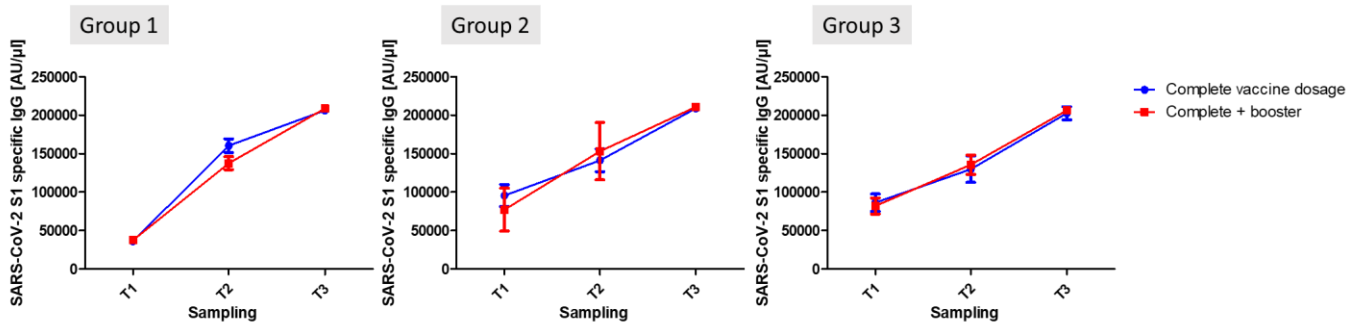


Figura 9. Valores de los anticuerpos IgG frente al antígeno S1 (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna), diferenciando entre aquellos que fueron vacunados con la pauta completa más el booster (tercera dosis) y los que no. Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

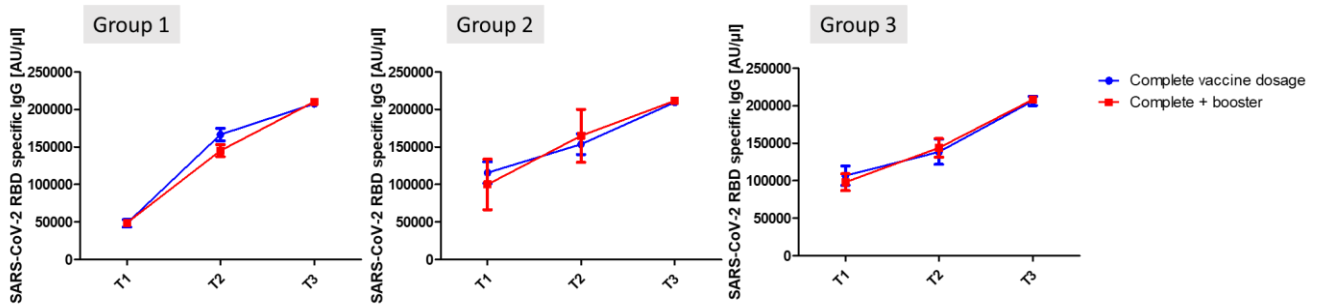


Figura 10. Valores de los anticuerpos IgG frente al antígeno RBD (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna), diferenciando entre aquellos que fueron vacunados con la pauta completa más el booster (tercera dosis) y los que no. Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

