

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Análisis de la respuesta inmune adaptativa al SARS-CoV-2 en poblaciones de riesgo tras la infección y la vacunación.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

María José Muñoz Gómez

DIRIGIDA POR

Salvador Resino García
Isidoro Martínez González

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Programa de Doctorado en Investigación Biomédica

TESIS DOCTORAL

**ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA AL SARS-CoV-2 EN
POBLACIONES DE RIESGO TRAS LA INFECCIÓN Y LA VACUNACIÓN**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

MARÍA JOSÉ MUÑOZ GÓMEZ

Laboratorio de infección viral e inmunidad, Instituto de Salud Carlos III

DIRECTORES

Dr. Salvador Resino García

Dr. Isidoro Martínez González

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, sin duda alguna tengo que abrir esta sección agradeciendo a las personas que han hecho posible que haya llegado este momento, mis directores de tesis. Desde aquella primera llamada hace ya 4 años en la que Salvador me brindó la oportunidad de unirme a su grupo de investigación, su dedicación y apoyo ha hecho que sea capaz de ser lo que soy hoy, en todos los aspectos en los que estos años me han hecho crecer. De igual manera, desde el momento en el que empecé a trabajar con Isidoro fui consciente de la suerte que suponía poder aprender de él y poder trabajar bajo su tutela. Os tengo que agradecer vuestro apoyo tanto a nivel académico, en el que habéis sido una fuente inagotable de aprendizaje, como a nivel humano, demostrándome a lo largo del exigente camino que supone realizar una tesis doctoral, que es fundamental sentirse ayudada y orientada, como me he sentido con vosotros.

Igualmente, aunque no he tenido la suerte de poder trabajar más con ellas, también quiero agradecer a Amanda, Nines y Verónica por estar siempre disponibles para ayudarnos en cualquier momento.

No puede faltar en estas páginas un agradecimiento inmenso a nuestro pozo particular, el 53.00.345. A todos los que habéis pasado por el despacho y los que aún estáis, muchas gracias, sois los que habéis hecho que estos 4 años hayan sido tan especiales. Pasar tantas horas juntos y que siga apeteciendo seguir quedando en nuestro tiempo libre para cualquier plan que se proponga dice mucho del grupo que tenemos. Gracias por todo, desde la ayuda en el trabajo hasta la ayuda personal, que no ha sido poca, habéis sido un punto de apoyo fundamental en este recorrido y espero que lo sepáis. Óscar, Raquel, Sergio, Sonia, Helena, Carlitos, Ana, Violeta, Manu, Cris, Marta, Rafa, Erick y Javi (si, lo he hecho en orden de puestos para no dejarme nadie atrás con los nervios y Javi como emérito del despacho tenía que estar presente), gracias otra vez por todo, ha sido un verdadero placer poder teneros como compañeros de trabajo y poder llegar a llamaros amigos. Dani y Rubén, aunque os libráis del 345, espero que sepáis que formáis parte de este agradecimiento por igual, gracias por ser los mejores post-doc que podíamos tener, tanto en el CNM como fuera de él.

Ana, aún recuerdo como fuiste la primera en recibirme con los brazos abiertos y después de 4 años, aún sigues estando ahí como el primer día, dispuesta a ayudar y siendo un rayito de luz desde que das los buenos días a primera hora de la mañana. Rafa, fuiste de los últimos en llegar, pero tardaste unos 5 minutos en convertirte en el terremoto del despacho. Gracias por las risas, los buenos momentos dentro y fuera del CNM y tu ayuda en los no tan buenos. Simplemente, gracias por llegar al grupo y a mi vida. Marta, quien me iba a decir a mí ese primer momento que te vi llegar algo perdida por los pasillos del CNM, que unos meses después ibas a ser uno de los apoyos más importantes que me iba a encontrar en este camino. Invertimos los roles, y hoy día eres tú mi apoyo en este camino. Gracias por ser como eres.

Igualmente, gracias a mis compañeros del despacho de VIH. Gracias Guiomar y Fer por tener siempre una palabra de apoyo y preocuparos por mí en los malos momentos y disfrutar conmigo de los buenos.

A Celia, difícil resumir con palabras lo que ha supuesto tu apoyo durante estos años. No te incluyo en el 345 no porque haga ya unos meses que nos abandonaste, sino porque ya hace más de 3 años que en mi vida has sido mucho más que la compañera de la mesa de la izquierda. Has sido mi persona más importante durante todo este recorrido, te doy las gracias a ti y al destino por ponerte en mi camino. Agobios compartidos, batallas superadas, planes de desconexión, charlas infinitas, ... y aún sigues ahí como el primer día, siendo el mejor apoyo que alguien puede tener y la mejor amiga que alguien puede encontrar. Gracias por todo, por lo que dejamos atrás y por lo que sé que aún nos queda por delante.

A mis amigas, mis chicas PI, gracias por ser siempre una fuente de energía cada vez que he necesitado recargarme en Sanlúcar.

A mis compañeros de biotecnología, mis amigos, gracias por todos estos años. Entramos juntos en el duro camino de la ciencia y aún con kilómetros de por medio y diferentes caminos y metas, aún os siento en este recorrido conmigo. Maribel, nos separan comunidades autónomas, rutinas y trabajo y aun así llevas ya 10 años siendo uno de los pilares más importante de mi vida. Gracias por ser la mejor compañera de clase, de piso y mejor amiga que alguien puede pedir.

Y, por último, GRACIAS a mi familia. Me faltarían palabras y hojas para poder agradecerlos todo, simplemente sé que si estoy aquí es gracias a vosotros. Gracias por intentar entender mi trabajo, aunque a día de hoy no os siga quedando claro. Gracias por apoyar cada una de mis decisiones desde hace tantos años. Simplemente, gracias por estar ahí en todo momento. Y mamá, gracias por hacer de mí lo que soy.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN	9
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1. Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2.....	21
1.1.1. Taxonomía.....	21
1.1.2. Epidemiología y características de la infección.....	22
1.1.3. Biología del SARS-CoV-2.....	26
1.1.4. Variantes del SARS-CoV-2	31
1.2. Vacunas frente a la COVID-19.....	34
1.3. Respuesta inmune humoral y celular frente al SARS-CoV-2.....	37
1.3.1. Respuesta inmune tras la infección	37
1.3.2. Respuesta inmune tras la vacunación.....	43
1.4. Poblaciones de riesgo	46
1.4.1. Mujeres embarazadas y sus bebés	46
1.4.2. Personas con VIH.....	49
1.4.3. Pacientes oncológicos	52
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	57
3. MÉTODOS.....	61
3.1. Población de estudio.....	63
3.1.1. Población 1: Mujeres embarazadas y sus bebés.....	63
3.1.2. Población 2: Personas con VIH.....	63
3.1.3. Población 3: Pacientes oncológicos	64
3.2. Ensayos de laboratorio.....	64
3.2.1. Clonación, expresión y purificación de los dominios de la proteína S y el receptor ACE2	64
3.2.2. Evaluación de la respuesta inmune.....	65
3.2.3. Análisis estadístico	66
4. RESULTADOS	67
4.1. Población 1: Mujeres embarazadas y sus bebés.....	69
4.1.1. Artículo 1 (201): Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later.....	69
4.1.2. Artículo 2 (202): IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother-child dyads after COVID-19 vaccination.....	81
4.2. Población 2: Personas con VIH.....	95

4.2.1. Artículo 3 (203): Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19.....	95
4.2.2. Artículo 4 (204): Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein in people with HIV after COVID-19 vaccination.	101
4.3. Población 3: Pacientes oncológicos	125
4.3.1. Artículo 5 (205): Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 vaccination during the Omicron wave: a prospective study	125
5. DISCUSIÓN.....	135
5.1. Respuesta inmune en poblaciones vulnerables.....	137
5.2. Respuesta inmune humoral frente a la infección por SARS-CoV-2.....	138
5.2.1. Mujeres embarazadas	138
5.2.2. Personas con VIH.....	141
5.3. Respuesta inmune humoral frente a la vacunación contra la COVID-19.....	142
5.3.1. Mujeres embarazadas	142
5.3.2. Personas con VIH.....	143
5.3.3. Pacientes oncológicos	144
5.4. Respuesta inmune humoral frente a las variantes del SARS-CoV-2 tras la vacunación contra la COVID-19: Ómicron.....	144
5.4.1. Mujeres embarazadas	144
5.4.2. Personas con VIH.....	145
5.4.3. Pacientes oncológicos	146
5.5. Respuesta inmune de células T frente a la vacunación contra la COVID-19.....	146
5.6. Sinopsis.....	147
5.7. Limitaciones de la investigación.....	148
6. CONCLUSIONES	151
7. BIBLIOGRAFÍA.....	157
8. RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS.....	181

ABREVIATURAS

2019-nCoV	Nuevo coronavirus 2019, del inglés <i>2019-novel coronavirus</i>
+ssRNA	ARN monocatenario de polaridad positiva, del inglés <i>positive sense single-stranded RNA</i>

A

Ab	Anticuerpo, del inglés <i>antibody</i>
Anti-SARS-CoV-2 S	Anticuerpos contra la proteína S del SARS-CoV-2
ARDS	Síndrome de dificultad respiratoria aguda, del inglés <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>

C

CD	Dominio conector, del inglés <i>connector domain</i>
CDC	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, del inglés <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
Células NK	Células “ <i>natural killer</i> ”
CH	Hélice central, del inglés <i>central helix</i>
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica
COVID-19	Enfermedad por coronavirus 2019, del inglés <i>Coronavirus disease - 19</i>
CT	Cola citoplasmática, del inglés <i>cytoplasmic tail</i>
CTD	Dominio C-terminal, del inglés <i>C-terminal domain</i>
CTRL	Control

D

DAMP	Patrones moleculares asociados al daño, del inglés <i>danger associated molecular patterns</i>
------	--

E

E	Proteína de la envuelta del SARS-CoV-2
ECA2/ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2/ <i>Angiotensin converting enzyme 2</i>
EMA	Agencia Europea de Medicamentos, del inglés <i>European Medicines Agency</i>

F

FP	Péptido de fusión, del inglés <i>fusion peptide</i>
FPPR	Región proximal del péptido de fusión, del inglés <i>fusion peptide proximal region</i>

G

G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos, del inglés <i>granulocyte-colony stimulating factor</i>
GLM	Modelos lineales generalizados, del inglés <i>Generalized Linear Models</i>
GLMM	Modelos lineales mixtos generalizados, del inglés <i>Generalized Linear Mixed Models</i>
GSDMD	Gasdermina-D

H

HC	Controles sanos, del inglés <i>healthy controls</i>
HR	Heptada repetida, del inglés <i>heptad repeat</i>

I

IARC	Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer, del inglés <i>International Agency for Research on Cancer</i>
ICTV	Comité Internacional de Taxonomía de Virus, del inglés <i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>
IEDB	Base de datos de epítomos inmunitarios, del inglés <i>Immune Epitope Database & Tools</i>
IFN	Interferón
IgA	Inmunoglobulina A
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IL	Interleuquina
IP-10	Proteína 10 inducida por IFN- γ , del inglés <i>IFN- γ inducible protein 10</i>
IRF3	Factor regulador del interferón 3, del inglés <i>Interferon regulatory factor 3</i>
ISG	Gen estimulado por interferón, del inglés <i>Interferon-stimulated gene</i>

J

JAK-STAT Janus cinasas-transductores de la señal y activadores de la transcripción, del inglés *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*

K

kb Kilobases

M

M Glicoproteína de membrana del SARS-CoV-2

MDA5 Gen 5 asociado a la diferenciación de melanoma, del inglés *melanoma differentiation-associated gen 5*

MDSCs Células mieloides supresoras, del inglés *Myeloid-derived suppressor cell*

MERS-CoV Coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio, del inglés *Middle East respiratory syndrome coronavirus*

MIP-1 α Proteína inflamatoria de macrófagos-1 alfa, del inglés *macrophage inflammatory protein-1 alpha*

N

N Proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2

NCBI Centro Nacional para la Información Biotecnológica, del inglés *National Center for Biotechnology Information*

NF- κ B Factor nuclear κ B, del inglés *nuclear factor kappa B*

Ni-NTA Níquel-nitrilotriacetato

NLR Receptores tipo NOD, del inglés *NOD-like receptor*

NLRP3 Proteína 3 con dominio pirina de la familia NLR, del inglés *NLR family pyrin domain containing 3*

Nsp Proteínas no estructurales, del inglés *non-structural proteins*

Nom Nomenclatura

NTD Dominio N-terminal, del inglés *N-terminal domain*

O

OMS Organización Mundial de la Salud

ONUSIDA Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA

ORF Marcos de lectura abiertos, del inglés *open reading frame*

P

PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos, del inglés <i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PIBF	Factor de bloqueo inducido por progesterona, del inglés <i>progesterone-induced blocking factor</i>
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones, del inglés <i>pattern recognition receptors</i>
PVIH	Personas con VIH
PWH	Personas con VIH, del inglés <i>people with HIV</i>

R

RBD	Dominio de unión al receptor, del inglés <i>receptor binding domain</i>
RE	Retículo endoplasmático
RIG-I	Gen inducible por ácido retinoico I, del inglés <i>retinoic acid-inducible gene I</i>
RLR	Receptores citoplasmáticos tipo RIG-I, del inglés <i>RIG-I-like receptor</i>

S

S	Glicoproteína de la espícula o <i>spike</i> del SARS-CoV-2
SARS-CoV	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo, del inglés <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>
SARS-CoV-2	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2, del inglés <i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>
SARSr-CoVs	Coronavirus relacionados con el síndrome respiratorio agudo grave, del inglés <i>Severe acute respiratory syndrome -related coronavirus</i>
SEOM	Sociedad Española de Oncología Médica
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

T

Th	Células T auxiliares, del inglés <i>helper T-cell</i>
TLR	Receptores de membrana tipo Toll, del inglés <i>Toll-like receptor</i>
TM	Dominio transmembrana, del inglés <i>transmembrane domain</i>
TMPRSS2	Proteasa transmembrana de serina 2, del inglés <i>transmembrane serine protease 2</i>

TNF- α Factor de necrosis tumoral alfa, del inglés *tumor necrosis factor-alpha*

TO-IS Tratamiento oncológico inmunosupresor

U

UCI Unidad de cuidados intensivos

V

VIH Virus de la inmunodeficiencia humana

VOC Variantes de preocupación, del inglés *variant of concern*

VOI Variantes de interés, del inglés *variant of interest*

RESUMEN

Introducción:

La pandemia causada por el SARS-CoV-2 ha generado una gran preocupación mundial en el ámbito de la salud pública. Es fundamental mantener un seguimiento continuo de la respuesta inmune frente a la infección por este virus, especialmente en las poblaciones vulnerables o con un mayor riesgo de desarrollar una respuesta inmune poco efectiva. Además, resulta esencial evaluar la eficacia de las estrategias de vacunación en estas poblaciones vulnerables ya que su efectividad puede variar según el estado de salud y la respuesta inmune de cada individuo.

