



**Universidad  
de La Laguna**



Facultad de Farmacia  
UNIVERSIDAD LA LAGUNA

# **Respuesta humoral y celular frente SARS-CoV-2 en pacientes hemodializados**

**Trabajo de fin de grado**

**Javier González Fernández**

**Tutoras: Dra. Miriam Hernández Porto y Dra. María de los Ángeles Arias**

**San Cristóbal de la Laguna, junio 2023**

## Glosario de abreviaturas

<b>ACE2</b>	Enzima convertidora de angiotensina-2.
<b>BAU/ml</b>	Unidades de unión a anticuerpo por mililitro (binding antibodies units).
<b>CMIA</b>	Immunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas.
<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas.
<b>IgG RBD</b>	Immunoglobulinas del tipo G dirigidas al dominio RBD (receptor-binding domain) de la subunidad de la Spike 1 del SARS-CoV-2.
<b>IGRA</b>	Ensayo de liberación de interferón-gamma.
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud.
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa.
<b>RPM</b>	Revoluciones por minuto.
<b>SIVIEs</b>	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

## Índice

<b>1. Resumen</b> -----	4
<b>2. Abstract</b> -----	5
<b>3. Introducción</b> -----	6
<b>3.1 SARS-CoV-2 situación actual.</b> -----	6
<b>3.2 Patogenicidad del virus, inmunidad humoral y celular</b> -----	7
<b>3.3 SARS-CoV-2 en pacientes hemodializados</b> -----	8
<b>4. Objetivos</b> -----	9
<b>5. Material y Métodos</b> -----	9
<b>6. Resultados</b> -----	14
<b>7. Discusión</b> -----	17
<b>8. Conclusiones</b> -----	18
<b>9. Bibliografía</b> -----	19
<b>10. Anexo 1. Aprobación del Comité ético del Hospital Universitario de Canarias</b>	22

## 1) RESUMEN

**Objetivos:** Evaluar la variación de Inmunoglobulina G frente el Receptor Binding Domain (RBD) del virus SARS-CoV-2 y la respuesta celular tras vacunación en pacientes nefrópatas con necesidad de terapia renal sustitutiva. Describir las características epidemiológicas de los pacientes analizados.

**Material/Métodos:** Estudio descriptivo de la respuesta inmunitaria humoral y celular presentada en pacientes nefrópatas hemodializados vacunados con la cuarta dosis de BNT162b2 mRNA COVID-19. La medición de IgG RBD se realizó mediante técnica de quimioluminiscencia y la respuesta celular por técnica IGRA (Ensayo de Liberación de Interferon-gamma). Se registraron las infecciones sintomáticas de SARS-CoV-2 confirmadas por PCR y las asintomáticas mediante la detección de IgG Nucleocápside.

**Resultados:** El 82% de los pacientes presentaba niveles de IgG RBD >590 BAU/ml mientras que la respuesta celular no resultó valorable. El 39% de los pacientes se infectaron de SARS-COV-2 tras la cuarta dosis de vacuna, de ellos el 38% fue sintomático y el 61% asintomático. El 76% de los pacientes fueron hombres, de edad media  $72 \pm 11$  años. Las morbilidades observadas fueron en el 88, 55 y 51% hipertensión arterial, diabetes y ambas comorbilidades.

**Conclusiones:** El efecto booster tras la administración acumulada de cuatro dosis de vacuna BNT162b2 mRNA COVID-19 a lo largo del tiempo en la población nefrótica hemodializada, permite una elevada titulación de anticuerpos neutralizantes. Este nivel parece contribuir a reducir la sintomatología, aunque las variantes circulantes en ese periodo presentasen mayor capacidad de inmunoescape. Es necesario analizar la técnica IGRA en otras series de pacientes hemodializados con el fin de valorar su sensibilidad.

## 2) ABSTRACT

**Objectives:** To evaluate the variation of Immunoglobulin G against the Receptor Binding Domain (RBD) of the SARS-CoV-2 virus and the cellular response following vaccination in nephropathic patients requiring renal replacement therapy. To describe the epidemiological characteristics of the analyzed patients.

**Materials/Methods:** Descriptive study of the humoral and cellular immune response in vaccinated hemodialysis nephropathic patients receiving the fourth dose of BNT162b2 mRNA COVID-19. Measurement of RBD IgG was performed using chemiluminescence technique, and the cellular response was assessed using the IGRA technique (Interferon-gamma Release Assay). Symptomatic SARS-CoV-2 infections confirmed by PCR and asymptomatic infections detected through Nucleocapsid IgG detection were recorded.

**Results:** 82% of the patients had IgG RBD levels >590 BAU/ml, while the cellular response was not assessable. 39% of the patients were infected with SARS-CoV-2 after the fourth vaccine dose, with 38% being symptomatic and 61% asymptomatic. 76% of the patients were male, with a mean age of 72 + 11 years. The observed comorbidities were arterial hypertension in 88% of the patients, diabetes in 55%, and both comorbidities in 51%.

**Conclusions:** The booster effect following the cumulative administration of four doses of BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine over time in the hemodialysis nephropathic population allows for a high titer of neutralizing antibodies. This level appears to contribute to reducing symptomatology, although circulating variants during that period showed greater immunoescape capacity. It is necessary to analyze the IGRA technique in other series of hemodialysis patients to assess its sensitivity.

