Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Ciencias Biológicas
Unidad de Posgrado

Evaluación de los niveles plasmáticos de IgG y su relación con IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados contra SARS-CoV-2, y análisis de la expresión transcripcional de CXCL10 en leucocitos de sangre entera estimulados ex vivo con péptidos de dos variantes virales

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biología Molecular

AUTOR

Marlon Yuri GARCIA PAITAN

ASESOR

Dra. Libertad ALZAMORA GONZALES

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Garcia, M. (2026). *Evaluación de los niveles plasmáticos de IgG y su relación con IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados contra SARS-CoV-2, y análisis de la expresión transcripcional de CXCL10 en leucocitos de sangre entera estimulados ex vivo con péptidos de dos variantes virales*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Marlon Yuri Garcia Paitan
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	74087343
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3028-3454
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Libertad Alzamora Gonzales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09022430
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7425-7453
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Erasmo Honorio Colona Vallejos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09438212
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Gina Nilda Salvador Luján
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08694713
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Gustavo Adolfo Sandoval Peña
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41020762
Datos de investigación	

Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública
Grupo de investigación	Cancer and Stem Cells Research Group
Agencia de financiamiento	Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC). PROCIENCIAAECID. PE501079519-2022 Perú. Universidad Científica del Sur (UCSUR). Vicerrectorado de Investigación. 062-2023-PRO99
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Científica del Sur (UCSUR) País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Villa el Salvador Latitud: -12.222715 Longitud: -76.976873
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2023-2025
URL de disciplinas OCDE	Inmunología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.03 Bioquímica, Biología molecular https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.03

Expediente N.º 282-UPG-FCB-2025

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN BIOLOGÍA MOLECULAR

Siendo las 15:00 horas del martes 14 de julio de 2026, en la Sala de Usos Múltiples de la Facultad de Ciencias Biológicas, el Jurado de Tesis conformado por:

Dr.	Erasmo Honorio Colona Vallejos	(Presidente)
Mg.	Gustavo Adolfo Sandoval Peña	(Miembro)
Mg.	Gina Nilda Salvador Lujan	(Miembro)
Dra.	Libertad Alzamora Gonzales	(Asesora)

Se reunió para la sustentación oral y pública de la Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Biología Molecular, que solicitara el señor Bachiller **MARLON YURI GARCIA PAITAN.**

Después de darse lectura al **Expediente N.º 282-UPG-FCB-2025,** en el que consta haberse cumplido con todas las disposiciones reglamentarias, los señores miembros del Jurado presenciaron la exposición de la Tesis Titulada:

"Evaluación de los niveles plasmáticos de IgG y su relación con IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados contra SARS-CoV-2, y análisis de la expresión transcripcional de *CXCL10* en leucocitos de sangre entera estimulados ex vivo con péptidos de dos variantes virales" y formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

Acto seguido el Jurado procedió a la deliberación la que dio como resultado el calificativo de: Excelente ..... con la nota de Diecinueve (19)

A continuación, el Presidente del Jurado de Tesis recomienda que la Facultad proponga que la Universidad le otorgue el grado académico de Magíster en Biología Molecular, al señor Bachiller **MARLON YURI GARCIA PAITAN.**

Siendo las 16:25 ..... se levantó la sesión, recibiendo el graduando las felicitaciones de los señores miembros del Jurado y público asistente.

Se extiende la presente Acta en Lima, el martes 14 de julio del año 2026.

Dr. Erasmo H. Colona Vallejos
Profesor Principal a D.E.
PRESIDENTE
ecolonav@unmsm.edu.pe
RENACYT P0002153

Dra. Libertad Alzamora Gonzales
Profesora Principal a D.E.
ASESORA
lalzamorag@unmsm.edu.pe
RENACYT P0000235

Mg. Gina N. Salvador Lujan
Profesor Asociado T. P.
MIEMBRO
gsalvadorl@unmsm.edu.pe

Mg. Gustavo A. Sandoval Peña
Profesor Principal T.C.
MIEMBRO
gsandovalp@unmsm.edu.pe
RENACYT P0001316

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Libertad Alzamora Gonzales en mi condición de asesora acreditado mediante Dictamen de la UPG N.º 000057-2026-UPG-VDIP-FCB/UNMSM de la tesis, cuyo título es **"Evaluación de los niveles plasmáticos de IgG y su relación con IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados contra SARS-CoV-2, y análisis de la expresión transcripcional de CXCL10 en leucocitos de sangre entera estimulados ex vivo con péptidos de dos variantes virales",** presentado por el Bachiller **MARLON YURI GARCIA PAITAN** para optar el grado académico de **Magíster en Biología Molecular.**

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 13**%** de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado académico de Magíster en Biología Molecular.

Lima, 17 de julio de 2026

UNMSM
Firmado digitalmente por ALZAMORA GONZALES Libertad FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 17.07.2026 15:51:27 -05:00

Firma del Asesor

Nombres y Apellidos del asesor: **DRA. LIBERTAD ALZAMORA GONZALES**
DNI: **09022430**

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

AGRADECIMIENTOS

A la Mg. Ana Mayanga por brindarme la oportunidad de desarrollar esta tesis bajo su asesoría y estar al pendiente para que esta se desarrolle de la mejor manera en el Laboratorio de Cultivo Celular e Inmunología.

Al Mg. Salyoc Tapia, por su incondicional apoyo y asesoría en el análisis de los datos, lo cual fue fundamental para el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Libertad Alzamora por su asesoría y apoyo durante el desarrollo y culminación del proyecto de investigación.

A mis amigos de los laboratorios de investigación de la Científica del Sur: Santiago, Daniella, Sarita, Angie por el apoyo que me brindaron durante el desarrollo del proyecto de investigación.

A la Universidad Científica del Sur por permitirme desarrollar esta tesis bajo el código de registro 062-2023-PRO99.

A CONCYTEC-PROCIENCIA por el financiamiento de esta tesis en el marco del subproyecto “Optimización de la medición de la respuesta celular frente a SARS-CoV-2 y su vacunación” (CONTRATO PE501079519-2022-PROCIENCIA).

DEDICATORIA

A mi mamá, papá y hermana por todo su apoyo incondicional.

CONTENIDO

ABREVIATURAS I

ÍNDICE DE FIGURAS III

ÍNDICE DE TABLAS IV

RESUMEN V

ABSTRACT VI

I. INTRODUCCIÓN 1

II. ANTECEDENTES 5

2.1 Respuesta inmune adaptativa 5
2.1.1 Inmunidad humoral y celular 5
2.1.1 Rol de las citocinas en la respuesta inmune adaptativa 6

2.2 Evaluación de la inmunidad adaptativa contra SARS-CoV-2 7

2.3 Metodologías para evaluar la inmunidad contra SARS-CoV-2 10
2.3.1 Evaluación de la inmunidad humoral contra SARS-CoV-2 y el perfil de citocinas 10
2.3.2 Evaluación de la inmunidad celular contra SARS-CoV-2 12

2.4 Evaluación del estado inmunitario en la población peruana frente a SARS-CoV-2 16

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 17

3.1. Hipótesis 17

3.2. Objetivos 17
3.2.1 Objetivo general 17
3.2.2 Objetivos específicos 17

IV. MATERIAL Y MÉTODOS 18

4.1. Población de estudio 18

4.2. Recolección de muestras 18

4.3. Identificación de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 19

4.4. Cuantificación de citocinas plasmáticas (IFN-γ, IL-2 e IL-4) 19

4.5. Evaluación de la expresión del gen *CXCL10* en leucocitos en sangre entera estimulados ex vivo con péptidos de SARS-CoV-2 20
4.5.1. Cultivo de sangre entera con péptidos de SARS-CoV-2 20
4.5.2. Extracción de ARN total de sangre estimulada 21
4.5.3. Medición de la expresión transcripcional de *CXCL10* 21

4.6. Análisis estadístico de correlaciones y asociaciones 22

V. RESULTADOS 24

5.1 Características clínico epidemiológicas de la población de estudio 24

5.2 Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-Cov-2 en la población de estudio 26

5.3 Relación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 29

5.4 Expresión de *CXCL10* en leucocitos estimulados con péptidos de SARS-CoV-2 36

5.5 Relación de los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-Cov-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 y la expresión transcripcional de *CXCL10* 41

VI. DISCUSIÓN **45**

VII. CONCLUSIONES **55**

VIII. RECOMENDACIONES **57**

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **58**

X. ANEXOS **71**

Anexo I. *Consentimiento Informado* *71*

Anexo II. *Cuestionario Clínico epidemiológico del Estudio* *73*

Anexo III. *Constancia de aprobación de proyecto del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Científica del Sur (CIEI-CIENTÍFICA).* *75*

Anexo IV. *Protocolo de extracción de ARN total de sangre entera* *76*

ABREVIATURAS

ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIM	Marcadores inducidos por activación
APC	Células presentadoras de antígeno
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
COVID-19	Enfermedad por Coronavirus 2019
DMSO	Dimetilsulfóxido
ELISA	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
ELISpot	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas de puntos
GM-CSF	Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Macrófagos
IFN-γ	Interferón gamma
IgA	Inmunoglobulina A
IgE	Inmunoglobulina E
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IGRA	Ensayo de Liberación de IFN-γ
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IL-17	Interleucina 7
IL-2	Interleucina 2
IL-21	Interleucina 21
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IP-10	Proteína 10 inducida por interferón gamma
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
PBMC	Células mononucleares de sangre periférica
PBS	Tampón fosfato salino

PCR	Reacción en cadena polimerasa
PHA	Fitohemaglutinina
qPCR	PCR cuantitativa en tiempo real
RBD	Dominio de Unión al Receptor
RT-qPCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcripción Reversa y Cuantificación en Tiempo Real
SARS-CoV-2	Síndrome respiratorio agudo grave coronavirus 2
TCR	Receptor de las células T
TGF-β	Factor de Crecimiento Transformante Beta
Th_1	Linfocito T auxiliares 1
Th_2	Linfocito T auxiliares 2
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
VOC	Variantes de preocupación

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 según las variables cualitativas clínico-epidemiológicas de la población 27

Figura 2. Correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las variables cuantitativas clínico-epidemiológicas de la población 28

Figura 3. Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 según el número de dosis de vacunas recibidas 29

Figura 4. Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 según la detectabilidad de las citocinas por el sistema multiplex 30

Figura 5. Correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 30

Figura 6. Correlación de los niveles categorizados de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 32

Figura 7. Correlación de los niveles categorizados de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones de IFN-γ e IL-2 en función de la vacuna ARNm-1273 33

Figura 8. Correlación entre las concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 34

Figura 9. Correlación de las concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 con variables cuantitativas clínico-epidemiológicas 35

Figura 10. Concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 según las variables cualitativas clínico-epidemiológicas de la población de estudio 36

Figura 11. Valores −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para el virus original Wuhan según las variables cualitativas clínico-epidemiológicas de la población de estudio 38

Figura 12. Valores −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para la variante Ómicron según las variables cualitativas clínico-epidemiológicas de la población de estudio 39

Figura 13. Valores −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para Wuhan y Ómicron según el número de dosis de vacuna recibidas 40

Figura 14. Correlación de los valores de −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para Wuhan y Ómicron según las variables cuantitativas clínico-epidemiológicas de la población 41

Figura 15. Matriz de correlación entre IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2, IL-4, − ΔΔ Ct de la expresión de *CXCL10* para Wuhan y Ómicron 42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Oligos para la evaluación de la respuesta celular por RT-qPCR 22

Tabla 2. Características clínico-epidemiológicas de la población en estudio 25

Tabla 3. Regresión lineal multivariada de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 31

Tabla 4. Regresión lineal multivariada de las citocinas IL-2 e IL-4 con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 31

Tabla 5. Regresión lineal multivariada de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 y los valores −ΔΔ Ct de la expresión de *CXCL10* para Wuhan y Ómicron 43

Tabla 6. Regresión lineal multivariada de los valores −ΔΔ Ct de la expresión de *CXCL10* para Ómicron con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 44

Tabla 7. Regresión lineal multivariada de los valores −ΔΔ Ct de la expresión de *CXCL10* para Wuhan con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 44

RESUMEN

En la etapa post-pandemia, es crucial evaluar los niveles de protección frente al SARS-CoV-2 para ajustar programas de vacunación y políticas de control, especialmente en contextos donde la administración de dosis de refuerzo ha disminuido y los estudios sobre inmunidad son limitados. Para ello, es necesario contar con correlatos que incluyan tanto la inmunidad humoral como celular, junto con mediciones de citocinas clave. En el presente estudio se evaluó la relación de los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones de IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados, y su asociación con la expresión transcripcional de *CXCL10* en leucocitos en sangre entera estimulados *ex vivo* con péptidos de dos cepas SARS-CoV-2. Se extrajo sangre de 40 voluntarios peruanos, determinando los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 mediante ELISA semicuantitativo y las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4 mediante análisis multiplexado. Además, se evaluó la expresión de *CXCL10* en muestras de sangre estimuladas con péptidos de la proteína *Spike* del virus original Wuhan y la variante Ómicron mediante RT-qPCR. Todos los participantes presentaron IgG anti-*Spike* en plasma, observándose niveles más altos en varones, en aquellos vacunados en los últimos seis meses, en quienes contaban con más de cuatro dosis y en los vacunados con ARNm-1273. Además, los niveles de estas IgG se correlacionaron positivamente con la edad y negativamente con el tiempo desde la última dosis. La mayoría mostró una respuesta positiva frente a los péptidos de Wuhan y Ómicron, siendo mayor en varones y con una mayor expresión de *CXCL10* para Ómicron. No se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de IgG anti-*Spike*, las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4 ni con los valores de −ΔΔCt para Wuhan y Ómicron. Sin embargo, las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4 mostraron correlación positiva entre sí, así como entre los valores de −ΔΔCt para ambas Wuhan y Ómicron. Los modelos de regresión lineal multivariada indicaron que IL-2 influye positivamente, mientras que IL-4 tiene un efecto negativo sobre los niveles de IgG anti-*Spike*. En conclusión, aunque no se evidenció una relación de IgG anti-*Spike* con las citocinas, ni con la respuesta celular frente a péptidos del virus, los modelos de regresión sugieren una influencia significativa de IL-2 e IL-4 sobre los niveles de IgG anti-*Spike* post-vacunación. Además, la población en estudio mostró un estado inmunitario tanto celular como humoral óptimo frente al SARS-CoV-2, demostrado por el aumento de expresión de *CXCL10* en respuesta a la estimulación celular frente a péptidos del virus y a la presencia plasmática de IgG anti-*Spike*.

Palabras clave: Inmunoglobulina G, Interferón gamma, Interleucina 2, Interleucina 4, Gen del ligando 10 de quimiocina con motivo CXC, Vacuna, Síndrome respiratorio agudo grave por coronavirus 2

ABSTRACT

In the post-pandemic stage, it is crucial to evaluate protection levels against SARS-CoV-2 to adjust vaccination programs and control policies, especially in contexts where booster dose administration has decreased, and studies on immunity are limited. To achieve this, it is necessary to establish correlates that include both humoral and cellular immunity, along with measurements of key cytokines. This study evaluated the relationship between plasma levels of SARS-CoV-2 anti-spike IgG antibodies and the concentrations of IFN-γ, IL-4, and IL-2 in vaccinated individuals, as well as their association with the transcriptional expression of *CXCL10* in whole blood leukocytes stimulated ex vivo with peptides from two SARS-CoV-2 strains. Blood was drawn from 40 Peruvian volunteers, and the levels of SARS-CoV-2 anti-spike IgG antibodies were determined using a semi-quantitative ELISA, while the concentrations of IFN-γ, IL-2, and IL-4 were measured using multiplex analysis. Additionally, *CXCL10* expression was evaluated in blood samples stimulated with peptides from the *Spike* protein of the original Wuhan virus and the Omicron variant using RT-qPCR. All participants exhibited SARS-CoV-2 anti-spike IgG antibodies in their plasma, with higher levels observed in males, individuals vaccinated within the last six months, those who received more than four doses, and those vaccinated with mRNA-1273. Moreover, IgG levels correlated positively with age and negatively with the time since the last dose. Most participants showed a positive response to peptides from both Wuhan and Omicron strains, with higher responses in males and greater *CXCL10* expression for Omicron. No significant correlations were found between anti-Spike IgG levels, IFN-γ, IL-2, IL-4 concentrations, or −ΔΔCt values for Wuhan and Omicron. However, IFN-γ, IL-2, and IL-4 concentrations showed positive correlations among themselves, as did the −ΔΔCt values for both Wuhan and Omicron. Multivariate linear regression models indicated that IL-2 positively influences anti-Spike IgG levels, while IL-4 has a negative effect. In conclusion, although no relationship was observed between anti-Spike IgG levels and cytokines or cellular response to viral peptides, the regression models suggest a significant influence of IL-2 and IL-4 on post-vaccination anti-Spike IgG levels. Furthermore, the study population demonstrated an optimal cellular and humoral immune status against SARS-CoV-2, as evidenced by increased *CXCL10* expression in response to cellular stimulation with viral peptides and the presence of SARS-CoV-2 anti-spike IgG antibodies.

Keywords: Immunoglobulin G, Interferon gamma, Interleukin 2, Interleukin 4, CXC motif chemokine ligand 10 gene, vaccine, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

I. INTRODUCCIÓN

Los esfuerzos destacados para el rápido desarrollo de diversas vacunas contra el SARS-CoV-2 y su amplia distribución en la población han sido factores clave que han contribuido con el control de la emergencia de salud pública generada por la pandemia a nivel mundial. Desde la introducción de las primeras vacunas, se priorizó la inmunización de grupos de riesgo, ampliándose posteriormente al resto de la población. Sin embargo, en términos generales, la alta demanda global y la aparición de variantes con escape inmunológico dificultaron alcanzar una cobertura inmunitaria suficiente en los primeros años (Liu et al., 2021). En años recientes, las campañas masivas de vacunación, impulsadas por una mayor disponibilidad de vacunas y la efectividad de las nuevas versiones frente a variantes de preocupación, han mejorado las perspectivas de alcanzar una protección poblacional amplia, algo que no se esperaba años atrás (Aschwanden, 2021). No obstante, la disminución en los casos de SARS-CoV-2 ha llevado a muchos a desatender los cronogramas de vacunación. En el caso de Perú, solo cerca del 30% han recibido la cuarta dosis (MINSA, 2024). Este panorama plantea riesgos de comprometer la protección poblacional y abrir la posibilidad de nuevas oleadas de infecciones ante la aparición de variantes futuras, debido a la continua evolución del virus. Esto resalta la necesidad de controlar y evaluar sistemáticamente la eficacia y duración de la inmunidad protectora generada por la vacunación, así como su variación según factores demográficos, esquemas de vacunación, antecedentes de infección previa y características ambientales regionales (Alroqi et al., 2024; Schwarz et al., 2022a). Estos factores, que afectan la inmunogenicidad de las vacunas, ya se han observado en enfermedades como la malaria, fiebre amarilla y rotavirus (van Dorst et al., 2024), lo que resalta la importancia de estudios inmunológicos adaptados a contextos diversos. Estos datos son esenciales para ajustar los programas de vacunación y políticas de control según las particularidades de las poblaciones, a fin de prevenir nuevas oleadas de infecciones debido a variantes de preocupación emergentes o resurgentes (Malani et al., 2024; Schwarz et al., 2022a; Hall et al., 2022; Telenti et al., 2021).

En este contexto, es fundamental reconocer que la inmunidad adquirida contra el SARS-CoV-2 tiende a disminuir con el tiempo, especialmente frente a variantes de preocupación, lo que resalta la necesidad de establecer correlatos de protección que permitan determinar con precisión la inmunidad tras la vacunación o convalecencia (Regev-Yochay et al., 2023). Aunque no se han identificado correlatos inmunológicos definitivos (den Hartog et al., 2023), es fundamental integrar tanto las respuestas humorales como celulares en los estudios inmunológicos, ya que la medición de una no siempre refleja la magnitud de la otra (Menges et al., 2022). Mientras que los anticuerpos neutralizantes tienden a disminuir con el tiempo, la funcionalidad de las células T, cruciales para evitar la progresión a enfermedades graves, se mantiene robusta incluso frente a variantes emergentes (Chen et al., 2022; Geers et al., 2021; Almendro-Vázquez et al., 2023).

También se ha identificado que el perfil de citocinas puede ser usado como un indicador para evaluar la efectividad de la respuesta inmunitaria que genera las vacunas contra el SARS-CoV-2, contribuyendo a optimizar protocolos de vacunación personalizados (Benhamouda et al., 2024; den Hartog et al., 2023). Por ejemplo, se han observado dinámicas particulares, como el aumento transitorio de TNF-α e IL-17 tras la segunda dosis de CoronaVac (Wang et al., 2022) y niveles elevados de IL-6 y TNF-α antes de la tercera dosis, asociados con una fuerte respuesta de anticuerpos (Karaba et al., 2022). Además, los niveles de IL-2, IL-4 e IFN-γ muestran variabilidad en relación con la inmunidad adaptativa entre personas vacunadas y no vacunadas (Wang et al., 2022; Zhu et al., 2023), y podrían servir como predictores de las respuestas humoral y celular (Benhamouda et al., 2024). Estas observaciones subrayan la importancia de integrar el análisis de citocinas junto con la evaluación de la inmunidad humoral y celular para definir correlatos de protección más precisos y mejorar las estrategias de inmunización, considerando variaciones según el tipo de vacuna y la población estudiada (van Dorst et al., 2024).

Diversos estudios sobre la inmunidad generada tras la vacunación contra el SARS-CoV-2 han centrado su atención en la evaluación de anticuerpos, como marcador de protección humoral. Esto se debe a la disponibilidad de

inmunoensayos estandarizados y de diversos kits comerciales (Zheng et al., 2022). No obstante, el análisis de la inmunidad celular ha sido limitado debido a desafíos técnicos y a la falta de metodologías estandarizadas (Schwarz et al., 2022b). Afortunadamente, estudios transcriptómicos han permitido el desarrollo de enfoques basados en técnicas de biología molecular más accesibles para evaluar la inmunidad celular. Uno de estos enfoques se basa en la medición de la expresión de *CXCL10*, cuya regulación al alza en monocitos es inducida por IFN-γ, el cual se produce tras la activación específica de células T estimuladas *ex vivo* con péptidos del SARS-CoV-2 en muestras de leucocitos (Schwarz et al., 2022b). La expresión de *CXCL10* refleja cualitativamente la magnitud de la respuesta inmune celular, de manera comparable a los análisis cualitativos realizados en los ensayos de liberación de IFN-γ (Cosma et al., 2023). De este modo, la adopción de nuevos enfoques facilitaría la integración de la inmunidad celular en los estudios actuales. En particular, la aplicación de ensayos basados en PCR cuantitativa para detectar células T específicas del SARS-CoV-2 en muestras de leucocitos estimuladas *ex vivo* resultaría fácilmente implementable, estandarizable y escalable, lo que permitiría evaluar de manera eficaz la inmunidad celular (Schwarz et al., 2022b).

Aunque hay numerosos estudios sobre la inmunidad celular, humoral y la cinética de las citocinas en distintas poblaciones, sus resultados no siempre son aplicables a la población peruana. Esto se debe a diferencias en los esquemas de vacunación, la inmunogenicidad de las vacunas y factores propios de cada población, como genética, entorno, comorbilidades y antecedentes de infecciones (van Dorst et al., 2024; Santos-Rebouças et al., 2024; Zimmermann & Curtis, 2019). Además, las diversas plataformas y combinaciones de vacunas generan respuestas inmunológicas variables en magnitud y duración (González et al., 2023; Salinas-Martínez et al., 2023). Estas diferencias resaltan la necesidad de estudiar el estado inmunitario en contextos específicos, como el peruano, dada su diversidad genética, socioeconómica y ambiental, para optimizar estrategias de vacunación y garantizar una protección efectiva frente al SARS-CoV-2 y sus variantes emergentes (Del Valle-Mendoza et al., 2022).

En Perú, la mayoría de estudios que evalúan la inmunidad contra SARS-CoV-2 se enfocan en la medición de anticuerpos en personal de salud (Montero et al., 2023; Hueda-Zavaleta et al., 2022; Pareja et al., 2022; Soto et al., 2021). Hasta la fecha, no se han realizado investigaciones que analicen la inmunidad celular y solo unos pocos han evaluado los niveles de citocinas, pero sin asociarlas con la respuesta inmune adaptativa (Del Valle-Mendoza et al., 2022). Esta falta de información representa un vacío significativo sobre el estado inmunitario adaptativo en la población peruana, especialmente en un contexto donde la administración de nuevas dosis de refuerzo ha disminuido drásticamente (MINSA, 2024). Si bien el SARS-CoV-2 ahora se considera endémico, la falta de una vigilancia eficaz podría permitir la aparición de nuevos patrones epidémicos (Telenti et al., 2021).