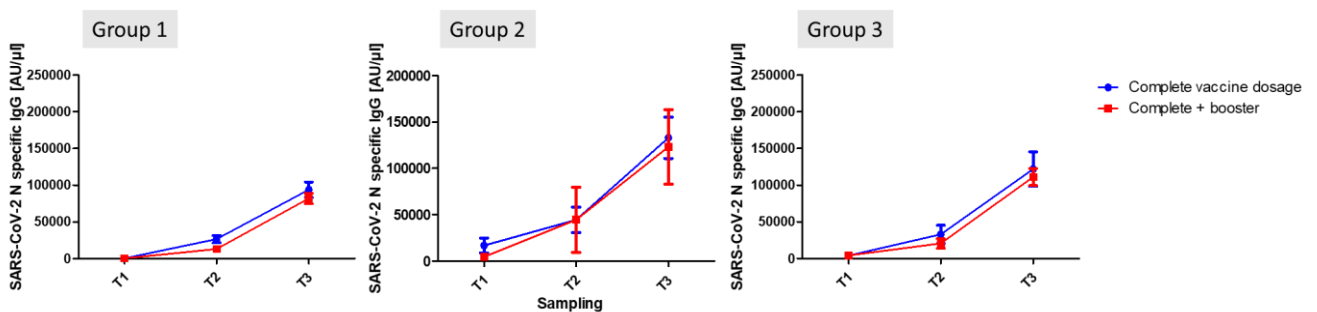


Figura 11. Valores de los anticuerpos IgG frente al antígeno N (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna), diferenciando entre aquellos que fueron vacunados con la pauta completa más el booster (tercera dosis) y los que no. Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