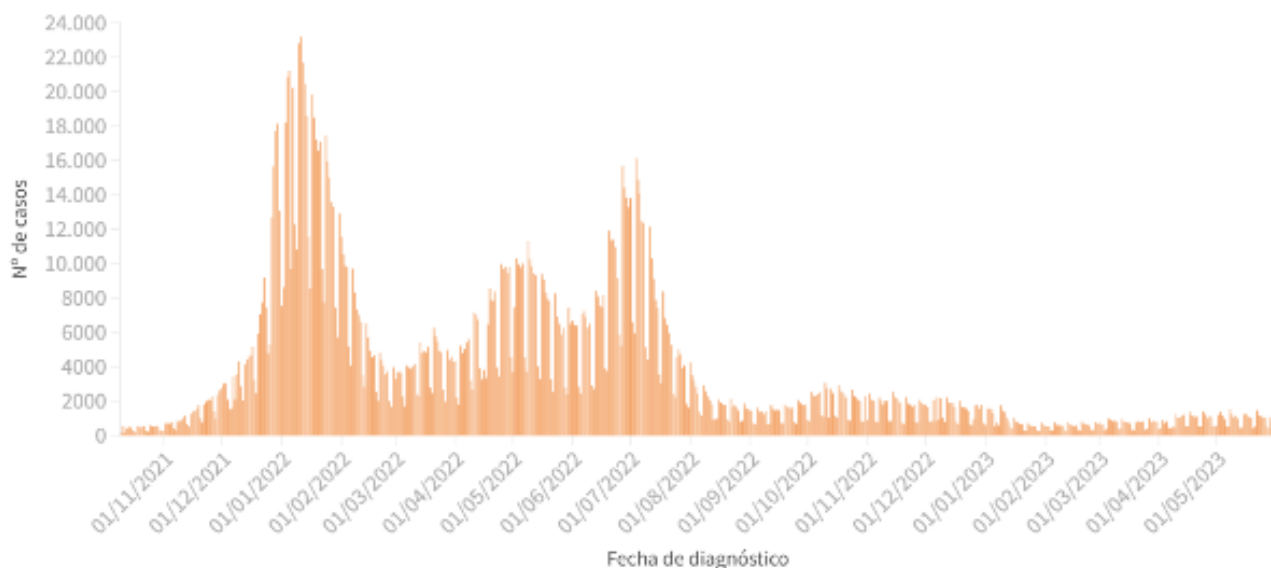
### 3) INTRODUCCIÓN

#### 3.1 SARS-CoV-2 situación actual

Desde el 5 de mayo de 2023 la Organización Mundial de la Salud declaró el fin de la emergencia de salud pública de importancia internacional por SARS-CoV-2 (Covid -19). Sin embargo, esto no significa que el virus haya dejado de ser una amenaza. Según los datos de la OMS a nivel mundial hasta el 24 de mayo de 2023 se han registrado 766.895.075 casos y 6.935.889 fallecimientos a consecuencia de infecciones por SARS-CoV2. Se han administrado unas tasas 171,33 dosis de vacunas/100.000 habitantes, obteniendo un total de 65,53 personas/ 100. 000 habitantes con pauta completa de vacunación<sup>1</sup>.

En España hasta la fecha se han registrado 13.890.555 casos y 121. 416 fallecimientos. La evolución temporal del número de casos se muestra en la Figura 1.

**Figura 1. Evolución de los casos diarios confirmados de COVID-19 y notificados en España en >60 años desde el 10.10.2021**



*Fuente: datos individualizados notificados por las CCAA a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SiViEs) <sup>1</sup>*

Se han administrado 105.840.321 dosis de vacunas y 40.739.123 personas han recibido la pauta completa de vacunación. Obteniendo un 98,2 % de la población vacunada<sup>2</sup>

### 3.2 Patogenicidad del virus, respuesta inmunitaria humoral y celular

La patogenicidad de los virus que muestran un periodo de incubación corto radica principalmente en su capacidad replicativa más que en la capacidad de inmunoescape que puedan presentar.

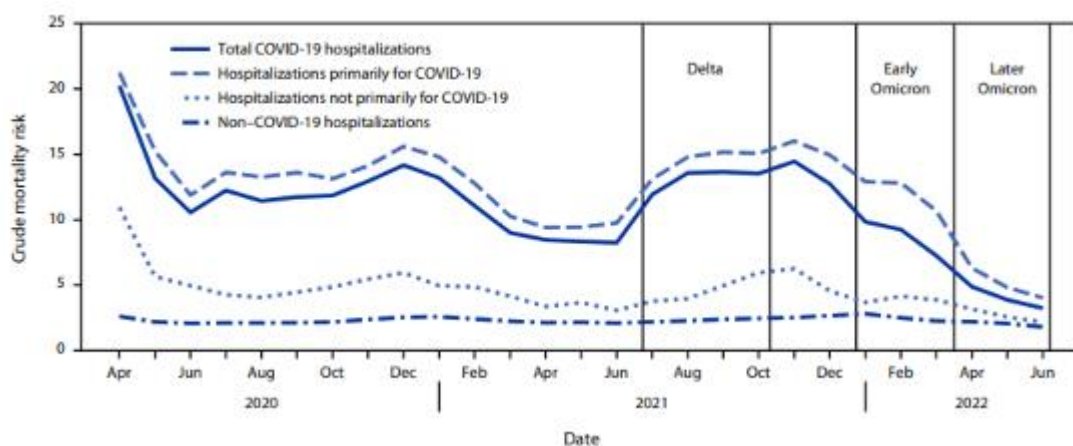
El virus SARS-CoV-2 presenta una elevada tasa de replicación <sup>3</sup>, sin embargo, la vacunación y la inmunidad surgida tras infecciones naturales han permitido controlar la gravedad de las infecciones que causa.