Por lo tanto, es fundamental realizar estudios que integren la inmunidad humoral, celular y perfiles de citocinas para establecer correlatos de protección más completos en la población peruana en el contexto post-pandemia. Por todo ello, esta investigación tiene como objetivo evaluar los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en relación a las concentraciones de citocinas clave (IFN-γ, IL-2, IL-4) y su asociación con la respuesta celular mediante la expresión de *CXCL10* luego de la estimulación *ex vivo* de leucocitos en sangre entera con péptidos de SARS-CoV-2 de diferentes variantes. Esto permitirá obtener datos clave sobre la eficacia de las vacunas, niveles de protección y duración de la inmunidad, lo que a su vez podría contribuir al desarrollo de políticas de salud pública más efectivas y adaptadas al contexto local.

II. ANTECEDENTES

2.1 Respuesta inmune adaptativa

La respuesta inmune adaptativa, también denominada respuesta inmune específica, representa un componente altamente especializado del sistema inmunitario que se activa en presencia de antígenos, como patógenos o sustancias extrañas. Una de sus características distintivas es la capacidad de generar memoria inmunológica, lo que permite al organismo mantener protección a largo plazo tras una vacunación o infección. Esta memoria asegura una respuesta más rápida, específica y eficiente frente a exposiciones posteriores al mismo antígeno, contribuyendo de manera esencial a la inmunidad duradera.

2.1.1 Inmunidad humoral y celular

La inmunidad adaptativa comprende dos mecanismos interdependientes, aunque con cinéticas diferentes (Chi et al., 2024; Schwarz et al., 2022a; Vardhana et al., 2022):

- Inmunidad humoral, mediada por anticuerpos producidos por células B. Estos anticuerpos reconocen patógenos extracelulares en fluidos corporales y actúan a través de mecanismos como la neutralización, opsonización, fagocitosis y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Sin embargo, los anticuerpos no son eficaces contra antígenos localizados dentro de las células, lo que limita su alcance frente a infecciones intracelulares.

- Inmunidad celular, mediada por células T, que destacan por su capacidad para reconocer una amplia variedad de epítopos presentados en la superficie de células infectadas o células presentadoras de antígenos mediante moléculas del MHC de clase I o II respectivamente. Esta diversidad se debe a la amplia variabilidad de los TCRs, que permiten una respuesta adaptativa dirigida y altamente eficiente. Las células T citotóxicas (CD8+) se especializan en reconocer y destruir células infectadas por patógenos intracelulares, mientras que las células T helper (CD4+) son esenciales para coordinar la respuesta

inmunitaria a través de la liberación de citocinas, que activan otras células del sistema inmunitario, como los macrófagos, linfocitos B y células dendríticas. Las células T reguladoras, por su parte, desempeñan un rol crucial en la modulación de la respuesta inmunitaria, previniendo reacciones autoinmunes y manteniendo el equilibrio entre la activación y la tolerancia inmunológica.

2.1.1 Rol de las citocinas en la respuesta inmune adaptativa

Las citocinas son proteínas esenciales en la regulación y coordinación de la respuesta inmune adaptativa, mediando la comunicación entre las células del sistema inmunológico y facilitando la activación y regulación de las funciones efectoras de las células T y B. En este contexto, las citocinas desempeñan roles clave tanto en la respuesta celular como en la respuesta humoral, y su interacción asegura una respuesta inmune efectiva frente a infecciones.

En la respuesta celular, las citocinas juegan un papel crucial en la activación, proliferación y diferenciación de los linfocitos T. La IL-2 es una de las citocinas más importantes en este proceso, ya que es fundamental para la expansión de células T activadas y su supervivencia (Waters et al., 2018). Otra citocina clave en la respuesta celular es el IFN-γ, el cual facilita la diferenciación de células Th_1, que son fundamentales para la defensa contra infecciones intracelulares. Esta citocina también mejora la capacidad para reconocer y eliminar células infectadas por parte de las células T citotóxicas (CD8+), así como también aumenta la expresión de moléculas del MHC para mejorar la presentación de antígenos por las APCs (Megha et al., 2021). Además, la IL-12 actúa promoviendo la diferenciación de células T hacia el fenotipo Th_1 y estimulando la producción de IFN-γ (Liu et al., 2005).

La respuesta inmune humoral adaptativa, mediada por las células B, es regulada por diversas citocinas que coordinan su activación, diferenciación y producción de anticuerpos, además de influir en el cambio isotípico de las inmunoglobulinas. La IL-4, producida por células Th_2, es crucial para la diferenciación de las células B hacia la producción de IgE, involucrada en la respuesta a alérgenos y parásitos (Megha et al., 2021). La IL-5, también secretada

por Th_2, favorece la proliferación y activación de las células B, y está asociada principalmente con la producción de IgA, que es fundamental para la protección de las mucosas en infecciones como las respiratorias o gastrointestinales (Ikutani et al., 2012). La IL-21, producida por las células T foliculares, facilita la expansión de las células B y su diferenciación en células plasmáticas productoras de IgG, que es clave para la respuesta inmune frente a patógenos extracelulares y la memoria inmunológica (Spolski & Leonard, 2010). El TGF-β, aunque conocido por sus efectos inmunosupresores, en contextos como infecciones mucosas o la respuesta a la microbiota, favorece el cambio isotípico hacia IgA, desempeñando un papel en la protección de las superficies mucosas (Megha et al., 2021; Borsutzky et al., 2004). La IL-6 también favorece la activación de las células B y está involucrada en el cambio hacia IgG, facilitando una respuesta inmune eficaz ante infecciones sistémicas (Bertolini & Benson, 1990). La IL-10, aunque conocida por su capacidad para regular la inflamación, también promueve el cambio isotípico, contribuyendo a la regulación de la respuesta inmune sin inhibir la producción de anticuerpos protectores (Megha et al., 2021). Aunque el IFN-γ está principalmente relacionado con la respuesta inmune celular y la defensa contra patógenos intracelulares, también influye en la respuesta inmune humoral, especialmente en infecciones virales, donde modula el cambio isotípico de las inmunoglobulinas y regula la producción de anticuerpos (Bossie & Vitetta, 1991).

Se destaca que un desequilibrio en la producción de citocinas puede resultar en inflamación crónica, inmunodeficiencias o autoinmunidad. Por lo tanto, la regulación precisa de estas moléculas es esencial para garantizar una respuesta inmune eficaz y evitar daño tisular excesivo (Moudgil & Choubey, 2011). Las citocinas son, por tanto, elementos centrales en la activación, resolución y memoria de la respuesta inmunitaria.

2.2 Evaluación de la inmunidad adaptativa contra SARS-CoV-2

Desde la aparición del virus SARS-CoV-2, se han llevado a cabo numerosas investigaciones con el objetivo de comprender la respuesta inmune adaptativa frente a esta nueva amenaza, tanto desde una perspectiva científica como en términos de salud pública. Para ello se ha realizado la búsqueda de marcadores

medibles que proporcionen información sobre el nivel de protección contra la COVID-19, también conocidos como correlatos de protección, para la formulación de políticas de salud pública y el desarrollo de vacunas (Regev-Yochay et al., 2023). Esto con el fin de determinar de manera precisa el grado de protección durante un periodo de tiempo estimado contra la infección por SARS-CoV-2, ya sea después de la administración de la vacuna o luego de la etapa de convalecencia. Durante esos estudios se han revelado la importancia de ambos componentes del sistema inmune adaptativo en la lucha contra la infección.

Debido a la naturaleza distintiva de ambos tipos de respuesta inmune adaptativa, las mediciones inmunitarias humorales no siempre se correlacionan con la magnitud de la respuesta de las células T (Menges et al., 2022). Por un lado, los anticuerpos desempeñan un papel crucial al protegernos de la infección del virus, por otro, las células T contribuyen a prevenir enfermedades graves al eliminar las células infectadas (Moss, 2022; Schwarz et al., 2022a). También se ha observado que las variantes del SARS-CoV-2 disminuyen la eficacia de los anticuerpos neutralizantes, mientras que las respuestas de células T específicas permanecen sólidas frente a estas variantes (Chen et al., 2022; Geers et al., 2021), ya que pueden poseer un amplio reconocimiento de proteínas virales, estimado en alrededor de 30 epítopos dentro de cada individuo (Moss, 2022). Además, se ha evidenciado que la funcionalidad de las células T para reconocer células infectadas por virus perdura durante más tiempo en comparación con la capacidad de neutralización y de los títulos de anticuerpos de la respuesta humoral (Almendro-Vázquez et al., 2023). También se han detectado respuestas de células T en personas que no experimentaron seroconversión después de una infección asintomática o leve por SARS-CoV-2 (Sekine et al., 2020).

De la misma forma, desde el inicio de la pandemia se ha investigado ampliamente el papel de las citocinas en el desarrollo de la enfermedad y el efecto de las vacunas sobre estas. En primer lugar, se destacó el fenómeno de la tormenta de citocinas durante la infección por SARS-CoV-2, en el que los pacientes infectados presentaban niveles elevados de citocinas proinflamatorias, como IL-1, IL-6, TNF-α, IFN-γ, IP-10, GM-CSF Y MCP-1, algunas de las cuales se

correlacionan con la gravedad de la enfermedad (Zanza et al., 2022). Además, se ha identificado que ciertas citocinas clave pueden funcionar como marcadores clínicos asociados a un peor pronóstico en pacientes hospitalizados (Pons et al., 2021).

En cuanto a los efectos de la vacunación contra el SARS-CoV-2, se ha observado que reduce significativamente las citocinas inflamatorias, sugiriendo que está asociada con una reducción a corto y largo plazo de la inflamación, lo que podría explicar en parte la disminución en la gravedad de la enfermedad y la mortalidad en las personas vacunadas (Zhu et al., 2023). Por otro lado, se han observado dinámicas particulares en algunas vacunas, como el aumento transitorio de citocinas proinflamatorias TNF-α e IL-17 tras la segunda dosis de CoronaVac, que se estabiliza luego de 180 días (Wang et al., 2022), y niveles elevados de citocinas como IL-17, IL-6 y TNF-α antes de la tercera dosis de vacunas de ARNm, los cuales han sido asociados con una respuesta robusta de anticuerpos (Karaba et al., 2022).

Algunas investigaciones han evidenciado que la respuesta de citocinas varía según el tipo de vacuna contra el SARS-CoV-2, ya que el perfil de citocinas puede diferir después de la primera y segunda dosis de vacunas como ChAdOx1 nCoV-19 y BNT162b2 (Heo et al., 2022). Esta variación también puede ser usada para evaluar poblaciones en riesgo, ya que se ha observado que un perfil inflamatorio específico se ha asociado con una mayor producción de anticuerpos tras la administración de una tercera dosis de la vacuna en pacientes receptores de trasplantes de órganos (Karaba et al., 2022). Asimismo, gracias a la identificación de firmas inmunológicas y moleculares, se ha logrado diferenciar a los pacientes con alta respuesta inmunitaria de aquellos con una respuesta baja, en función de la expresión génica relacionada a citocinas como el IFN-γ, y aquellas relacionadas con la diferenciación de células Th_1 (Odak et al., 2024). Otras investigaciones resaltaron que la seroconversión efectiva está vinculada a una producción equilibrada de citocinas Th_1 (IL-2, TNF-α, IFN-γ) y Th_2 (IL-4, IL-5, IL-13) (den Hartog et al., 2023).

Por otra parte, algunas citocinas como IL-2, IL-4 e IFN-γ han mostrado un comportamiento variable en relación con los niveles de inmunidad adaptativa contra el SARS-CoV-2. Estudios longitudinales han evidenciado diferencias significativas en los niveles basales de IFN-γ entre individuos vacunados y no vacunados (Zhu et al., 2023), mientras que para IL-4 no se observaron cambios a los 40 y 180 días posteriores a la vacunación, aunque sí se reportó una disminución en los niveles de IL-2 (Wang et al., 2022). Tras una estimulación *ex vivo* con péptidos de SARS-CoV-2, no se encontró relación entre los niveles de IFN-γ post-estimulación y los valores basales de IL-2 e IL-4 (Odak et al., 2024). Sin embargo, otros estudios reportaron incrementos predominantes de IFN-γ e IL-2 a los 30 días, sugiriendo su potencial como predictores de la respuesta humoral y celular (Benhamouda et al., 2024). Estas observaciones destacan que los niveles de estas citocinas pueden variar según el tipo de población, la vacuna y el perfil de inmunidad predominante, subrayando la necesidad de más estudios para consolidar su uso como marcadores que, junto con la evaluación de la inmunidad celular y humoral, podrían servir para predecir la protección generada por las vacunas.

2.3 Metodologías para evaluar la inmunidad contra SARS-CoV-2

2.3.1 Evaluación de la inmunidad humoral contra SARS-CoV-2 y el perfil de citocinas

Las metodologías para la medición de la inmunidad humoral se centran en la detección, cuantificación y evaluación de la funcionalidad de anticuerpos específicos dirigidos contra los antígenos del SARS-CoV-2, presentes en la fracción líquida de la sangre (suero o plasma). De manera similar, las citocinas pueden ser detectadas tanto en esta fracción líquida como a nivel intracelular, ya sea de manera individual o mediante el uso de paneles multiplex, dependiendo del objetivo de investigación.

La detección de anticuerpos se enfoca principalmente en las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA, dirigidas predominantemente contra las proteínas virales más relevantes como la proteína *Spike* (S) y la nucleocápside (N). Entre los métodos más utilizados para analizar inmunoglobulinas anti-SARS-CoV-2 destacan

los ensayos ELISA, los ensayos de flujo lateral, los inmunoensayos de quimioluminiscencia y los ensayos de neutralización, este último permite evaluar su capacidad funcional para inhibir la entrada del virus a las células (Alhamid et al., 2022).

Durante la pandemia, los ensayos de flujo lateral fueron ampliamente utilizados debido a su rapidez, facilidad de uso y costo accesible. Basados en el principio de inmunocromatografía, estos ensayos permitieron una detección rápida de anticuerpos específicos; sin embargo, presentaban una sensibilidad y especificidad relativamente bajas y se limitaban a análisis cualitativos (Li et al., 2020). Por otro lado, los ensayos basados en ELISA ofrecieron una mayor especificidad y se consolidaron como una técnica ampliamente utilizada en laboratorios gracias a la disponibilidad de diversos kits comerciales en el mercado, permitiendo análisis tanto cualitativos como cuantitativos (Alhamid et al., 2022). De manera similar, los inmunoensayos de quimioluminiscencia, que detectan y cuantifican la luz generada durante una reacción química producto de la transición de electrones al estado fundamental, ofrecen altos niveles de sensibilidad y especificidad; las señales luminiscentes medidas en unidades de luz relativa permiten cuantificar anticuerpos presentes en las muestras, aunque estos ensayos son relativamente más costosos (Lin et al., 2020). Finalmente, para evaluar la funcionalidad de los anticuerpos, los ensayos de neutralización permiten analizar su capacidad para bloquear la interacción entre el RBD o sitio crítico de la proteína S del SARS-CoV-2 y los receptores de la ACE2 de las células huésped o célula blanco; esta evaluación puede realizarse mediante líneas celulares específicas, donde se analiza la infección de las células en presencia de los anticuerpos, o mediante ensayos in vitro que cuantifiquen directamente el bloqueo de la interacción entre el RBD viral y ACE2 (Abe et al., 2020).

Debido a la limitación de las pruebas ELISA, que permiten analizar un solo analito por ensayo, los estudios de citocinas en el contexto del SARS-CoV-2 se han centrado en el uso de análisis multiplex para evaluar perfiles completos de estas proteínas, ajustándose a los objetivos específicos de cada investigación. Las metodologías para la detección múltiple se basan en dos sistemas principales:

matrices basadas en perlas y matrices de plataforma sólida, ambos fundamentados en el principio del ELISA tipo sándwich (Lash & Pinto, 2010). Entre estas opciones, las plataformas basadas en perlas han sido las más utilizadas en el estudio de citocinas, ya que permiten la medición simultánea de hasta 40 analitos en una sola muestra. Además, estas plataformas no solo ofrecen kits prediseñados para analizar perfiles específicos de citocinas, sino que también permiten la personalización según las necesidades del ensayo, lo que las convierte en una herramienta altamente versátil (Odak et al., 2024; Zhu et al., 2023; Wang et al., 2022; Lash & Pinto, 2010).

2.3.2 Evaluación de la inmunidad celular contra SARS-CoV-2

Cada tecnología de laboratorio disponible para la detección de células T presenta ventajas y limitaciones inherentes. La elección de una técnica específica puede depender de la disponibilidad de equipos, reactivos, experiencia en el análisis de datos y la escala de la investigación. Las técnicas disponibles para la medición de la respuesta celular específica del virus SARS-CoV-2 se basan en el análisis del repertorio de TCRs y la detección de la activación de células T funcionales específicas. Entre las metodologías que utilizan el TCR para la identificación de células T específicas, se encuentra el uso de tetrámeros de MHC unidas a péptidos del virus SARS-CoV-2 para ser usadas como anzuelo en la identificación de células T mediante la unión al TCR, lo que permite su cuantificación y caracterización mediante citometría de flujo (Poluektov et al., 2021). Sin embargo, esta metodología está limitada al uso de péptidos específicos con epítopos previamente identificados. Otra técnica empleada es la secuenciación del gen TCRbeta, que luego se compara con una lista de secuencias TCR específicas al virus SARS-CoV-2 para analizar las células T funcionales. No obstante, este procedimiento es largo y requiere la preparación de bibliotecas para la secuenciación de próxima generación (Dalai et al., 2022).

Por otro parte, los ensayos que evalúan la activación de células T funcionales se basan en la incubación *ex vivo* de sangre entera o PBMC con péptidos sintéticos de 8-15 aminoácidos de longitud de diversas proteínas del virus SARS-CoV-2 para

su posterior caracterización y/o cuantificación de forma directa o indirecta de las células T específicas de antígeno (Schwarz et al., 2022b). Los péptidos sintéticos usados abarcan las proteínas estructurales de la nucleocápside, *Spike* o membrana del virus SARS-CoV-2; mostrando un mayor estímulo inmunogénico los péptidos de la proteína *Spike* o un mega pool del proteoma completo (Aiello et al., 2021). La concentración final de los péptidos para la estimulación suele variar entre 0,5 -2 µg/mL con un tiempo de incubación que va desde 6 hasta las 24 horas a 37°C con 5% de CO_2 (Aiello et al., 2021; Echeverría et al., 2021; Petrone et al., 2021).

Dentro de los enfoques que evalúan la activación de células T funcionales se encuentra el ensayo de ELISpot, el cual es considerado el "*gold* estándar" para la cuantificación de células T específicas de antígeno, la cual se viene utilizando desde antes de la pandemia en otras enfermedades (Möbs & Schmidt, 2016). Esta técnica presenta una alta sensibilidad y resolución en los datos, además de tener un costo relativamente accesible. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el aislamiento de PBMC como material de entrada puede verse afectado por desafíos técnicos inherentes. Además, la viabilidad y capacidad de respuesta de las PBMC puede ser alterada luego de la criopreservación (Mallone et al., 2011), lo cual es un paso necesario cuando se manejan numerosas muestras o se requiere su traslado a una ubicación centralizada para su procesamiento.

Los ensayos de ELISA también se usan en el enfoque de la activación de células T funcionales al detectar las citocinas específicas de la respuesta celular. A pesar de su fácil implementación e interpretación, esta técnica presenta una sensibilidad y especificidad relativamente baja, además no presenta una buena reproducibilidad de los datos debido a la existencia de diferentes plataformas de detección (Schwarz et al., 2022a). Estas deficiencias han sido mejoradas en los ELISA multiplexados como las plataformas comerciales Ella™ (Aldo et al., 2016); sin embargo, estos son significativamente más costosos, lo que los hace menos generalizados.

El empleo de la citometría de flujo permite una inmunofenotipificación extensiva de las células T funcionales luego de la estimulación con los péptidos a

diferencia de los ELISA y ELISpot. Esto se logra mediante la caracterización de células individuales basada en la unión de anticuerpos específicos marcados con fluoróforos, que se dirigen a marcadores de superficie en el caso del ensayo de AIM, o a marcadores intracelulares mediante la tinción de citocinas intracelulares (Vardhana et al., 2022). Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de citometría de flujo requiere personal capacitado, conlleva un gran esfuerzo y tiene un alto costo, lo cual restringe su aplicación en investigaciones de alto rendimiento.

Las ventajas y limitaciones de las metodologías anteriormente mencionadas sugirieron la búsqueda de nuevos enfoques que sean más asequibles y sobre todo escalables, para la medición de respuesta celular en grandes cohortes. Es por ello que Schwarz y colaboradores en junio del 2022 publicaron un nuevo enfoque molecular para la detección de células T específica del SARS-CoV-2 (Schwarz et al., 2022b). Después de realizar un análisis transcriptómico exhaustivo, los autores informaron que los niveles de ARNm de *CXCL10* pueden medirse como un indicador de la activación de las células T después de la estimulación de sangre total o PBMC con péptidos de SARS-CoV-2. Esto se basa en la expresión regulada al alza del gen *CXCL10* por los monocitos en respuesta a los IFN-γ liberados por las células T específicas de antígeno. Además de esto, los mismos autores propusieron nuevos métodos moleculares para la medición de la respuesta celular basados en la estimulación de sangre completa con péptidos de SARS- CoV-2 y su posterior análisis mediante RT-qPCR. El uso de estos enfoques moleculares ya ha determinado con precisión la inmunorreactividad de las células T específicas del SARS-CoV- 2, especialmente en situaciones que requieren análisis rápidos, como en el caso de los trasplantes de órganos (Cosma et al., 2023). Estos avances permiten desarrollar protocolos de PCR más económicos, rápidos y fáciles de usar, con control interno en los ensayos (Dhawan et al., 2023). Además, facilitan su implementación en países con estudios limitados de inmunidad celular debido a restricciones presupuestarias y la falta de laboratorios especializados, como en varios países de América Latina, incluido el Perú.

El enfoque propuesto por Schwarz et al. (2022b), encaja dentro de las metodologías que se basan en la detección de la activación de células T funcionales

específicas. Es por ello que se requiere de un punto de referencia basal para poder detectar la activación de las células T o un control negativo, el cual no contenga los péptidos de SARS-CoV-2 y en algunos casos que solo se utilice el diluyente de los péptidos, el cual suele ser DMSO al 20% (Törnell et al., 2022). También para validar el proceso de estimulación, se puede añadir un control positivo al diseño experimental, donde se puede estimular la sangre con PHA o enterotoxina B estafilocócica (Bergami et al., 2022), lo cual permite evaluar la validez de todo el flujo de trabajo de la estimulación de sangre entera.

A diferencia de otras técnicas utilizadas para evaluar la activación de células T funcionales específicas, el protocolo molecular propuesto por Schwarz et al. (2022b) incorpora el análisis de la expresión del gen beta actina (*ACTB)* como control interno. La inclusión de este control interno presenta una gran ventaja frente a los otros métodos más laboriosos de cuantificación de la inmunidad celular (Lopez-Gomez et al., 2023). Además, no solo facilita la normalización de los datos, sino que también permite un control de calidad de la muestra y la ejecución del procedimiento, ya que una amplificación deficiente de *ACTB* indicaría la presencia de células muertas o degradadas durante la estimulación.

Si bien en el enfoque planteado por Schwarz et al. (2022b) no cuantifican directamente el número de células T específicas del antígeno, sino su presencia o ausencia por su capacidad para producir IFN-γ en respuesta a los péptidos virales presentados por MHC, el nivel de expresión relativo de *CXCL10* calculado por el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ podría indicar cualitativamente la magnitud de la inmunidad de forma similar que en los análisis cualitativos de un ensayo de liberación de IFN-γ (Cosma et al., 2023). Por lo cual, la evaluación de la inmunorreactividad de células T puede ser medible y resultaría eficaz en la identificación de la respuesta inmune en poblaciones específicas, resaltando su potencial como herramienta en la investigación y en el monitoreo de la respuesta inmune frente al virus SARS-CoV-2.

2.4 Evaluación del estado inmunitario en la población peruana frente a SARS-CoV-2

En el país aún no se ha realizado ningún estudio que evalúe la respuesta celular frente a SARS-CoV-2 en la población. Sin embargo, se han llevado a cabo varios estudios que analizaron la inmunidad humoral en el personal sanitario durante la pandemia (Montero et al., 2023; Hueda-Zavaleta et al., 2022; Pareja et al., 2022; Soto et al., 2021). De hecho, uno de estos estudios fue clave para fundamentar la aplicación de la tercera dosis de la vacuna contra a SARS-CoV-2 en la población general (García-Mendoza et al., 2022). Por otro lado, los estudios sobre citocinas en el país se han centrado principalmente en su relación con el pronóstico clínico (Pons et al., 2021) o en la descripción de citocinas proinflamatorias en función de variables geográfica (Del Valle-Mendoza et al., 2022), sin abordar la evaluación de la protección inmunitaria generada por las vacunas contra SARS-CoV-2.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

Los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 se relacionan con las concentraciones de IFN-γ, IL-4 e IL-2 de individuos vacunados y la expresión de *CXCL10* de leucocitos en sangre entera estimulados *ex vivo* con péptidos sintéticos de SARS-CoV-2.