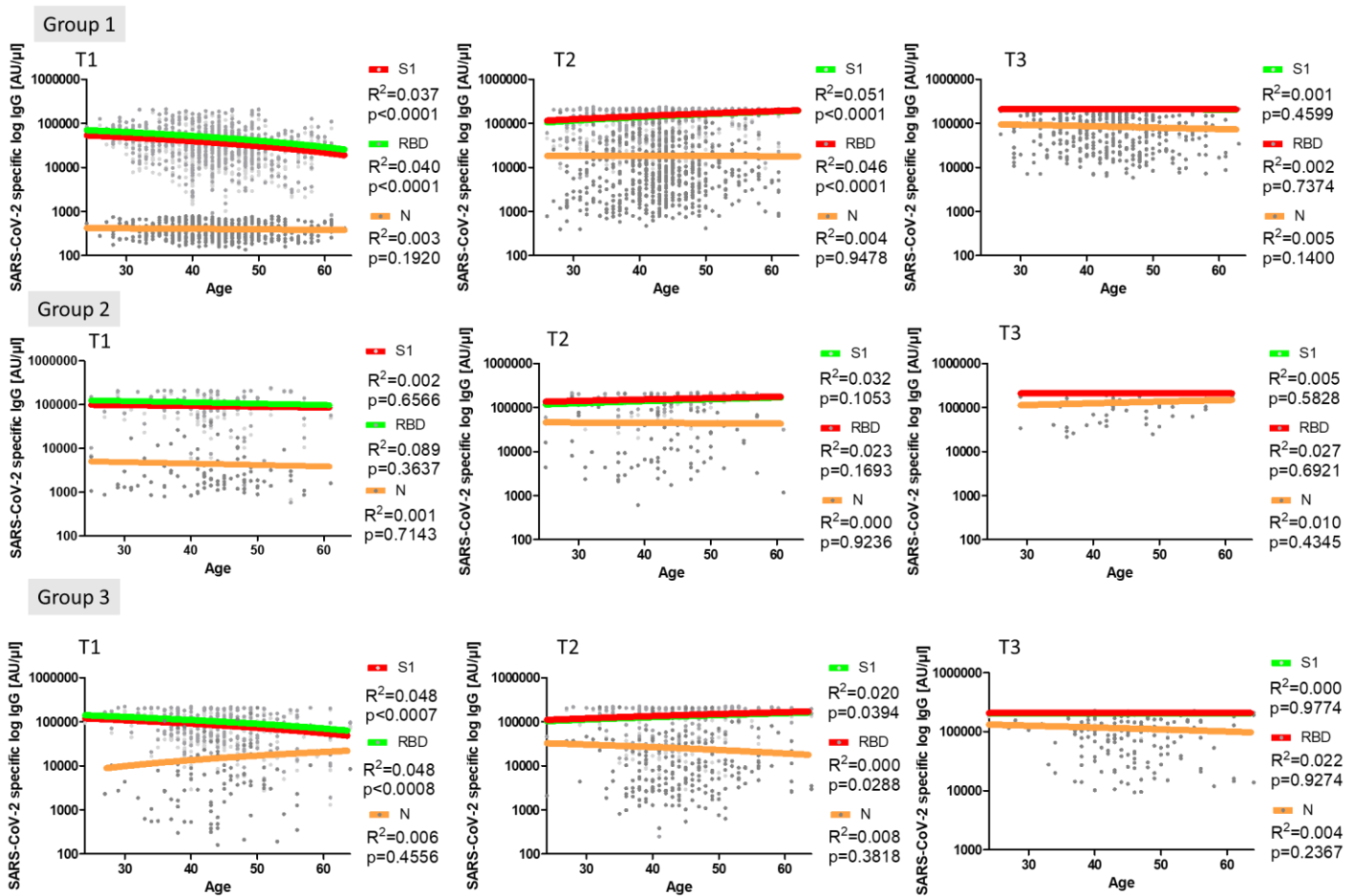
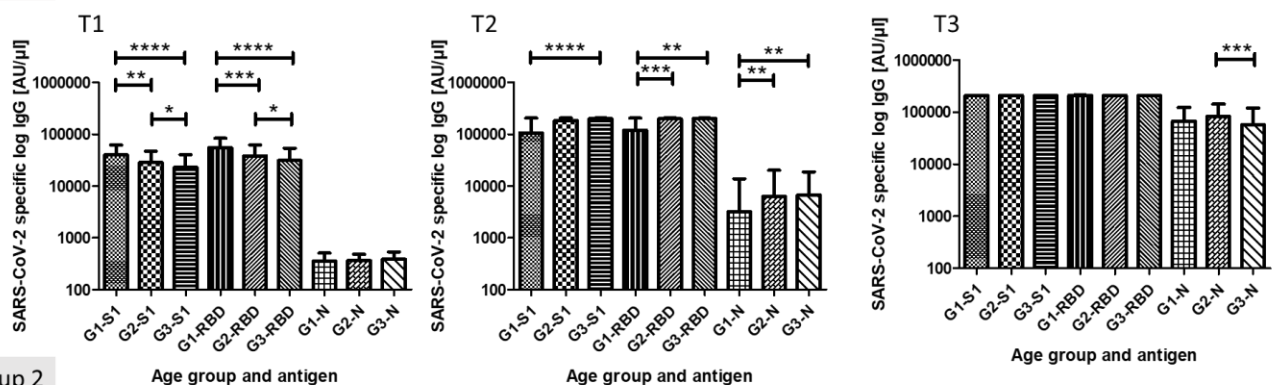
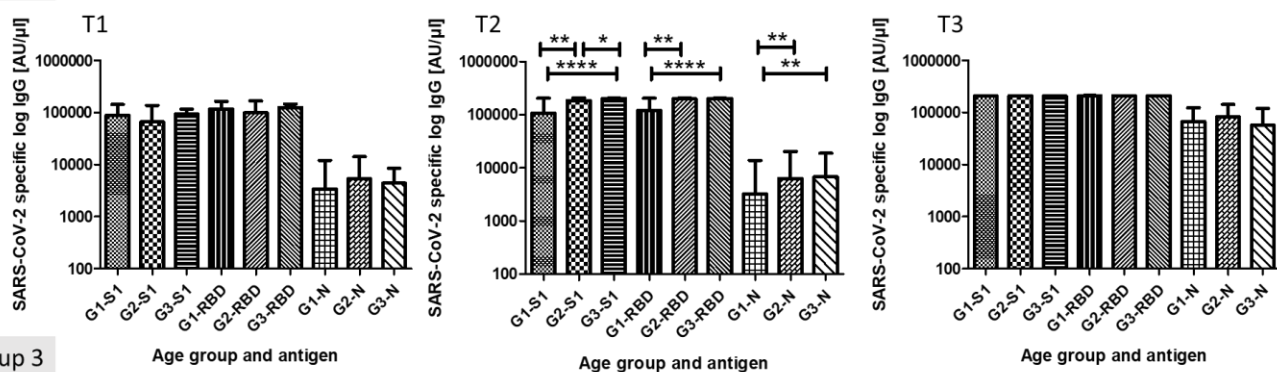