La respuesta inmunitaria humoral colabora en el control de la primoinfección y contribuye a evitar las reinfecciones, pero en caso de que estas se produzcan hace que estas sean de menor gravedad que la primoinfección. Esta acción se debe a la capacidad neutralizante que manifiestan los anticuerpos sobre la región RBD de la Spike 1 del virus situada en su envoltura. De este modo evita la unión de la Spike 1 con el receptor celular ACE2 no produciéndose la entrada del virus en la célula y su posterior replicación <sup>4</sup>.

La respuesta inmunitaria celular es mediada principalmente por los linfocitos T y se trata de una respuesta más rápida y de duración similar a la respuesta humoral, de hecho, es determinante para que la enfermedad por COVID-19 progrese o no a una enfermedad grave. Además de poder ser activa incluso si no existe respuesta humoral, tal y como ha sido descrito en asintomáticos y en pacientes con deficiencias de linfocitos B <sup>5</sup>.

Por otro lado, el virus ha experimentado una serie de mutaciones y con la llegada de la variante Omicron parece ser que nos encontramos en una transición hacia la endemia, debido a las diferentes mutaciones que han conseguido un incremento en su transmisibilidad y una disminución en la gravedad de los casos que se refleja en una disminución en las tasas de mortalidad (Figura 2) <sup>6</sup>.

**Figura 2. Riesgo de mortalidad bruto para el total de las hospitalizaciones por COVID-19, hospitalizaciones sin el COVID-19 como razón principal y hospitalizaciones no relacionadas con el COVID-19. Publicación especial sobre el COVID-19 de la Premiere Healthcar Database. Estados Unidos, Abril 2022-Junio-2022 <sup>6</sup>.**



### 3.3 SARS-CoV-2 en pacientes hemodializados

Los pacientes hemodializados presentan una serie de características que pueden disminuir su respuesta inmune, por lo que la infección por SARS-CoV-2 presentan una mayor mortalidad que en resto de población sana, autores como Khalil et al., 2022 describen un 15-20% de exceso en mortalidad <sup>7</sup>. Algunos de estos factores intrínsecos son la enfermedad renal crónica, la uremia o la edad avanzada <sup>8</sup>.

Por otro lado, la respuesta inmune humoral en los pacientes dializados presenta una cinética bastante diferente respecto a la población sana observándose, un incremento del nivel de anticuerpos más ralentizado, así como se una rápida disminución de los niveles de anticuerpos tras haber alcanzado su nivel máximo. Por estas circunstancias es esencial en esta población la revacunación con dosis de recuerdo para alcanzar el efecto booster y la recuperación de la respuesta humoral tal y como describe Hernández-Porto et al.,2022 <sup>9</sup>.

Debido al papel que desempeñan tanto la inmunidad humoral como celular ya explicadas en el anterior apartado de patogenicidad es fundamental medir el nivel de anticuerpos neutralizantes, así como el nivel de la respuesta celular en estas poblaciones mediante la realización de un seguimiento en esta población con el fin de determinar los periodos de mayor vulnerabilidad a la infección.

El nivel de anticuerpos neutralizantes presenta una muy buena correlación con el nivel de anticuerpos IgG antiRBD tal y como describe Shutar et al.,2020 <sup>10</sup>.



La OMS no ha decidido que umbral de anticuerpos antiRBD proporciona una protección para evitar reinfecciones sin embargo en España el Ministerio de Sanidad en su documento sobre los Criterios para valorar la administración de las nuevas alternativas terapéuticas antivirales frente la infección por SARS-CoV-2 establece 260 BAU/ml como punto de corte a partir del cual considera que existe protección <sup>11</sup>. Otros autores como Ebinger et al., 2021 establecieron que valores de IgG RBD > a 590 BAU/ml se correlaciona con una probabilidad del 95% con presentar altos niveles de anticuerpos neutralizantes <sup>12</sup>.

#### **4) OBJETIVOS**

1. Descripción de las características epidemiológicas de la serie de pacientes analizados.
2. Analizar el nivel de anticuerpos IgG RBD y de respuesta celular en una serie de pacientes nefrópatas con necesidad de terapia de reemplazamiento renal atendidos en la Unidad de Hemodiálisis del Complejo Hospitalario del Hospital Universitario de Canarias en el periodo post fase aguda de la pandemia Covid-19.

#### **5) MATERIAL Y MÉTODOS**

Diseño del estudio:

Se trata de un estudio descriptivo del nivel de respuesta inmunitaria humoral y celular presentada en pacientes nefrópatas con necesidad de terapia renal sustitutiva, así como de las características clínico-epidemiológicas de los mismos. El estudio fue realizado durante los meses de abril y mayo de 2023 en el Hospital Universitario de Canarias y fue aprobado por el Comité Ético de dicho hospital con el código MIC 001. Todos los pacientes incluidos en el estudio dieron su consentimiento informado para participar en el mismo.

Los criterios de inclusión fueron ser pacientes nefrópatas con necesidad de terapia renal sustitutiva que habían recibido la cuarta dosis de vacunación BNT162b2 mRNA COVID-19 durante los meses de marzo y abril de 2022, se excluyeron aquellos que habían recibido terapia inmunodepresora, o bien habían sido vacunados con vacunas diferentes a la BNT162b2 mRNA COVID-19 o esta no fuera su cuarta dosis.