3.2. Objetivos

3.2.1 Objetivo general

Evaluar la relación de los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, con las concentraciones de IFN-γ, IL-4 e IL-2 en individuos vacunados, y su asociación con la expresión transcripcional de *CXCL10* de leucocitos en sangre entera estimulados *ex vivo* con péptidos sintéticos de dos variantes SARS-CoV-2.

3.2.2 Objetivos específicos

- Determinar los niveles plasmáticos de Inmunoglobulina G anti-*Spike* del SARS-CoV-2 de los individuos vacunados.
- Cuantificar IFN-γ, IL-2 e IL-4 en plasma de individuos vacunados y establecer su relación con la seroconversión.
- Evaluar la expresión transcripcional de *CXCL10* de los leucocitos en sangre entera de individuos vacunados, estimulados *ex vivo* con péptidos sintéticos de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2 Wuhan y la variante Ómicron.
- Correlacionar los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 con la expresión transcripcional de *CXCL10* en leucocitos en sangre entera estimulados *ex vivo* con péptidos sintéticos de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Población de estudio

Se reclutó a 40 individuos voluntarios a través de una convocatoria abierta al personal de la Universidad Científica del Sur. Se tomaron como criterio de inclusión el haber recibido mínimo 2 dosis de cualquier tipo de vacunación para SARS-CoV-2 y ser mayores de 18 años. No se aplicó ningún criterio de exclusión.

A todos los participantes se les proporcionó información acerca del presente estudio y se les invitó a participar de manera voluntaria. Finalmente, firmaron el consentimiento informado (Anexo I) y realizaron el llenado de una encuesta para los datos clínico-epidemiológicos (Anexo II).

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado el 13 de julio de 2023 por el Comité de Ética de la Universidad Científica del Sur (CIEI-CIENTIFICA) bajo el código de registro 062-2023-PRO99. Las muestras fueron recolectadas como parte del proyecto denominado “Optimización de la Medición de la Respuesta Celular al SARS-CoV-2 y su Vacunación”, llevado a cabo bajo el contrato PE501079519-2022-PROCIENCIA (Anexo III).

4.2. Recolección de muestras

Se extrajeron 6 mL de sangre periférica de cada individuo utilizando un sistema compuesto de aguja de extracción y tubo al vacío con heparina (anticoagulante). Este proceso se llevó a cabo siguiendo los protocolos de bioseguridad y asepsia pertinentes, garantizando condiciones óptimas tanto para el bienestar del participante como para la integridad de la muestra.

Las muestras de sangre fueron procesadas en las primeras 6 horas posteriores a la extracción para realizar el ensayo de estimulación.

Para la medición de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y citocinas, se separó 2mL de sangre heparinizada, se centrifugó a 1000 x g durante 15 minutos, se

recolectó el plasma en tubos centrifuga de 2 mL y se almacenó en un ultracongelador a -80 °C, hasta su uso.

4.3. Identificación de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2

Para evaluar los anticuerpos IgG anti-*Spike* del virus SARS-CoV-2 en las muestras de plasma heparinizada de los voluntarios, se empleó un kit semicuantitativo comercial (EuroImmune) basado en la técnica ELISA, siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, las muestras diluidas fueron incubadas en micropocillos recubiertos con el dominio S1 recombinante de la proteína Spike; posteriormente, se realizaron lavados, se añadió el conjugado anti-IgG humana marcado con peroxidasa y, tras una nueva incubación, se agregó el sustrato cromogénico y la solución de parada. Los valores de densidad óptica (DO) se midieron utilizando el lector multimodo Biotek Synergy LX (Agilent) a una longitud de onda de 450 nm. Los resultados se evaluaron calculando la relación entre la DO de la muestra analizada y la DO del calibrador. Los valores de corte se definieron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante: relación <0.8: negativo; relación ≥0.8 y <1.1: límite; relación ≥1.1: positivo.

4.4. Cuantificación de citocinas plasmáticas (IFN-γ, IL-2 e IL-4)

Se evaluó las concentraciones de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 empleando el sistema multiplex de análisis MAGPIX®. Para ello, se utilizó el kit Bio-Plex Pro Human Cytokine (BIO-RAD), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de plasma heparinizadas fueron nuevamente centrifugadas a 10000 x g durante 10 minutos, tras lo cual se transfirió el sobrenadante a un tubo limpio y se diluyó en una proporción de 1:4 utilizando el diluyente HB del kit. Luego, se agregó 50 µL de la muestra diluida y varias concentraciones de los estándares de ensayo en una placa de 96 pocillos que contenía perlas magnéticas. La placa se incubó por 30 minutos, seguida de un paso de lavado; a continuación, se añadió una solución de anticuerpo biotinilado de detección y se incubó por otros 30 minutos. Después de esta segunda incubación, la placa se lavó y se añadió ficoeritrina conjugada con estreptavidina, incubándose nuevamente durante 10 minutos y lavándolo posteriormente. Los datos se registraron mediante el sistema Magpix (Merck). Se

obtuvo una curva estándar basada en las diferentes concentraciones de los estándares del ensayo, con lo cual se usó para determinar cuantitativamente la concentración de las citocinas en valores de pg/mL.

4.5. Evaluación de la expresión del gen *CXCL10* en leucocitos en sangre entera estimulados *ex vivo* con péptidos de SARS-CoV-2

Para cada muestra de sangre de los individuos del estudio, la evaluación de *CXCL10* incluyó: (i) cultivo de sangre con péptidos de SARS-CoV-2, (ii) extracción de ARN y (iii) medición de la expresión transcripcional mediante RT-qPCR.

4.5.1. Cultivo de sangre entera con péptidos de SARS-CoV-2

Para el cultivo de sangre, se siguió los protocolos descritos por Aiello et al. (2021), Echeverría et al. (2021) y Oliver et al. (2022). Por cada individuo, se empleó 250 µL de sangre heparinizada en cada uno de los cuatro grupos:

- Estimulación con péptidos de SARS-CoV-2 Wuhan (virus original): Se basó en una concentración final de 0.5 µg/mL de péptidos, constituidos principalmente por secuencias de 15 monómeros con una superposición de 11 aminoácidos, que recubren la glicoproteína *Spike* del SARS-CoV-2 del virus original de Wuhan (PepTivator® SARS-CoV-2 Prot_S, cat. no. 130-126-700).
- Estimulación con péptidos de la variante Ómicron: Consistió en una concentración final de 0.5 µg/mL de péptidos de 15 aminoácidos de longitud con solapamiento de 11 aminoácidos de la glicoproteína *Spike* de la variante Ómicron (linaje BA.5) (PepTivator® SARS-CoV-2 Prot_S Complete BA.5, cat. no. 130-132-810).
- Control Negativo: Se basó en sangre mezclada con diluyente peptídico (DMSO 20%) en un volumen equivalente al utilizado en los otros grupos de estimulación
- Control Positivo: Se empleó PHA a una concentración final de 10 µg/mL.

Los cuatro grupos fueron dispuestos en una placa de 96 pocillos con fondo plano y se incubó a 37 °C con un 5% de CO_2 durante 18 horas.

4.5.2. Extracción de ARN total de sangre estimulada

Luego de la estimulación de la sangre con los péptidos de SARS- CoV-2, se realizó la extracción del ARN total de cada grupo. Para ello se empleó el método de Trizol de acuerdo al protocolo sugerido por Gautam et al. (2019), con algunas modificaciones. Este protocolo se resume gráficamente en el Anexo IV.

Al final del período de incubación, 200 µL de la sangre estimulada fueron trasferidos a un tubo de centrífuga de 1,5 mL. Inmediatamente, se añadió 600 µL de Trizol, se agitó brevemente y luego se almacenó en un ultracongelador a -80 °C, durante un máximo de 6 meses. Antes de su uso, se descongeló el tubo, luego se añadió 400 µL de Trizol y se agitó durante 30 segundos. Después de eso, se añadió 200 µL de cloroformo y se agitó durante 30 segundos. Posteriormente, se centrifugó a 12000 x g a 4 °C durante 15 minutos. Luego, 600 µL de la fase acuosa se transfirió a un tubo de centrífuga limpio de 1,5 mL y se agregó un volumen igual de isopropanol frío, se mezcló por inversión y se incubó durante 10 minutos a - 20 °C, seguido de una centrifugación a 12000 x g a 4 °C durante 15 minutos. Se eliminó el sobrenadante y el precipitado restante se lavó agregando 1 mL de etanol al 75%, se mezcló por inversión y se centrifugó a 7500 x g durante 5 minutos a 4 °C. Este paso de lavado se repitió tres veces. Luego, el precipitado se secó al aire a temperatura ambiente durante 10 minutos dentro de la cabina de flujo laminar. Finalmente, el precipitado se resuspendió en 25 µL de agua libre de ARNasa. Posteriormente se evaluó su cantidad y pureza mediante un espectrofotómetro y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

4.5.3. Medición de la expresión transcripcional de *CXCL10*

Se procedió de acuerdo al protocolo detallado por Schwarz *et al.* (2022b) para llevar a cabo la medición de la respuesta inmune celular mediante RT-qPCR, evaluando el incremento en la expresión génica de *CXCL10* y utilizando el gen *ACTB* como control interno. Se emplearon los siguientes oligos para la evaluación de los genes anteriormente mencionados:

Tabla 1. Oligos para la evaluación de la respuesta celular por RT-qPCR en dirección 5'->3'.

ARNm	***CXCL10***	***ACTB***
Forward	5'CCATTCTGATTTGCTGCCTTATC3'	5'CCTTGCACATGCCGGAG3'
Reverse	5'TACTAATGCTGATGCAGGTACAG3'	5'ACAGAGCCTCGCCTTTG3'
Sonda Taqman	5'AGTGGCATTCAAGGAGTACCTCTCTCT3' Marcado con FAM	5'TCATCCATGGTGAGCTGGCGG3' Marcado con ROX

Para realizar la RT-qPCR se utilizó el kit comercial SCRIPT Direct RT-qRT-PCR ProbesMaster de Jena Bioscience. La preparación de la mezcla de reacción se realizó en función de las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Para la PCR se utilizó un termociclador BIOER modelo FQD-48A, iniciando con una temperatura constante de 50 °C durante 25 minutos, para la retrotranscripción, para luego pasar a una denaturación inicial de 95 °C por 5 minutos, seguido de 45 ciclos de amplificación con desnaturalización a 95 °C durante 15 segundos y una extensión a 60 °C durante 30 segundos, con captura de fluorescencia durante la fase de extensión.

El análisis de datos de la expresión génica relativa se realizó utilizando el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001) con el software LineGene4800, que también se empleó para ejecutar el programa de PCR en el termociclador BIOER.

4.6. Análisis estadístico de correlaciones y asociaciones

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo para resumir las características demográficas y la historia clínica de la población de estudio, utilizando frecuencias absolutas y relativas para las variables categóricas, y medidas de tendencia central (media y mediana), así como el rango intercuartil y la desviación estándar para las variables continuas. Luego, se llevaron a cabo análisis estadísticos de correlación y análisis de regresión lineal multivariado entre el $\log_{10}$ del índice de reactividad de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, el $\log_{10}$ de los valores en pg/mL de las citocinas (IFN-γ, IL-2 e IL- 4), y los valores de $-\Delta\Delta Ct$ (calculados por $\log_2$ de $2^{-\Delta\Delta Ct}$) de *CXCL10* obtenidos por RT-qPCR en los grupos de

estimulación con Ómicron y Wuhan. Adicionalmente, se formaron subgrupos basados en las variables demográficas y clínicas de la población, para realizar un análisis estadístico diferencial y correlaciones que permita identificar posibles asociaciones con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, citocinas y valores de $-\Delta\Delta Ct$. Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando el software R Studio (versión 1.4.1717), considerando un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

V. RESULTADOS

5.1 Características clínico-epidemiológicas de la población de estudio

Las características clínicas de los 40 individuos muestreados en la Universidad Científica del Sur se resumen en la Tabla 2. Entre las enfermedades crónicas reportadas por los participantes se encuentran: obesidad, asma, hipertensión arterial, síndrome de ovario poliquístico, diabetes mellitus y artritis reumatoide. Se documentaron dos casos de inmunosupresión previa, uno por el consumo de corticoides y otro por diabetes mellitus. Ninguno de los participantes reportó antecedentes de enfermedades metaxénicas. Entre los 36 participantes con antecedentes de infección por SARS-CoV-2, treinta y dos (90%) experimentaron síntomas leves a moderados, tres (8,3%) fueron clasificados como casos graves en el centro médico que los atendió y uno (2,8%) fue asintomático. El 55% de los participantes informaron haber recibido tres dosis de la vacuna contra la COVID-19 y 29 (73%) declararon un régimen de vacunación heterólogo, siendo BNT162B2 la vacuna administrada con mayor frecuencia (88%), seguido de BBIBP-Corv (50%).

Tabla 2. Características clínico-epidemiológicas de los individuos muestreados.

Características	Total N = 40[1]	Mujer N = 25[1]	Varón N = 15[1]	*p-value*[2]
Edad	31 (25, 40)	30 (24, 37)	32 (26, 50)	0.282
Enfermedades crónicas	14 / 40 (35%)	9 / 25 (36%)	5 / 15 (33%)	0.864
Antecedentes de inmunosupresión	2 / 40 (5.0%)	1 / 25 (4.0%)	1 / 15 (6.7%)	1.000
Episodio febril (Últimos 3 meses)	8 / 40 (20%)	7 / 25 (28%)	1 / 15 (6.7%)	0.219
Infección previa por SARS-CoV-2	36 / 40 (90%)	22 / 25 (88%)	14 / 15 (93%)	1.000
Severidad de la infección por SARS-CoV-2				0.279
Grave	3 / 36 (8,3%)	1 / 22 (4,5%)	2 / 14 (13,3%)	
Leve a moderado	32 / 36 (90%)	21 / 22 (95,5%)	12 / 14 (80%)	
Asintomático	1/ 36 (2,8%)	0 / 22 (0%)	1 / 14 (6,7%)	
Infección por SARS-CoV-2 antes de la primera dosis	15 / 39 (38%)	9 / 24 (38%)	6 / 15 (40%)	0.876
Vacunas administradas				
ARNm-1273	12 / 40 (30%)	7 / 25 (28%)	5 / 15 (33%)	0.736
AZD1222	6 / 40 (15%)	4 / 25 (16%)	2 / 15 (13%)	1.000
BBIBP-CorV	20 / 40 (50%)	13 / 25 (52%)	7 / 15 (47%)	0.744
BNT162b2	35 / 40 (88%)	21 / 25 (84%)	14 / 15 (93%)	0.633
Numero de dosis				0.318
2	1 / 40 (2.5%)	0 / 25 (0%)	1 / 15 (6.7%)	
3	22 / 40 (55%)	16 / 25 (64%)	6 / 15 (40%)	
4	11 / 40 (28%)	6 / 25 (24%)	5 / 15 (33%)	
5	6 / 40 (15%)	3 / 25 (12%)	3 / 15 (20%)	
Primera 2 dosis con la misma vacuna				0.677
AZD1222	1 / 40 (2.5%)	0 / 25 (0%)	1 / 15 (6.7%)	
BBIBP-CorV	18 / 40 (45%)	12 / 25 (48%)	6 / 15 (40%)	
BNT162b2	19 / 40 (48%)	12 / 25 (48%)	7 / 15 (47%)	
Diferentes vacunas	2 / 40 (5.0%)	1 / 25 (4.0%)	1 / 15 (6.7%)	
Esquema de vacunación				0.486
Heterólogo	29 / 40 (73%)	17 / 25 (68%)	12 / 15 (80%)	
Homólogo	11 / 40 (28%)	8 / 25 (32%)	3 / 15 (20%)	
Tiempo desde la última dosis				0.457
> 6 Meses	30 / 40 (75%)	20 / 25 (80%)	10 / 15 (67%)	
≤ 6 Meses	10 / 40 (25%)	5 / 25 (20%)	5 / 15 (33%)	

Vacunas: ARNm-1273 (Moderna), AZD1222 (AstraZeneca), BBIBP-CorV (Sinopharm) and BNT162b2 (Pfizer)

[1] Mediana (Q1, Q3); n / N (%)

[2] Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon; prueba de chi-cuadrado de Pearson; prueba exacta de Fisher

5.2 Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-Cov-2 en la población de estudio

Todos los individuos analizados mostraron positividad para IgG plasmáticos anti-*Spike* del SARS-CoV-2. El valor promedio de los índices de reactividad, calculados como la relación entre la absorbancia de la muestra analizada y la del calibrador del kit comercial, fue de 11.13 ± 2.63.

Al analizar los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en relación con las características clínicas y cualitativas de la población, se observó que los varones presentaban niveles plasmáticos significativamente más altos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en comparación con las mujeres (Figura 1A). Asimismo, se registraron niveles plasmáticos elevados de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en los participantes cuya última dosis de vacuna había sido administrada en los seis meses previos a la recolección de la muestra (Figura 1D). Por el contrario, no se encontraron diferencias en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en función de la presencia de enfermedades crónicas (Figura 1C) ni de episodios febriles en los últimos tres meses (Figura 1B).

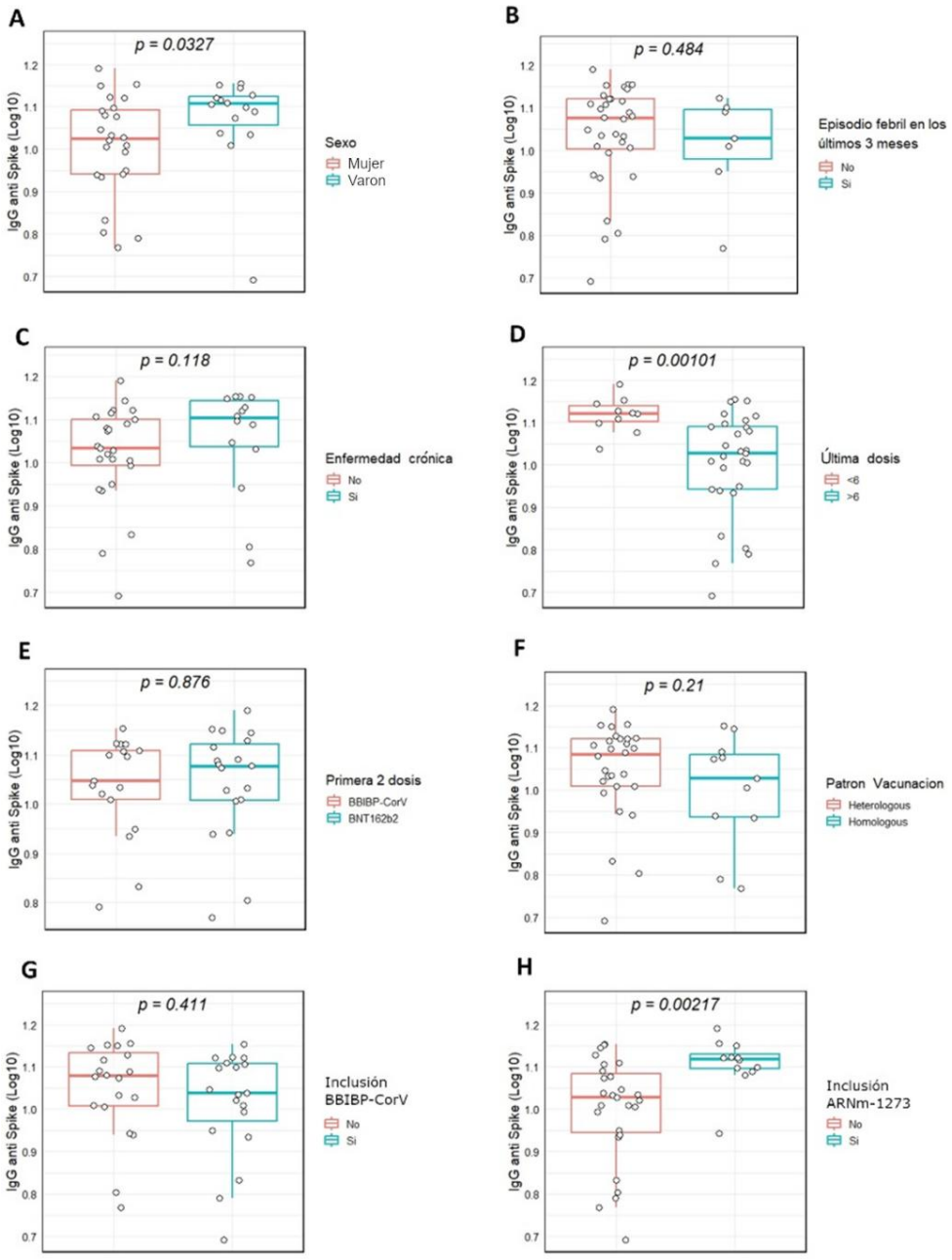


Figura 1. Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en la población de estudio agrupados según variables cualitativas: (A) sexo, (B) presencia de algún episodio febril en los últimos 3 meses, (C) presencia de alguna enfermedad crónica, (D) tiempo desde la última dosis en meses, (E) primera dos dosis de la vacuna BBIBP-CorV o BNT162b2, (F) patrón de vacunación, (G) inclusión de la vacuna BBIBP-CorV e (H) inclusión de la vacuna ARNm-1273 en su esquema de vacunación. Los valores *p* reflejan la significancia estadística obtenida mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon, seleccionadas según si los datos agrupados siguen una distribución normal o no, respectivamente.

Al evaluar el esquema de vacunación de la población, no se observaron diferencias significativas en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 al comparar esquemas heterólogos con homólogos (Figura 1F), ni entre aquellos cuyos esquemas incluían las vacunas BBIBP-CorV o BNT162b2 como primeras dosis (Figura 1E). Sin embargo, al analizar la influencia de vacunas específicas dentro del esquema, se encontró que la inclusión de la vacuna ARNm-1273 se asociaba con niveles más elevados de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en comparación con los participantes que no la incluían en su esquema (Figura 1H). Este patrón no se observó para la vacuna BBIBP-CorV (Figura 1G). Cabe destacar que no fue posible evaluar adecuadamente la inclusión de las vacunas BNT162b2 (n = 35 vs n = 5) y AZD1222 (n = 6 vs n = 34) debido al marcado desequilibrio en los tamaños de los grupos.

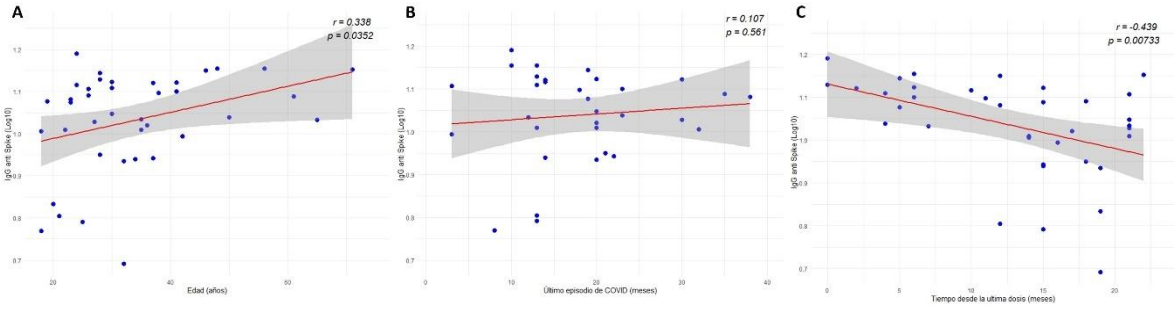


Figura 2. Análisis de correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en función a las variables cuantitativas de la población: (A) edad, (B) tiempo en meses desde el último episodio de COVID-19 y (C) el tiempo transcurrido desde la última dosis. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

El análisis de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en relación con las variables clínicas cuantitativas de la población reveló algunas correlaciones significativas (Figura 2). Se observó una correlación positiva con la edad, mientras que se identificó una correlación negativa con el tiempo transcurrido en meses

desde la última dosis de vacuna. Por otro lado, no se encontró una correlación significativa con el tiempo en meses desde el último episodio de COVID-19.

Al clasificar a los participantes según el número de dosis de vacuna recibidas, se observó que aquellos con 4 o 5 dosis presentaban niveles significativamente más altos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en comparación con los participantes que habían recibido solo 3 dosis (Figura 3).