Objetivos:

Estudiar la respuesta inmune al SARS-CoV-2 tras la infección y la vacunación contra la COVID-19 en grupos vulnerables, incluyendo mujeres embarazadas y sus bebés, personas con VIH y pacientes con cáncer, cuyo sistema inmunológico podría estar debilitado.

Resultados:

En **mujeres embarazadas** infectadas por SARS-CoV-2, se detectaron anticuerpos contra la proteína S (anti-SARS-CoV-2 S) en el suero de la mayoría de las madres al momento del parto, así como en muestras de sangre del cordón umbilical y en la leche materna, observándose niveles más altos en madres sintomáticas. Aunque los niveles de IgG permanecieron elevados en las madres, en los niños disminuyeron significativamente seis meses después del nacimiento. Tras la vacunación contra la COVID-19, se detectaron altos niveles de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S en sueros de madres y recién nacidos, pero estos niveles disminuyeron significativamente en los bebés a los 2-3 meses posparto. A los 2-3 meses posparto, los niveles de anticuerpos contra la variante Ómicron fueron más bajos en comparación con el linaje B.1, tanto en madres como en hijos. Tanto después de la infección como de la vacunación, se observó una correlación positiva entre los niveles de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 y su capacidad para inhibir la interacción S-ACE2.

Tras la infección por SARS-CoV-2, no se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de IgG anti-SARS-CoV-2 S ni en su capacidad para bloquear la unión S-ACE2 entre el grupo de **personas con VIH** (PVIH) y aquellas sin VIH. Después de la

vacunación contra la COVID-19, las PVIH mostraron una robusta respuesta humoral a la vacuna, comparable a la de los controles sin VIH, tanto frente al linaje B.1 como a la variante Ómicron. Sin embargo, la vacuna generó una respuesta humoral significativamente más débil contra la variante Ómicron en ambos grupos. Esta respuesta mejoró ligeramente tras la dosis de refuerzo.

En **pacientes oncológicos**, la respuesta humoral después de la segunda dosis de la vacuna fue significativamente más débil en aquellos que recibieron tratamiento inmunosupresor en comparación con los no tratados. Sin embargo, una dosis de refuerzo mejoró significativamente la respuesta en los pacientes tratados, igualándola con los no tratados. La respuesta humoral contra la variante Ómicron fue más débil que contra el linaje B.1 en ambos grupos. No obstante, la dosis de refuerzo redujo el porcentaje de no-respondedores al evaluar la capacidad de los anticuerpos para bloquear la interacción S-ACE2. En cuanto a la respuesta celular, los niveles fueron similares entre ambos grupos, tanto para B.1 como para Ómicron, después de la segunda dosis de la vacuna.

Conclusiones:

La investigación sobre la respuesta inmune al SARS-CoV-2 en diferentes poblaciones ha revelado patrones cruciales para entender la inmunidad frente al virus y la efectividad de las vacunas.

En mujeres embarazadas y sus bebés, se encontraron altos niveles de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 tras la infección y la vacunación. Se observó una transferencia efectiva de IgG anti-SARS-CoV-2 S de la madre al hijo, tanto en infecciones naturales como tras la vacunación, sugiriendo una inmunización pasiva de los neonatos. Sin embargo, los niveles disminuyeron significativamente en los recién nacidos a los pocos meses del parto.

La respuesta humoral en PVIH, tanto a la infección por SARS-CoV-2 como tras la vacunación, fue comparable a la de individuos sin VIH, mejorando notablemente tras la dosis de refuerzo. Este resultado indica que las PVIH no tienen un mayor riesgo de contraer esta infección y podrían responder bien a la vacunación.

En pacientes con cáncer, especialmente aquellos con tratamientos oncológicos inmunosupresores, la respuesta humoral fue inicialmente más débil. Sin embargo, mejoró significativamente con una dosis de refuerzo, alcanzando niveles similares a los pacientes sin tales tratamientos. Además, la respuesta celular se indujo eficazmente en ambos grupos después de la segunda dosis de la vacuna y no se vio afectada significativamente por el tratamiento oncológico.

La respuesta humoral a la variante Ómicron fue significativamente más baja en todas las poblaciones estudiadas, aunque mejoró con las dosis de refuerzo.

Nuestros hallazgos destacan la importancia de adaptar las estrategias de vacunación y el monitoreo de anticuerpos para proteger eficazmente a las poblaciones vulnerables. En particular, los datos subrayan la necesidad de administrar dosis de refuerzo y actualizar las vacunas para mejorar su efectividad contra las variantes emergentes del SARS-CoV-2. La durabilidad de la respuesta inmune y la eficacia de los regímenes individualizados deben evaluarse en futuros estudios.

ABSTRACT

Introduction:

The SARS-CoV-2 pandemic has raised major global public health concerns. Monitoring the immune response to SARS-CoV-2, especially in vulnerable populations, is essential. Furthermore, evaluating vaccination strategies in these populations is crucial, as their effectiveness may vary based on individual health and immune responses.

Objectives:

To study the immune response to SARS-CoV-2 following infection and vaccination against COVID-19 in vulnerable groups, including pregnant women and their infants, people with HIV, and cancer patients whose immune systems may be weakened.

Results:

In **pregnant women** infected with SARS-CoV-2, antibodies to protein S (anti-SARS-CoV-2 S) were detected in the serum of most mothers at delivery, as well as in cord blood and breast milk, with higher levels in symptomatic mothers. While maternal IgG levels remained high, they significantly decreased in infants six months after birth. Following COVID-19 vaccination, high anti-SARS-CoV-2 S antibody levels were detected in maternal and neonatal sera, but these levels decreased significantly in infants at 2-3 months postpartum. At 2-3 months postpartum, antibody levels against the Omicron variant were lower compared to the B.1 lineage in both mothers and infants. A positive correlation was observed between anti-SARS-CoV-2 S antibody levels and their ability to inhibit the S-ACE2 interaction after infection and vaccination.

In **people with HIV (PWH)**, no significant differences were found in plasma levels of anti-SARS-CoV-2 S IgG or its ability to block S-ACE2 binding compared to the HIV-negative group after SARS-CoV-2 infection. PWH showed a robust humoral response to the COVID-19 vaccine, similar to that of HIV-negative controls, against both the B.1 lineage and the Omicron variant. However, the response was significantly weaker against the Omicron variant in both groups, though it improved after the booster dose.

In **oncology patients**, those receiving immunosuppressive treatment had a weaker humoral response after the second vaccine dose compared to untreated patients. However, a booster dose significantly improved the response in treated patients,

matching that of untreated patients. The humoral response against the Omicron variant was weaker than against the B.1 lineage in both groups. However, the booster dose reduced the percentage of non-responders in terms of antibody ability to block the S-ACE2 interaction. The cellular (T cell response) levels were similar between both groups for both B.1 and Omicron after the second vaccine dose.

Conclusions:

Research on the immune response to SARS-CoV-2 in different populations has revealed critical patterns for understanding immunity and vaccine effectiveness.

Pregnant women and their infants had high antibody levels to SARS-CoV-2 after infection and vaccination. Effective transfer of anti-SARS-CoV-2 S IgG from mother to child was observed in both natural infections and after vaccination, suggesting passive immunization of neonates. However, levels decreased significantly in infants a few months after birth.

PWH had a comparable humoral response to HIV-negative individuals after infection and vaccination, improving notably after the booster dose. This indicates that PWH are not at increased risk of SARS-CoV-2 infection and respond well to vaccination.

In cancer patients, especially those on immunosuppressive treatments, the humoral response was initially weaker but improved significantly with a booster dose, reaching levels similar to patients without such treatments. Additionally, the cellular response was effectively induced in both groups after the second vaccine dose and was not significantly affected by cancer treatment.

The humoral response to the Omicron variant was significantly lower in all populations studied, although it improved with booster doses.

Our findings highlight the importance of tailoring vaccination strategies and antibody monitoring to effectively protect vulnerable populations. In particular, the data underscore the need to administer booster doses and update vaccines to improve their effectiveness against emerging SARS-CoV-2 variants. Future studies should evaluate the durability of the immune response and the efficacy of individualized regimens.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2

En diciembre de 2019 se identificó en Wuhan, en la provincia china de Hubei, un grupo de pacientes con neumonía de etiología desconocida (1). Estos pacientes presentaban síntomas compatibles con una neumonía vírica, similares a los causados por infecciones como las producidas por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) o por el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), incluyendo fiebre, dificultad respiratoria e infiltración pulmonar bilateral en los casos más graves (2). Además, en la mayoría de los pacientes se identificó un importante punto en común, trabajaban o residían en las proximidades del mercado de mariscos de Huanan, en Wuhan (3).

El 7 de enero de 2020 se identificó el agente causal de esta enfermedad como un nuevo virus perteneciente a la familia de los coronavirus, provisionalmente denominado 2019-nCoV (del inglés, *2019-novel coronavirus*). Esta información se recogió en el primer informe emitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 20 de enero de 2020, en el que se confirmaban 282 casos y 6 muertes a nivel mundial (4). No fue hasta el 11 de febrero de 2020 cuando el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, del inglés *International Committee on Taxonomy of Viruses*) designó este nuevo coronavirus como SARS-CoV-2 (del inglés, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) y la OMS nombró la enfermedad causada como COVID-19, abreviatura de "enfermedad por coronavirus 2019" (del inglés, *Coronavirus disease - 19*) (5, 6).

1.1.1. Taxonomía

Los análisis filogenéticos del genoma completo del SARS-CoV-2 han permitido clasificar este virus en la misma especie que otros *Coronavirus relacionados con el síndrome respiratorio agudo grave* (SARSr-CoVs) como el SARS-CoV, así como otros coronavirus encontrados en murciélagos, pangolines y otros animales. Estos virus se agrupan en el subgénero *Sarbecovirus*, dentro del género *Betacoronavirus*. A nivel taxonómico, el género *Betacoronavirus* pertenece a la subfamilia *Orthocoronavirinae*, que forma parte de la familia *Coronaviridae*. A su vez, esta familia está ubicada en el suborden *Cornidovirineae*, el cual forma parte del orden *Nidovirales* (**Figura 1**) (7).

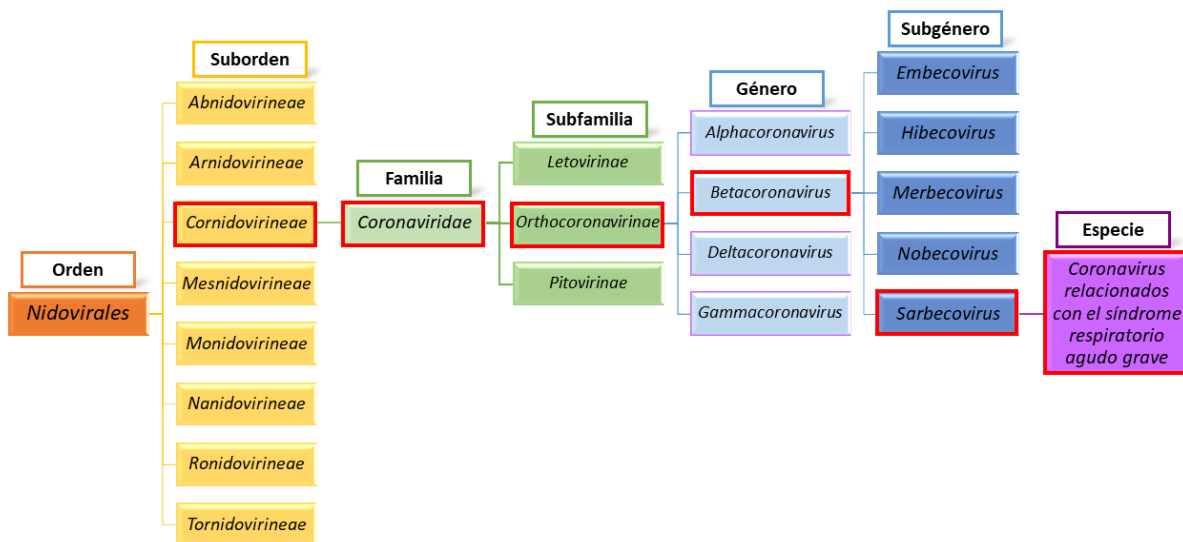


Figura 1. Esquema de la clasificación taxonómica de los SARSr-CoVs, especie que engloba el SARS-CoV-2 (8).

1.1.2. Epidemiología y características de la infección

1.1.2.1. Epidemiología y transmisión

Tras el inicio del brote de COVID-19 a finales de 2019 en China, la enfermedad se extendió rápidamente por todo el país. A pesar de las medidas estrictas implementadas por algunos países para contener su propagación, el virus se extendió a nivel mundial en poco tiempo (9). El número de personas afectadas por la enfermedad aumentó rápidamente, llegando a ser clasificada como una pandemia por parte de la OMS en su informe del 11 de marzo de 2020. En ese momento, ya se habían registrado 118.319 casos confirmados y 4.292 muertes en todo el mundo (10).

Desde entonces y hasta la fecha de este escrito, los números han continuado en aumento, alcanzando los 775.522.404 infectados y las 7.049.617 muertes a nivel mundial, según datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud en mayo de 2024 (**Figura 2**) (11). En el caso específico de España, las cifras proporcionadas por el Ministerio de Sanidad en la última actualización del Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias en junio de 2023 reportaron 13.914.811 casos confirmados de COVID-19 y 121.760 fallecidos (12).