Las muestras fueron siempre recogidas antes del comienzo de la diálisis antes de que la sangre entrara en contacto con la membrana del dializador.

Mediante revisión de las historias clínicas se recogieron las siguientes variables demográficas: edad, sexo, diabetes, hipertensión, porcentaje de linfocitos en la fórmula leucocitaria, número de linfocitos /ml, fecha de vacunación de la cuarta dosis vacunación BNT162b2 mRNA COVID-19, vacunación con Comirnaty® bivalente Original/Ómicron BA.4-5 y fecha, infección por Covid-19 durante el año 2022 y 2023.

#### Estudios serológicos:

Las muestras de plasma y suero fueron extraídas con un mes de diferencia, con las primeras se realizaron los análisis de hematimetría (porcentaje de linfocitos en la fórmula leucocitaria, número de linfocitos /ml) y se determinó la respuesta celular frente SARS-CoV-2.

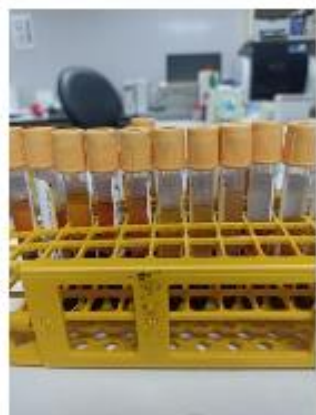
Con las muestras de suero se analizaron el nivel de anticuerpos IgG RBD y la presencia o no de IgG frente nucleocápside realizando la técnica de inmunoanálisis de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA) de Abbott® mediante el equipo (AR- CHITECT i 2000 SR TM), con los reactivos SARS-CoV-2 IgG II Quant y SARS-CoV-2 IgG Q. Los anticuerpos IgG RBD nos permiten conocer el nivel de anticuerpos protectores y se consideran positivos valores  $\geq 7,1$  BAU/ml. La presencia de anticuerpos IgG Nucleocápside permiten reconocer infecciones recientes por SARS-CoV-2 que hayan podido pasar desapercibidas por clínica muy leve o asintomática. El resto de infecciones sintomáticas fueron detectadas mediante técnica PCR (Allplex SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV Assay, Seegene, Seoul, South Korea) utilizando muestra nasofaríngea.

La respuesta celular se determinó mediante las muestras de plasmas por la técnica IGRA (ensayo de liberación de Interferon gamma), para ellos se utilizaron el set de tubos de estimulación de ensayo de liberación de interferón  $\gamma$  EUROIMMUN SARS-CoV-2 Quant-T\_Cell SARS-CoV-2 y posteriormente se realizó la medición de interferón liberado en el equipo DS2 DYNEX mediante la técnica ELISA con el kit de ELISA Quan-T-Cell ELISA (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika, Luebeck, Germany), en los que valores  $>200$  mIU/ml, son interpretados como positivos. Todas las técnicas fueron realizando las instrucciones del fabricante (Flujograma 1 y 2).

#### Análisis estadístico:

Las características demográficas se presentan resumiendo las variables nominales con las frecuencias absolutas de sus categorías componentes y las de escala numérica con media y (DE) o mediana y (P5-P95) según su distribución normal o anormal, verificada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los cálculos fueron realizados mediante el programa SPSS 25.0 TM Statistics.

# Flujograma 1. Respuesta humoral (detección de anticuerpos IgG RBD y anticuerpos IgG Nucleocápside)



Se alicuota en nuevo tubos y se congelan para su análisis unisono

Se descongelan y se agitan mediante vórtex para traspasar a las celdillas de reacción



Calibración de equipo, verificación de controles dentro de rango

Introducción de reactivos

Introducción de muestras

## Flujograma 2. Respuesta celular (detección de linfocitos T específicos frente SARS-CoV-2)

TUBO	DIFERENCIACIÓN VISUAL	COMPONENTE
CoV-2-IGRA-BLANK	TAPA TRANSPARENTE	Sin componente activador de las células <u>inmunológicas</u> .
CoV-2-IGRA-TUBE	TAPA AMARILLA	Recubierto de componentes propios del dominio S1 de la proteína S del SARS-CoV-2.
CoV-2-IGRA-STIM	TAPA VIOLETA	Recubierto de un mitógeno que causa una secreción de interferón gamma <u>inespecífica</u> .



Muestras de plasma; se introduce 500  $\mu$ l en cada tubo de estimulación.



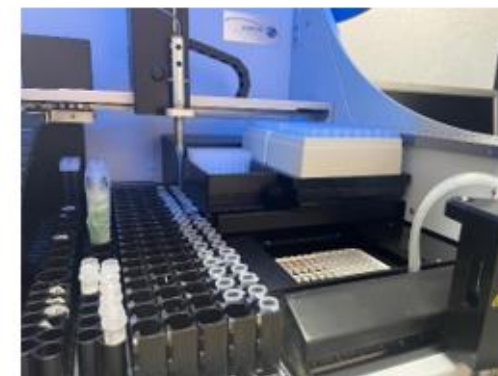
Tubo de blanco, Tubo de estimulación específica de linT frente SAR-CoV-2 y Tubo de estimulación mitógena de todos los linfocitos T