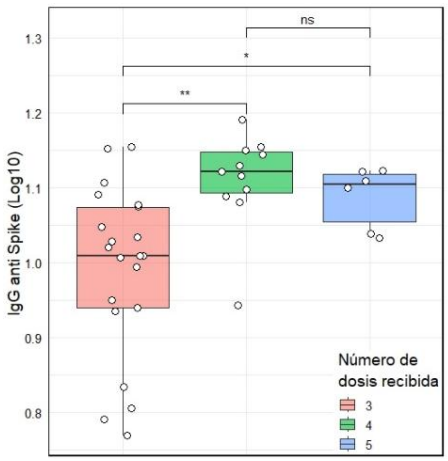


Figura 3. Diagramas de cajas que muestran los niveles de anticuerpos IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, agrupados según el número de dosis de vacuna recibidas. Los niveles de significancia estadística, determinados mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon según la normalidad de los datos, se indican de la siguiente forma: *$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$, ns: no significativo.

5.3 Relación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4

El sistema multiplex empleado para medir las citocinas tiene un límite mínimo de sensibilidad que, en algunos casos, no permitió detectar las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4 en ciertos participantes. Esto ocurrió porque los niveles presentes en la muestra de plasma estaban por debajo del umbral de detección. Por esta razón, los análisis estadísticos se realizaron únicamente con las muestras en las que se obtuvieron mediciones de estas citocinas. No obstante, se evaluaron posibles diferencias en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 entre los

participantes con y sin detección de citocinas, sin encontrarse diferencias significativas entre ambos grupos (Figura 4).

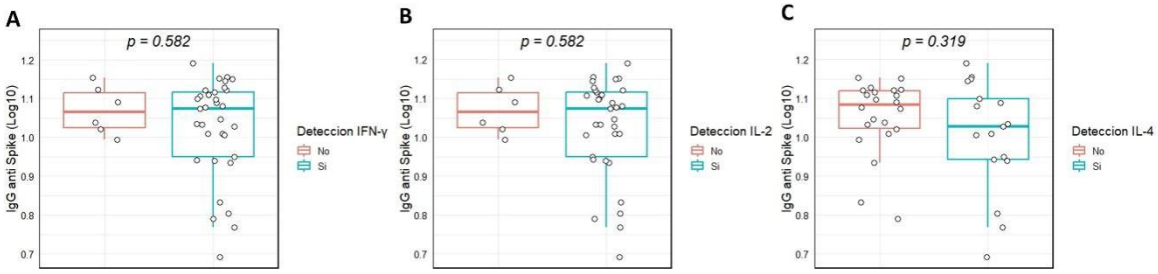


Figura 4. Niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en la población de estudio agrupados de acuerdo a la detección de las citocinas por el sistema multiplex: (A) IFN-γ, (B) IL-2 e (C) IL-4. Los valores *p* reflejan la significancia estadística obtenida mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon, seleccionadas según si los datos agrupados siguen una distribución normal o no, respectivamente.

Para evaluar si los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 se relacionan con las concentraciones de las citocinas plasmática de los participantes vacunados, se realizó un análisis de correlación con cada una de ellas (Figura 5). Sin embargo, no se evidenció correlaciones significativas en ninguna de ellas.

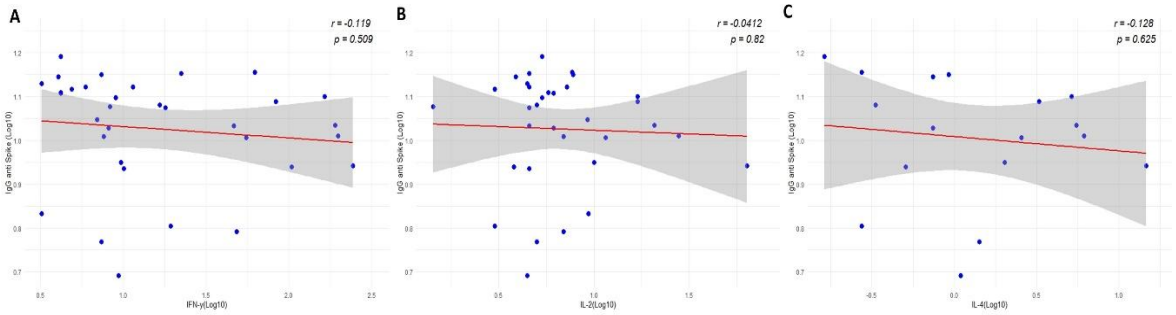


Figura 5. Análisis de correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en función de las concentraciones de citocinas plasmáticas: (A) IFN-γ, (B) IL-2 e (C) IL-4. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

Se evaluó la influencia en conjunto de las concentraciones de citocinas sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 mediante un modelo lineal

multivariado. Los resultados mostraron que, al considerar todas las citocinas en el modelo, IL-2 e IL-4 presentaron valores beta significativos, con una influencia positiva de IL-2 y negativa de IL-4 sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2. Sin embargo, el modelo en su conjunto no resultó significativo (Tabla 3), lo que sugiere que, aunque estas citocinas afectan los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, el modelo no captura adecuadamente todas las relaciones relevantes. Por otro lado, al incluir únicamente IL-2 e IL-4 en el modelo, este fue significativo, y las citocinas mostraron el mismo patrón de influencia sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 (Tabla 4).

Tabla 3. Regresión lineal multivariada de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2.

	IgG anti-*Spike* (Log_{10})		
	β	***p-value***	**(95% IC)**
Intercepto	0.603	0.002*	(0.256, 0.950)
IFN-γ (Log_{10})	-0.038	0.609	(-0.194, 0.118)
IL-2 (Log_{10})	0.518	0.021*	(0.092, 0.944)
IL-4 (Log_{10})	-0.294	0.022*	(-0.540, -0.049)
Estadístico F: 2.586 sobre 3 y 13 grados de libertad, *p-value*: 0.09782			

IC: Intervalo de confianza, β: Coeficiente de regresión beta, *: valores significativos $p < 0.05$

Tabla 4. Regresión lineal multivariada de las citocinas IL-2 e IL-4 con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2.

	IgG anti-*Spike* (Log_{10})		
	β	***p-value***	**(95% IC)**
Intercepto	0.591	0.002*	(0.256, 0.923)
IL-2 (Log_{10})	0.472	0.016*	(0.103, 0.840)
IL-4 (Log_{10})	-0.297	0.018*	(-0.534, -0.059)
Estadístico F: 3.947 sobre 2 y 14 grados de libertad, *p-value*: 0.04372*			

IC: Intervalo de confianza, β: Coeficiente de regresión beta, *: valores significativos $p < 0.05$

El análisis detallado de la relación entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4, categorizando los niveles de IgG anti-*Spike* (Log_{10}) en función de la media y la desviación estándar permitió establecer tres categorías: Baja ($x \leq 0.92$: Media - 1 SD), Media ($0.92 < x \leq 1.14$: Media - 1 SD y Media + 1 SD) y Alta ($x > 1.14$: Media + 1 SD) (Figura 6). Sin embargo, solo se observó una correlación negativa significativa entre los valores de IFN-γ en la categoría media de IgG anti-*Spike* (Log_{10}) (Figura 6A).

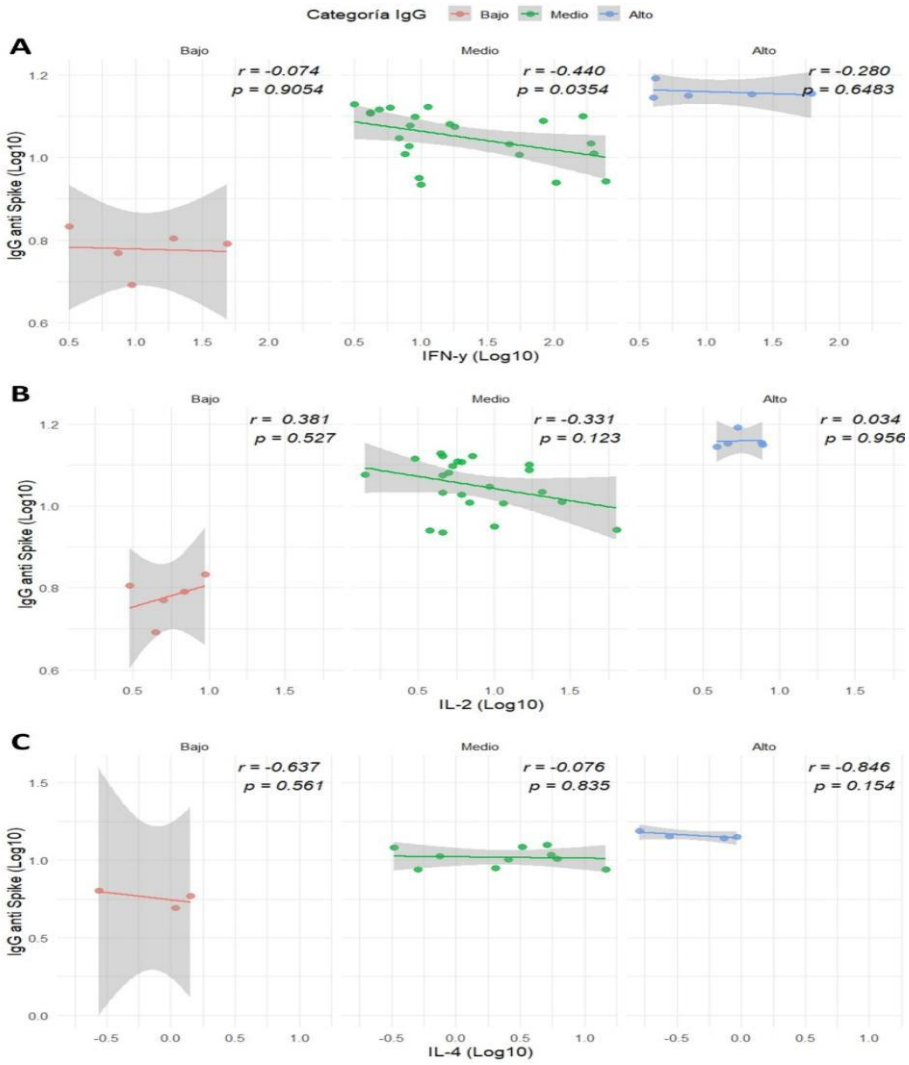


Figura 6. Análisis de correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 categorizadas con las concentraciones de citocinas plasmáticas: (A) IFN-γ, (B) IL-2 e (C) IL-4. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

Se determinó la influencia de las características cualitativas clínico-epidemiológicas sobre las relaciones entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4 mediante análisis de correlación categorizados. Para ello, los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 se categorizaron según las variables cualitativas de la población como la presencia de enfermedades crónicas, algún episodio febril en los últimos 3 meses, número de dosis, vacunación en los últimos 6 meses antes del muestreo, esquema de vacunación y presencia de vacunas específicas en el esquema. Sin embargo, solo se identificaron correlaciones significativas al categorizar los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 según vacunación previa con ARNm-1273. En este caso, se observó una correlación negativa entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y las citocinas IFN-γ e IL-2 cuando la vacuna ARNm-1273 estaba incluida en el esquema (Figura 7).

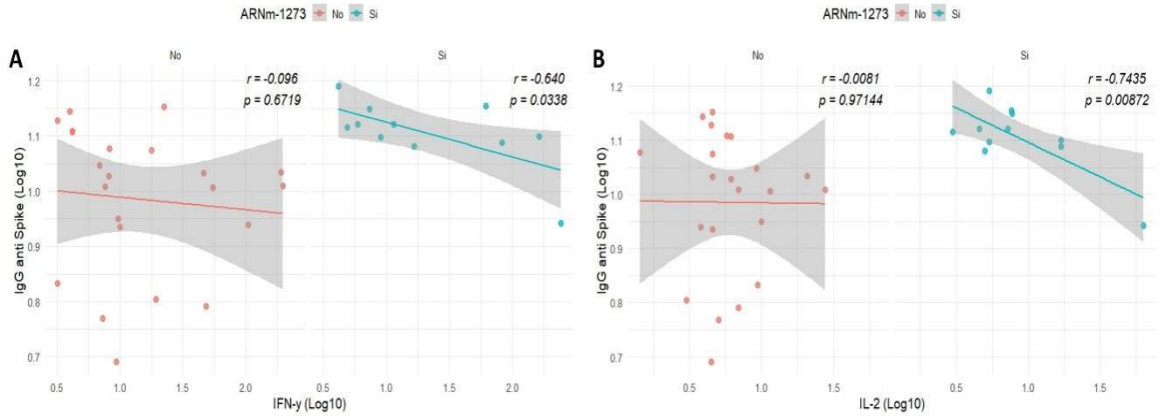


Figura 7. Análisis de correlación de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones de las citocinas plasmáticas (A) IFN-γ e (B) IL-2 categorizadas en función de vacunación previa con ARNm-1273. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

Se evaluó la relación entre las concentraciones plasmáticas de IFN-γ, IL-2 e IL-4 mediante análisis de correlación, observándose una correlación positiva significativa de nivel alto entre estas citocinas (Figura 8).

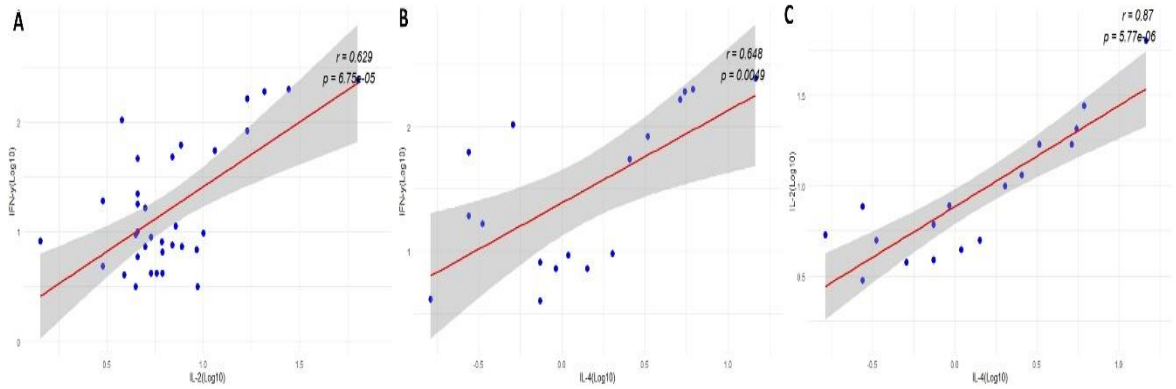


Figura 8. Análisis de correlación entre las concentraciones plasmáticas de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4. En (A) se observa la correlación entre IFN-γ e IL-2; en (B), entre IFN-γ e IL-4; y en (C), entre IL-2 e IL-4. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

Con el objetivo de evaluar si las características clínico-epidemiológicas podrían influir en las concentraciones de citocinas, se realizaron análisis de correlación con las variables cuantitativas y pruebas estadísticas inferenciales para variables cualitativas. Entre las variables cuantitativas analizadas se incluyeron el tiempo transcurrido desde la última dosis de vacunación y el tiempo desde el último episodio de COVID-19. Sin embargo, no se identificaron correlaciones significativas entre estas variables y las concentraciones de citocinas (Figura 9). Estos hallazgos sugieren que dichos parámetros no parecen tener un impacto directo en las concentraciones de citocinas en la población estudiada.

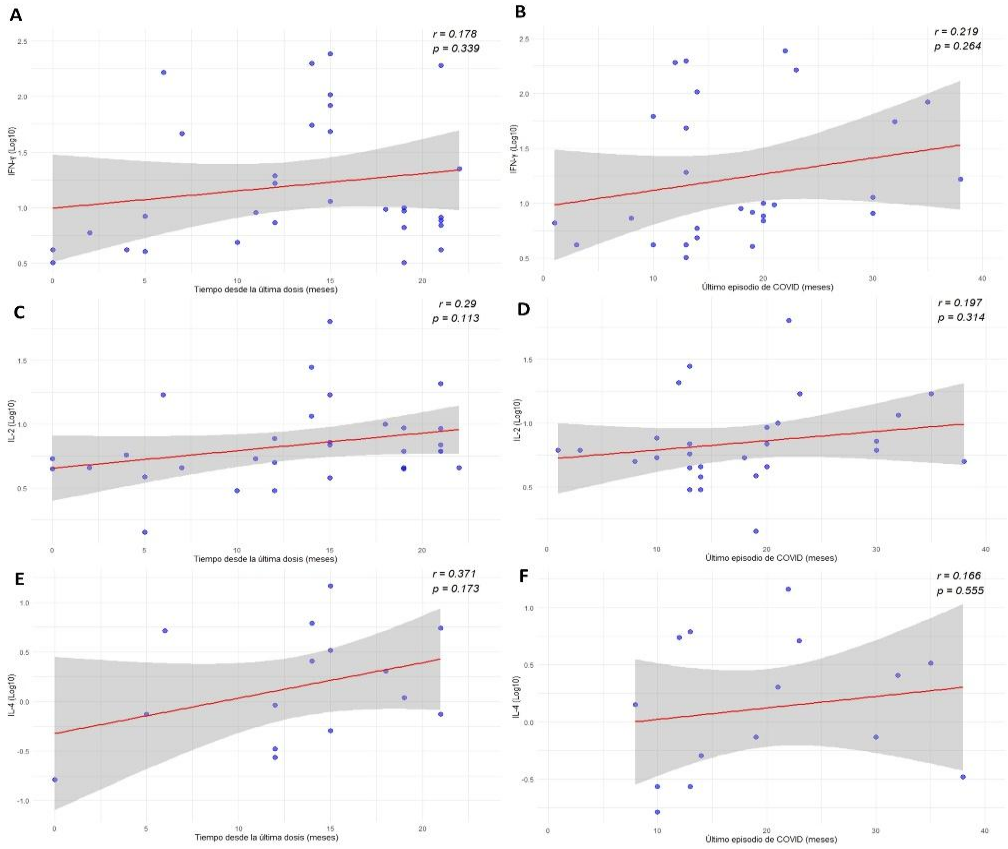


Figura 9. Análisis de correlación de las concentraciones plasmáticas de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 con las variables cuantitativas clínico-epidemiológicas. La correlación entre el número de meses desde la última dosis y las citocinas se presenta de la siguiente manera: con IFN-γ en (A), con IL-2 en (C) y con IL-4 en (E). Asimismo, la correlación entre el número de meses desde el último episodio de COVID-19 y las citocinas se muestra en: (B) para IFN-γ, (D) para IL-2 y (F) para IL-4. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%.

En cuanto a la relación entre las concentraciones de citocinas y las variables cualitativas de la población, se consideraron algunas características que podrían influir en los niveles de citocinas. Estas variables incluyeron la vacunación en los seis meses previos al muestreo, la presencia de enfermedades crónicas y la ocurrencia de algún episodio febril en los tres meses previos (Figura 10). La elección de estas variables se basó en la hipótesis de que factores como el tiempo transcurrido desde la última dosis de vacuna, el estado de salud general y las infecciones recientes podrían tener un efecto en las concentraciones de citocinas.

Sin embargo, al analizar los datos, se observó que solo las concentraciones de IFN-γ mostraron una diferencia significativa en los individuos cuya última dosis de vacuna fue administrada más de seis meses antes del muestreo.

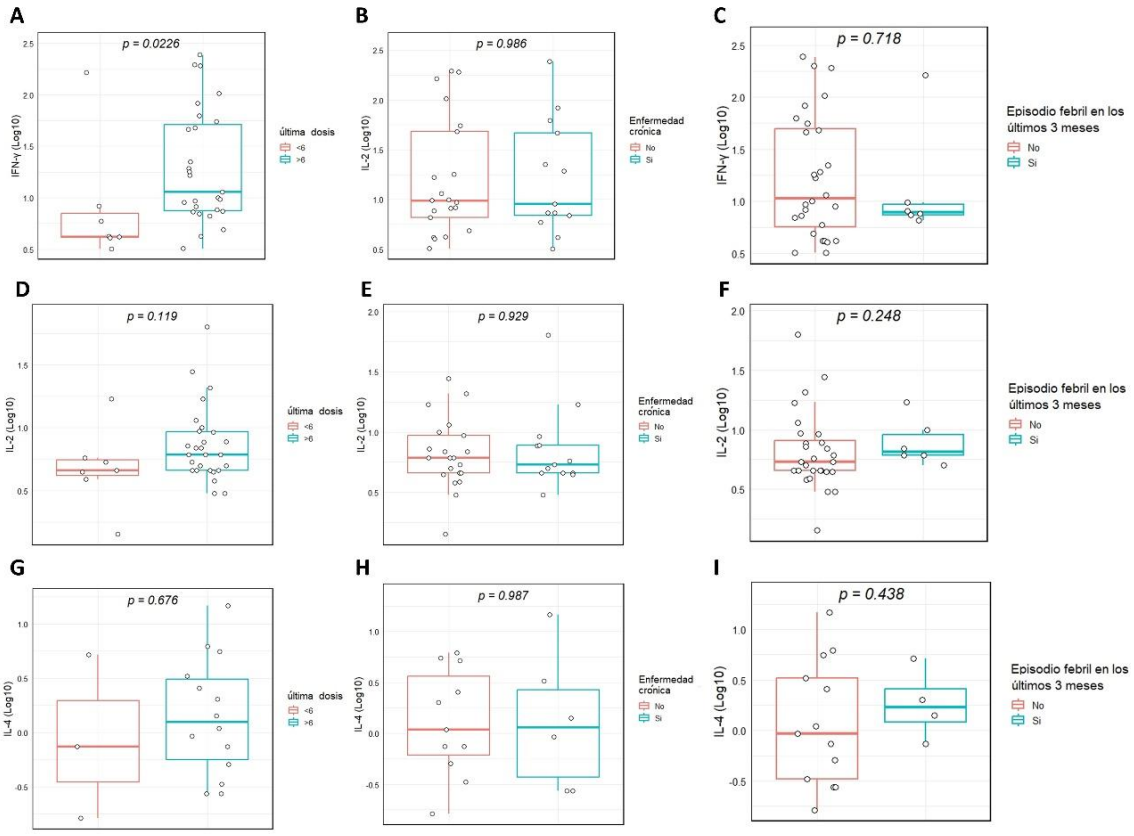


Figura 10. Niveles de IFN-γ, IL-2 e IL-4 agrupados según variables cualitativas: En (A), (D) y (G) los niveles de las citocinas están en función del tiempo de vacunación; en (B), (E) y (H) en función de la presencia de enfermedades crónicas; y en (C), (F) e (I) en función de la ocurrencia de algún episodio febril en los tres meses previos. Los valores *p* reflejan la significancia estadística obtenida mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon, seleccionadas según si los datos agrupados siguen una distribución normal o no, respectivamente.

5.4 Expresión de *CXCL10* en leucocitos estimulados con péptidos de SARS-CoV-2

Los ensayos de estimulación con péptidos del SARS-CoV-2 se validaron en todos los participantes, ya que la cuantificación relativa de la expresión de *CXCL10* en el control positivo (estimulado con PHA) superó la del control negativo. Solo un caso no mostró amplificación de *CXCL10* en el control negativo; por lo tanto, se

aplicó un factor de corrección basado en los valores de ΔCt de los otros controles negativos con amplificación detectable (Cosma et al. 2023).

La respuesta a los péptidos del SARS-CoV-2 se evaluó de acuerdo con la metodología descrita en el ensayo de activación rápida de células T por PCR cuantitativa (Schwarz et al. 2022). Se observaron respuestas positivas a los péptidos de la variante Ómicron en 39 participantes (97.5 %), con solo 1 respuesta negativa (2.5 %) y una mediana de $2^{-\Delta\Delta CT}$ de 565.97 (RIC: 565148.34). En el caso de los péptidos del virus original Wuhan, se detectaron respuestas positivas en 36 participantes (90 %) y 4 respuestas negativas (10 %). La mediana de $2^{-\Delta\Delta CT}$ para los péptidos de Wuhan fue de 18.55 (RIC: 62898.67). Estos resultados reflejan que la mayoría de los participantes presentan una adecuada respuesta frente a péptidos de SARS-CoV-2, con una mayor tasa de respuesta y una expresión media de *CXCL10* para los péptidos Ómicron en comparación con los de Wuhan ($p < 0.001$). Además, se observó una correlación positiva entre ambos (r de Pearson = 0.7, $p = 5.04\times10^{-7}$).