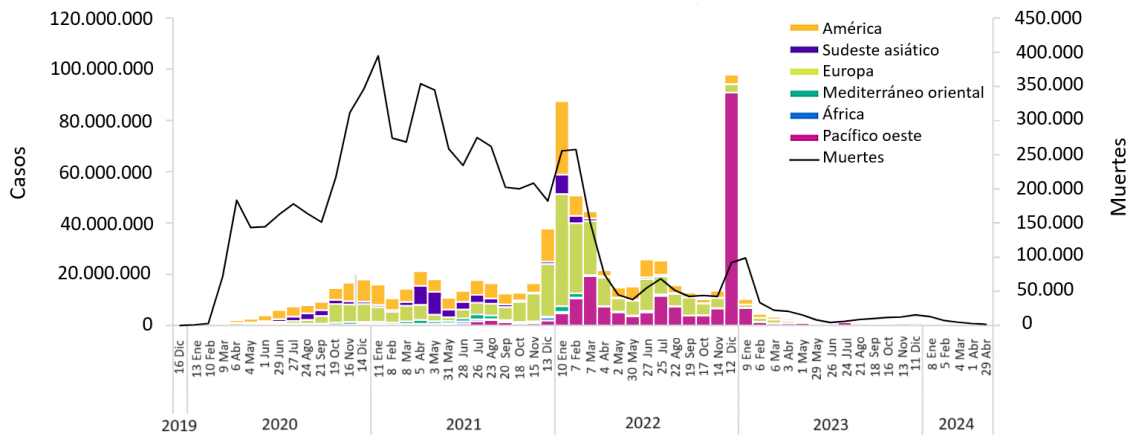


Figura 2. Casos de COVID-19 por región y muertes globales notificadas cada 4 semanas desde el inicio de la pandemia, a 26 de mayo de 2024 (13).

Aunque presenta una letalidad menor en comparación con otros coronavirus identificados en las dos últimas décadas, como el SARS-CoV o el MERS-CoV, la gran capacidad de transmisión del SARS-CoV-2 y su alta incidencia lo han posicionado como el virus con mayor impacto a nivel mundial de las últimas décadas (14).

El SARS-CoV-2 es un virus que se transmite por vía respiratoria (15). La proximidad con personas infectadas es un factor determinante en la transmisión, incluso en individuos asintomáticos o presintomáticos (16, 17). Aunque se ha detectado ARN viral en superficies contaminadas, estos son considerablemente más bajos que los encontrados en muestras de la nasofaringe de pacientes infectados (15). Esto sugiere que la transmisión a través del contacto con el entorno y superficies contaminadas por pacientes infectados es una vía de transmisión menos frecuente.

La rápida propagación de la enfermedad provocó la implementación de medidas de protección y prevención en todo el mundo en un intento por contenerla. Estas medidas incluyeron la restricción de la movilidad mediante la interrupción de vuelos internacionales y el cierre de lugares públicos. Además, se recomendó a la población seguir una serie de acciones que incluían el distanciamiento social, mantener una buena higiene de manos y cubrirse la boca al estornudar o toser (18).

En el caso específico de España, cabe destacar que el 14 de marzo de 2020 se declaró el Estado de Alarma (19). Esta medida permitió limitar la propagación del virus mediante la implantación de una serie de acciones que incluyeron desde periodos de cuarentena en todo el país hasta la obligatoriedad del uso de mascarillas, el rastreo de contactos y la realización de pruebas diagnósticas a personas con sospechas de infección (20). Aunque el Estado de Alarma finalizó el 21 de junio, iniciándose un proceso de desescalada que permitió la movilidad de los ciudadanos (21), el 25 de octubre se volvió a decretar debido al aumento de casos en el país (22). Esta medida se mantuvo hasta el 9 de mayo de 2021 (23).

Durante los primeros meses de la pandemia, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos o CDC (del inglés, *Centers for Disease Control and Prevention*) realizaron estimaciones sobre la prevalencia de la enfermedad, revelando una clara relación entre ciertos factores de riesgo y un mayor peligro de desarrollar la enfermedad en su forma más grave (24). Estos factores de riesgo incluían aspectos demográficos como la edad, el género o la etnia, así como la presencia de ciertas comorbilidades. Se ha observado que los pacientes de edad avanzada, de género masculino o de raza negra o afroamericana presentaban una mayor gravedad en la COVID-19 y tasas de mortalidad más elevadas. Además, diagnósticos previos de asma, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, enfermedad renal crónica o inmunodepresión también juegan un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad, siendo identificados como factores de riesgo (25).

1.1.2.2. Aspectos clínicos

En los informes iniciales sobre los primeros casos de la pandemia, los pacientes presentaban una amplia variedad de síntomas, desde fiebre, tos, mialgia, fatiga y disnea, hasta síntomas menos frecuentes como cefaleas, producción de esputo y problemas gastrointestinales. Esta diversidad de síntomas abarcaba desde casos leves o asintomáticos hasta cuadros clínicos graves y críticos (26, 27). Durante las fases iniciales de la pandemia, diagnosticar la enfermedad fue complicado debido a la variedad de síntomas, hallazgos radiológicos y niveles de gravedad de la enfermedad (27). En los casos más severos, algunos pacientes desarrollaban el síndrome de dificultad

respiratoria aguda (ARDS, del inglés *Acute Respiratory Distress Syndrome*), un estado caracterizado por lesiones pulmonares graves causadas por una respuesta inflamatoria sistémica aguda (28). Esto se manifiesta con edema pulmonar, incremento en la dificultad respiratoria e hipoxemia, pudiendo llegar a un estado de insuficiencia respiratoria, fibrosis pulmonar y mortalidad en los casos más graves (28, 29).

Aunque la enfermedad afectaba principalmente a adultos de edad avanzada, también se identificaron casos de enfermedad crítica en pacientes jóvenes sin comorbilidades aparentes (30). Además, a medida que aumentaba el número de casos, se hizo cada vez más evidente que el virus no solo causaba una infección respiratoria del tracto inferior, sino que tenía la capacidad de desencadenar una enfermedad de naturaleza multisistémica, afectando a distintos órganos vitales como el corazón, el tracto gastrointestinal, el hígado, el sistema nervioso central y los riñones (**Figura 3**) (31).

El periodo de incubación hasta la aparición de los primeros síntomas se estableció en un rango de 1 a 14 días, siendo más frecuente alrededor del día 5, con el desarrollo de síntomas más graves como la neumonía en torno a los 8 días desde la infección (32). El tiempo medio de recuperación se estableció entre 7 y 10 días después de la enfermedad leve, pudiendo extenderse hasta 3-6 semanas tras la enfermedad grave o crítica (33). Aunque este cuadro clínico se estableció como norma, se ha observado que en un porcentaje considerable de casos los pacientes continúan experimentando síntomas prolongados durante semanas o meses después de la COVID-19, independientemente del estado viral. Para estos casos se ha empleado el término *Long COVID* o COVID persistente (33).

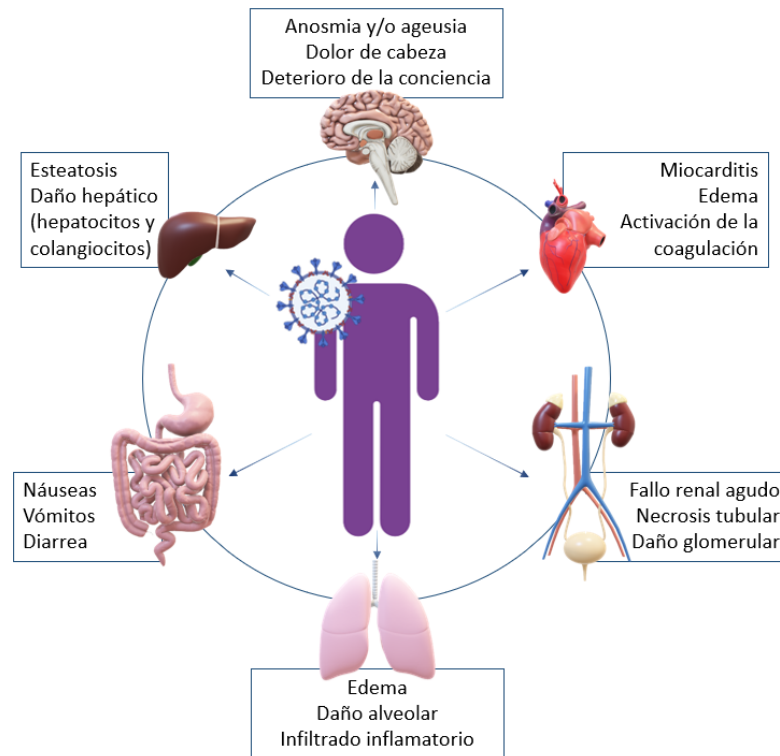


Figura 3. Tropismo y daño multiorgánico asociado con la infección por SARS-CoV-2 (31, 34). Figura de elaboración propia creada con Biorender.com.

1.1.3. Biología del SARS-CoV-2

1.1.3.1. Estructura y genoma

El SARS-CoV-2, al igual que otros coronavirus, es un virus de ARN monocatenario de polaridad positiva (+ssRNA) de aproximadamente 30 kb de longitud, envuelto en una bicapa lipídica. En esta envuelta se disponen 3 glicoproteínas transmembrana: la proteína de la espícula o *spike* (S), la proteína de membrana (M) y la proteína de la envuelta (E) (**Figura 4**) (35).

El ARN viral se organiza en un complejo de ribonucleoproteínas junto con las proteínas de la nucleocápside (N) (36). Este ARN presenta una estructura cap en el extremo 5' y una cola poli-A en el extremo 3', lo que le permite funcionar como ARN mensajero y facilitar la traducción inmediata de las proteínas virales por los ribosomas del huésped (37).

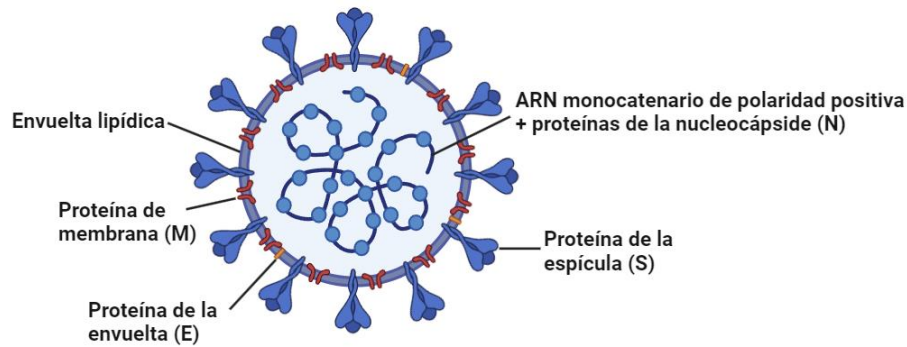


Figura 4. Esquema de la estructura del SARS-CoV-2. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com.

En cuanto a su organización, el genoma del SARS-CoV-2 consta de 14 marcos de lectura abiertos (ORF, del inglés *open reading frame*) que codifican para una serie de proteínas necesarias para su ciclo viral (36). Las dos unidades transcripcionales principales, ORF1a y ORF1b, comprenden aproximadamente dos tercios del genoma y se traducen en dos poliproteínas, pp1a y pp1ab (37). Estas poliproteínas son procesadas por proteasas virales para dar lugar a 16 proteínas no estructurales (nsp1-16), esenciales para la maquinaria de replicación y transcripción viral (36). El tercio restante del genoma contiene otros ORFs que codifican para las cuatro proteínas estructurales principales (S, N, M y E). Además, distribuidos entre estos genes estructurales, también se encuentran una serie de ORFs que codifican para proteínas accesorias que participan en la regulación de la infección viral (**Figura 5A**) (36).

1.1.3.2. Proteínas virales

Las proteínas estructurales desempeñan un papel fundamental en el proceso de entrada en la célula huésped, así como en el ensamblaje viral y la generación de nuevos viriones (35).

- Proteína de la nucleocápside (N): La proteína N es una de las proteínas más abundantes del SARS-CoV-2. Se une a lo largo de todo el genoma viral, empaquetándolo y formando la nucleocápside helicoidal. Esta estructura asegura la estabilidad y correcta disposición del ARN viral, optimizando así los procesos de replicación y transcripción. Esta proteína es altamente inmunogénica y está altamente conservada entre las

distintas variantes del SARS-CoV-2, lo que la convierte en un marcador clave para el diagnóstico microbiológico (38).

- Glicoproteína de membrana (M): Es la proteína estructural más abundante y se localiza en la envuelta viral. Esta proteína es clave para organizar y dar forma a la envuelta viral, interactuando con otras proteínas estructurales para estabilizar el complejo de ARN y proteína N, lo que es esencial en la creación de nuevos viriones (38).

- Proteína de la envuelta (E): Es la proteína estructural más pequeña y está presente en pequeña proporción en la envuelta viral. Participa en el ensamblaje y producción de los viriones desde el retículo plasmático de las células infectadas (38).

- Glicoproteína de la espícula o spike (S): Esta proteína se encuentra en la superficie viral formando homotrímeros, confiriendo a estos virus su característica forma de corona cuando se observan al microscopio electrónico, por la cual reciben su nombre. Además, cumple una función esencial, ya que es la encargada de reconocer los receptores de la célula huésped y es responsable de la fusión celular y la posterior entrada en la célula huésped (39).

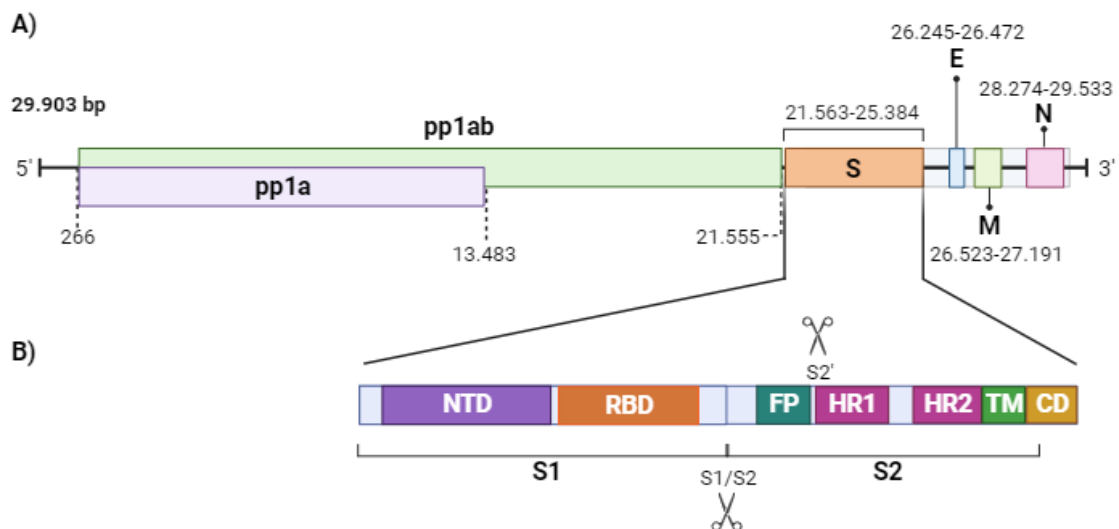


Figura 5. Estructura del genoma del SARS-CoV-2. (A) Representación de las poliproteínas, pp1a y pp1ab, que dan lugar a las proteínas no estructurales y de las 4 proteínas estructurales (S, E, M, N). (B) Representación de la estructura de la proteína S del SARS-CoV-2 (40). Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptado de la secuencia de referencia del NCBI (NC_045512.2).