Figura 12. Valores de regresión lineal de la IgG frente a los antígenos S1, RBD y N (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante un análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna), en función de la edad y de la toma de suero realizada. Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

Group 1



Group 2



Group 3

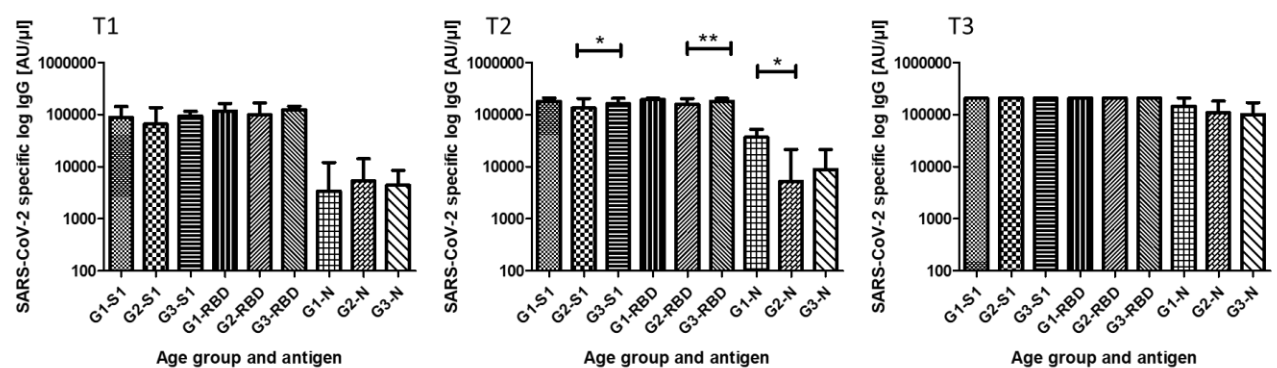


Figura 13. Valores log₁₀ de la IgG frente a los antígenos S1, RBD y N (AU/μl; Unidades Arbitrarias/μl) en los tres grupos analizados; G1, COVID-19 negativos (2 dosis de vacuna); G2, COVID-19 positivo mediante diagnóstico clínico, PCR o test rápido (1 dosis de vacuna); G3, positivo para COVID-19 mediante análisis de anticuerpos en el presente estudio (2 dosis de vacuna), en función de la edad y de la toma de suero realizada. Fuente: gráfico cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid.

OBJETIVOS

- ❑ **Principal:** determinar la respuesta de producción de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 y la duración de éstos en personas adultas vacunadas.
- ❑ **Secundarios:** describir la respuesta humoral inducida por la vacuna en tres grupos de individuos (G1, G2, G3) (Figura 1).

MATERIALES Y MÉTODOS

- **Muestra:** 908 individuos adultos sanos entre 24 y 65 años.
- **Tomas de muestras (serología):** octubre de 2021, 30-40 días después y 6 meses de la primera toma (3 tomas).

TÉCNICA DE ANÁLISIS Y MEDIDA

- Sistema **Luminex 100**. Utilizando reactivos 3-plex S1-N-RBD para SARS-CoV-2-IgG. Se trata de un ELISA modificado, ya que se realiza en combinación con un citómetro de flujo para la cuantificación del título de anticuerpos.
- Unidad de medida: unidades arbitrarias (UA/μl).

RESULTADOS

- **Análisis global de la respuesta humoral:** los diferentes grupos van evolucionando en su título de anticuerpos anti-S1, anti-RBD y anti-N hasta tener una cantidad homogénea en la última toma de muestras (Figura 3).
- **En función de la administración de la tercera dosis o booster** (70% vacunados con ella): no hay diferencias en el título de anticuerpos.
- **En función de la edad:** el título de anticuerpos disminuye a medida que aumenta la edad en las dos primeras tomas de muestras y se iguala en la tercera.