Al analizar los valores de −ΔΔCT de Wuhan y Ómicron en relación con las características clínicas cualitativas de la población, se observó que los varones presentaban niveles significativamente más altos de −ΔΔCT en comparación con las mujeres, tanto para Wuhan (Figura 11A) como para Ómicron (Figura 12A). En contraste, no se encontraron diferencias en los niveles de −ΔΔCT entre los participantes cuya última dosis de vacuna había sido administrada en los seis meses previos a la recolección de la muestra, tanto para Wuhan (Figura 11D) como para Ómicron (Figura 12D). Asimismo, no se detectaron diferencias en los niveles de −ΔΔCT en función de la presencia de enfermedades crónicas (Figura 11C y Figura 12C) ni de episodios febriles ocurridos en los últimos tres meses (Figura 11B y Figura 12B) para ninguna de las dos variantes del virus

Al evaluar el esquema de vacunación de la población, no se observaron diferencias significativas en los valores de −ΔΔCT al comparar esquemas heterólogos con esquemas homólogos (Figura 11F y Figura 12F), ni entre aquellos cuyos esquemas incluían las vacunas BBIBP-CorV o BNT162b2 como primeras

dosis (Figura 11E y Figura 12E). Tampoco se observó diferencia en función de vacunas específicas dentro del esquema (Figura 11G, H y Figura 12G, H). De la misma forma que en los análisis de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, no fue posible evaluar adecuadamente la inclusión de las vacunas BNT162b2 (n = 35 vs n = 5) y AZD1222 (n = 6 vs n = 34) debido al desequilibrio en los tamaños de los grupos.

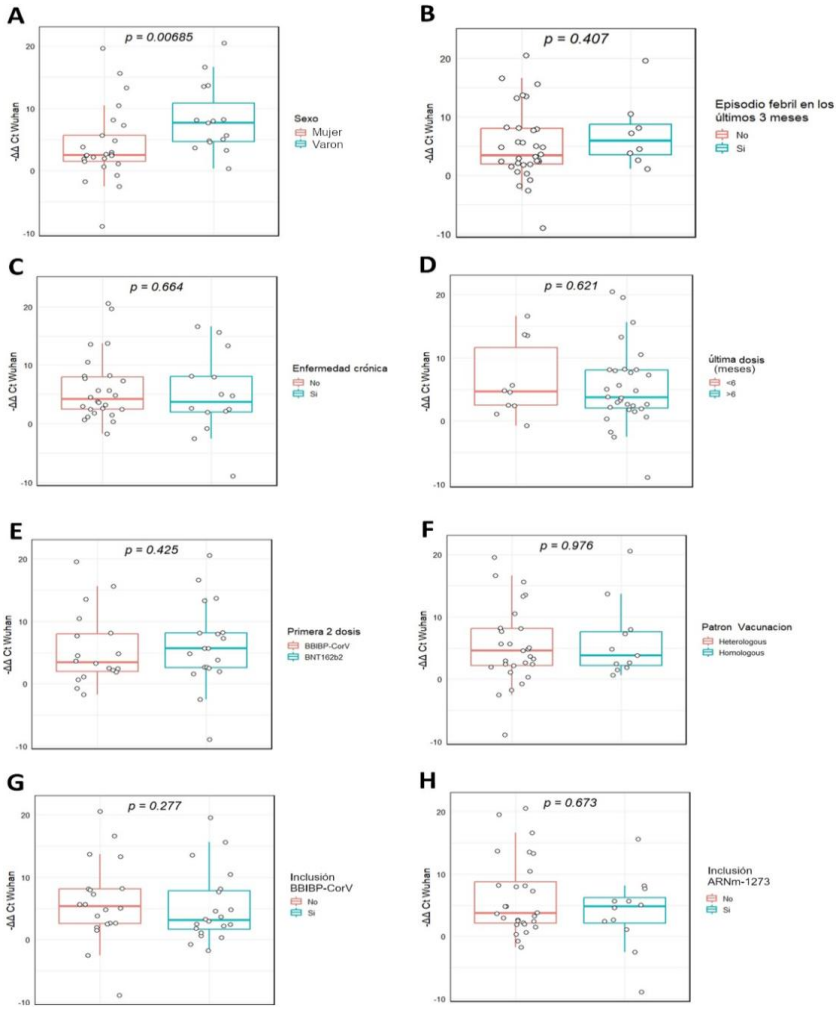


Figura 11. Valores −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para el virus original de Wuhan agrupados según variables cualitativas. (A) Sexo, (B) presencia de algún episodio febril en los últimos 3 meses, (C) presencia de alguna enfermedad crónica, (D) tiempo desde la última dosis en meses, (E) primera dos dosis de la vacuna BBIBP-CorV o BNT162b2, (F) patrón de vacunación, (G) inclusión de la vacuna BBIBP-CorV e (H) inclusión de la vacuna ARNm-1273 en su esquema de vacunación. Los valores *p* reflejan la significancia estadística obtenida mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon, seleccionadas según si los datos agrupados siguen una distribución normal o no, respectivamente.

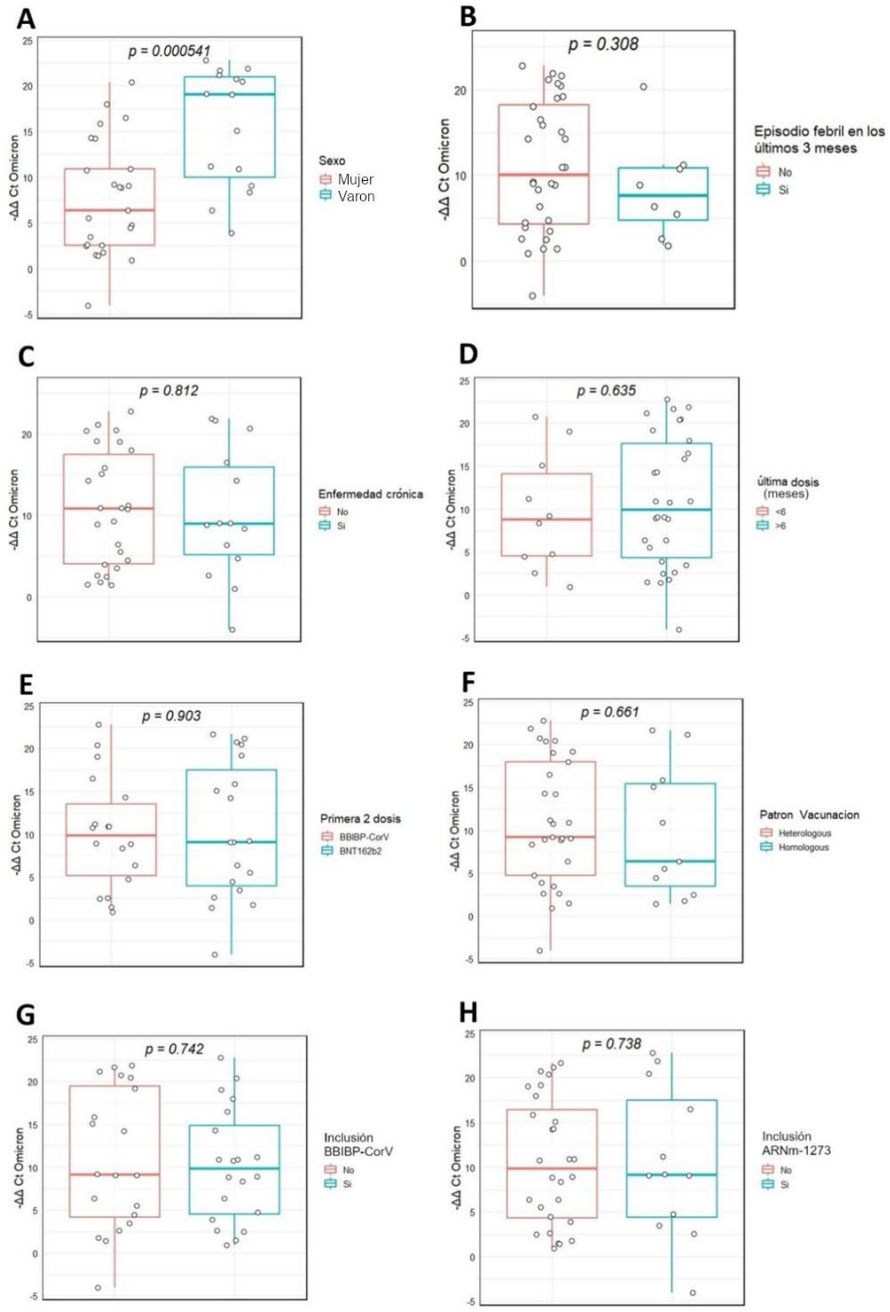


Figura 12. Valores −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para la variante Ómicron agrupados según variables cualitativas. (A) Sexo, (B) presencia de algún episodio febril en los últimos 3 meses, (C) presencia de alguna enfermedad crónica, (D) tiempo desde la última dosis en meses, (E) primera dos dosis de la vacuna BBIBP-CorV o BNT162b2, (F) patrón de vacunación, (G) inclusión de la vacuna BBIBP-CorV e (H) inclusión de la vacuna ARNm-1273 en su esquema de vacunación. Los valores p reflejan la significancia estadística obtenida mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon, seleccionadas según si los datos agrupados siguen una distribución normal o no, respectivamente.

Al clasificar a los participantes según el número de dosis de vacuna recibidas, no se observó diferencia significativa de los valores de −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para el virus original de Wuhan ni para la variante Ómicron entre los participantes que presentaban 3, 4 o 5 dosis (Figura 13). Lo cual refleja que el número de dosis en la población no influye en la respuesta frente a péptidos de Wuhan y Ómicron.

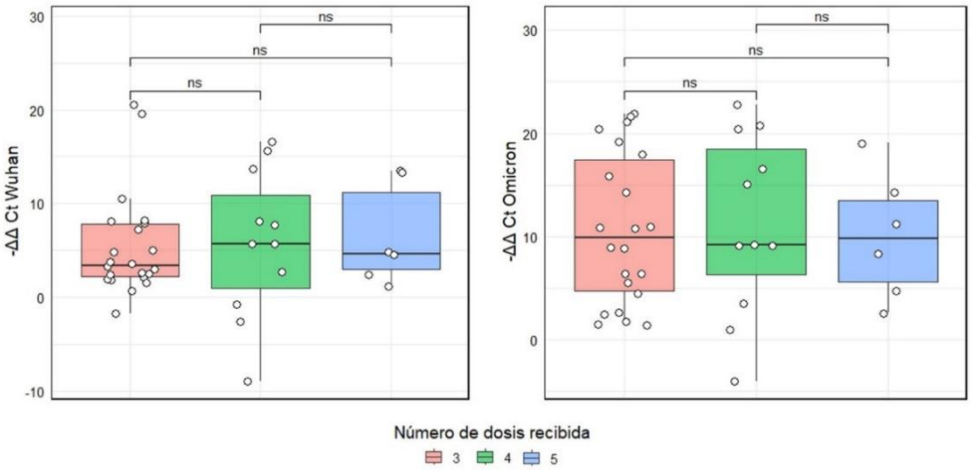


Figura 13 Diagramas de cajas que muestran los valores de −ΔΔCT de Wuhan y Ómicron agrupados según el número de dosis de vacuna recibidas. Los niveles de significancia estadística, determinados mediante las pruebas de T-Student o Wilcoxon según la normalidad de los datos, se indican de la siguiente forma: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, ns: no significativo.

El análisis de los valores de −ΔΔCT de Wuhan y Ómicron en relación con las variables clínicas cuantitativas de la población no reveló correlaciones significativas (Figura 14). Este resultado sugiere que, dentro de los parámetros evaluados, las variables cuantitativas consideradas no parecen influir de manera significativa en la expresión génica de *CXCL10* en respuesta a la estimulación con los péptidos del virus original de Wuhan y la variante Ómicron en la población estudiada.

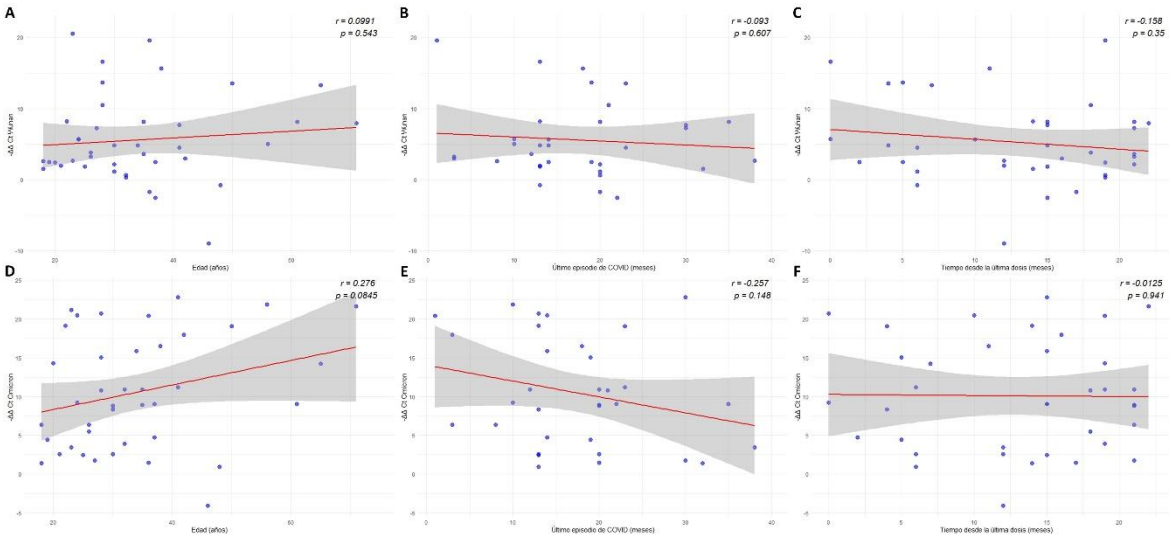


Figura 14. Análisis de correlación de los valores de −ΔΔCT de la expresión de *CXCL10* para el virus original Wuhan y la variante Ómicron en función de variables cuantitativas de la población: (A y D) edad, (B y E) tiempo en meses desde el último episodio de COVID-19 y (C y F) el tiempo transcurrido desde la última dosis. La letra "*r*" indica el cociente de correlación de Pearson. Las líneas rojas representan los modelos de regresión ajustados y las áreas sombreadas indican los intervalos de confianza del 95%

5.5 Relación de los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-Cov-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 y la expresión transcripcional de *CXCL10*

Se analizó la relación entre los niveles plasmáticos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 y la expresión transcripcional de *CXCL10* utilizando una matriz de correlación (Figura 15). Se identificaron correlaciones positivas significativas entre las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4. Asimismo, se observó una relación positiva significativa entre los valores de −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron.

Por otro lado, no se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con cada una de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4, ni con los valores de −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron. De manera similar, no se detectó ninguna relación significativa entre los valores de −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron con cada una de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 (Figura 15).

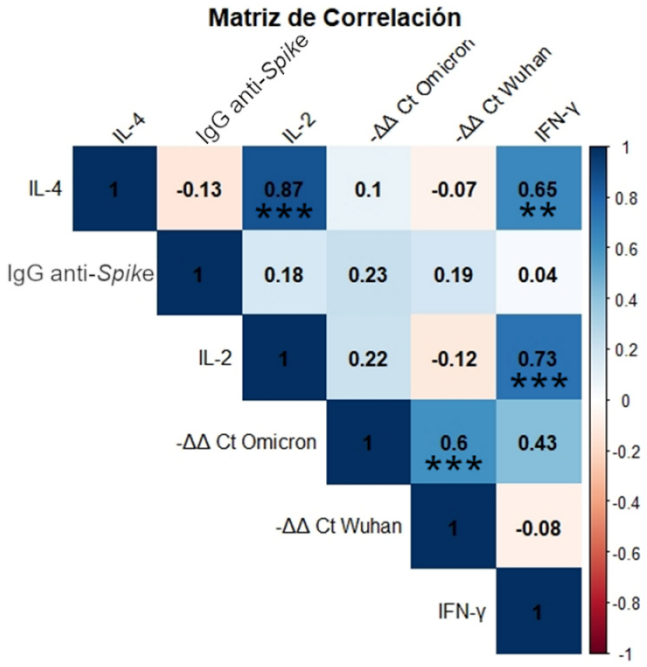


Figura 15. Representación gráfica de la matriz de correlación entre IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2, IL-4, −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron. Los colores corresponden a la magnitud de los coeficientes de correlación, como lo indica la barra de color a la derecha, mientras que los asteriscos corresponden a la significancia estadística de los resultados (*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$, ns: no significativo).

Para evaluar la influencia de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 que se tienen en conjunto con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 y los valores −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron, se realizó un análisis de regresión lineal multivariada (Tabla 5). Los resultados indicaron que, aunque el modelo de regresión en su conjunto no fue significativo, los coeficientes beta estimados para las concentraciones de las citocinas IL-2 e IL-4 fueron estadísticamente significativos. Además, se observó que la IL-2 tiene una influencia positiva, mientras que la IL-4 presenta una influencia negativa sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2. Esto también se observó en los anteriores modelos de regresión lineal multivariada descritas en las tablas 3 y 4.

Tabla 5. Regresión lineal multivariada de los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 y los valores −ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron.

	IgG anti-*Spike* (Log10)		
	β	***p-value***	**(95% IC)**
Intercepto	0.534	0.015*	(0.127, 0.941)
IFN-γ (Log10)	-0.026	0.775	(-0.222, 0.170)
IL-2 (Log10)	0.556	0.022*	(0.095, 1.017)
IL-4 (Log10)	-0.316	0.030*	(-0.595, -0.037)
−ΔΔ Ct Wuhan	0.009	0.365	(-0.012, 0.029)
−ΔΔ Ct Ómicron	-0.002	0.802	(-0.020, 0.016)
Estadístico F: 1.736 sobre 5 y 11 grados de libertad, *p-value*: 0.207			

IC: Intervalo de confianza, β: Coeficiente de regresión beta, *: valores significativos $p < 0.05$

De manera similar, se exploró si los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, IFN-γ, IL-2 e IL-4 en conjunto tenían alguna influencia sobre los valores de −ΔΔCT de las variantes Ómicron o Wuhan mediante un análisis de regresión lineal multivariado (Tablas 6 y 7). Sin embargo, el modelo no resultó significativo, y ninguno de los coeficientes estimados de las variables independientes alcanzó significancia estadística. Esto indica que las concentraciones de estas citocinas y anticuerpos no parecen tener una influencia sobre los valores de −ΔΔCT en la población estudiada.

Tabla 6. Regresión lineal multivariada de los valores −ΔΔ Ct para la variante Ómicron con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4.

	−ΔΔ Ct Ómicron		
	β	***p-value***	**(95% IC)**
Intercepto	-8.572	0.505	(-35.767, 18.622)
IgG anti-*Spike* (Log10)	9.870	0.521	(-22.658, 42.397)
IFN-γ (Log10)	6.671	0.115	(-1.874, 15.215)
IL-2 (Log10)	-2.374	0.860	(-30.989, 26.242)
IL-4 (Log10)	-2.091	0.786	(-18.499, 14.317)
Estadístico F: 1.108 sobre 4 y 12 grados de libertad, *p-value*: 0.3972			

IC: Intervalo de confianza, β: Coeficiente de regresión beta, *: valores significativos $p< 0.05$

Tabla 7. Regresión lineal multivariada de los valores −ΔΔ Ct para el virus original Wuhan con los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4.

	−ΔΔ Ct Wuhan		
	β	***p-value***	**(95% IC)**
Intercepto	-1.559	0.883	-24.094, 20.975
IgG anti-*Spike* (Log10)	14.455	0.265	-12.499, 41.409
IFN-γ (Log10)	0.701	0.833	-6.379, 7.782
IL-2 (Log10)	-11.146	0.326	-34.859, 12.566
IL-4 (Log10)	5.550	0.391	-8.046, 19.147
Estadístico F: 0.4068 sobre 4 y 12 grados de libertad, *p-value*: 0.8004			

IC: Intervalo de confianza, β: Coeficiente de regresión beta, *: valores significativos $p< 0.05$

VI. DISCUSIÓN

La inmunidad adquirida contra el SARS-CoV-2 disminuye con el tiempo, especialmente ante las VOC (Menegale et al., 2023). Aunque las campañas masivas de vacunación en la etapa post-pandemia, apoyadas por nuevas versiones de vacunas, han mejorado la protección poblacional (Aschwanden, 2021), la baja en los casos por infección de SARS-CoV-2 ha llevado a muchos a desatender los cronogramas de vacunación. Esto se ve reflejado en la población de estudio, en la cual solo el 15 % de los individuos ha recibido cinco dosis, y apenas el 25 % se vacunó en los últimos seis meses. Esta tendencia podría debilitar la inmunidad poblacional, aumentando el riesgo de nuevas olas de infecciones si surge otra VOC. Por ello, es esencial fortalecer los programas de vacunación, especialmente en grupos de riesgo, y evaluar tanto la inmunidad humoral como la respuesta celular, dado su papel complementario en la protección contra la infección (Schwarz et al., 2022a).

La presencia de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en el plasma de todos los participantes sugiere una respuesta humoral específica que podría brindar cierta protección contra infecciones. Esta alta positividad podría estar relacionada no solo con la vacunación, sino también con otros factores, como el contacto generalizado y, a menudo no reconocido, con el virus en la vida diaria de los individuos (Swadźba et al., 2024). En cuanto a la duración de la respuesta humoral, estudios previos han demostrado que los niveles de IgG disminuyen aproximadamente seis meses después de la vacunación (Đaković et al., 2022; Karl et al., 2023), lo cual concuerda con la correlación negativa observada en este estudio entre el tiempo desde la última dosis y los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2. Esto también se reflejó al agrupar a los participantes en función del tiempo transcurrido desde la última dosis, donde aquellos vacunados en los últimos seis meses presentaron niveles de anticuerpos IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 más altos. Sin embargo, algunos estudios han reportado que los niveles de IgG se mantienen relativamente estables hasta un año (Guo et al., 2024). Así como también, se ha visto que la seropositividad puede persistir hasta, al menos, 20 meses (Dobaño et al., 2022), lo cual podría explicar la positividad de IgG anti-*Spike* en los participantes que

presentaban su última dosis hace más de seis meses. Aun así, se ha documentado que los niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 no siempre se correlacionan con la prevención de reinfecciones a largo plazo, especialmente con la propagación de nuevas VOC (Franco-Luiz et al., 2023). Esta protección puede incrementarse con el aumento en el número de dosis (Matsumoto et al., 2024), como se observó en los participantes que habían recibido 4 o 5 dosis, quienes presentaron niveles más altos de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2.

Diversos estudios han informado que el perfil de citocinas puede relacionarse con la respuesta inmunitaria luego de la vacunación contra SARS-CoV-2 (Odak et al., 2024, den Hartog et al., 2023; Zhu et al., 2023; Karaba et al., 2022). Los resultados del presente estudio no muestran una relación significativa de los niveles IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con las concentraciones de citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 al analizarlos por separado. Sin embargo, al categorizar los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en función de su media y desviación estándar, se observó una correlación negativa de los niveles medios de IgG anti-*Spike* con la concentración plasmática de IFN-γ, esta misma relación también se observó cuando se categorizó los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en función de vacunación previa con ARNm-1273, pero no al realizar la categorización con las otras variables clínicas de la población como es el tiempo desde la última vacunación. Esto último es importante ya que estudios previos han demostrado que los aumentos transitorios en los niveles de IFN-γ poco después de la vacunación se correlacionan con los niveles de anticuerpos (Bergamaschi et al., 2021), y que los niveles de IFN-γ disminuyen tras el primer mes post-vacunación, pero se mantienen relativamente estables hasta los 20 meses (Hvidt et al., 2023). Esto podría estar reflejando factores poblacionales no considerados durante el muestreo, los cuales podrían estar influyendo en la relación observada.

Por otro lado, al evaluar la influencia conjunta de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 mediante modelos de regresión lineal multivariada, no se identificó un impacto significativo de las concentraciones de IFN-γ. En contraste, se observó una influencia significativa, positiva y negativa, de las concentraciones de IL-2 e IL-4, respectivamente, sobre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2. Esta interacción resultó

estadísticamente más robusta al considerar únicamente las concentraciones de IL-2 e IL-4 en el modelo de regresión multivariada para explicar los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 (Tabla 4). Estos resultados se contradicen con lo esperado, ya que se anticipaba una influencia positiva de las concentraciones de IL-4 sobre los niveles de IgG anti-*Spike*, debido a que esta citocina ejerce un efecto potenciador sobre la producción y cambio isotópico de IgG (Van Ommen et al., 1994). No obstante, esta asociación podría depender del subtipo de IgG evaluado, considerando que en el presente estudio solo se analizaron niveles totales de IgG anti-Spike del SARS-CoV-2. De forma similar con IL-2, se esperaba una influencia negativa, ya que es una citocina predominante a nivel de respuesta celular (Turner et al., 2014). Sin embargo, la influencia positiva observada de IL-2 sobre los niveles de IgG anti-Spike del SARS-CoV-2 podría explicarse por el papel inmunorregulador de esta citocina en la diferenciación y expansión de linfocitos T cooperadores, incluyendo respuestas de tipo Th2 vinculadas a la producción de anticuerpos (Cote-Sierra et al., 2004). Otros estudios reportaron que mediante análisis multivariados; IFN-γ, IL-2 e IL-4 distribuidos en diversos perfiles de citocinas pueden ser asociados positivamente con niveles altos de unión específica a S1 y anticuerpos neutralizantes principalmente a los 6 meses después de la segunda vacunación (den Hartog et al., 2023). Por otro lado, las concentraciones de IL-2 e IL-4 dentro de agrupaciones de citocinas en función de sus coeficientes de correlación, no fueron significativos dentro de los modelos de regresión lineal para explicar los niveles de S1-IgG luego de la vacunación con BNT162b (Odak et al., 2024). Por lo tanto, los modelos que predicen los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 a partir de citocinas pueden variar dependiendo de la población estudiada, los criterios de selección de citocinas y el tipo de vacuna utilizada. Esto subraya la importancia de realizar análisis específicos en función de las características particulares de cada población (van Dorst et al., 2024; Santos-Rebouças et al., 2024; Zimmermann & Curtis, 2019).