Estufa 37°C durante 20-24h



Centrifugar a 12000 rpm durante 10 min y rescatar el sobrenadante



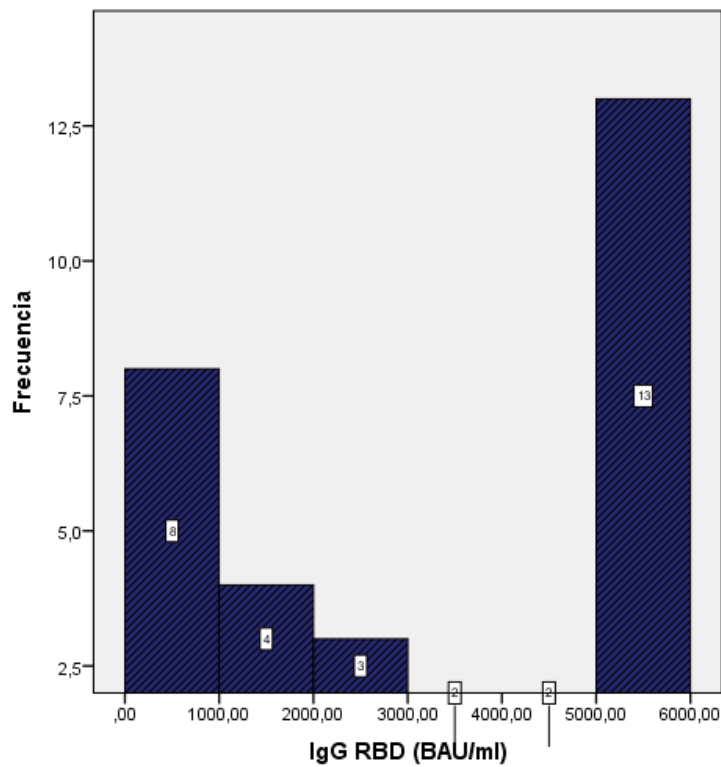
Realización de la técnica ELISA en el equipo DS2



## 6) RESULTADOS

Un total de 33 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión y todos ellos habían sido vacunados de la cuarta dosis BNT162b2 mRNA COVID-19 durante los meses de marzo y abril de 2022. El 88, 55 y 51% de los pacientes presentaba hipertensión arterial, diabetes y ambas como comorbilidades. El 76% fueron hombres con una media de edad de  $72 \pm 11$  años. El 39% de los pacientes había sido infectados por SARS-CoV-2 durante el periodo 2022-2023 concentrándose los sintomáticos en los meses de julio agosto y diciembre de 2022 y enero de 2023. Dentro de los infectados el 38% fue sintomático y detectado por PCR mientras que el 61% fue detectado a través de la presencia de IgG nucleocápside y cursó de forma asintomática o muy leve. El 18% recibió la vacuna Comirnaty® bivalente Original/Ómicron BA.4-5 durante los meses de noviembre - diciembre de 2022 y enero-febrero de 2023. El porcentaje de linfocitos en la formula leucocitaria resultó con media  $19.8 \pm 7.2$  %, cuando los valores de referencia se encuentran entre 25-45%. Así mismo el número de linfocitos /ml resultó en una mediana de  $1.3 \times 10^3$  ( $0.63 \times 10^3$ - $9.67 \times 10^3$ ) cuando los valores de referencia se encuentran entre  $1-4,8 \times 10^3$  linfocitos /ml. El nivel de anticuerpos IgG RBD detectados presentó una mediana de 3.462 BAU/ml (37.9-5680) (Figura 3). El 82% de los pacientes presentaron valores de IgG RBD > a 590 BAU/ml. La respuesta celular de linfocitos T no fue valorable en ninguno de los pacientes ya que los tubos de control positivo con presencia de antígenos mitógenos no estimularon con suficiente intensidad a la población de linfocito T contenido en las muestras, no produciéndose la respuesta de liberación de interferón gamma inespecífica.

**Figura 3. Distribución de anticuerpos IgG RBD según su frecuencia**

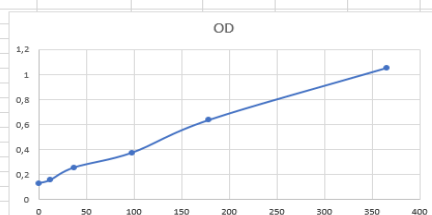


**Figura 4. Resultados de la prueba IGRA para la detección de la respuesta celular de los linfocitos T frente SARS-CoV-2.**

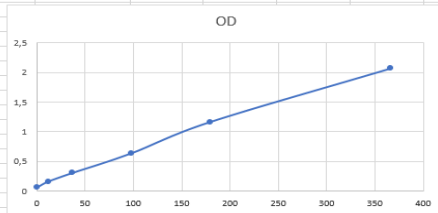
Varias tandas de muestras fueron analizadas, en cada tanda se muestra:

- a) Los resultados de la curva de calibrado de los estándares
- b) Los resultados de absorbancia de cada tubo (cada muestra presenta tres tubos; 1 blanco, 1 amarillo y 1 violeta)

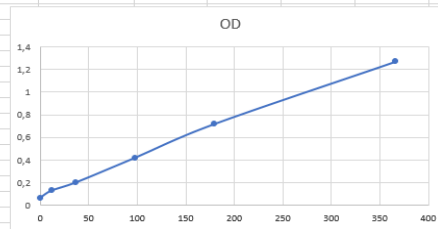
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
A	STANDARD 1 0,131	MUESTRA 1 0,109	MUESTRA 3 0,187												
B	STANDARD 2 0,156	MUESTRA 1 0,108	MUESTRA 4 0,502											Unidades Control	OD
C	STANDARD 3 0,256	MUESTRA 1 0,110	MUESTRA 4 0,010											0,1	0,131
D	STANDARD 4 0,374	MUESTRA 2 0,091	MUESTRA 4 0,155											12	0,156
E	STANDARD 5 0,636	MUESTRA 2 0,11	MUESTRA 5 0,155											37	0,256
F	STANDARD 6 1,052	MUESTRA 2 0,109	MUESTRA 5 0,145											98	0,374
G	CONTROL 1 0,197	MUESTRA 3 0,119	MUESTRA 5 0,225											179	0,636
H	CONTROL 2 0,486	MUESTRA 3 0,124												366	1,052