Esta proteína consta de dos subunidades: S1, encargada del reconocimiento y la unión al receptor, y S2, que facilita la fusión entre la membrana viral y la de la célula

huésped (41). Dentro de la subunidad S1, se pueden distinguir dos dominios: el dominio N-terminal (NTD) y el dominio C-terminal (CTD), siendo este último donde se localiza el dominio responsable de interactuar con el receptor de la célula huésped, conocido como dominio de unión al receptor (RBD, del inglés *receptor binding domain*) (35, 42). Por su parte, la subunidad S2 está formada por varios dominios que participan en el proceso de fusión: péptido de fusión (FP), una región proximal del péptido de fusión (FPPR), dos heptadas repetidas (HR1/HR2), una hélice central (CH), un dominio conector (CD), un dominio transmembrana (TM) y una cola citoplasmática (CT) (**Figura 5B**) (43).

1.1.3.3. Entrada a la célula huésped y replicación viral

La unión inicial y entrada del virus a la célula huésped dependen de la interacción entre la glicoproteína S del virus y su receptor celular, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2 o ACE2, del inglés *angiotensin converting enzyme 2*) (44, 45). Esta proteína se expresa en varios tejidos humanos, mostrando niveles de expresión relativamente altos en el intestino delgado, el corazón, los tejidos reproductores masculinos y femeninos, así como en el riñón, además de en las células epiteliales del pulmón (46).

El SARS-CoV-2 puede emplear dos rutas distintas para entrar en la célula huésped (47). La vía rápida depende de la activación de la proteína S del virus por la proteasa transmembrana de serina 2 (TMPRSS2) de la célula huésped (**Figura 6A**) (47, 48). Durante el proceso de unión a la célula, la proteína S experimenta un corte proteolítico entre las subunidades S1/S2. Tras esta escisión, se expone otro punto de corte delante del péptido de fusión en la subunidad S2 (S2') y tras el corte en el sitio S2', el péptido de fusión queda expuesto, permitiendo la fusión de las membranas viral y celular y la transferencia del ARN viral al citoplasma de la célula huésped (47). En el caso de la vía más lenta, la entrada depende de un proceso de endocitosis, con la escisión posterior de la proteína S en un ambiente de pH bajo por catepsinas lisosomales (**Figura 6B**) (48). En células que expresan TMPRSS2, el SARS-CoV-2 emplea la vía de entrada rápida, mientras que, en ausencia de esta proteasa, hace uso del proceso de endocitosis para ingresar en la célula huésped (47, 48).

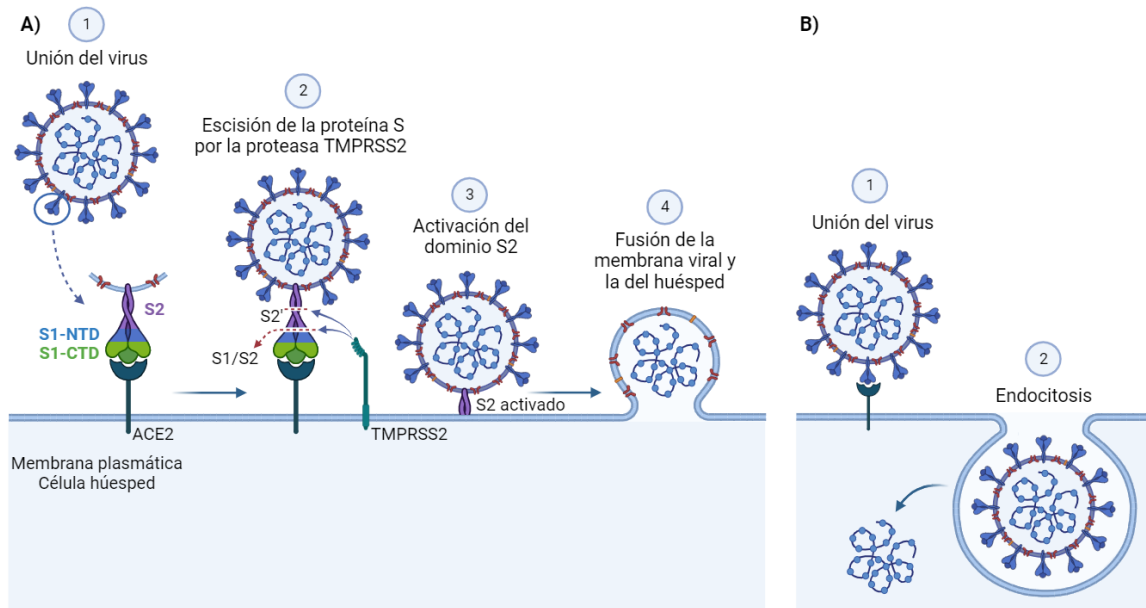


Figura 6. Mecanismos de entrada del SARS-CoV-2 en la célula huésped. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com.

Tras la liberación del genoma viral en el citoplasma de la célula infectada (**Figura 7**), el ARN se desempaqueta y es traducido por los ribosomas de la célula huésped, dando lugar a las poliproteínas pp1a y pp1ab (41). La escisión proteolítica de estas poliproteínas permite la formación del complejo de replicación y transcripción viral (41). El ARN de sentido positivo se replica inicialmente en una cadena de ARN de sentido negativo (-), que actúa como molde para la replicación del ARN (+) de los nuevos viriones y para la traducción de las proteínas estructurales y accesorias (41). Las proteínas S, M y E se insertan en la membrana del retículo endoplasmático (RE) mientras que la proteína N se une a las nuevas cadenas de ARN (+) para formar la nucleocápside. Todo este conjunto se desplaza al compartimento intermedio RE-aparato de Golgi, donde ocurre el ensamblaje de los nuevos viriones. Finalmente, estos nuevos viriones son liberados de la célula huésped mediante un proceso de exocitosis (**Figura 7**) (41, 49).

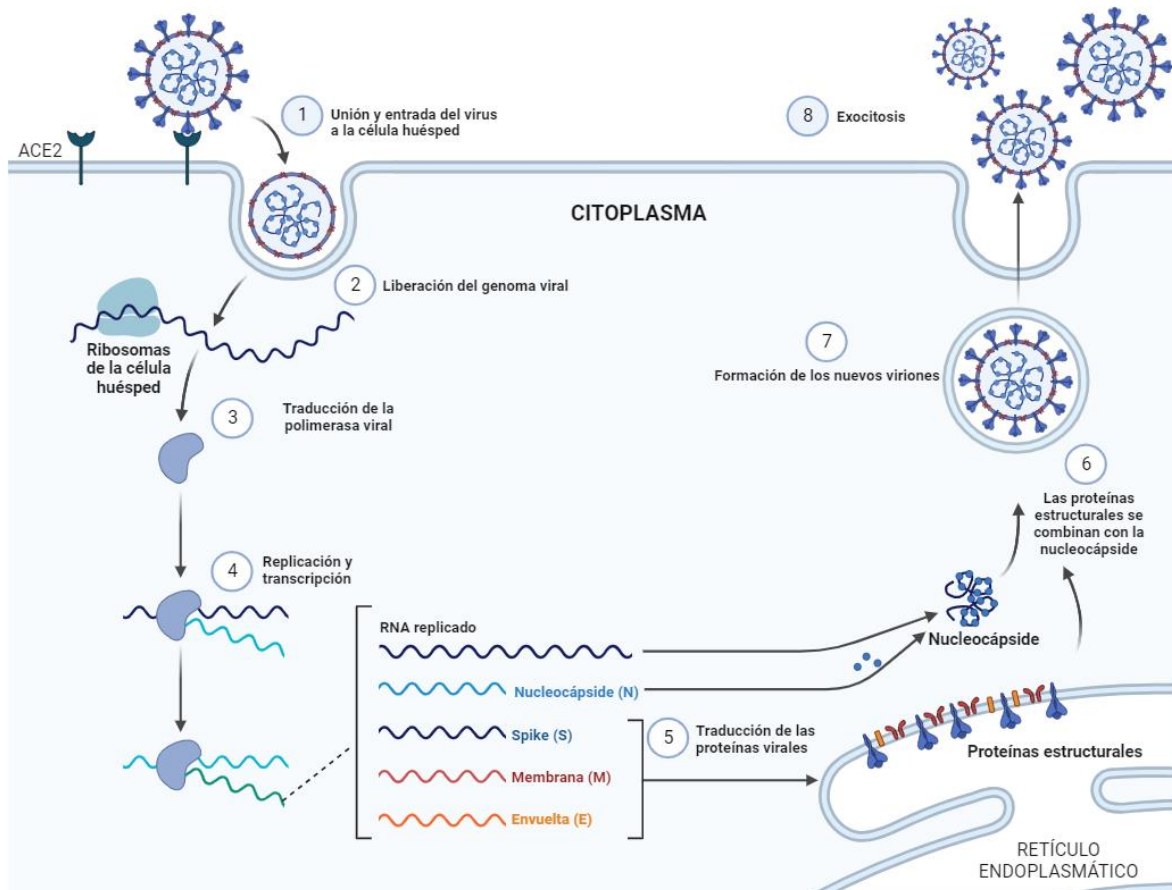


Figura 7. Mecanismos de replicación viral del SARS-CoV-2 en la célula huésped. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com.

1.1.4. Variantes del SARS-CoV-2

La tasa de mutación del SARS-CoV-2 se estima entre 1×10^{-6} y 2×10^{-6} mutaciones por nucleótido y por ciclo de replicación (50), una cifra coherente con lo observado en otros Betacoronavirus (50). El virus del SARS-CoV-2 presenta una tasa de mutación más baja en comparación con otros virus de ARN, como el virus de la hepatitis C o el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que presentan una tasa de mutación de alrededor de 10^{-5} y 10^{-4} mutaciones por nucleótido por ciclo de replicación, respectivamente (50). Estas diferencias se deben principalmente al mecanismo de corrección asociado a la actividad 3'-5' exonucleasa de la proteína nsp14 de los coronavirus (51).

A pesar de su tasa de mutación relativamente baja, los errores en la replicación del ARN siguen siendo una fuente significativa de variabilidad genética en estos virus (52). Además, los errores durante la replicación también dan lugar a inserciones y deleciones

que generan diversidad en el genoma (50). Esta variabilidad, especialmente en la proteína S del virus, ha llevado a la emergencia de distintas variantes del SARS-CoV-2, algunas de las cuales han tenido un impacto notable en la trayectoria de la pandemia (50).

Cada una de estas variantes presenta mutaciones y características epidemiológicas distintivas, con diferencias tanto en la transmisibilidad como en la gravedad de la enfermedad causada, así como en su capacidad de evasión de la respuesta inmune o susceptibilidad a los tratamientos y anticuerpos (53).

La primera mutación conocida del SARS-CoV-2, una sustitución de un ácido aspártico por una glicina en la posición 614 de la proteína S (D614G), surgió al inicio de la pandemia, siendo descrita en febrero de 2020 (54). Esta variante se denominó según el sistema de clasificación Pango como linaje B.1 y presentaba una mayor tasa de transmisibilidad, lo que la convirtió rápidamente en la variante dominante a nivel mundial (54).

A finales de 2020, comenzaron a surgir una serie de variantes con un mayor número de mutaciones en su genoma. Hasta la fecha, la Organización Mundial de la Salud ha clasificado cinco de estas variantes como “variantes de preocupación” (VOC, del inglés *variant of concern*) debido a su mayor riesgo para la salud humana, ya sea por su elevada transmisibilidad o su capacidad de evadir la respuesta inmune y la protección de las vacunas (**Tabla 1**) (55, 56). Mientras las variantes Alfa, Beta y Gamma fueron dominantes en Europa, África meridional y Sudamérica, Delta y Ómicron han representado un desafío en el desarrollo de la pandemia a nivel mundial (55).

Desde su primera aparición a finales de 2021, la variante Ómicron se propagó rápidamente a nivel global, siendo designada como variante de preocupación y superando a VOCs previas en un tiempo sorprendentemente breve. La alarma se desató debido al elevado número de mutaciones presentes en su genoma, especialmente en la proteína S, las cuales le conferían una alta tasa de transmisión y la capacidad de evadir la respuesta inmune (57).

Tabla 1. Variantes de preocupación designadas por la Organización Mundial de la Salud desde el inicio de la pandemia.

Nom. OMS (Linaje Pango)	Fecha / Lugar Primera detección	Mutaciones reportadas	Características	Ref.
Alfa (B.1.1.7)	Septiembre 2020 Inglaterra	17 mutaciones, 8 de las cuales en la proteína S	Mayor afinidad de unión a ACE2 Mayor riesgo de mortalidad	(58)
Beta (B.1.351)	Octubre 2020 Sudáfrica	9 mutaciones en la proteína S	Mayor riesgo de transmisión Menor capacidad de neutralización de los anticuerpos monoclonales	(59)
Gamma (P.1)	Noviembre 2020 Brasil	17 mutaciones, 10 de las cuales en la proteína S	Mayor afinidad por el receptor ACE2 Menor capacidad de neutralización de los anticuerpos monoclonales	(60)
Delta (B.1.617.2/AY)	Abril 2021 India	10 mutaciones en la proteína S	Aumento de la transmisibilidad Menor capacidad de neutralización de los anticuerpos monoclonales	(61, 62)
Ómicron (B.1.1.529/BA)	Noviembre 2021 Sudáfrica	Más de 50 mutaciones, 30 de las cuales en la proteína S	Alta capacidad de infección Capacidad de evadir la respuesta inmune Menor riesgo de enfermedad grave	(63, 64)

Entre las mutaciones encontradas en la variante Ómicron se hallan 29 sustituciones y una inserción en la proteína S (T19I, L24S, ins25PPA, D142D, V213G, G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K). Se ha demostrado que ciertas mutaciones en el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S, como N440K, S477N, T478K, E484A, Q493R, N501Y, Q498R, e Y505H, podrían aumentar la afinidad de unión con el receptor de la célula huésped, potenciando su infectividad. Además, mutaciones como K417N, N440K, S477N, T478K, E484A y N501Y han demostrado contribuir a la capacidad del virus para evadir la neutralización por sueros de pacientes convalecientes, anticuerpos monoclonales y sueros post-vacunación (64).