La evaluación de la inmunidad celular ha revelado aspectos clave sobre la durabilidad y dinámica de la respuesta inmune frente al SARS-CoV-2, destacando su papel en la prevención de formas graves de la enfermedad, incluso frente a variantes virales que reducen la eficacia de los anticuerpos neutralizantes (Geers et al., 2021; Petrone et al., 2023). Esto subraya la necesidad de incluir la evaluación

de las células T para obtener una comprensión completa de la inmunidad protectora. Sin embargo, la medición de estas respuestas a gran escala enfrenta desafíos técnicos y la falta de metodologías estandarizadas (Schwarz et al., 2022b). En este contexto, en el presente estudio se utilizó un enfoque innovador basado en la medición de la expresión del ARNm de *CXCL10*, regulado al alza en monocitos en respuesta al IFN-γ producido por la activación específica de células T frente a péptidos del SARS-CoV-2 (Schwarz et al., 2022b). Este método permitió evidenciar una respuesta celular positiva en un alto porcentaje de los participantes del estudio (97.5% para Ómicron y 85% para Wuhan), este elevado porcentaje coincide con lo reportado en un estudio poblacional en Italia (92.1% positivos) donde emplearon el mismo enfoque molecular (Cosma et al., 2023). Además, los resultados reflejan la solidez de la respuesta celular en la población estudiada, ya que, incluso frente a variantes con mutaciones significativas en sus epítopos virales, como Ómicron, la respuesta celular fue predominantemente positiva, lo cual se ajusta a la robustez de la respuesta celular frente a las variantes de SARS-CoV-2 reportado en otras investigaciones (Chen et al., 2022; Geers et al., 2021).

En general, investigaciones previas en diversas poblaciones han mostrado que la inmunidad celular es más duradera y sigue siendo funcional frente a VOC (Almendro-Vázquez et al., 2023; Nesamari et al., 2024). Además, se ha reportado que las vacunas de virus inactivado mantienen estable la activación de linfocitos T CD4+ a lo largo del tiempo, tanto para el SARS-CoV-2 ancestral como para la variante Ómicron (Méndez et al., 2023). De forma similar se ha observado que la reactividad de las células T CD4+ y T CD8+ no varían en respuesta a las variantes en receptores de vacunas de ARNm (Tarke et al., 2021). Estos hallazgos podrían explicar la alta respuesta frente a los péptidos de la variante Ómicron, ya que la mayoría recibió esquemas basados en vacunas de virus inactivado (BBIBP-CorV) y ARNm (BNT162b2) en la población de estudio. Sin embargo, esto no explicaría el nivel superior de respuesta frente a los péptidos de Ómicron en comparación con los péptidos del virus original Wuhan. Además, esto difiere con lo reportado en otros estudios, donde la respuesta al virus original Wuhan es mayor a la variante Ómicron (Keeton et al., 2022). Esta respuesta celular superior a Ómicron podría estar relacionada con un contacto generalizado de la población peruana con esta variante

durante las olas infección previas, en las cuales, Ómicron fue responsable de un aumento significativo en los contagios (Dámaso-Mata, 2022; Swadźba et al., 2024).

La evaluación de la relación entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y la expresión de *CXCL10*, inducida por la estimulación de linfocitos frente a los péptidos de las variantes Wuhan y Ómicron, no reveló correlaciones significativas. De forma similar al evaluar la influencia de los valores de -ΔΔ Ct para Wuhan y Ómicron integrándolas con las concentraciones plasmáticas de citocinas en un modelo de regresión lineal multivariada para explicar los valores de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, no se observaron coeficientes betas significativos por parte de los valores de -ΔΔ Ct. Esto último concuerda con lo observado por Cosma et al. (2023), quienes tampoco encontraron una correlación significativa entre los niveles de expresión de *CXCL10* e IgG anti-SARS-CoV-2 S-RBD. En contraste, en otras metodologías para evaluar la respuesta frente a péptidos de SARS-CoV-2 como ELISpot, se observó que la evaluación de IFN-γ e IL-2 producida por células T se correlaciona significativamente con los niveles de anticuerpos, pero no hay correlación cuando solo se evalúa con IFN-γ (Konuma et al., 2024). Por otro lado, mediante la evaluación de la respuesta de las células T de memoria por el método IGRA, se ha evidenciado correlaciones entre los niveles de IFN-γ y los títulos de IgG anti-RBD a los tres meses, aumentando considerablemente a los seis meses tras la vacunación con BNT162b2 (Bonnet et al., 2022). Asimismo, mediante la técnica de tinción de citocinas intracelulares, se ha observado que la respuesta de las células T CD4+ en esquemas de vacunación heterólogos se asocia con una respuesta adecuada de anticuerpos (Vogel et al., 2022). Estos hallazgos destacan que la relación entre los niveles de anticuerpos y la respuesta celular depende de la metodología utilizada, el diseño del estudio y el esquema de vacunación. Además, es crucial considerar tanto las respuestas humorales como celulares al evaluar el estado inmunológico, puesto que la medición de una de ellas no siempre reflejará con precisión la magnitud de la otra (Menges et al., 2022).

Al analizar la influencia conjunta de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 sobre los valores de -ΔΔ Ct para Wuhan y Ómicron mediante modelos de regresión lineal multivariada, no se encontró significancia de los coeficientes betas para ninguna de

las citocinas ni en la significancia de los modelos globales. De la misma forma no se encontró correlaciones significativas de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 con los valores de -ΔΔ Ct para Wuhan y Ómicron. Aunque este es el primer estudio que explora esta relación utilizando la expresión de *CXCL10* como marcador de la respuesta a péptidos de SARS-CoV-2, otros estudios, como aquellos realizados con el método IGRA, tampoco han identificado una influencia significativa de estas citocinas sobre la respuesta celular (Odak et al., 2024). Por otro lado, la correlación positiva observada entre los valores de -ΔΔ Ct de Wuhan y Ómicron en la población, podría explicarse por la capacidad de las células T para reconocer de manera amplia las proteínas virales y mantener una respuesta funcional frente a diversas variantes (Chen et al., 2022; Moss, 2022; Geers et al., 2021).

El análisis de las correlaciones por pares entre las concentraciones plasmáticas de las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4 (IFN-γ vs IL-2, IFN-γ vs IL-4 y IL-2 vs IL-4) reveló correlaciones significativamente positivas. Este comportamiento ha sido reportado en estudios previos, como el de Wang et al. (2022), donde, en función de la vacuna CoronaVac, se encontraron correlaciones positivas significativas entre IFN-γ e IL-4 a los 40 días después de la segunda dosis, y entre IFN-γ, IL-2 e IL-4 a los 60 días tras la tercera dosis. Este antecedente sugiere que las correlaciones entre estas citocinas podrían mantenerse estables después de las dosis de refuerzo, lo cual podría explicar lo observado con las citocinas en la población de estudio. Sin embargo, se requiere más evidencia para confirmar esta hipótesis. Por otro lado, se ha observado que las concentraciones de citocinas pueden variar según el tiempo desde la vacunación o infección contra SARS-CoV-2 (Bergamaschi et al., 2021), así como la presencia de alguna enfermedad crónica (Turner et al., 2014) o aguda (Wright, 1997). No obstante, en la población de estudio, no se encontró que estos factores influyeran en las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4, con la excepción de las concentraciones significativamente más altas de IFN-γ en los individuos cuya última dosis fue administrada hace más de seis meses, en comparación con aquellos que recibieron la última dosis en los últimos seis meses. Esto último no concuerda con estudios como el de Hvidt et al., (2023), donde los niveles de IFN-γ son inferiores y se mantienen estables luego de 10 meses posteriores a la vacunación. Lo cual puede indicar que factores no

explorados pueden estar afectando las concentraciones de IFN-γ en la población de estudio respecto al tiempo de vacunación.

Si bien se evalúa la presencia de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y la respuesta celular frente a los péptidos de SARS-CoV-2 en la población, estos no engloban todos los aspectos de la inmunidad en su totalidad. En función a las IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2, se necesitarían estudios adicionales de evaluación funcional de los anticuerpos como las pruebas de neutralización del virus o de fagocitosis celular dependiente de anticuerpos, con el fin de evaluar su eficacia de protección frente a la infección contra el virus (Bates et al., 2022). Además, debido a la presencia de VOC del virus, resulta esencial evaluar la eficacia de los anticuerpos frente al virus original y sus variantes que a menudo presentan escape inmunológico, para obtener una visión más completa de la protección frente al SARS-CoV-2 (Lopera et al., 2022).

Aunque la metodología empleada en este estudio para evaluar la respuesta celular mediante la expresión de *CXCL10*, propuesta por Schwarz et al. (2022b), no cuantifica directamente el número de células T específicas del antígeno, sí permite determinar su presencia o ausencia a través de su capacidad para producir IFN-γ en respuesta a péptidos virales presentados por el MHC. El nivel relativo de expresión de ARNm de *CXCL10* podría, no obstante, proporcionar una indicación cualitativa de la magnitud de la inmunidad, de manera similar a los análisis cualitativos realizados en ensayos de liberación de IFN-γ (Cosma et al., 2023). Sin embargo, el uso de un único marcador para evaluar la respuesta celular podría no reflejar completamente la inmunidad específica frente al SARS-CoV-2, ya que se ha sugerido que la evaluación conjunta de la liberación de IFN-γ e IL-2, como marcadores de respuesta celular, mejora la caracterización en ensayos de estimulación *ex vivo* (Safont et al., 2024). Además, los ensayos basados en citometría de flujo ofrecen mayor resolución al permitir la caracterización precisa de células individuales específicas tras la estimulación, identificándolas mediante marcadores de superficie o intracelulares teñidos con anticuerpos (Schwarz et al., 2022a).

A pesar de estas limitaciones, los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y la respuesta a péptidos de SARS-CoV-2 en la población pueden proporcionar una aproximación al estado inmunitario humoral y celular, respectivamente, reflejando la inmunidad adaptativa de los participantes en el momento de la toma de muestra frente al virus. Esta información permite obtener una visión general del estado de la inmunidad adaptativa en la población, llenando vacíos de conocimiento y contribuyendo potencialmente a la formulación de nuevas políticas de salud pública relacionadas con la vacunación. Además, puede servir como referencia para el desarrollo de estudios de mayor alcance y más complejos (Chavarría-Bencomo et al., 2024; Petrone et al., 2023; Schwarz et al., 2022a).

Estudios previos sobre inmunidad celular en poblaciones vacunadas contra el SARS-CoV-2 han demostrado que no existe una correlación significativa con el sexo (Graça et al., 2023; Misra et al., 2023). Del mismo modo, otras investigaciones no han encontrado diferencias en los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 entre varones y mujeres (Trevisan et al., 2023; Marchevsky et al., 2022). Sin embargo, algunos estudios han señalado que las mujeres desarrollan una respuesta inmune más sólida a la vacunación contra el SARS-CoV-2 en comparación con los varones (Fernandes et al., 2023). En contraste, en este estudio los participantes masculinos mostraron una respuesta inmune significativamente mayor que las participantes femeninas tanto en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 ($p < 0.05$) como en la expresión de *CXCL10* en respuesta a los péptidos de Wuhan y Ómicron ($p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente). Esta tendencia ha sido reportada también en otros estudios realizados en poblaciones vacunadas con ARNm (Korosec et al., 2024). Además, estos hallazgos podrían estar asociados con una mayor eficacia relativa de ciertas vacunas en hombres (Jensen et al., 2022). En conjunto, estos hallazgos sugieren que podrían existir variaciones contextuales o poblacionales aún no investigadas que influyan en la respuesta inmunitaria según el sexo en esta población.

Estudios en poblaciones vacunadas han demostrado que la edad no influye en la positividad de la respuesta celular, como se ha observado en grupos de Francia (Graça et al., 2023) e India (Misra et al., 2023), hallazgos que concuerdan

con los obtenidos en la población peruana de este estudio. Sin embargo, otros estudios poblacionales señalan que en individuos mayores de 75 años se observa una disminución en la inmunidad celular (Dietz et al., 2023). En cuanto a la inmunidad humoral, se ha reportado previamente una correlación negativa entre la edad y la respuesta inmune tras la vacunación (Fernandes et al., 2023; Hasan et al., 2023), lo cual difiere de la correlación positiva entre la edad y los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 encontrada en el presente estudio, aunque coincide con un estudio en personal de salud a dos años de su primera dosis (Swadźba et al., 2024). En conjunto, estos hallazgos sugieren que la edad podría influir de manera variable en la respuesta inmunitaria, dependiendo del contexto poblacional y del diseño del estudio.

En el estudio, no se observaron diferencias en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 y la expresión de *CXCL10* para los péptidos de Wuhan y Ómicron entre los esquemas de vacunación homólogos y heterólogos. Sin embargo, las investigaciones han demostrado que la vacunación heteróloga proporciona una protección más duradera contra el SARS-CoV-2 en comparación con las estrategias homólogas (Adnan et al., 2024; Orlandi et al., 2023; Costa Clemens et al., 2022). Esta evidencia ha llevado a muchos países a adoptar la vacunación heteróloga en sus programas de inmunización (Siddiqui et al., 2022). La ventaja de un esquema heterólogo ya ha sido observada en trabajadores de salud peruanos, reportando un aumento de la protección inmunitaria humoral, no obstante, se destacó que el tiempo transcurrido desde la dosis de refuerzo hasta la medición de IgG se asoció con niveles más bajos en la media geométrica (Montero et al., 2023). Además, cabe destacar que la respuesta inmunitaria luego de la vacunación tiende a estabilizarse con el tiempo (Makri et al., 2024). Todo esto podría estar explicando la ausencia de diferencias en la respuesta inmunitaria según el esquema de vacunación observadas en el presente estudio.

Hasta la fecha, ninguna de las diversas vacunas contra el SARS-CoV-2 ha demostrado ser significativamente superior en términos de eficacia (Wu et al., 2024). No obstante, se ha observado que los esquemas de vacunación que combinan distintos tipos de vacunas pueden presentar variaciones en la inmunidad

celular y humoral (González et al., 2023). Al agrupar a la población según las vacunas presentes en sus esquemas, como la inclusión de las vacunas BBIBP-CorV y BNT162b2 en las primeras dos dosis, las cuales fueron las vacunas más prevalentes y estuvieron disponibles desde el inicio del programa de vacunación en Perú (López et al., 2022), no se encontraron diferencias significativas en los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 ni en la expresión de *CXCL10* para Wuhan y Ómicron. Sin embargo, al agrupar a la población en función de la inclusión de ciertas vacunas, se encontró mayores niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 en las personas se habían vacunado con ARNm-1273. Este hallazgo podría deberse a la tendencia de mostrar una mayor efectividad en las vacunas basadas en ARNm (Salinas-Martínez et al., 2023; Wu et al., 2024). A pesar de ello, se necesita estudios adicionales, ya que estos hallazgos pueden estar influenciados por factores ambientales y a la diversidad genética de la población peruana (van Dorst et al., 2024).

VII. CONCLUSIONES

1) Se evidenció la presencia de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 plasmático en todos los individuos. Factores como el sexo (varones), la administración de la última dosis en los últimos seis meses antes de la toma de muestra, el cumplimiento de esquemas de 4 o 5 dosis y el uso de la vacuna ARNm-1273 (Moderna) se asociaron con niveles más altos de anticuerpos. Además, la edad mostró una correlación positiva con los niveles de IgG anti-*Spike*, lo que podría reflejar un impacto en la respuesta inmunitaria según la etapa de la vida. Por otro lado, el intervalo transcurrido desde la última dosis presentó una correlación negativa, evidenciando una disminución progresiva de los niveles de IgG anti-*Spike* a medida que aumentaba el tiempo desde la última vacunación. Estos hallazgos favorecen una mejor comprensión de los factores que modulan la respuesta inmunitaria a las vacunas contra el SARS-CoV-2 y pueden contribuir en la optimización de las estrategias de vacunación.

2) Aunque no se evidencia correlaciones significativas entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con cada una de las concentraciones de IFN-γ, IL-2 e IL-4, los modelos de regresión lineal multivariada indican que hay un efecto positivo y negativo de IL-2 e IL-4, respectivamente, sobre los niveles de IgG anti-*Spike*. Esto ayuda a comprender cómo las citocinas regulan la producción de anticuerpos post-vacunación en esta población, destacando la complejidad de estas interacciones y la necesidad de adaptar los estudios a las características intrínsecas de cada población.

3) La mayoría de los participantes mostró una respuesta positiva frente a los péptidos de Wuhan y Ómicron, evidenciada por un aumento en la expresión relativa de *CXCL10*, siendo más pronunciada para los péptidos de Ómicron y significativamente mayor en los varones. Esto refleja la robustez de la respuesta celular de la población frente a esta variante y contribuye al entendimiento del estado inmunitario, lo cual es clave para la actualización de las estrategias de vacunación.

4) No se observaron correlaciones significativas entre los niveles de IgG anti-*Spike* del SARS-CoV-2 con los valores de −ΔΔCt para Wuhan y Ómicron. De la misma forma, no se observaron correlaciones significativas entre los valores de −ΔΔCt de Wuhan y Ómicron con las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4. Asimismo, los modelos de regresión lineal multivariada no mostraron influencias relevantes en estas relaciones. Esto sugiere que el enfoque molecular empleado para evaluar la respuesta celular podría presentar limitaciones para detectar dichas asociaciones.

5) Existen correlaciones positivas entre las concentraciones plasmáticas de citocinas (IFN-γ vs IL-2, IFN-γ vs IL-4 y IL-2 vs IL-4), de la misma forma entre los valores de −ΔΔCt de Wuhan y Ómicron. Este hallazgo indicaría que las correlaciones entre estas citocinas podrían mantenerse estables después de las dosis de refuerzo y que la respuesta celular frente a esta variante se mantiene robusta en la población de estudio.

VIII. RECOMENDACIONES

- Ampliar la evaluación de la inmunidad poblacional a más regiones del Perú para generar evidencia que contribuya a la toma de decisiones en salud pública del país en general, más aun en un contexto de disminución de aplicación de dosis de refuerzo.

- Para obtener una comprensión más detallada de la relación entre las citocinas IFN-γ, IL-2 e IL-4, los niveles de IgG anti-*Spike* y la respuesta celular, es necesario realizar estudios longitudinales que evalúen la cinética de estos marcadores en función de la vacunación.

- Ampliar el análisis con otras citocinas claves en la respuesta inmune adaptativa como: IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21.

- Realizar estudios longitudinales de la duración y eficacia de la inmunidad adquirida de las vacunas monovalentes adaptadas (Comirnaty Omicron XBB.1.5) y vacunas bivalentes (Spikevax bivalent Original/Omicron BA.4-5).

- Evaluar la inmunidad específica frente a nuevas VOC, como la BA.2.86 (variante Pirola), para determinar el nivel de protección en la población peruana.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abe, K. T., Li, Z., Samson, R., Samavarchi-Tehrani, P., Valcourt, E. J., Wood, H., Budylowski, P., Dupuis, A. P., 2nd, Girardin, R. C., Rathod, B., Wang, J. H., Barrios-Rodiles, M., Colwill, K., McGeer, A. J., Mubareka, S., Gommerman, J. L., Durocher, Y., Ostrowski, M., McDonough, K. A., … Gingras, A.-C. (2020). A simple protein-based surrogate neutralization assay for SARS-CoV-2. JCI Insight, 5(19). https://doi.org/10.1172/jci.insight.142362

Adnan, N., Haq, M. A., Akter, S., Sajal, S. M. S. A., Islam, M. F., Mou, T. J., Jamiruddin, M. R., Jubyda, F. T., Islam, M. S., Tuli, J. F., Liza, S. M., Hossain, S., Islam, Z., Ahmed, S., Khandker, S. S., Hossain, R., Ahmed, M. F., Khondoker, M. U., Azmuda, N., & Parvez, M. A. K. (2024). Antibody response after homologous and heterologous prime-boost COVID-19 vaccination in a Bangladeshi residential university cohort. Vaccines, 12(5), 482. https://doi.org/10.3390/vaccines12050482

Aiello, A., Najafi Fard, S., Petruccioli, E., Petrone, L., Vanini, V., Farroni, C., Cuzzi, G., Navarra, A., Gualano, G., Mosti, S., Pierelli, L., Nicastri, E., & Goletti, D. (2021). Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases, 106, 338–347. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.04.034

Aldo, P., Marusov, G., Svancara, D., David, J., & Mor, G. (2016). Simple Plex(TM) : A novel multi- analyte, automated microfluidic immunoassay platform for the detection of human and mouse cytokines and chemokines. American Journal of Reproductive Immunology, 75(6), 678–693. https://doi.org/10.1111/aji.12512

Alhamid, G., Tombuloglu, H., Rabaan, A. A., & Al-Suhaimi, E. (2022). SARS-CoV-2 detection methods: A comprehensive review. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(11), 103465. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103465

Almendro-Vázquez, P., Laguna-Goya, R., & Paz-Artal, E. (2023). Defending against SARS-CoV-2: The T cell perspective. Frontiers in Immunology, 14, 1107803. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1107803

Alroqi, F., Barhoumi, T., Masuadi, E., Nogoud, M., Aljedaie, M., Abu-Jaffal, A. S., Bokhamseen, M., Saud, M., Hakami, M., Arabi, Y. M., & Nasr, A. (2024). Durability of COVID-19 humoral immunity post infection and different SARS-COV-2 vaccines. Journal of Infection and Public Health, 17(4), 704–711. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.02.016

Aschwanden, C. (2021). Five reasons why COVID herd immunity is probably impossible. Nature, 591(7851), 520–522. https://doi.org/10.1038/d41586-021-00728-2

Bates, T. A., McBride, S. K., Leier, H. C., Guzman, G., Lyski, Z. L., Schoen, D., Winders, B., Lee, J., Lee, D. X., Messer, W. B., Curlin, M. E., & Tafesse, F. G. (2022). Vaccination before or after SARS-CoV-2 infection leads to robust humoral response and antibodies

that effectively neutralize variants. Science Immunology, 7(68). https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abn8014

Benhamouda, N., Besbes, A., Bauer, R., Mabrouk, N., Gadouas, G., Desaint, C., Chevrier, L., Lefebvre, M., Radenne, A., Roelens, M., Parfait, B., Weiskopf, D., Sette, A., Gruel, N., Courbebaisse, M., Appay, V., Paul, S., Gorochov, G., Ropers, J., … Tartour, E. (2024). Cytokine profile of anti-spike CD4+T cells predicts humoral and CD8+T cell responses after anti-SARS-CoV-2 mRNA vaccination. iScience, 27(8), 110441. https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110441

Bergamaschi, C., Terpos, E., Rosati, M., Angel, M., Bear, J., Stellas, D., Karaliota, S., Apostolakou, F., Bagratuni, T., Patseas, D., Gumeni, S., Trougakos, I. P., Dimopoulos, M. A., Felber, B. K., & Pavlakis, G. N. (2021). Systemic IL-15, IFN-γ, and IP-10/CXCL10 signature associated with effective immune response to SARS-CoV-2 in BNT162b2 mRNA vaccine recipients. Cell Reports, 36(6), 109504. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109504

Bergami, F., Arena, F., Pattonieri, E. F., Gregorini, M., Meloni, F., Abelli, M., Ticozzelli, E., Testa, G., Lilleri, D., Cassaniti, I., & Baldanti, F. (2022). Performance of whole blood stimulation assays for the quantification of SARS-CoV-2 specific T-cell response: A cross-sectional study. Diagnostics (Basel, Switzerland), 12(6), 1509. https://doi.org/10.3390/diagnostics12061509

Bertolini, J. N., & Benson, E. M. (1990). The role of human interleukin-6 in B-cell isotype regulation and differentiation. Cellular Immunology, 125(1), 197–209. https://doi.org/10.1016/0008-8749(90)90074-2