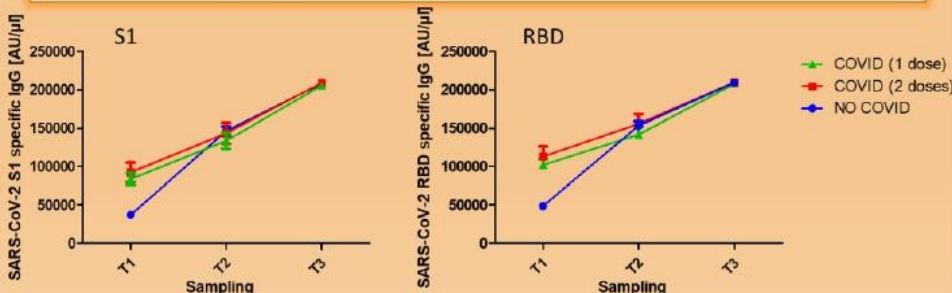


Figura 3. Valores de los anticuerpos IgG frente a los antígenos S1 y RBD en los tres grupos analizados. Fuente: Cedido por el Centro Nacional de Gripe de Valladolid

Autor: Guillermo de Marcos Cortón
Tutores: Dr. Iván Sanz Muñoz y Dr. José María Eiros Bouza

BIBLIOGRAFÍA

- Primorac D, Vrdoljak K, Brlek P, Pavelić E, Molnar V, Matišić V, et al. Adaptive Immune Responses and Immunity to SARS-CoV-2. *Front Immunol* [Internet]. 2022 [citado 8 de mayo de 2023];13. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.848582>
- Dinc HO, Saltoglu N, Can G, Balkan II, Budak B, Ozbey D, et al. Inactive SARS-CoV-2 vaccine generates high antibody responses in healthcare workers with and without prior infection. *Vaccine*. 3 de enero de 2022;40(1):52-8.

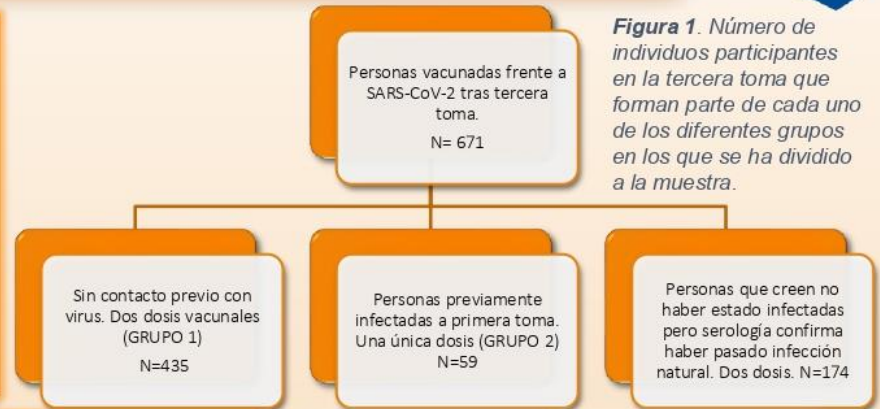


Figura 2. Porcentaje de vacunados con cada tipo de vacuna. Claro predominio de la vacuna Pfizer por encima de las otras 3 vacunas administradas en la muestra.

Edad	Nº de personas
18-35 años	123 (13,5%)
36-45 años	474 (52,2%)
46-65 años	311 (34,3%)
Total	908

Tabla 1. Número de personas que forman parte de cada subgrupo de edad en los que se han clasificado los individuos.

CONCLUSIONES

- La tercera dosis, junto con las infecciones naturales, produce que la cantidad de anticuerpos entre los tres grupos (G1, G2, G3) sea homogénea.
- La infección actúa como “dosis booster” en aquellos que no reciben dosis de recuerdo.
- Las dosis de refuerzo y las reinfecciones consiguen que en función de la edad también se homogenice el título de anticuerpos.