Actualmente, la variante Ómicron continúa siendo la más prevalente en el mundo, ya que ha continuado evolucionando desde su aparición. Esto ha dado lugar a la formación de diversos sublinajes de esta variante, como BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5, y otras originadas a partir de la recombinación de estas subvariantes, como XBB o XBD (**Figura 8**) (65).

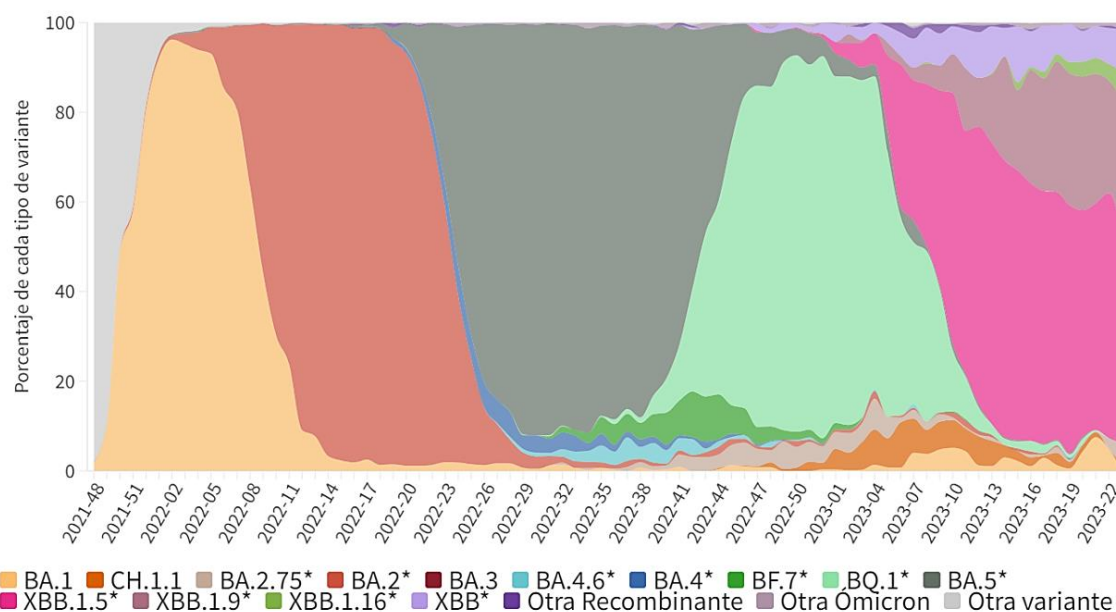


Figura 8. Evolución de los sublinajes de Ómicron desde la semana 48 de 2021 hasta la semana 23 de 2023 (29.11.2021 a 11.06.2023) (66).

1.2. Vacunas frente a la COVID-19

El impacto de esta enfermedad en los sistemas de salud y la ausencia de tratamientos específicos para la infección por SARS-CoV-2 generaron una gran concentración de esfuerzos por parte de la comunidad científica y las empresas farmacéuticas para desarrollar vacunas eficaces. Este objetivo se logró en un tiempo sorprendente breve, con la aprobación de la primera vacuna de ARNm contra la COVID-19 a finales de 2020, desarrollada por Pfizer/BioNTech, seguida poco después por la autorización de las vacunas de Moderna y AstraZeneca (67-70).

El rápido desarrollo de estas vacunas tenía como objetivo alcanzar la llamada “inmunidad de rebaño”. Este término se refiere al estado epidemiológico en el cual la

tasa de transmisión disminuye entre individuos infectados y susceptibles, debido a que un número suficiente de individuos adquiere inmunidad frente al virus (71, 72).

Así, dio inicio una campaña de vacunación masiva a nivel mundial. Los primeros informes indicaron que las distintas vacunas en uso eran seguras y mostraban una alta eficacia, lo que contribuyó a reducir el número de contagios, casos de enfermedad grave y muertes (73).

Desde el inicio de la pandemia, diversas vacunas han sido aprobadas para su uso, empleando diferentes plataformas y regímenes de vacunación. Según datos de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, del inglés *European Medicines Agency*), en marzo de 2024, un total de 7 vacunas contra la COVID-19 cuentan con autorización para su uso en Europa (**Tabla 2**) (74).

Tabla 2. Vacunas autorizadas por la Agencia Europea de Medicamentos en marzo de 2024.

Plataforma	Vacuna	Fabricante	Fecha de autorización
ARNm	BNT162b2 / Comirnaty	Pfizer/BioNTech	21 diciembre 2020 (condicional)
	mRNA-1273 / Spikevax	Moderna	6 enero 2021 (condicional)
Vectores adenovirales	AZD122 (ChAdOx1-S) / Vaxzevria / CoviShield	Oxford/AstraZeneca	29 enero 2021 (condicional)
	Ad26.COVS.2.S / Jcovden	Janssen, Johnson & Johnson	11 marzo 2021 (condicional)
Proteínas	NVX-CoV2373 / Nuvaxovid	Novavax	20 diciembre 2021 (condicional)
	VidPrevtyn Beta	Sanofi Pasteur	10 noviembre 2022
	Bimervax	HIPRA Human Health S.L.U	30 marzo 2023

Las primeras vacunas aprobadas recibieron una autorización condicional, lo que significa que su aprobación se agilizó a pesar de no contar con todos los datos que normalmente se requieren para estos procedimientos. Esta medida se tomó debido a la urgente necesidad que representaban para el curso de la pandemia, considerando que los

beneficios de las vacunas superaban sus posibles riesgos. La Agencia Europea de Medicamentos ha ido renovando estas autorizaciones de forma anual y ha ido incorporando nuevas autorizaciones tanto para nuevos fabricantes como para adaptaciones en la formulación de vacunas de fabricantes como Pfizer o Moderna (74).

Estas adaptaciones incluyeron ARN mensajeros que codificaban no solo para la proteína S de la cepa ancestral del SARS-CoV-2, sino también para la proteína S de diferentes subvariantes de Ómicron. Las vacunas bivalentes comenzaron a recibir autorización para su uso en septiembre de 2022 y han ido ajustándose en función de las subvariantes predominantes, demostrando su seguridad y eficacia para generar una respuesta inmune contra Ómicron cuando se usan como refuerzo en la población vacunada. Entre ellas se encuentran la vacuna *Spikevax Bivalent Original/Omicron BA.1* de Moderna y la vacuna *Comirnaty Bivalent Original/Omicron BA.1 y BA.4-5* de Pfizer/BioNTech (74-77). La continua actualización de estas vacunas permitió que en septiembre y octubre de 2023 se autorizaran las vacunas *Spikevax XBB.1.5* de Moderna y la vacuna *Nuvaxovid XBB.1.5* de Nuvaxoid, las cuales incluían la subvariante de Ómicron predominante en la primera mitad de 2023 (74, 78).

Hasta el 1 de febrero de 2024, se han administrado más de 13.500 millones de dosis de la vacuna contra la COVID-19, con más de 4.600 millones de personas que han recibido al menos una dosis, principalmente en las regiones del Pacífico Occidental, América, Sudeste Asiático y Europa (**Figura 9**) (11). En el contexto de la Unión Europea, España ocupa el segundo lugar en términos de porcentaje de vacunación, considerando solo la primera dosis (79). Con más de 41 millones de vacunas administradas, el 87,2 % de la población española ha recibido al menos una dosis, y un 86% de la población ha completado la pauta de vacunación en junio de 2023 (80).

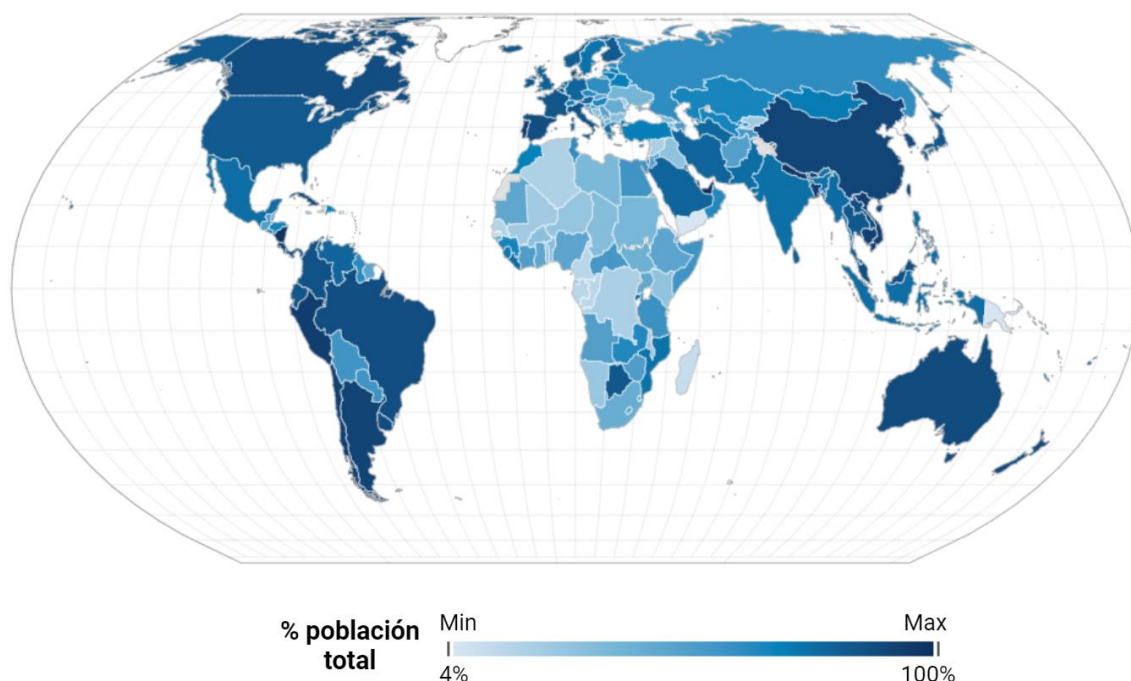


Figura 9. Distribución mundial de las vacunas administradas por cada 100 habitantes a nivel mundial a fecha 31 de diciembre de 2023 (11).

1.3. Respuesta inmune humoral y celular frente al SARS-CoV-2

1.3.1. Respuesta inmune tras la infección

Desde el inicio de la pandemia, se han realizado esfuerzos sin precedentes para investigar y comprender la respuesta inmune innata y adaptativa frente al SARS-CoV-2. Estos esfuerzos no solo se han centrado en comprender cómo el sistema inmune puede contribuir al control de la transmisión e infección, sino también en identificar cómo la desregulación de la respuesta inmune puede ser responsable de causar daño tisular, fallos orgánicos e incluso la muerte del huésped (81).

1.3.1.1. Respuesta inmune innata

Una vez que el SARS-CoV-2 ingresa en la célula huésped, principalmente a través de las vías respiratorias, las células epiteliales infectadas reconocen patrones moleculares asociados a este patógeno (PAMP) o patrones moleculares asociados al daño (DAMP), mediante sus receptores de reconocimiento de patrones (PRR) (82). Entre estos PRR

destacan ciertos receptores de membrana tipo Toll (TLR), los receptores tipo NOD (NLR) y los receptores citoplasmáticos tipo RIG-I (RLR) (82, 83).

El ARN monocatenario del SARS-CoV-2 es reconocido a nivel endosomal por receptores como TLR7 y TLR8, mientras que el ARN de doble cadena formado durante la replicación viral puede ser detectado por los receptores TLR3. Además, en el citoplasma, el ARN viral es detectado por los RLR como RIG-I y MDA5 (83).

Tras el reconocimiento por los PRRs, se activan diferentes cascadas de señalización intracelular que conducen a la activación de factores de transcripción como el factor regulador del interferón 3 (IRF3) y el factor nuclear κ B (NF- κ B) (83). Esto estimula la producción de interferón tipo I y tipo III, así como de numerosas citocinas, quimiocinas y otras moléculas proinflamatorias (83). A su vez, los interferones, a través de la vía de señalización JAK-STAT, inducen la expresión de numerosos genes estimulados por interferón (ISG), que ejercen una función antiviral (84).

Por otro lado, tras el reconocimiento de DAMPs y PAMPs, el NLRP3, un PRR bien conocido entre los NLRs, desencadena la oligomerización de un complejo llamado inflamasoma, presente en el citoplasma de la célula infectada (82). Tras el ensamblaje y activación del inflamasoma, la caspasa-1, presente en su estructura, se activa mediante escisión autoproteolítica, lo que desencadena la liberación de citocinas inflamatorias como IL-1 β , IL-18, IL-6 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (85), además de gasdermina-D (GSDMD), una proteína formadora de poros que desencadena el proceso de piroptosis (85, 86).

Estos mecanismos inician la respuesta inmune innata en las primeras horas posteriores a la infección, generando un estado antiviral tanto en las células infectadas como en las no infectadas. Esto resulta en un aumento de la permeabilidad vascular, facilitando el reclutamiento de células del sistema inmune, como macrófagos y células T, hacia el sitio de la infección, mediante la producción de diversas quimiocinas. Este proceso es esencial para limitar la propagación del virus y, al mismo tiempo, intensifica la respuesta inflamatoria (87, 88). Además, la respuesta inmune innata desempeña un papel crucial como enlace en la activación de la respuesta inmune adaptativa, compuesta principalmente por linfocitos T y B (89).

1.3.1.2. Respuesta inmune adaptativa

La respuesta inmune adaptativa contra el SARS-CoV-2 se basa en el desarrollo de anticuerpos específicos, con capacidad para neutralizar la infectividad de los nuevos virus producidos, además de células T CD8(+) y células T CD4(+) específicas (**Figura 10**) (89). Esta respuesta requiere aproximadamente de 6 a 10 días desde el inicio de la infección para que se desarrollen y diferencien las células efectoras que contribuyen al control de la infección viral (89).

- *Respuesta inmune humoral*

A diferencia de otras infecciones, los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 aparecen aproximadamente al mismo tiempo que los anticuerpos tipo IgM e IgA. Sin embargo, la respuesta de IgG es más duradera en el tiempo y es la más indicativa de infección aproximadamente 8 días después del inicio de los síntomas (90-92). Estos anticuerpos se dirigen principalmente hacia la proteína de la nucleocápside y la proteína *spike*. En particular, el dominio RBD de esta última es la fracción más inmunogénica del virus y el principal objetivo de los anticuerpos neutralizantes (89, 93).