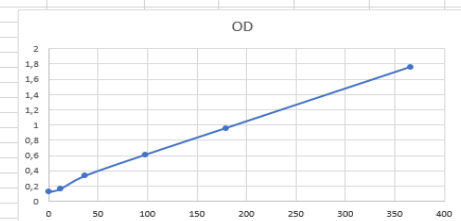
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
A	STANDARD 1 0,056	MUESTRA 6 0,072	MUESTRA 8 0,097	MUESTRA 11 0,140	MUESTRA 14 0,095	MUESTRA 16 0,109								<table border="1"> <thead> <tr> <th>Unidades Control</th> <th>OD</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,1</td> <td>0,056</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>0,159</td> </tr> <tr> <td>37</td> <td>0,304</td> </tr> <tr> <td>98</td> <td>0,635</td> </tr> <tr> <td>179</td> <td>1,16</td> </tr> <tr> <td>366</td> <td>2,064</td> </tr> </tbody> </table>	Unidades Control	OD	0,1	0,056	12	0,159	37	0,304	98	0,635	179	1,16	366	2,064
Unidades Control	OD																											
0,1	0,056																											
12	0,159																											
37	0,304																											
98	0,635																											
179	1,16																											
366	2,064																											
B	STANDARD 2 0,159	MUESTRA 6 0,084	MUESTRA 9 0,087	MUESTRA 11 0,131	MUESTRA 14 0,083	MUESTRA 17 0,075																						
C	STANDARD 3 0,304	MUESTRA 6 0,090	MUESTRA 9 0,081	MUESTRA 12 0,074	MUESTRA 14 0,09985	MUESTRA 17 0,084																						
D	STANDARD 4 0,635	MUESTRA 7 0,086	MUESTRA 9 0,085	MUESTRA 12 0,072	MUESTRA 15 0,066	MUESTRA 17 0,096																						
E	STANDARD 5 1,160	MUESTRA 7 0,082	MUESTRA 10 0,056	MUESTRA 12 0,078	MUESTRA 15 0,086																							
F	STANDARD 6 2,064	MUESTRA 7 0,081	MUESTRA 10 0,059	MUESTRA 13 0,109	MUESTRA 15 0,083																							
G	CONTROL 1 0,280	MUESTRA 8 0,087	MUESTRA 10 0,067	MUESTRA 13 0,089	MUESTRA 16 0,087																							
H	CONTROL 2 0,887	MUESTRA 8 0,099	MUESTRA 11 0,120	MUESTRA 13 0,098	MUESTRA 16 0,096																							



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
A	STANDARD 1 0,065	MUESTRA 31 0,90	MUESTRA 33 0,196	MUESTRA 36 0,072	MUESTRA 39 0,062	MUESTRA 41 0,055								<table border="1"> <thead> <tr> <th>Unidades Control</th> <th>OD</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,1</td> <td>0,064</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>0,129</td> </tr> <tr> <td>37</td> <td>0,201</td> </tr> <tr> <td>98</td> <td>0,42</td> </tr> <tr> <td>179</td> <td>0,717</td> </tr> <tr> <td>366</td> <td>1,272</td> </tr> </tbody> </table>	Unidades Control	OD	0,1	0,064	12	0,129	37	0,201	98	0,42	179	0,717	366	1,272
Unidades Control	OD																											
0,1	0,064																											
12	0,129																											
37	0,201																											
98	0,42																											
179	0,717																											
366	1,272																											
B	STANDARD 2 0,129	MUESTRA 31 0,085	MUESTRA 34 0,019	MUESTRA 36 0,080	MUESTRA 39 0,061	MUESTRA 42 0,067																						
C	STANDARD 3 0,201	MUESTRA 31 0,093	MUESTRA 34 0,011	MUESTRA 37 0,078	MUESTRA 39 0,056	MUESTRA 42 0,059																						
D	STANDARD 4 0,420	MUESTRA 32 0,051	MUESTRA 34 0,026	MUESTRA 37 0,011	MUESTRA 40 0,045	MUESTRA 42 0,061																						
E	STANDARD 5 0,717	MUESTRA 32 0,043	MUESTRA 35 0,065	MUESTRA 37 0,070	MUESTRA 40 0,064	MUESTRA 43 0,072																						
F	STANDARD 6 1,272	MUESTRA 32 0,057	MUESTRA 35 0,059	MUESTRA 38 0,067	MUESTRA 40 0,010	MUESTRA 43 0,063																						
G	CONTROL 1 0,199	MUESTRA 33 0,158	MUESTRA 35 0,068	MUESTRA 38 0,077	MUESTRA 41 0,077	MUESTRA 43 0,010																						
H	CONTROL 2 0,518	MUESTRA 33 0,148	MUESTRA 36 0,057	MUESTRA 38 0,067	MUESTRA 41 0,011																							