Bonnet, B., Chabrolles, H., Archimbaud, C., Brebion, A., Cosme, J., Dutheil, F., Lambert, C., Junda, M., Mirand, A., Ollier, A., Pereira, B., Regagnon, C., Vidal, M., Evrard, B., & Henquell, C. (2022). Decline of Humoral and Cellular Immune Responses Against SARS-CoV-2 6 Months After Full BNT162b2 Vaccination in Hospital Healthcare Workers. Frontiers In Immunology, 13. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.842912

Borsutzky, S., Cazac, B. B., Roes, J., & Guzmán, C. A. (2004). TGF-beta receptor signaling is critical for mucosal IgA responses. The Journal of Immunology, 173(5), 3305–3309. https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.5.3305

Bossie, A., & Vitetta, E. S. (1991). IFN-gamma enhances secretion of IgG2a from IgG2a-committed LPS-stimulated murine B cells: implications for the role of IFN-gamma in class switching. Cellular Immunology, 135(1), 95–104. https://doi.org/10.1016/0008-8749(91)90257-c

Chavarría-Bencomo, I. V., Chavez-Trillo, C., López-Quiñonez, M. G., Adame-Gallegos, J. R., Zurawski, S., Espino-Solis, G. P., & Zurawski, G. (2024). Monitoring humoral responses against three SARS-CoV-2 vaccines in a university population from Chihuahua, Mexico. *The Journal Of Infection In Developing Countries*, *18*(09.1), S135-S146. https://doi.org/10.3855/jidc.18707

Chen, Z., Zhang, Y., Wang, M., Islam, M. S., Liao, P., Hu, Y., & Chen, X. (2022). Humoral and Cellular Immune Responses of COVID-19 vaccines against SARS-Cov-2 Omicron

variant: a systemic review. International Journal of Biological Sciences, 18(12), 4629–4641. https://doi.org/10.7150/ijbs.73583

Chi, H., Pepper, M., & Thomas, P. G. (2024). Principles and therapeutic applications of adaptive immunity. Cell, 187(9), 2052–2078. https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.03.037

Cote-Sierra, J., Foucras, G., Guo, L., Chiodetti, L., Young, H. A., Hu-Li, J., Zhu, J., & Paul, W. E. (2004). Interleukin 2 plays a central role in Th2 differentiation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(11), 3880–3885. https://doi.org/10.1073/pnas.0400339101

Cosma, C., Galla, L., Padoan, A., Furlan, G., Marchioro, L., Zaninotto, M., Basso, D., & Plebani, M. (2023). SARS-CoV-2 specific T-cell humoral response assessment after COVID-19 vaccination using a rapid direct real-time PCR amplification. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 0(0). https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0129

Costa Clemens, S. A., Weckx, L., Clemens, R., Almeida Mendes, A. V., Ramos Souza, A., Silveira, M. B. V., da Guarda, S. N. F., de Nobrega, M. M., de Moraes Pinto, M. I., Gonzalez, I. G. S., Salvador, N., Franco, M. M., de Avila Mendonça, R. N., Queiroz Oliveira, I. S., de Freitas Souza, B. S., Fraga, M., Aley, P., Bibi, S., Cantrell, L., … RHH-001 study team. (2022). Heterologous versus homologous COVID-19 booster vaccination in previous recipients of two doses of CoronaVac COVID-19 vaccine in Brazil (RHH-001): a phase 4, non-inferiority, single blind, randomised study. Lancet, 399(10324), 521–529. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00094-0

Đaković Rode, O., Bodulić, K., Zember, S., Cetinić Balent, N., Novokmet, A., Čulo, M., Rašić, Ž., Mikulić, R., & Markotić, A. (2022). Decline of anti-SARS-CoV-2 IgG antibody levels 6 months after complete BNT162b2 vaccination in healthcare workers to levels observed following the first vaccine dose. *Vaccines*, *10*(2), 153. https://doi.org/10.3390/vaccines10020153

Dalai, S. C., Dines, J. N., Snyder, T. M., Gittelman, R. M., Eerkes, T., Vaney, P., Howard, S., Akers, K., Skewis, L., Monteforte, A., Witte, P. R., Wolf, C., Nesse, H., Herndon, M., Qadeer, J., Duffy, S., Svejnoha, E., Taromino, C., Kaplan, I. M., … Baldo, L. (2022). Clinical validation of a novel T-cell receptor sequencing assay for identification of recent or prior severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 infection. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 75(12), 2079–2087. https://doi.org/10.1093/cid/ciac353

Dámaso-Mata, B. (2022). La tercera ola en el Perú. *Revista Peruana de Investigación en Salud*, *6*(1), 7. https://doi.org/10.35839/repis.6.1.1341

Del Valle-Mendoza, J., Tarazona-Castro, Y., Merino-Luna, A., Carrillo-Ng, H., Kym, S., Aguilar-Luis, M. A., Del Valle, L. J., Aquino-Ortega, R., Martins-Luna, J., Peña-Tuesta, I., & Silva-Caso, W. (2022). Comparison of cytokines levels among COVID-19 patients living at sea level and high altitude. BMC Infectious Diseases, 22(1), 96. https://doi.org/10.1186/s12879-022-07079-x

den Hartog, Y., Malahe, S. R. K., Rietdijk, W. J. R., Dieterich, M., Gommers, L., Geers, D., Bogers, S., van Baarle, D., Diavatopoulos, D. A., Messchendorp, A. L., van der Molen,

R. G., Remmerswaal, E. B. M., Bemelman, F. J., Gansevoort, R. T., Hilbrands, L. B., Sanders, J.-S., GeurtsvanKessel, C. H., Kho, M. M. L., Reinders, M. E. J., … RECOVAC Consortium. (2023). Th1-dominant cytokine responses in kidney patients after COVID-19 vaccination are associated with poor humoral responses. Npj Vaccines, 8(1), 70. https://doi.org/10.1038/s41541-023-00664-4

Dhawan, M., Rabaan, A. A., Fawarah, M. M. A., Almuthree, S. A., Alsubki, R. A., Alfaraj, A. H., Mashraqi, M. M., Alshamrani, S. A., Abduljabbar, W. A., Alwashmi, A. S. S., Ibrahim, F. A., Alsaleh, A. A., Khamis, F., Alsalman, J., Sharma, M., & Emran, T. B. (2023). Updated insights into the cell-mediated immune response against SARS-CoV-2: A step towards efficient and reliable vaccines. Vaccines, 11(1), 101. https://doi.org/10.3390/vaccines11010101

Dietz, L. L., Juhl, A. K., Søgaard, O. S., Reekie, J., Nielsen, H., Johansen, I. S., Benfield, T., Wiese, L., Stærke, N. B., Jensen, T. Ø., Jakobsen, S. F., Olesen, R., Iversen, K., Fogh, K., Bodilsen, J., Petersen, K. T., Larsen, L., Madsen, L. W., Lindvig, S. O., … ENFORCE Study Group. (2023). Impact of age and comorbidities on SARS-CoV-2 vaccine-induced T cell immunity. Communications Medicine, 3(1), 58. https://doi.org/10.1038/s43856-023-00277-x

Dobaño, C., Ramírez-Morros, A., Alonso, S., Rubio, R., Ruiz-Olalla, G., Vidal-Alaball, J., Macià, D., Catalina, Q. M., Vidal, M., Casanovas, A. F., Prados de la Torre, E., Barrios, D., Jiménez, A., Zanoncello, J., Melero, N. R., Carolis, C., Izquierdo, L., Aguilar, R., Moncunill, G., & Ruiz-Comellas, A. (2022). Sustained seropositivity up to 20.5 months after COVID-19. *BMC Medicine*, *20*(1), 379. https://doi.org/10.1186/s12916-022-02570-3

Echeverría, G., Guevara, Á., Coloma, J., Ruiz, A. M., Vasquez, M. M., Tejera, E., & de Waard, J. H. (2021). Pre-existing T-cell immunity to SARS-CoV-2 in unexposed healthy controls in Ecuador, as detected with a COVID-19 Interferon-Gamma Release Assay. International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases, 105, 21–25. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.034

Fernandes, M. da C. R., Vasconcelos, G. S., de Melo, A. C. L., Matsui, T. C., Caetano, L. F., de Carvalho Araújo, F. M., & Fonseca, M. H. G. (2023). Influence of age, gender, previous SARS-CoV-2 infection, and pre-existing diseases in antibody response after COVID-19 vaccination: A review. Molecular Immunology, 156, 148–155. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2023.03.007

Franco-Luiz, A. P. M., Fernandes, N. M. G. S., Silva, T. B. de S., Bernardes, W. P. de O. S., Westin, M. R., Santos, T. G., Fernandes, G. da R., Simões, T. C., Silva, E. F. E., Gava, S. G., Alves, B. M., de Carvalho Melo, M., da Silva-Pereira, R. A., Alves, P. A., & Fonseca, C. T. (2023). Longitudinal study of humoral immunity against SARS-CoV-2 of health professionals in Brazil: the impact of booster dose and reinfection on antibody dynamics. Frontiers in Immunology, 14, 1220600. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1220600

García-Mendoza, María, Merino-Sarmiento, Nancy, De Lucio-Burga, Gabriel, Fernández-Navarro, Manuel G., Pampa-Espinoza, Luis, Solis-Sánchez, Gilmer, Huaringa-Núñez,

Maribel, Palomino-Rodríguez, Miryam, Ríos-Monteza, Pamela, & Solari, Lely. (2022). Anticuerpos IgG determinados mediante ELISA desarrollados con antígenos de linajes Wuhan y Lambda en trabajadores de salud vacunados con BBIBP-CORV. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 39(3), 267-273. https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2022.393.10875

Gautam, A., Donohue, D., Hoke, A., Miller, S. A., Srinivasan, S., Sowe, B., Detwiler, L., Lynch, J., Levangie, M., Hammamieh, R., & Jett, M. (2019). Investigating gene expression profiles of whole blood and peripheral blood mononuclear cells using multiple collection and processing methods. PloS One, 14(12), e0225137. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225137

Geers, D., Shamier, M. C., Bogers, S., den Hartog, G., Gommers, L., Nieuwkoop, N. N., Schmitz, K. S., Rijsbergen, L. C., van Osch, J. A. T., Dijkhuizen, E., Smits, G., Comvalius, A., van Mourik, D., Caniels, T. G., van Gils, M. J., Sanders, R. W., Oude Munnink, B. B., Molenkamp, R., de Jager, H. J., … GeurtsvanKessel, C. H. (2021). SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. Science Immunology, 6(59), eabj1750. https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abj1750

González, S., Olszevicki, S., Gaiano, A., Salazar, M., Regairaz, L., Varela Baino, A. N., Bartel, E., Varela, T., González Martínez, V. V., Pesci, S., Marín, L., Irassar, J. I., Ceriani, L., Garcia, E., Kreplak, N., Estenssoro, E., & Marsico, F. (2023). Protection of homologous and heterologous boosters after primary schemes of rAd26-rAd5, ChAdOx1 nCoV-19 and BBIBP-CorV during the omicron outbreak in adults of 50 years and older in Argentina: a test-negative case-control study. Lancet Regional Health. Americas, 27(100607), 100607. https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100607

Graça, D., Brglez, V., Allouche, J., Zorzi, K., Fernandez, C., Teisseyre, M., Cremoni, M., Benzaken, S., Pradier, C., & Seitz-Polski, B. (2023). Both humoral and cellular immune responses to SARS-CoV-2 are essential to prevent infection: A prospective study in a working vaccinated population from southern France. Journal of Clinical Immunology, 43(8), 1724–1739. https://doi.org/10.1007/s10875-023-01558-9

Guo, L., Zhang, Q., Gu, X., Ren, L., Huang, T., Li, Y., Zhang, H., Liu, Y., Zhong, J., Wang, X., Chen, L., Zhang, Y., Li, D., Fang, M., Xu, L., Li, H., Wang, Z., Li, H., Bai, T., … Wang, J. (2024). Durability and cross-reactive immune memory to SARS-CoV-2 in individuals 2 years after recovery from COVID-19: a longitudinal cohort study. *The Lancet. Microbe*, *5*(1), e24–e33. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00255-0

Hall, V., Foulkes, S., Insalata, F., Kirwan, P., Saei, A., Atti, A., Wellington, E., Khawam, J., Munro, K., Cole, M., Tranquillini, C., Taylor-Kerr, A., Hettiarachchi, N., Calbraith, D., Sajedi, N., Milligan, I., Themistocleous, Y., Corrigan, D., Cromey, L., … SIREN Study Group. (2022). Protection against SARS-CoV-2 after covid-19 vaccination and previous infection. The New England Journal of Medicine, 386(13), 1207–1220. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2118691

Hasan, Z., Masood, K. I., Qaiser, S., Khan, E., Hussain, A., Ghous, Z., Khan, U., Yameen, M., Hassan, I., Nasir, M. I., Qazi, M. F., Memon, H. A., Ali, S., Baloch, S., Bhutta, Z. A., Veldhoen, M., Pedro Simas, J., Mahmood, S. F., Ghias, K., & Hussain, R. (2023).

Investigating the impact of prior COVID-19 on IgG antibody and interferon γ responses after BBIBP-CorV vaccination in a disease endemic population: A prospective observational study. Health Science Reports, 6(9), e1521. https://doi.org/10.1002/hsr2.1521

Heo, J. Y., Seo, Y. B., Kim, E. J., Lee, J., Kim, Y. R., Yoon, J. G., Noh, J. Y., Cheong, H. J., Kim, W. J., Yoon, S.-Y., Choi, J.-Y., Lee, Y. J., Lee, H. W., Kim, S. S., Kim, B., & Song, J. Y. (2022). COVID-19 vaccine type-dependent differences in immunogenicity and inflammatory response: BNT162b2 and ChAdOx1 nCoV-19. Frontiers in Immunology, 13, 975363. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.975363

Hueda-Zavaleta, M., Gómez de la Torre, J. C., Cáceres-Del Aguila, J. A., Muro-Rojo, C., De La Cruz-Escurra, N., Arenas Siles, D., Minchón-Vizconde, D., Copaja-Corzo, C., Bardales-Silva, F., Benites-Zapata, V. A., & Rodriguez-Morales, A. J. (2022). Evaluation of the humoral immune response of a heterologous vaccination between BBIBP-CorV and BNT162b2 with a temporal separation of 7 months, in Peruvian healthcare workers with and without a history of SARS-CoV-2 infection. Vaccines, 10(4), 502. https://doi.org/10.3390/vaccines10040502

Hvidt, A. K., Guo, H., Andersen, R., Lende, S. S. F., Vibholm, L. K., Søgaard, O. S., Schleimann, M. H., Russell, V., Cheung, A. M., Paramithiotis, E., Olesen, R., & Tolstrup, M. (2023). Long-term humoral and cellular immunity after primary SARS-CoV-2 infection: a 20-month longitudinal study. BMC Immunology, 24(1). https://doi.org/10.1186/s12865-023-00583-y

Ikutani, M., Yanagibashi, T., Ogasawara, M., Tsuneyama, K., Yamamoto, S., Hattori, Y., Kouro, T., Itakura, A., Nagai, Y., Takaki, S., & Takatsu, K. (2012). Identification of innate IL-5-producing cells and their role in lung eosinophil regulation and antitumor immunity. The Journal of Immunology, 188(2), 703–713. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1101270

Jensen, A., Stromme, M., Moyassari, S., Chadha, A. S., Tartaglia, M. C., Szoeke, C., & Ferretti, M. T. (2022). COVID-19 vaccines: Considering sex differences in efficacy and safety. Contemporary Clinical Trials, 115(106700), 106700. https://doi.org/10.1016/j.cct.2022.106700

Karaba, A. H., Zhu, X., Benner, S. E., Akinde, O., Eby, Y., Wang, K. H., Saraf, S., Garonzik-Wang, J. M., Klein, S. L., Bailey, J. R., Cox, A. L., Blankson, J. N., Durand, C. M., Segev, D. L., Werbel, W. A., & Tobian, A. A. R. (2022). Higher proinflammatory cytokines are associated with increased antibody titer after a third dose of SARS-CoV-2 vaccine in solid organ transplant recipients. Transplantation, 106(4), 835–841. https://doi.org/10.1097/tp.0000000000004057

Karl, T., Schuster, A., Stangassinger, L. M., Stiboller, T., Cadamuro, J., & Oostingh, G. J. (2023). Factors affecting SARS-CoV-2 IgG production after vaccination and/or disease: A large-scale seroprevalence study. *Vaccines*, *11*(10). https://doi.org/10.3390/vaccines11101615

Keeton, R., Tincho, M. B., Ngomti, A., Baguma, R., Benede, N., Suzuki, A., Khan, K., Cele, S., Bernstein, M., Karim, F., Madzorera, S. V., Moyo-Gwete, T., Mennen, M., Skelem,

S., Adriaanse, M., Mutithu, D., Aremu, O., Stek, C., du Bruyn, E., … Riou, C. (2022). T cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron. Nature, 603(7901), 488–492. https://doi.org/10.1038/s41586-022-04460-3

Konuma, T., Hamatani-Asakura, M., Nagai, E., Adachi, E., Kato, S., Isobe, M., Monna-Oiwa, M., Takahashi, S., Yotsuyanagi, H., & Nannya, Y. (2024). Cellular and humoral immunogenicity against SARS-CoV-2 vaccination or infection is associated with the memory phenotype of T- and B-lymphocytes in adult allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. International Journal Of Hematology, 120(2), 229-240. https://doi.org/10.1007/s12185-024-03802-3

Korosec, C. S., Dick, D. W., Moyles, I. R., & Watmough, J. (2024). SARS-CoV-2 booster vaccine dose significantly extends humoral immune response half-life beyond the primary series. Scientific Reports, 14(1), 8426. https://doi.org/10.1038/s41598-024-58811-3

Lash, G. E., & Pinto, L. A. (2010). Multiplex cytokine analysis technologies. Expert Review of Vaccines, 9(10), 1231–1237. https://doi.org/10.1586/erv.10.110

Li, Z., Yi, Y., Luo, X., Xiong, N., Liu, Y., Li, S., Sun, R., Wang, Y., Hu, B., Chen, W., Zhang, Y., Wang, J., Huang, B., Lin, Y., Yang, J., Cai, W., Wang, X., Cheng, J., Chen, Z., … Ye, F. (2020). Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. Journal of Medical Virology, 92(9), 1518–1524. https://doi.org/10.1002/jmv.25727

Lin, D., Liu, L., Zhang, M., Hu, Y., Yang, Q., Guo, J., Dai, Y., Xu, Y., Cai, Y., Chen, X., Huang, K., & Zhang, Z. (2020). Evaluations of the serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology, 39(12), 2271–2277. https://doi.org/10.1007/s10096-020-03978-6

Liu, H., Zhang, J., Cai, J., Deng, X., Peng, C., Chen, X., Yang, J., Wu, Q., Chen, X., Chen, Z., Zheng, W., Viboud, C., Zhang, W., Ajelli, M., & Yu, H. (2021). Herd immunity induced by COVID-19 vaccination programs and suppression of epidemics caused by the SARS-CoV-2 Delta variant in China. En medRxiv. https://doi.org/10.1101/2021.07.23.21261013

Liu, J., Cao, S., Kim, S., Chung, E. Y., Homma, Y., Guan, X., Jimenez, V., & Ma, X. (2005). Interleukin-12: an update on its immunological activities, signaling and regulation of gene expression. Current Immunology Reviews, 1(2), 119–137. https://doi.org/10.2174/1573395054065115

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods (San Diego, Calif.), 25(4), 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Lopera, T. J., Chvatal-Medina, M., Flórez-Álvarez, L., Zapata-Cardona, M. I., Taborda, N. A., Rugeles, M. T., & Hernandez, J. C. (2022). Humoral Response to BNT162b2

Vaccine Against SARS-CoV-2 Variants Decays After Six Months. Frontiers In Immunology, 13. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.879036

López, L., Portugal, W., Huamán, K., & Obregón, C. (2022). Efectividad de vacunas COVID-19 y riesgo de mortalidad en Perú: Un estudio poblacional de cohortes pareadas. *Anales de la Facultad de Medicina (Lima, Peru : 1990)*, *83*(2), 87–94. https://doi.org/10.15381/anales.v83i2.21531

Lopez-Gomez, A., Pelaez-Prestel, H. F., & Juarez, I. (2023). Approaches to evaluate the specific immune responses to SARS-CoV-2. Vaccine, 41(43), 6434–6443. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.09.033

Makri, E., Charvalos, E., Stavropoulou, E., Skanavis, C., Lagiou, A., & Barbounis, A. (2024). Immunological insights: A multicenter longitudinal study on humoral response to COVID-19 vaccines in Greece. *Acta Microbiologica Hellenica*, *69*(2), 101–113. https://doi.org/10.3390/amh69020011

Malani, A., Aiyar, J., Sant, A., Kamran, N., Mohanan, M., Taneja, S., Woda, B., Zhao, W., & Acharya, A. (2024). Comparing population-level humoral and cellular immunity to SARS-Cov-2 in Bangalore, India. Scientific Reports, 14(1). https://doi.org/10.1038/s41598-024-54922-z

Mallone, R., Mannering, S. I., Brooks-Worrell, B. M., Durinovic-Belló, I., Cilio, C. M., Wong, F. S., Schloot, N. C., & T-Cell Workshop Committee, Immunology of Diabetes Society. (2011). Isolation and preservation of peripheral blood mononuclear cells for analysis of islet antigen-reactive T cell responses: position statement of the T-Cell Workshop Committee of the Immunology of Diabetes Society. Clinical and Experimental Immunology, 163(1), 33–49. https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04272.x

Marchevsky, N. G., Li, G., Aley, P., Costa Clemens, S. A., Barrett, J. R., Belij-Rammerstorfer, S., Bibi, S., Clutterbuck, E., Dold, C., Felle, S., Flaxman, A., Folegatti, P., Jenkin, D., Gilbert, S., Kelly, S., Lambe, T., Plested, E., Ramasamy, M., Singh, N., … Oxford COVID Vaccine Trial Group. (2022). An exploratory analysis of the response to ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in males and females. *EBioMedicine*, *81*(104128), 104128. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104128

Matsumoto, N., Sasaki, A., Kadowaki, T., Mitsuhashi, T., Takao, S., & Yorifuji, T. (2024). Longitudinal antibody dynamics after COVID-19 vaccine boosters based on prior infection status and booster doses. *Scientific Reports*, *14*(1), 4564. https://doi.org/10.1038/s41598-024-55245-9

Megha, K. B., Joseph, X., Akhil, V., & Mohanan, P. V. (2021). Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 91(153712), 153712. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153712

Méndez, C., Peñaloza, H. F., Schultz, B. M., Piña-Iturbe, A., Ríos, M., Moreno-Tapia, D., Pereira-Sánchez, P., Leighton, D., Orellana, C., Covarrubias, C., Gálvez, N. M. S., Soto, J. A., Duarte, L. F., Rivera-Pérez, D., Vázquez, Y., Cabrera, A., Bustos, S.,

Iturriaga, C., Urzua, M., … Kalergis, A. M. (2023). Humoral and cellular response induced by a second booster of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in adults. *EBioMedicine*, *91*(104563), 104563. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104563

Menges, D., Zens, K. D., Ballouz, T., Caduff, N., Llanas-Cornejo, D., Aschmann, H. E., Domenghino, A., Pellaton, C., Perreau, M., Fenwick, C., Pantaleo, G., Kahlert, C. R., Münz, C., Puhan, M. A., & Fehr, J. S. (2022). Heterogenous humoral and cellular immune responses with distinct trajectories post-SARS-CoV-2 infection in a population-based cohort. Nature Communications, 13(1), 4855. https://doi.org/10.1038/s41467-022-32573-w

MINSA. (2024). Repositorio Único Nacional de Información en Salud - Ministerio de Salud. Ministerio de Salud (MINSA). https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/vacunas-covid19.asp (Consultado: el 17 de noviembre de 2024).