- *Respuesta inmune celular*

En la infección por SARS-CoV-2, la respuesta de linfocitos T CD4(+) es predominante sobre la respuesta de células T CD8(+), pudiendo detectarse entre 2 y 4 días después del inicio de los síntomas, lo que se asocia con el control de la enfermedad (89). Los linfocitos T CD4(+) pueden activarse y diferenciarse en células auxiliares, como las células Th foliculares, que participan en el desarrollo de la respuesta inmune humoral, y en células efectoras, como las células Th1, que presentan actividad antiviral mediante la producción de IFN- γ y citocinas relacionadas. Esto contribuye tanto a la eliminación directa del virus como al reclutamiento de células del sistema inmune innato, como los macrófagos (**Figura 10**) (89, 90).

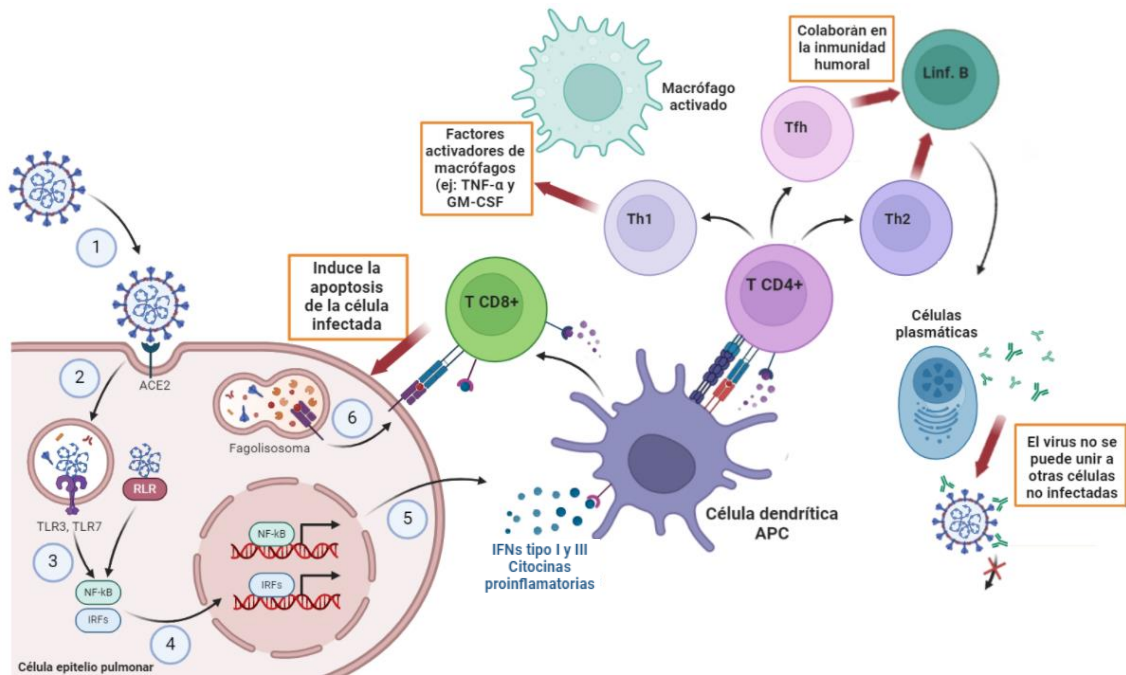


Figura 10. Respuesta inmune en la infección por SARS-CoV-2. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptada de Zhu et al., 2022 (90).

Se ha observado que la respuesta inmune celular se desarrolla contra casi todas las proteínas del SARS-CoV-2, encontrándose una correlación entre el nivel de expresión de estas proteínas y la magnitud de la respuesta de células T CD4(+). De esta forma, las proteínas S, N y M son los principales objetivos de la respuesta celular (94).

Se han identificado más de 2.500 epítopos de células T tras la infección por SARS-CoV-2, los cuales están recogidos en la base de datos de epítopos inmunitarios (IEDB, del inglés *Immune Epitope Database & Tools*), revelando una amplia variedad en la respuesta celular frente a este virus (95, 96). Sin embargo, se han descrito ciertos epítopos que pueden clasificarse como inmunodominantes. Entre ellos, se encuentran epítopos de células T CD8(+) en la proteína S como, por ejemplo, el epítopo 269-277 (YLQPRTFLL), y en la proteína N, como el epítopo 105-113 (SPRWYFYLL). Asimismo, entre los epítopos de células T CD4(+) también se han identificado epítopos dominantes en la proteína S, 166-180 (CTFEYVSQPFLMDLE), y en la proteína M, 176-190 (LSYYKLGASQRVAGD) (95).

- Protección ofrecida por la respuesta inmune tras la infección

En cuanto a la duración en el tiempo de la respuesta inmune, es importante destacar que, a pesar de la posibilidad de reinfección, investigaciones previas han demostrado que los anticuerpos generados durante la infección ofrecen un efecto protector que reduce la tasa de reinfección. Aunque se ha observado que los niveles de anticuerpos disminuyen con el tiempo, se han detectado anticuerpos neutralizantes y células B de memoria, así como células T CD4(+) y CD8(+) específicas en sangre periférica de personas previamente infectadas por SARS-CoV-2, hasta 6 meses después de la infección (97-101).

No obstante, es importante destacar que, si bien la respuesta inmune tras la infección brinda cierta protección contra la reinfección con las variantes Alfa, Beta o Delta, se ha observado que esta eficacia es considerablemente menor frente a la variante Ómicron. Por tanto, aunque se mantiene la protección contra la forma más grave de la enfermedad, Ómicron se ha identificado como una variante capaz de evadir el sistema inmune tras una infección previa, aumentando así el riesgo de reinfección (102-104).

1.3.1.3. Inmunopatología de la infección por SARS-CoV-2

Mediante la activación coordinada de la respuesta inmune innata y adaptativa, el organismo puede ser capaz de controlar el SARS-CoV-2 en la mayoría de las personas infectadas (101). Varios estudios han demostrado la relación entre la rápida inducción de las respuestas de células T y B específicas, el control viral y una patología limitada (101). No obstante, se ha observado que el SARS-CoV-2 presenta una gran capacidad de evadir la respuesta inmune innata mediada por IFN tipo I y III (105, 106).

En casos asintomáticos, leves o moderados, se desarrolla una respuesta humoral y celular relativamente rápida tras la respuesta innata, lo que conduce a la resolución de la enfermedad (**Figura 11A**). En contraste, en los casos más graves, la evasión de la respuesta innata provoca un retraso en la activación de la respuesta inmune adaptativa, lo que permite una replicación viral más extensa y, como resultado, una carga viral más elevada en estos pacientes (**Figura 11B**) (89).

El retraso en la respuesta adaptativa también provoca que la respuesta innata intente compensar su función de manera exagerada, generando una inmunopatología caracterizada por un exceso de neutrófilos, una hiperproducción de citocinas proinflamatorias conocida como “tormenta de citocinas” y una disminución de células T. Además, se produce un aumento en la permeabilidad del epitelio alveolar y una infiltración excesiva de células inmunes, desarrollándose un estado de hiperinflamación grave característico del ARDS y de los casos más críticos que cursan con inflamación generalizada y fallo multiorgánico (88, 89, 101, 107).

Se ha observado niveles más elevados de citocinas como IL-2, IL-7, IL-10, TNF- α , factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), proteína 10 inducida por IFN- γ (IP-10) y proteínas inflamatorias de macrófagos (MIP-1A) en pacientes con enfermedad severa y que requerían ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) (26). De hecho, la tormenta de citocinas se ha asociado a un mayor riesgo de mortalidad en la COVID-19, principalmente debido a la insuficiencia respiratoria causada por el síndrome de dificultad respiratoria aguda (108).

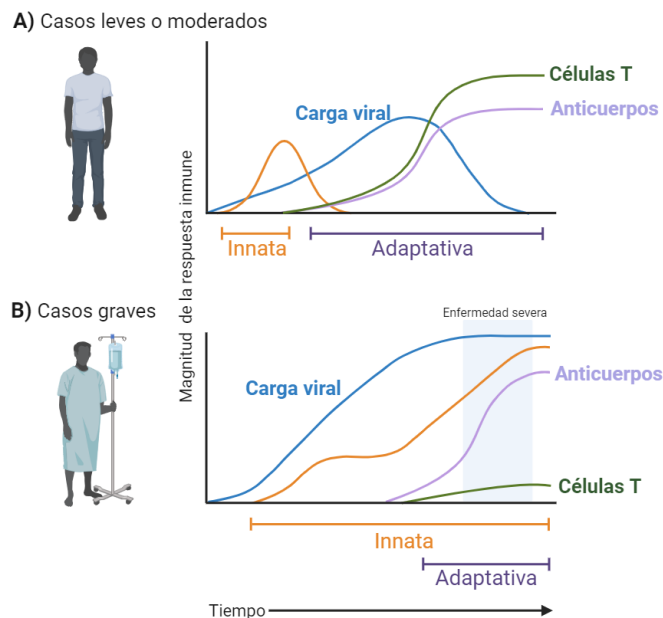


Figura 11. Representación de la cinética en la respuesta inmune desarrollada en COVID-19, para casos leves o moderados (A) y casos más graves (B). Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptada de Sette et al., 2021 (89).

1.3.2. Respuesta inmune tras la vacunación

Aunque se han desarrollado y autorizado vacunas contra la COVID-19 que emplean diversas metodologías o plataformas, la mayoría de ellas se fundamentan en la proteína S del SARS-CoV-2. Estas vacunas están basadas en secuencias de ARNm mensajero sintético o vectores adenovirales que codifican para la proteína S, proteínas recombinantes o virus inactivados (109).

Las vacunas desencadenan una respuesta inmunitaria adaptativa, promoviendo la producción de anticuerpos neutralizantes y la generación de células B y T de memoria específicas contra el SARS-CoV-2. Estas respuestas inmunológicas pueden activarse rápidamente en caso de una posterior infección, ofreciendo una sólida protección contra la enfermedad (110). Aunque las vacunas COVID-19 no aseguran una prevención completa contra la infección, sí ofrecen protección contra las formas más graves de la enfermedad (111). En este contexto, se ha observado que, mientras los anticuerpos neutralizantes son fundamentales en la protección contra la infección, la respuesta de células T podría desempeñar un papel crucial en la modulación de la gravedad de la enfermedad y en la resolución efectiva de la infección (95, 112). Por tanto, una respuesta inmune adecuada después de la vacunación será el resultado de una compleja interacción entre la inmunidad humoral y celular.

- *Respuesta inmune humoral*

Las vacunas autorizadas contra la COVID-19 han demostrado su eficacia en el control de la pandemia y la enfermedad. Un ejemplo destacado son las primeras vacunas autorizadas para su uso, es decir, las vacunas basadas en ARNm desarrolladas por Pfizer/BioNTech y Moderna, las cuales han demostrado una efectividad superior al 95% y 94%, respectivamente (113, 114). Estas vacunas han demostrado ser capaces de inducir una respuesta humoral más robusta en comparación con otros tipos de vacunas, presentando respuestas de anticuerpos neutralizantes frente a la proteína S superiores a las generadas por vacunas de vectores adenovirales y solo comparables a las obtenidas mediante vacunas basadas en proteínas (115-118).

- Respuesta inmune celular

En lo que respecta a la respuesta inmune celular, se ha observado una tendencia similar (117, 118). Zhang et al. (118) llevaron a cabo una comparación de la respuesta inmune inducida por cuatro tipos de vacunas basadas en tres plataformas diferentes: mRNA-1273 (Moderna), BNT162b2 (Pfizer/BioNTech), Ad26.COV2.S (Janssen) y NVX-CoV2373 (Novavax). En este estudio, demostraron que las vacunas de ARNm generan una respuesta de células T CD4(+) específica mayor que otros tipos de vacunas, con resultados comparables únicamente a la respuesta obtenida por la vacuna NVX-CoV2373. Esta respuesta se observó en la mayoría de los individuos después de una sola dosis de la vacuna, alcanzando su punto máximo tras la segunda dosis. Además, también se observó una respuesta de células Th foliculares frente a la proteína S en la mayoría de los individuos vacunados, lo que concuerda con la capacidad de estas vacunas de inducir una respuesta humoral (118).

En cuanto a la respuesta de células T CD8(+), se observaron niveles comparables después de la vacunación con las vacunas de ARNm y la vacuna Ad26.COV2.S en la mayoría de individuos, también después de solo una dosis de la vacuna y alcanzando su máximo tras la segunda dosis. En contraste, la respuesta de células T CD8(+) fue inferior tras la vacunación con NVX-CoV2373, como era de esperar de una vacuna basada en proteínas (118).

Por último, al comparar las vacunas basadas en ARNm entre sí, tanto la respuesta humoral como celular fueron superiores tras la vacunación con mRNA-1273 en comparación con la vacunación con BNT162b2 (118, 119).

- Protección ofrecida por la respuesta inmune tras la vacunación

A pesar de los perfiles de seguridad y eficacia demostrados por las vacunas, la duración de la respuesta inmune proporcionada ha sido una de las principales preocupaciones en la comunidad científica. Esta duración es fundamental para que los programas de vacunación sean efectivos en el control de la enfermedad. Investigaciones realizadas sobre la eficacia de estas vacunas a medida que transcurre el tiempo post-vacunación han mostrado que la protección ofrecida disminuye de forma gradual, experimentando

una reducción considerable después de los 6 meses (120, 121). En este sentido, se ha observado una disminución del título de anticuerpos neutralizantes después de los 6 meses post-vacunación en individuos que recibieron vacunas basadas en ARNm, mientras que la vacuna Ad26.COV2.S, aunque induce niveles más bajos de anticuerpos neutralizantes, parece ofrecer una duración más prolongada en el tiempo (118, 122). Por otro lado, la respuesta de células T no muestra una disminución tan marcada después de seis meses, lo que sugiere una mayor estabilidad en el tiempo en comparación con la respuesta humoral (118).

Además, también se ha analizado el impacto de la respuesta inmune inducida por la vacunación frente a VOCs como Ómicron, observándose una reducción en los niveles de anticuerpos neutralizantes ante esta variante, aunque la respuesta celular se mantiene más conservada (95, 123).

Finalmente, se ha observado que la combinación de infección previa y vacunación, conocida como “inmunidad híbrida”, proporciona una protección de mayor magnitud y durabilidad en comparación con la proporcionada por las vacunas o la infección por separado. En inmunidad híbrida, se han observado respuestas de anticuerpos neutralizantes más persistentes y capaces de reconocer las variantes identificadas hasta la fecha (**Figura 12**) (124, 125). Sin embargo, la duración y magnitud de la protección frente al SARS-CoV-2 continúa siendo un motivo de debate.