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
A	STANDARD 1 0,119	MUESTRA 18 0,100	MUESTRA 20 0,287	MUESTRA 23 0,092	MUESTRA 26 0,061	MUESTRA 28 0,061								<table border="1"> <thead> <tr> <th>Unidades Control</th> <th>OD</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,1</td> <td>0,119</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>0,159</td> </tr> <tr> <td>37</td> <td>0,332</td> </tr> <tr> <td>98</td> <td>0,608</td> </tr> <tr> <td>179</td> <td>0,955</td> </tr> <tr> <td>366</td> <td>1,756</td> </tr> </tbody> </table>	Unidades Control	OD	0,1	0,119	12	0,159	37	0,332	98	0,608	179	0,955	366	1,756
Unidades Control	OD																											
0,1	0,119																											
12	0,159																											
37	0,332																											
98	0,608																											
179	0,955																											
366	1,756																											
B	STANDARD 2 0,159	MUESTRA 18 0,091	MUESTRA 21 0,149	MUESTRA 23 0,091	MUESTRA 26 0,059	MUESTRA 29 0,070																						
C	STANDARD 3 0,332	MUESTRA 18 0,098	MUESTRA 21 0,009	MUESTRA 24 0,167	MUESTRA 26 0,061	MUESTRA 29 0,067																						
D	STANDARD 4 0,608	MUESTRA 19 0,070	MUESTRA 21 0,009	MUESTRA 24 0,253	MUESTRA 27 0,151	MUESTRA 30 0,069																						
E	STANDARD 5 0,955	MUESTRA 19 0,070	MUESTRA 22 0,145	MUESTRA 24 0,315	MUESTRA 27 0,215	MUESTRA 29 0,057																						
F	STANDARD 6 1,756	MUESTRA 19 0,075	MUESTRA 22 0,136	MUESTRA 25 0,009	MUESTRA 27 0,267	MUESTRA 30 0,168																						
G	CONTROL 1 0,282	MUESTRA 20 0,084	MUESTRA 22 0,141	MUESTRA 25 0,079	MUESTRA 28 0,009	MUESTRA 30 0,251																						
H	CONTROL 2 0,723	MUESTRA 20 0,084	MUESTRA 23 0,067	MUESTRA 25 0,070	MUESTRA 28 0,009																							



Se observa que la absorbancia de los tubos violetas es muy baja por lo que los linfocitos no han sido estimulados y la prueba no es valorable

## 7) DISCUSIÓN

Este estudio refleja la experiencia de un hospital terciario en la respuesta humoral y celular a SARS-CoV-2 en pacientes nefrópatas vacunados con necesidad de terapia de reemplazamiento renal. El 82% de los pacientes presentaron valores de IgG RBD > a 590 BAU/ml una situación muy superior a lo descrito anteriormente donde el 55% de los pacientes se encontraban esta situación (Hernández-Porto et al.). Esto podría ser explicado por un mayor efecto booster provocado tras administrar un mayor número de dosis de vacunación a lo largo del tiempo. Así mismo implicaría una elevada cantidad de anticuerpos neutralizantes que explicaría que el 61 % de los pacientes infectados fueran asintomáticos. A pesar de que en España desde el mes de octubre de 2022 la variante Omicron predominante fue BQ1.1 y en 2023 se incorporó XBB 1.5<sup>13</sup> pues ambas variantes presentan una elevada resistencia a los anticuerpos neutralizantes<sup>14</sup>.

La respuesta celular de linfocitos T no fue valorable en ninguno de los pacientes esto podría ser explicado desde diferentes perspectivas; por un lado los pacientes no presentaron gran cantidad de linfocitos dato reflejado en la fórmula leucocitaria  $19.8 \pm 7.2$  %. Por otro lado es posible que los linfocitos T de estas poblaciones presenten una actividad funcional limitada no coincidiendo con otros autores como Blazquez Navarro et al.<sup>15</sup>, 2021 que encontraron una respuesta similar entre pacientes hemodializados y pacientes con función renal normal. O bien puede ser debido a una limitación en la sensibilidad de la técnica IGRA en estas poblaciones, ya que autores como Bergami et al., 2022 han descrito una sensibilidad de la técnica del 83% en personal sanitario sano<sup>16</sup>.



## 8) CONCLUSIONES

1. Los pacientes en estudio fueron mayoritariamente hombres, con una edad media de 72 años. En cuanto a sus morbilidades, presentaban en un gran porcentaje hipertensión arterial, seguido por diabetes y por ambas comorbilidades.
2. El efecto booster tras la administración de 4 dosis de vacuna BNT162b2 mRNA COVID-19 a lo largo del tiempo en la población nefrópata con necesidad de terapia de reemplazamiento renal, ha permitido una elevada titulación en anticuerpos neutralizantes en estas poblaciones.
3. El elevado nivel de anticuerpos neutralizantes parece haber evitado el desarrollo de infecciones graves por SARS-CoV-2 a pesar de que las variantes involucradas presentaran una elevada capacidad de inmunoescape.
4. Es necesario analizar otras poblaciones de pacientes hemodializados con el fin de valorar si las técnicas IGRA presentan una sensibilidad limitada en estas poblaciones de pacientes.