Misra, P., Garg, P. K., Awasthi, A., Kant, S., Rai, S. K., Ahmad, M., Guleria, R., Deori, T. J., Mandal, S., Jaiswal, A., Gongal, G., Vishwakarma, S., Bairwa, M., Kumar, R., Haldar, P., & Binayke, A. (2023). Cell-mediated immunity (CMI) for SARS-CoV-2 infection among the general population of north India: A cross-sectional analysis from a sub-sample of a large Sero-epidemiological study. *Cureus*, *15*(11), e48824. https://doi.org/10.7759/cureus.48824

Möbs, C., & Schmidt, T. (2016). Research techniques made simple: Monitoring of T-cell subsets using the ELISPOT assay. The Journal of Investigative Dermatology, 136(6), e55-9. https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.04.009

Montero, S., Urrunaga-Pastor, D., Soto-Becerra, P., Cvetkovic-Vega, A., Guillermo-Roman, M., Figueroa-Montes, L., Sagástegui, A. A., Alvizuri-Pastor, S., Contreras-Macazana, R. M., Apolaya-Segura, M., Díaz-Vélez, C., & Maguiña, J. L. (2023). Humoral response after a BNT162b2 heterologous third dose of COVID-19 vaccine following two doses of BBIBP-CorV among healthcare personnel in Peru. Vaccine: X, 14(100311), 100311. https://doi.org/10.1016/j.jvacx.2023.100311

Moss, P. (2022). The T cell immune response against SARS-CoV-2. Nature Immunology, 23(2), 186–193. https://doi.org/10.1038/s41590-021-01122-w

Moudgil, K. D., & Choubey, D. (2011). Cytokines in autoimmunity: role in induction, regulation, and treatment. Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research, 31(10), 695–703. https://doi.org/10.1089/jir.2011.0065

Nesamari, R., Omondi, M. A., Baguma, R., Höft, M. A., Ngomti, A., Nkayi, A. A., Besethi, A. S., Magugu, S. F. J., Mosala, P., Walters, A., Clark, G. M., Mennen, M., Skelem, S., Adriaanse, M., Grifoni, A., Sette, A., Keeton, R. S., Ntusi, N. A. B., Riou, C., & Burgers, W. A. (2024). Post-pandemic memory T cell response to SARS-CoV-2 is durable, broadly targeted, and cross-reactive to the hypermutated BA.2.86 variant. Cell Host & Microbe, 32(2), 162-169.e3. https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.12.003

Odak, I., Riemann, L., Sandrock, I., Cossmann, A., Ramos, G. M., Hammerschmidt, S. I., Ritter, C., Friedrichsen, M., Hassan, A., Dopfer-Jablonka, A., Stankov, M. V., Weskamm, L. M., Addo, M. M., Ravens, I., Willenzon, S., Schimrock, A., Ristenpart, J., Janssen, A., Barros-Martins, J., … Förster, R. (2024). Systems biology analysis reveals distinct molecular signatures associated with immune responsiveness to the BNT162b COVID-19 vaccine. EBioMedicine, 99(104947), 104947. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104947

Oliver, M. A., Meredith, R. T., Smith, B. R., Bermingham, M. D., Brackett, N. F., & Chapman, M. D. (2022). Longitudinal T cell responses against ancestral, Delta, and Omicron SARS-CoV-2 variants determined by rapid cytokine release assay in whole blood. ImmunoHorizons, 6(6), 398–407. https://doi.org/10.4049/immunohorizons.2200044

Orlandi, C., Stefanetti, G., Barocci, S., Buffi, G., Diotallevi, A., Rocchi, E., Ceccarelli, M., Peluso, S., Vandini, D., Carlotti, E., Magnani, M., Galluzzi, L., & Casabianca, A. (2023). Comparing heterologous and homologous COVID-19 vaccination: A longitudinal study of antibody decay. Viruses, 15(5). https://doi.org/10.3390/v15051162

Pareja Cruz, Arturo, Luque Espino, Julio César, Navarrete Mejía, Pedro Javier, de León Delgado, Joel, & Gonzáles Moscoso, Jesús Demóstenes. (2022). Respuesta inmune humoral a cuatro vacunas contra el SARS-CoV-2 en profesionales de la salud. Horizonte Médico (Lima), 22(2), e1937. Epub 07 de julio de 2022. https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2022.v22n2.06

Petrone, L., Petruccioli, E., Vanini, V., Cuzzi, G., Najafi Fard, S., Alonzi, T., Castilletti, C., Palmieri, F., Gualano, G., Vittozzi, P., Nicastri, E., Lepore, L., Antinori, A., Vergori, A., Caccamo, N., Cantini, F., Girardi, E., Ippolito, G., Grifoni, A., & Goletti, D. (2021). A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 27(2), 286.e7-286.e13. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.09.051

Petrone, L., Sette, A., De Vries, R. D., & Goletti, D. (2023). The Importance of Measuring SARS-CoV-2-Specific T-Cell Responses in an Ongoing Pandemic. Pathogens, 12(7), 862. https://doi.org/10.3390/pathogens12070862

Poluektov, Y., George, M., Daftarian, P., & Delcommenne, M. C. (2021). Assessment of SARS- CoV-2 specific CD4(+) and CD8 (+) T cell responses using MHC class I and II tetramers. Vaccine, 39(15), 2110–2116. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.03.008

Pons, M. J., Ymaña, B., Mayanga-Herrera, A., Sáenz, Y., Alvarez-Erviti, L., Tapia-Rojas, S., Gamarra, R., Blanco, A. B., Moncunill, G., & Ugarte-Gil, M. F. (2021). Cytokine profiles associated with worse prognosis in a hospitalized Peruvian COVID-19 cohort. Frontiers in Immunology, 12, 700921. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.700921

Regev-Yochay, G., Lustig, Y., Joseph, G., Gilboa, M., Barda, N., Gens, I., Indenbaum, V., Halpern, O., Katz-Likvornik, S., Levin, T., Kanaaneh, Y., Asraf, K., Amit, S., Rubin, C., Ziv, A., Koren, R., Mandelboim, M., Tokayer, N. H., Meltzer, L., … Kreiss, Y. (2023). Correlates of protection against COVID-19 infection and intensity of symptomatic disease in vaccinated individuals exposed to SARS-CoV-2 in households in Israel

(ICoFS): a prospective cohort study. The Lancet. Microbe, 4(5), e309–e318. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00012-5

Safont, G., Villar-Hernández, R., Smalchuk, D., Stojanovic, Z., Marín, A., Lacoma, A., Pérez-Cano, C., López-Martínez, A., Molina-Moya, B., Solis, A. J., Arméstar, F., Matllo, J., Díaz-Fernández, S., Romero, I., Casas, I., Strecker, K., Preyer, R., Rosell, A., Latorre, I., & Domínguez, J. (2024). Measurement of IFN-γ and IL-2 for the assessment of the cellular immunity against SARS-CoV-2. Scientific Reports, 14(1). https://doi.org/10.1038/s41598-024-51505-w

Salinas-Martínez, A. M., Rodríguez-Vidales, E. P., Garza-Carrillo, D., Robles-Rodríguez, O. A., Oca-Luna, R. M. de, & Marroquín-Escamilla, A. R. (2023). Comparison of the effectiveness of four SARS-COV-2 v accines in Nuevo Leon, Mexico: A test-negative control study. Atencion Primaria, 55(5), 102606. https://doi.org/10.1016/j.aprim.2023.102606

Santos-Rebouças, C. B., Ferreira, C. D. S., Nogueira, J. de S., Brustolini, O. J., de Almeida, L. G. P., Gerber, A. L., Guimarães, A. P. de C., Piergiorge, R. M., Struchiner, C. J., Porto, L. C., & de Vasconcelos, A. T. R. (2024). Immune response stability to the SARS-CoV-2 mRNA vaccine booster is influenced by differential splicing of HLA genes. Scientific Reports, 14(1), 8982. https://doi.org/10.1038/s41598-024-59259-1

Schwarz, M., Mzoughi, S., Lozano-Ojalvo, D., Tan, A. T., Bertoletti, A., & Guccione, E. (2022a). T cell immunity is key to the pandemic endgame: How to measure and monitor it. Current Research in Immunology, 3, 215–221. https://doi.org/10.1016/j.crimmu.2022.08.004

Schwarz, M., Torre, D., Lozano-Ojalvo, D., Tan, A. T., Tabaglio, T., Mzoughi, S., Sanchez-Tarjuelo, R., Le Bert, N., Lim, J. M. E., Hatem, S., Tuballes, K., Camara, C., Lopez-Granados, E., Paz-Artal, E., Correa-Rocha, R., Ortiz, A., Lopez-Hoyos, M., Portoles, J., Cervera, I., … Guccione, E. (2022b). Rapid, scalable assessment of SARS-CoV-2 cellular immunity by whole-blood PCR. Nature Biotechnology, 40(11), 1680–1689. https://doi.org/10.1038/s41587-022-01347-6

Sekine, T., Perez-Potti, A., Rivera-Ballesteros, O., Strålin, K., Gorin, J.-B., Olsson, A., Llewellyn-Lacey, S., Kamal, H., Bogdanovic, G., Muschiol, S., Wullimann, D. J., Kammann, T., Emgård, J., Parrot, T., Folkesson, E., Karolinska COVID-19 Study Group, Rooyackers, O., Eriksson, L. I., Henter, J.-I., … Buggert, M. (2020). Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. Cell, 183(1), 158-168.e14. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.017

Siddiqui, A., Adnan, A., Abbas, M., Taseen, S., Ochani, S., & Essar, M. Y. (2022). Revival of the heterologous prime-boost technique in COVID-19: An outlook from the history of outbreaks. Health Science Reports, 5(2). https://doi.org/10.1002/hsr2.531

Soto, A., Charca-Rodríguez, F. de M., Pareja-Medina, M., Fernandez-Navarro, M., Altamirano-Cáceres, K., Sierra Chávez, E., Raraz-Vidal, J., Cabezudo-Pillpe, N., Velarde-Rodríguez, M., & Alcántara-Díaz, A. (2021). Evaluación de la respuesta humoral inducida por la vacuna BBIBP-CorV mediante la determinación de anticuerpos neutralizantes en personal sanitario peruano. Revista peruana de medicina

experimental y salud publica, 38(4), 493–500. https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.384.9244

Spolski, R., & Leonard, W. J. (2010). IL-21 and T follicular helper cells. International Immunology, 22(1), 7–12. https://doi.org/10.1093/intimm/dxp112

Swadźba, J., Panek, A., Wąsowicz, P., Anyszek, T., & Martin, E. (2024). High concentration of anti-SARS-CoV-2 antibodies 2 years after COVID-19 vaccination stems not only from boosters but also from widespread, often unrecognized, contact with the virus. *Vaccines*, *12*(5), 471. https://doi.org/10.3390/vaccines12050471

Tarke, A., Sidney, J., Methot, N., Yu, E. D., Zhang, Y., Dan, J. M., Goodwin, B., Rubiro, P., Sutherland, A., Wang, E., Frazier, A., Ramirez, S. I., Rawlings, S. A., Smith, D. M., da Silva Antunes, R., Peters, B., Scheuermann, R. H., Weiskopf, D., Crotty, S., … Sette, A. (2021). Impact of SARS-CoV-2 variants on the total CD4+ and CD8+ T cell reactivity in infected or vaccinated individuals. Cell Reports. Medicine, 2(7), 100355. https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100355

Telenti, A., Arvin, A., Corey, L., Corti, D., Diamond, M. S., García-Sastre, A., Garry, R. F., Holmes, E. C., Pang, P. S., & Virgin, H. W. (2021). After the pandemic: perspectives on the future trajectory of COVID-19. Nature, 596(7873), 495–504. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03792-w

Törnell, A., Grauers Wiktorin, H., Ringlander, J., Arabpour, M., Nilsson, M. R., Nilsson, S., Kiffin, R., Lindh, M., Lagging, M., Hellstrand, K., & Martner, A. (2022). Rapid cytokine release assays for analysis of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2-specific T cells in whole blood. The Journal of Infectious Diseases, 226(2), 208–216. https://doi.org/10.1093/infdis/jiac005

Trevisan, C., Raparelli, V., Malara, A., Abbatecola, A. M., Noale, M., Palmieri, A., Fedele, G., Di Lonardo, A., Leone, P., Schiavoni, I., Stefanelli, P., Volpato, S., Antonelli Incalzi, R., Onder, G., & GeroCovid Vax working group. (2023). Sex differences in the efficacy and safety of SARS-CoV-2 vaccination in residents of long-term care facilities: insights from the GeroCovid Vax study. Internal and Emergency Medicine, 18(5), 1337–1347. https://doi.org/10.1007/s11739-023-03283-y

Turner, M. D., Nedjai, B., Hurst, T., & Pennington, D. J. (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, 1843(11), 2563-2582. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.05.014

van Dorst, M. M. A. R., Pyuza, J. J., Nkurunungi, G., Kullaya, V. I., Smits, H. H., Hogendoorn, P. C. W., Wammes, L. J., Everts, B., Elliott, A. M., Jochems, S. P., & Yazdanbakhsh, M. (2024). Immunological factors linked to geographical variation in vaccine responses. Nature Reviews. Immunology, 24(4), 250–263. https://doi.org/10.1038/s41577-023-00941-2

Van Ommen, R., Vredendaal, A. E. C. M., & Savelkoul, H. F. J. (1994). Prolonged In Vivo IL-4 Treatment Inhibits Antigen-Specific IgG1 and IgE Formation. Scandinavian Journal Of Immunology, 40(1), 1-9. https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1994.tb03425.x

Vardhana, S., Baldo, L., Morice, W. G., 2nd, & Wherry, E. J. (2022). Understanding T cell responses to COVID-19 is essential for informing public health strategies. Science Immunology, 7(71), eabo1303. https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abo1303

Vogel, E., Kocher, K., Priller, A., Cheng, C., Steininger, P., Liao, B., Körber, N., Willmann, A., Irrgang, P., Held, J., Moosmann, C., Schmidt, V., Beileke, S., Wytopil, M., Heringer, S., Bauer, T., Brockhoff, R., Jeske, S., Mijocevic, H., . . . Tenbusch, M. (2022). Dynamics of humoral and cellular immune responses after homologous and heterologous SARS-CoV-2 vaccination with ChAdOx1 nCoV-19 and BNT162b2. EBioMedicine, 85, 104294. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104294

Wang, C., Yang, S., Duan, L., Du, X., Tao, J., Wang, Y., Yang, J., Lv, Y., Li, J., Zhang, C., Wen, J., Zhu, Y., Chang, L., Wang, H., Wang, Q., & Zhao, W. (2022). Adaptive immune responses and cytokine immune profiles in humans following prime and boost vaccination with the SARS-CoV-2 CoronaVac vaccine. Virology Journal, 19(1). https://doi.org/10.1186/s12985-022-01957-1

Waters, R. S., Perry, J. S. A., Han, S., Bielekova, B., & Gedeon, T. (2018). The effects of interleukin-2 on immune response regulation. Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA, 35(1), 79–119. https://doi.org/10.1093/imammb/dqw021

Wright, T. M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. Frontiers In Bioscience, 2(4), d12-26. https://doi.org/10.2741/a171

Wu, X., Xu, K., Zhan, P., Liu, H., Zhang, F., Song, Y., & Lv, T. (2024). Comparative efficacy and safety of COVID-19 vaccines in phase III trials: a network meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, *24*(1), 234. https://doi.org/10.1186/s12879-023-08754-3

Zanza, C., Romenskaya, T., Manetti, A. C., Franceschi, F., La Russa, R., Bertozzi, G., Maiese, A., Savioli, G., Volonnino, G., & Longhitano, Y. (2022). Cytokine storm in COVID-19: Immunopathogenesis and therapy. Medicina (Kaunas, Lithuania), 58(2), 144. https://doi.org/10.3390/medicina58020144

Zheng, J., Deng, Y., Zhao, Z., Mao, B., Lu, M., Lin, Y., & Huang, A. (2022). Characterization of SARS- CoV-2-specific humoral immunity and its potential applications and therapeutic prospects. Cellular & Molecular Immunology, 19(2), 150–157. https://doi.org/10.1038/s41423-021-00774-w

Zhu, X., Gebo, K. A., Abraham, A. G., Habtehyimer, F., Patel, E. U., Laeyendecker, O., Gniadek, T. J., Fernandez, R. E., Baker, O. R., Ram, M., Cachay, E. R., Currier, J. S., Fukuta, Y., Gerber, J. M., Heath, S. L., Meisenberg, B., Huaman, M. A., Levine, A. C., Shenoy, A., … Tobian, A. A. R. (2023). Dynamics of inflammatory responses after SARS-CoV-2 infection by vaccination status in the USA: a prospective cohort study. The Lancet. Microbe, 4(9), e692–e703. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00171-4

Zimmermann, P., & Curtis, N. (2019). Factors that influence the immune response to vaccination. Clinical Microbiology Reviews, 32(2). https://doi.org/10.1128/CMR.00084-18

X. ANEXOS

Anexo I. Consentimiento Informado

Versión V1.0
Fecha: 2 de junio del 2023

Consentimiento Informado

Estudio: Optimización de la medición de la respuesta celular frente a SARS-CoV-2 y su vacunación

Instituciones de Investigación:
Universidad Científica del Sur, Instituto de Evaluación de Tecnologías en Salud e Investigación – EsSalud y Universidad Andina del Cusco

---

Investigadores: Maria J. Pons, Ana Mayanga, Javier Enciso-Benavides, Sayloc Tapia, Santiago Alvarez, Marlon Garcia Paita, Carlos Huamani, Jorge L. Maguiña, Diego Alonso Urrunaga, Virgilio Efrain Failoc.

Introducción:
Este estudio tiene como objetivo la medición de la respuesta celular (medición producción IFNg y IL-2) frente a la proteína S del SARS-CoV-2 mediante técnicas de citometría de flujo, multiplexado y molecular, con el objetivo adicional de observar el nivel de respuesta tiempo después de la vacunación frente a SARS-CoV-2 en un grupo de voluntarios.

Mencionar que su participación es completamente voluntaria; si no deseas participar no habrá ningún inconveniente, ni afectará de alguna forma en su trabajo. Lea toda la información que se le ofrece en este documento y haga todas las preguntas que necesite al personal que se lo está explicando, antes de tomar una decisión.

1. ¿Qué conoce sobre el COVID-19? ¿Por qué se realiza este estudio?
El coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), produce la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Es un virus nuevo, el cual se transmite muy rápidamente y que afecta a un número creciente de países a nivel mundial. La estrategia más usada a nivel de salud pública es la vacunación. Este estudio pretende encontrar cual es la mejor técnica para medir de forma más rápida si una persona tiene activación celular frente a SARS-CoV-2.

2. Si acepto participar, ¿Qué debo hacer?
Si acepta participar, se le tomará por única vez una (01) muestra de sangre venosa y se le extraerá 10ml, lo cual nos permitirá la cuantificación y cualificación de la respuesta celular mediante las 3 metodologías. Además, se le realizará un cuestionario para recabar información clínico-epidemiológica de interés para este estudio. Adicionalmente se le solicitarán sus datos personales y su teléfono celular y/o correo electrónico para enviarle sus resultados y/o completar cualquier información adicional necesaria para el estudio. Marca con una X:

☐ Si, quiero recibir los resultados de mi estudio

3. ¿Tendré beneficios por participar?
No hay beneficios del estudio, a parte de obtener los resultados y participar en la contribución de nuevo conocimiento del estudio.

4. ¿Existen riesgos por participar?
La venopunción para la toma de muestra de sangre es apenas dolorosa, se realiza con una aguja, y existe mínimo riesgo de que la herida se pueda infectar si no se mantiene la higiene adecuada. Si alguna pregunta le genera alguna incomodidad, usted es libre de contestarla o no.

5. ¿Qué gastos tendré si participo del estudio? ¿Me pagarán por participar?
Su participación en el estudio no le ocasionará gastos adicionales. No recibirá ningún pago por su participación en este estudio

6. ¿Se compartirán mis datos personales? Y ¿quiénes tendrán acceso a ellos?
El cuestionario recoge datos de identificación para poder registrar las pruebas realizadas y poder brindarle posteriormente su resultado y contactarlo para realizarle las preguntas que sean necesarias.

Sin embargo, el manejo de las bases de datos para análisis será de manera anónima, se registrará una codificación asignada a cada participante que no guarde relación con sus datos de identidad. Sólo los investigadores tendrán acceso a las bases de datos. Si los resultados son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participaron en este estudio.

7. ¿Puedo dejar de participar en cualquier momento, aún luego de haber aceptado?

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento.

8. ¿Qué harán con mis muestras?

La colección de muestra de sangre venosa será procesada en los laboratorios de cultivo celular de la Universidad Científica del Sur para ser utilizado en el presente estudio quenos permitirán entender mejor algunas características de la respuesta inmunológica frente al COVID-19.

9. ¿Quién(es) financia(n) la investigación?

El proyecto en su totalidad será financiado por la Universidad Cientifica del Sur y Prociencia.

10. ¿Puedo hablar con alguien si tengo dudas sobre el estudio o sobre mis derechos como participante de un estudio de investigación?

Para cualquier consulta acerca del estudio puede contactar con:

- Maria J Pons (telf 943356470) o al correo electrónico mpons@cientifica.edu.pe
- Ana Mayanga (telf 931 361 053) o al correo electrónico amayanga@cientifica.edu.pe

También puede contactarse con el Comité de Ética en Investigación (CEI) de la Universidad Científica del Sur al correo electrónico: ciei_ucsur@cientifica.edu.pe (El CEI es un grupo de personas que fiscaliza la conducta ética de los estudios de investigación. El CEI no forma parte del equipo del estudio. Todo lo que discuta con el CEI será confidencial).

Declaración y firmas:

He leído la hoja de información del Consentimiento Informado, y declaro haber recibido una explicación satisfactoria sobre los objetivos, procedimientos y finalidad del estudio. Se han respondido todas mis dudas y preguntas. Comprendo que mi decisión de participar es voluntaria y conozco mi derecho a retirar mi consentimiento cuando lo desee, sin que esto perjudique mi atención en EsSalud y con la única obligación de informar mi decisión al médico responsable del estudio.

Acepto participar en el estudio de respuesta celular SI ☐ NO ☐

Acepto almacenar mi muestra para estudios futuros SI ☐ NO ☐
(Aplicar sólo para sujetos a quienes se les colecto sangre venosa)

Nombre del participante	Firma	Fecha (___/___/_____)
Nombre del investigador	Firma	Fecha (/ /)

Anexo II. Cuestionario Clínico epidemiológico del Estudio

Cuestionario Clínico epidemiológico del estudio

Estimado participante, reciba el más cordial saludo de parte del equipo de investigadores. A continuación, se presentan preguntas que usted deberá contestar con total responsabilidad, indicando según sea el caso lo que se le solicita. Cada pregunta ha sido diseñada para recopilar información específica y necesaria, que permitirá complementar la información clínico-epidemiológica requerida en este estudio

SECCIÓN 1: DATOS GENERALES

DNI/CE	
FECHA DE NACIMIENTO	
EDAD (AÑOS)	
SEXO	__ Masculino __ No especificar __ Femenino

SECCIÓN 2: DATOS CLÍNICO – EPIDEMIOLÓGICO

1. **Talla (cm):** _____
2. **Peso (Kg):** _____
3. **¿Padece usted de alguna condición o enfermedad crónica? Marque TODAS las que crea conveniente.**

__ Hipertensión arterial crónica
__ Diabetes Mellitus
__ Obesidad
__ Enfermedad Pulmonar Crónica
__ Trasplante
__ Cáncer
__ Asma
__ Desnutrición crónica
__ Hipotiroidismo
__ VIH
__ Ninguno
__ Otros
(Especificar): _____

4. **¿Tiene algún antecedente de inmunosupresión?**

__ Diabetes Mellitus
__ Trasplante
__ Cáncer
__ Desnutrición crónica
__ VIH
__ Hepatitis viral
__ Tratamiento prolongado con glucocorticoides
__ Ninguno
__ Otros
(Especificar): _____

5. **Desde el inicio de la pandemia, ¿alguna vez ha sido diagnosticado de infección por SARS-CoV-2 o COVID-19?**

__ Sí (Pase a pregunta 6)
__ No

6. **¿Cuántos episodios de infección por COVID -19 tuvo?**

Número de episodios Sintomáticos	
Número de episodios Asintomáticos	
Total de episodios COVID	

7. Fecha del último episodio de infección COVID-19

_____

8. Cuantas dosis de la vacuna ha recibido

__ **3 dosis**
__ **4 dosis**
__ **5 dosis**
Otros: _____

9. Fecha de la última dosis de refuerzo: _____

10. Indicar pauta de vacunación recibida

__ Sinopharm
__ Sinopharm-Pfizer
__ Sinopharm-Pfizer- bivalente
__ Pfizer
__ Otro (Especificar): _____

¡MUCHAS GRACIAS POR SU TIEMPO!

Anexo III. Constancia de aprobación de proyecto del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Científica del Sur (CIEI-CIENTÍFICA).

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

CONSTANCIA N° 173-CIEI-CIENTÍFICA-2023

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Científica del Sur (CIEI-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido aprobado por el CIEI-CIENTÍFICA.

Código de registro:	**062-2023-PRO99**
Título:	**Optimización de la medición de la respuesta celular frente a SARS-CoV-2 y su vacunación**
Investigador(a):	**Maria Jesus Pons Casellas**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa internacional vigente.

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación arriba indicado es modificado de cualquier forma. Toda enmienda, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (hasta el 12 de enero del 2025), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 13 de julio de 2023

Mg. Cinthya Ruth Chipana Herquinio
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación

T //(511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
Asesoría al postulante
• Campus Villa 2 - Panamericana Sur km 19
• Calle Cantuarias 398, Miraflores

Anexo IV. Protocolo de extracción de ARN total de sangre entera