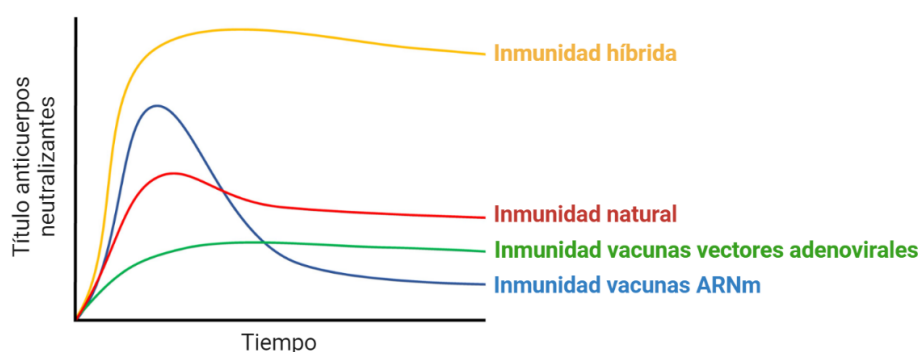


Figura 12. Representación de la magnitud y duración de los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la COVID-19 tras la infección, vacunación o ambas. Adaptada de Lasrado et al., 2023 (124).

1.4. Poblaciones de riesgo

Es fundamental mantener una estrecha vigilancia sobre la respuesta inmune ante la infección por SARS-CoV-2 en poblaciones vulnerables o con mayor riesgo de no desarrollar una respuesta inmune adecuada tras la vacunación. Esto permitiría comprender su evolución y gestionar la infección de manera efectiva en términos de salud pública.

En este sentido, el informe del 25 de marzo de 2021 del Ministerio de Sanidad de España (126) identificó diversas poblaciones vulnerables o de riesgo frente al SARS-CoV-2. Entre ellas, destacan tres grupos de pacientes que serán objeto de análisis en esta memoria:

- Mujeres embarazadas y sus bebés
- Personas inmunodeprimidas (personas con VIH)
- Pacientes oncológicos

1.4.1. Mujeres embarazadas y sus bebés

1.4.1.1. Impacto de la infección por SARS-CoV-2 en mujeres embarazadas

Las mujeres embarazadas se consideran especialmente susceptibles a la infección por SARS-CoV-2, con un mayor riesgo de desarrollar formas graves de la enfermedad (25, 127). Durante el embarazo, se ha observado una mayor probabilidad de ingresar en la UCI y necesitar oxigenoterapia, así como un mayor riesgo de mortalidad en comparación con mujeres no embarazadas (128). Además, existe un incremento en el riesgo de complicaciones como preeclampsia, parto prematuro, retraso del crecimiento intrauterino y muerte fetal, especialmente en casos de enfermedad grave (128).

Es fundamental considerar el impacto del SARS-CoV-2 en el desarrollo fetal y en los recién nacidos. Aunque la transmisión vertical del virus es poco común, se han documentado casos de transmisión a través de la placenta, lo que podría afectar al desarrollo del embarazo (129, 130). Dado que el sistema inmune de los recién nacidos es inmaduro, su protección contra el SARS-CoV-2 depende de la transferencia de anticuerpos maternos (131). Por lo tanto, resulta crucial prestar especial atención a las mujeres embarazadas en lo que respecta al SARS-CoV-2 y a la respuesta inmune

generada tras la infección y/o la vacunación, tanto para su propia salud como para la de sus hijos.

1.4.1.2. Alteraciones inmunológicas y anatómicas durante el embarazo

Durante el embarazo, las mujeres experimentan cambios fisiológicos que impactan en sus funciones inmunológicas y mecánicas. Estos cambios incluyen ajustes en el sistema cardiovascular y pulmonar, y responden a la necesidad de adaptarse a la presencia del feto (132, 133). Además, a lo largo del embarazo se observan modificaciones en la composición y función del sistema inmune para evitar el rechazo del feto, al tiempo que se garantiza la protección tanto de la madre como del bebé (133, 134). Aunque esta tolerancia inmunológica es esencial para evitar que la madre rechace el feto, también puede aumentar la susceptibilidad de las mujeres embarazadas a complicaciones asociadas con infecciones virales (132).

Esta modulación del sistema inmune se debe principalmente a los cambios hormonales durante el periodo de gestación, como el aumento en los niveles de progesterona, estradiol o estriol, los cuales afectan al equilibrio entre las respuestas antiinflamatorias y proinflamatorias, tanto de forma directa como a través de mediadores (135, 136). En consecuencia, durante el primer trimestre, se establece un entorno proinflamatorio que favorece la implantación del embrión. A medida que avanza el periodo de gestación, el sistema inmune se ajusta hacia un estado antiinflamatorio para promover el crecimiento fetal, volviendo a una fase proinflamatoria que favorece el parto (137).

Durante el embarazo, aumenta la producción del factor de bloqueo inducido por progesterona (PIBF) por parte de los linfocitos, en respuesta a los elevados niveles de progesterona (135). El PIBF promueve la diferenciación de las células T CD4(+) tipo Th2, secretoras de citocinas antiinflamatorias como IL-4 o IL-10, reduciendo así la respuesta Th1 (135). Por tanto, durante la gestación, se observa un sesgo en la respuesta inmune, con una predominancia de células Th2, cuya función principal es proteger al feto. Sin embargo, esto vuelve a la madre más vulnerable a infecciones virales, las cuales son controladas de manera más efectiva por la respuesta de células Th1 (132). Estos cambios son especialmente notables en el tercer trimestre del embarazo, cuando los niveles hormonales son más elevados (**Figura 13**) (135).

La progesterona también fomenta un entorno antiinflamatorio al influir en la producción de células Treg, las cuales aumentan durante la gestación y disminuyen en el momento del parto (**Figura 13**). (136). Además, se ha observado una reducción en la cantidad de células B durante el embarazo, lo que también contribuye a la tolerancia inmunológica hacia el feto por parte de la madre. Esta reducción en las células B evita la producción de anticuerpos que podrían identificar antígenos paternos presentes en el feto (**Figura 13**) (138, 139).

Esta tendencia se extiende también a la respuesta inmune innata, disminuyendo la actividad de células como macrófagos y células natural killer (NK) (**Figura 13**), lo que contribuye al estado antiinflamatorio característico durante el desarrollo del embarazo (135).

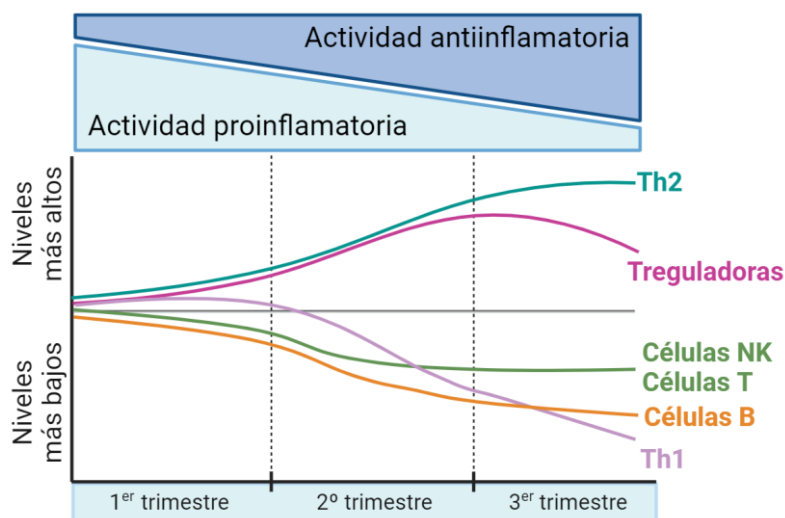


Figura 13. Representación de los cambios en la respuesta inmune durante el periodo de gestación. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptada de Abu-Raya et al., 2020 (133).

Por otro lado, se ha observado una mayor expresión de la proteína ACE2 en el sistema reproductor femenino y la placenta, lo que aumenta la susceptibilidad de estos tejidos a la infección por el SARS-CoV-2 (140, 141). Además, la unión del virus con su receptor provoca una reducción de la proteína ACE2, lo cual compromete sus funciones en la placenta y desencadena un estado de inflamación, vasoconstricción y procoagulación, característicos de trastornos durante el embarazo como la preeclampsia (142, 143).

1.4.1.3. Respuesta inmune a la infección y vacunación en mujeres embarazadas

Se ha documentado la transferencia de anticuerpos específicos tipo IgG a través de la placenta y la presencia de anticuerpos tipo IgA en la leche materna después de la infección por SARS-CoV-2, lo que podría proporcionar inmunidad pasiva a los recién nacidos (144, 145).

Aunque las mujeres embarazadas fueron excluidas de los primeros ensayos clínicos de las vacunas contra la COVID-19 por razones éticas y de seguridad, se ha demostrado que estas vacunas son seguras y eficaces para proporcionar protección contra las formas graves de la enfermedad. De hecho, la protección ofrecida por las vacunas ha demostrado ser incluso superior a la proporcionada por la infección, tanto para las madres como para los hijos (146-148).

Por tanto, dado que las mujeres embarazadas son especialmente vulnerables al SARS-CoV-2, es de suma importancia vigilar su estado inmunológico y la respuesta de esta población a la infección y/o vacunación.

1.4.2. Personas con VIH

Tras más de cuatro décadas desde la aparición de los primeros casos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), aun no existen vacunas o tratamientos curativos efectivos contra el VIH. La gran mayoría de personas con VIH (PVIH) dependen de una terapia antirretroviral diaria para controlar la infección (149). A finales de 2022, según la información proporcionada por el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA), se estimaba que había 39 millones de PVIH en todo el mundo. De ese total, 29,8 millones tenían acceso a la terapia antirretroviral. Durante ese mismo año, 1,3 millones de personas se infectaron con el virus y 630.000 fallecieron debido a enfermedades relacionadas con el SIDA (150).

En España, según datos proporcionados por el Ministerio de Sanidad en su última actualización de junio de 2022, la tendencia de transmisión en los últimos años ha seguido una trayectoria descendente, pero en el año 2021 se registraron 2.786 nuevos casos de infección por VIH (151).

1.4.2.1. Alteraciones inmunológicas en PVIH

El VIH es un retrovirus de ARN que presenta una envoltura esférica formada por una bicapa lipídica. En esta envoltura se encuentran diversas proteínas de membrana que desempeñan funciones esenciales en el proceso de unión y fusión con la célula huésped (152). A través de estas proteínas, el VIH se une al receptor de superficie CD4, ubicado principalmente en los linfocitos T CD4(+) y en otras células del sistema inmune como monocitos, macrófagos o células dendríticas. Una vez que se establece esta unión, se produce la fusión de ambas, lo que conduce a la liberación del ARN viral en el citoplasma de la célula infectada (152).

La infección por VIH altera la función de las células T CD4(+) y conduce a su destrucción (152). Durante la fase aguda de la infección, se observa una reducción significativa en el número de linfocitos T CD4(+), acompañada por un aumento en la carga viral (**Figura 14**), lo que se resulta en una alteración tanto de la respuesta inmune innata como de la adaptativa (152). En ausencia de tratamiento, el virus continúa replicándose, lo que ocasiona un estado de inflamación crónica y la pérdida progresiva de las células T CD4(+). Este deterioro continuo del sistema inmune está directamente relacionado con el desarrollo de inmunodeficiencia y progresión a SIDA (149, 152).

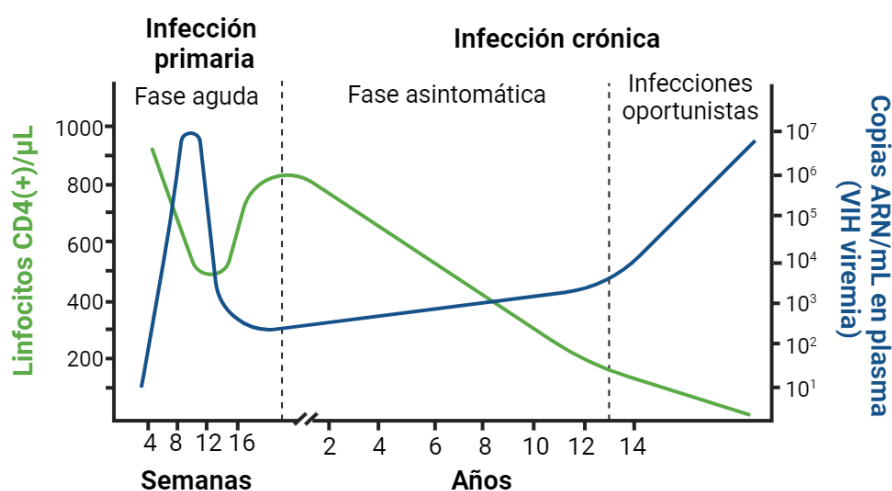


Figura 14. Evolución clínica de la infección por el VIH en pacientes sin tratamiento. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptada de Chu et al., 2010 (153).

El inicio temprano de la terapia antirretroviral tras la infección por VIH normaliza la respuesta de células T CD4(+) y suprime eficazmente la replicación viral (149, 152). De esta forma, los niveles de inflamación y activación del sistema inmune son menores cuanto antes se inicie el tratamiento (154). Sin embargo, la respuesta de las células B y T específicas sigue alterada en las personas con VIH (155). Además, persiste un estado basal de inflamación crónica en estos pacientes, lo que contribuye al envejecimiento prematuro del sistema inmune y aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad por eventos no relacionados con el SIDA (156, 157). Por lo tanto, las PVIH se consideran especialmente vulnerable a la infección por otros patógenos oportunistas, presentando mayor riesgo de sufrir neumonía y otras enfermedades respiratorias a pesar de estar bajo tratamiento antirretroviral (158).

1.4.2.2. Respuesta inmune a la infección y vacunación en PVIH

Desde el inicio de la pandemia de COVID-19, numerosas investigaciones se han centrado en determinar si las PVIH presentan un mayor riesgo de contraer la infección por SARS-CoV-2, experimentar la enfermedad en su forma más grave o tener un mayor riesgo de muerte. Los primeros estudios realizados arrojaron resultados discordantes. Algunas investigaciones no encontraron diferencias significativas entre PVIH y personas sin VIH (159, 160), mientras otros estudios demostraron un peor pronóstico para las PVIH (161-163). Estas discrepancias parecen estar estrechamente relacionadas con el grado de inmunosupresión en estos pacientes y la toma de tratamiento antirretroviral. Se ha observado que aquellos con un recuento de linfocitos T CD4(+) inferior a 200 células/ μ l muestran un mayor riesgo de desarrollar COVID-19 grave (164).