## 9) BIBLIOGRAFÍA

1. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard. (s/f). Who.int. Recuperado el 20 de junio de 2023, de <https://covid19.who.int/>
2. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. (s/f). Gob.es. Recuperado el 20 de junio de 2023, de [https://www.sanidad.gob.es/en/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion\\_670\\_COVID-19.pdf](https://www.sanidad.gob.es/en/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Actualizacion_670_COVID-19.pdf)
3. V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(3), 155–170. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
4. Chandrashekar, A., Liu, J., Martinot, A. J., McMahan, K., Mercado, N. B., Peter, L., Tostanoski, L. H., Yu, J., Maliga, Z., Nekorchuk, M., Busman-Sahay, K., Terry, M., Wrijil, L. M., Ducat, S., Martinez, D. R., Atyeo, C., Fischinger, S., Burke, J. S., Slein, M. D., Barouch, D. H. (2020). SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science (New York, N.Y.)*, 369(6505), 812–817. <https://doi.org/10.1126/science.abc4776>
5. Goletti, D., Petrone, L., Manissero, D., Bertoletti, A., Rao, S., Ndunda, N., Sette, A., & Nikolayevskyy, V. (2021). The potential clinical utility of measuring severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific T-cell responses. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27(12), 1784–1789. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.07.005>
6. Adjei, S., Hong, K., Molinari, N.-A. M., Bull-Otterson, L., Ajani, U. A., Gundlapalli, A. V., Harris, A. M., Hsu, J., Kadri, S. S., Starnes, J., Yeoman, K., & Boehmer, T. K. (2022). Mortality risk among patients hospitalized primarily for COVID-19 during the Omicron and Delta variant pandemic periods - United States, April 2020-June 2022. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 71(37), 1182–1189. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7137a4>

7. Khalil El Karoui, An S. De Vriese. COVID-19 in dialysis: clinical impact, immune response, prevention, and treatment[Internet]. 2022 [citado el 15 de marzo de 2023]. Disponible en: [https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(22\)00099-0/fulltext](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(22)00099-0/fulltext)
8. Zhang J-J, Dong X, Liu G-H, Gao Y-D. Risk and protective factors for COVID-19 morbidity, severity, and mortality. Clin Rev Allergy Immunol [Internet]. 2023;64(1):90–107. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-022-08921-5>
9. Hernández-Porto M, García S, Delgado T, Rodríguez Y, Aguirre-Jaime A, Campos S, et al. Humoral response to SARS-CoV-2 after vaccination and booster effect in patients undergoing dialysis. Int J Infect Dis [Internet]. 2022;122:327–31. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971222003356>
10. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid generation of neutralizing antibody responses in COVID-19 patients. Cell Rep Med [Internet]. 2020;1(3):100040. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100040>
11. Criterios para valorar la administración de las nuevas alternativas terapéuticas antivirales frente a la infección por SARS-CoV-2 [Internet]. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. 2021 [citado el 26 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/acceso-a-medicamentos-en-situaciones-especiales/criterios-para-valorar-la-administracion-de-las-nuevas-alternativas-terapeuticas-antivirales-frente-a-la-infeccion-por-sars-cov-2/>
12. Ebinger JE, Fert-Bober J, Printsev I, Wu M, Sun N, Prostko JC, et al. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. Nat Med [Internet]. 2021;27(6):981–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-021-01325-6>

13. De la situación e implicaciones para la salud pública RE. Actualización de la situación epidemiológica de las variantes de SARS-CoV-en España [Internet]. Gob.es. [citado el 26 de junio de 2023]. Disponible en: [https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19\\_Actualizacion\\_variantes\\_20230522.pdf](https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Actualizacion_variantes_20230522.pdf)
14. Wang Q, Iketani S, Li Z, Liu L, Guo Y, Huang Y, et al. Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. Cell [Internet]. 2023;186(2):279-286.e8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.018>
15. Anft M, Blazquez-Navarro A, Paniskaki K, Skrzypczyk S, Appel H, Pfab T, et al. SARS-CoV-2-reactive cellular and humoral immunity in hemodialysis population. Kidney Int [Internet]. 2021;99(6):1489–90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2021.03.032>
16. Bergami F, Arena F, Pattonieri EF, Gregorini M, Meloni F, Abelli M, et al. Performance of whole blood stimulation assays for the quantification of SARS-CoV-2 specific T-cell response: A cross-sectional study. Diagnostics (Basel) [Internet]. 2022;12(6):1509. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics12061509>

## 10) ANEXO



Dra. **MARÍA SAGRARIO BUSTABAD REYES**, DIRECTORA MÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS, visto el Dictamen Favorable del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm),

### CERTIFICA:

Que conoce la propuesta realizada por el promotor: Servicio de Microbiología y Control de la Infección para que sea realizado en este Centro el Estudio Observacional con código del protocolo del Promotor: MIC 001 y titulado: Análisis de la respuesta humoral y celular frente SARS-COV-2 tras vacunación (BNT162b2 mRNA Covid-19) en diferentes tipos de pacientes vacunados; durabilidad y eficiencia. Será realizado en este Centro por la Dra. **MARÍA LECUONA FERNANDEZ**, como investigador principal.

Que conoce los términos en los que se va a realizar el Estudio Observacional y acepta la realización en este Centro.

Y para que así conste firmo el presente certificado en La Laguna.

Este documento ha sido firmado electrónicamente por:	
MARIA SAGRARIO BUSTABAD REYES - DIRECTOR MEDICO ATENCION ESPECIALIZADA	Fecha: 21/12/2021 - 12:03:25
En la dirección <a href="https://sede.gobiernodecanarias.org/sede/verifica_doc?codigo_nde=">https://sede.gobiernodecanarias.org/sede/verifica_doc?codigo_nde=</a> puede ser comprobada la autenticidad de esta copia, mediante el número de documento electrónico siguiente: Oyt.2yN3zu6MUYMjpvVnPhVLLRWVjrH7v	 
El presente documento ha sido descargado el 22/12/2021 - 10:57:57	