Las PVIH fueron consideradas como grupo prioritario en la campaña de vacunación contra el SARS-CoV-2, siguiendo las recomendaciones de sociedades científicas tanto nacionales como internacionales (165, 166). Varios estudios han confirmado la seguridad de las vacunas contra la COVID-19 en este grupo de pacientes (167-169). No obstante, dado que las PVIH han mostrado respuestas subóptimas a otras vacunas, se han llevado a cabo múltiples investigaciones para analizar la respuesta inmune inducida por las vacunas contra el SARS-CoV-2 en esta población (166, 170, 171).

Al igual que en la respuesta tras la infección por SARS-CoV-2, los resultados sobre estas vacunas en PVIH son contradictorios. Mientras algunos estudios han demostrado que el título y la capacidad de neutralización de los anticuerpos inducidos por la vacuna en PVIH son comparables a los de personas sin VIH (172), otras investigaciones han revelado diferencias en la respuesta inmune generada, vinculadas principalmente al número de linfocitos T CD4(+) y la carga viral en PVIH (165, 173). Se han observado diferencias significativas en los niveles de anticuerpos contra la proteína S en PVIH con un recuento de células T CD4(+) >200 células/ μ l en comparación con aquellos con <200 células/ μ l, especialmente después de la vacunación con vacunas basadas en ARNm, donde el grupo con menor recuento de células T CD4(+) mostró una respuesta significativamente reducida (165, 173). Por ello, persisten las preocupaciones sobre la eficacia de las vacunas contra el SARS-CoV-2 en esta población.

1.4.3. Pacientes oncológicos

En la actualidad, el cáncer sigue siendo una de las enfermedades con mayor incidencia y una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Según el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, del inglés International Agency for Research on Cancer), en 2020 se diagnosticaron alrededor de 18,1 millones de nuevos casos de cáncer en todo el mundo (174). Además, se prevé que la tendencia al alza observada en los últimos años continúe, de modo que para 2040 las cifras de nuevos diagnósticos podrían alcanzar los 28 millones (174).

En España, el cáncer representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. Según el informe anual de 2024 de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), publicado en enero, se estima que en nuestro país se registrarán alrededor de 286.664 casos en el año 2024 (174).

1.4.3.1. Alteraciones inmunológicas en pacientes oncológicos

Debido a la propia enfermedad y los tratamientos a los que son sometidos, los pacientes con cáncer presentan un estado de inmunosupresión que los hace más susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 y, en comparación con la población general, suelen tener un pronóstico más desfavorable (175-177).

Se ha observado que los tumores y el entorno tumoral tienen la capacidad de modular la respuesta inmune mediante diversos mecanismos. Estos mecanismos influyen en la proliferación de células T auxiliares y citotóxicas, así como en la acumulación de citocinas y células inmunitarias supresoras. De hecho, los cambios en la respuesta inmune durante la progresión tumoral podrían compararse con los procesos inflamatorios e inmunológicos que ocurren durante el embarazo, mencionados anteriormente (178).

Las células tumorales tienen la capacidad de modificar el entorno tisular, promoviendo una respuesta dominada por células Th2 y generando un ambiente antiinflamatorio. Este proceso se acompaña del reclutamiento de macrófagos tipo M2, células con una baja capacidad de presentación de antígenos y que producen factores que inhiben la actividad de las células T (179). Además, se reclutan células mieloides supresoras (MDSCs, del inglés *Myeloid-derived suppressor cell*) y células T reguladoras, lo que favorece el crecimiento tumoral (**Figura 15**) (180). Todos estos mecanismos de evasión inmunológica contribuyen a establecer un estado inmunosupresor en los pacientes afectados.

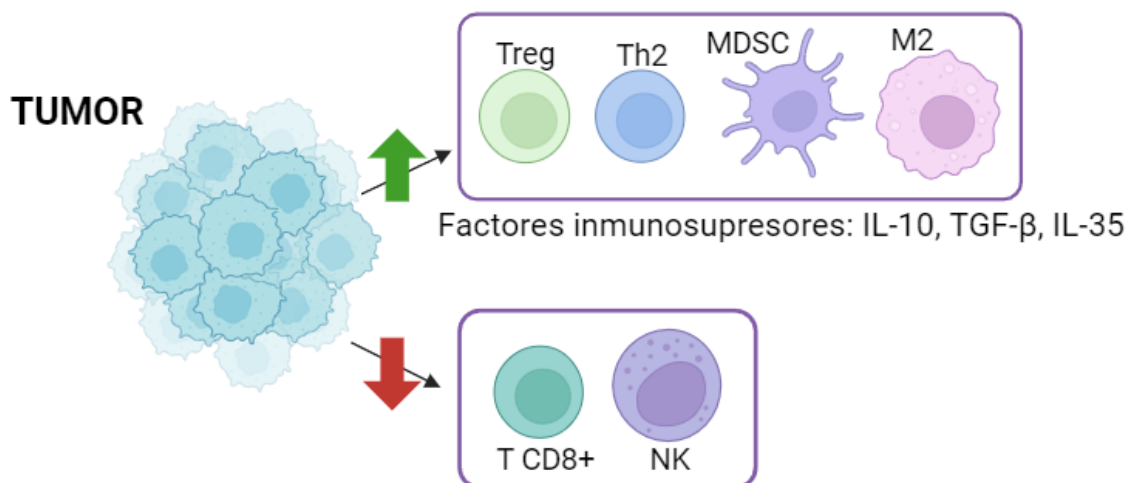


Figura 15. Representación esquemática del estado inmunosupresor en el ambiente tumoral. Figura de elaboración propia creada con Biorender.com, adaptada de Shimizu et al., 2018 (180).

Por otro lado, a pesar de la amplia variedad de tratamientos empleados en estos pacientes, la mayoría de ellos tienen la capacidad de afectar al sistema inmune. Terapias antineoplásicas como la quimioterapia, la inmunoterapia y la radioterapia impactan negativamente en la respuesta inmune de los pacientes (181). En este sentido, se ha

identificado una asociación entre la administración de ciertos regímenes de quimioterapia, como aquellos basados en platino combinado con etopósido o el esquema R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, hidroxidaunorrubicina, sulfato de vincristina y prednisona) y un mayor riesgo de desarrollar COVID-19 grave y mayor mortalidad en pacientes infectados por SARS-CoV-2 (182).

La afectación del sistema inmune en este grupo de pacientes puede resultar en una alta prevalencia de infecciones persistentes (183, 184). Esta mayor susceptibilidad a infecciones crónicas puede hacer que actúen como reservorios para el virus, facilitando la acumulación de mutaciones y, en consecuencia, la aparición de nuevas variantes que dificultan el control de la enfermedad (184-187).

1.4.3.2. Respuesta inmune a la infección y vacunación en pacientes oncológicos

Varios estudios han evaluado la respuesta inmune tras la infección por SARS-CoV-2 en pacientes oncológicos. Se ha documentado una baja prevalencia de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 tras la infección en estos pacientes, especialmente en aquellos con neoplasias hematológicas (188-190). En cuanto a la respuesta celular, también se ha observado una disminución en la respuesta de células T contra el SARS-CoV-2 después de la infección en personas con cáncer (191). Por ello, los pacientes oncológicos tuvieron prioridad para recibir las vacunas contra la COVID-19. Sin embargo, estas personas fueron excluidas de los principales ensayos clínicos (192). Estudios anteriores sobre la respuesta inmune después de la vacunación en esta población han sugerido una menor eficacia frente a ciertas vacunas como, por ejemplo, la vacuna contra la gripe (193, 194).

Se ha observado que la respuesta humoral generada tras una dosis de las vacunas de ARNm contra la COVID-19, como BNT162b2 y mRNA-1273, es menor en pacientes oncológicos en comparación con la población general. Esta reducción de la respuesta inmune es especialmente notable en pacientes que reciben tratamiento activo contra el cáncer, como la quimioterapia o agentes biológicos dirigidos a dianas específicas de células B, como la terapia anti-CD20 (por ejemplo, rituximab) (95, 195, 196). Sin embargo, los resultados obtenidos en este grupo de pacientes son contradictorios. Mientras algunos estudios indican que la respuesta inmune humoral de estas vacunas es similar en pacientes con cáncer sólido que reciben tratamiento oncológico sistémico

en comparación con individuos sin tratamiento (197), otros reportan respuestas inmunes más débiles en los primeros (198).

Por otro lado, se ha observado una respuesta inmune celular similar a la de la población sana en pacientes oncológicos después de la vacunación con vacunas de ARNm, tanto en pacientes con cáncer sólido como hematológico, incluso en aquellos en los que no se detecta una respuesta de anticuerpos neutralizantes (199). No obstante, es importante destacar que la respuesta celular tiende a ser menos eficaz contra variantes de preocupación como Ómicron, incluso después de recibir dosis de refuerzo (200).

Dado el estado comprometido del sistema inmune en pacientes con cáncer, es fundamental seguir investigando su respuesta a la vacunación contra la COVID-19. Este conocimiento es vital tanto para su bienestar individual como para las estrategias de salud pública.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

La respuesta inmune en poblaciones de riesgo con sistemas inmunitarios alterados o inmunodeprimidos, como mujeres embarazadas y sus bebés, personas con VIH y pacientes oncológicos, es diferente de la respuesta inmune en individuos sanos. Estas diferencias podrían conducir a una respuesta inmune comprometida frente al SARS-CoV-2 después de la infección natural o tras la vacunación contra la COVID-19.

OBJETIVOS

Caracterizar la respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 tras la infección aguda primaria y la vacunación contra la COVID-19 en poblaciones de riesgo con sistemas inmunes alterados o inmunodeprimidos, como mujeres embarazadas y sus bebés, personas con VIH y pacientes oncológicos.

Objetivos específicos:

- 1) Analizar la respuesta humoral (IgM, IgG, IgA) contra la proteína S del SARS-CoV-2 en mujeres embarazadas infectadas y en sus bebés, tanto en el parto (suero y leche materna, y suero de cordón umbilical) como seis meses después (suero de madres y bebés).
- 2) Analizar la respuesta humoral (IgG sérica) contra la proteína S del SARS-CoV-2, tanto frente al linaje B.1 como a la variante Ómicron, en madres vacunadas de COVID-19 y en sus bebés en el momento del parto y 2-3 meses posparto.
- 3) Evaluar la respuesta humoral (IgM, IgG, IgA plasmáticas) contra la proteína S del SARS-CoV-2 en PVIH y un grupo control sin VIH, ambos recuperados de COVID-19.
- 4) Analizar la respuesta humoral (IgG plasmática) contra la proteína S del SARS-CoV-2 (linaje B.1 y variante Ómicron) después de la segunda dosis y la dosis de refuerzo de la vacuna COVID-19 en PVIH.
- 5) Evaluar el impacto del tratamiento oncológico inmunosupresor en la respuesta humoral (IgG plasmática) y celular (células T) contra el linaje B.1 y la variante Ómicron después de la segunda y tercera dosis de la vacuna COVID-19 en pacientes con cáncer.

3. MÉTODOS

3.1. Población de estudio

3.1.1. Población 1: Mujeres embarazadas y sus bebés

Art. 1 (201): Martin-Vicente et al. *Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. Birth 2023; 50(2):418-427.*

- **Diseño:** Estudio prospectivo.
- **Población:** Mujeres embarazadas con primoinfección natural por SARS-CoV-2 y sus recién nacidos.
- **Tiempos de estudio:** En el momento del parto y seis meses posparto.
- **Periodo de tiempo:** Marzo de 2020 a mayo de 2021.
- **Muestras biológicas:** Suero y leche de mujeres embarazadas, y suero de sus bebés.

Art. 2 (202): Muñoz-Gomez MJ et al. *IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother-child dyads after COVID-19 vaccination. Infection 2024; 52:813-824.*

- **Diseño:** Estudio prospectivo.
- **Población:** Mujeres embarazadas vacunadas contra la COVID-19 y sus bebés.
- **Tiempos de estudio:** En el momento del parto y 2-3 meses posparto.
- **Periodo de tiempo:** Septiembre de 2021 a marzo de 2022.
- **Muestras biológicas:** Suero de mujeres embarazadas y de sus bebés.

3.1.2. Población 2: Personas con VIH

Art.3 (203): Martin-Vicente et al. *Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19. J Infect 2022; 84(3):418-467.*

- **Diseño:** Estudio transversal.
- **Población:** Personas infectadas con VIH y controles sanos sin VIH que habían pasado la infección por SARS-CoV-2.
- **Periodo de tiempo:** Abril de 2020 a septiembre de 2020.
- **Muestras biológicas:** Plasma de personas con VIH y controles sin VIH.

Art.4 (204): Muñoz-Gomez MJ et al. *Immune response against SARS-CoV-2 spike protein in people with HIV after COVID-19 vaccination. medRxiv [Preprint].*

- **Diseño:** Estudio prospectivo
- **Población:** Personas infectadas con VIH y controles sanos (HC) sin infección por VIH, vacunados contra la COVID-19.
- **Tiempos de estudio:** Febrero de 2021 a Febrero de 2022
- **Periodo de tiempo:** Antes de la primera dosis, cuatro semanas después de la segunda dosis y diez semanas después de la dosis de refuerzo.
- **Muestras biológicas:** Plasma de personas con VIH y controles sin VIH

3.1.3. Población 3: Pacientes oncológicos

Art.5 (205): Muñoz-Gomez MJ et al. *Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 vaccination during the Omicron wave: a prospective study. Journal of Infection and Public Health 2024; 17(7).*

- **Diseño:** Estudio prospectivo.
- **Población:** Pacientes con cáncer vacunados contra la COVID-19, estratificados según su tratamiento oncológico inmunosupresor.
- **Tiempos de estudio:** Antes de la primera dosis, cuatro semanas después de la segunda dosis y ocho semanas después de la dosis de refuerzo.
- **Periodo de tiempo:** Febrero de 2021 a Enero de 2022
- **Muestras biológicas:** Plasma y células mononucleares de sangre periférica (CMSP).

3.2. Ensayos de laboratorio

3.2.1. Clonación, expresión y purificación de los dominios de la proteína S y el receptor ACE2

3.2.1.1. Proteína S

- **Plásmido (p α H):** codifica el ectodominio de la proteína S del SARS-CoV-2 (residuos 1-1208), estabilizado en su conformación de prefusión. Proporcionado por el Dr. Jason McLellan (Universidad de Texas, Austin, EE. UU.) (206).

- **Plásmido pαH HexaPro:** esta versión del plásmido pαH incluye 6 sustituciones de prolina para aumentar la producción (207). También se obtuvo una versión del plásmido pαH HexaPro con dos sustituciones de cisteína (S383C D985C). Esta última codifica una proteína S con una conformación cerrada, incapaz de unirse al receptor ACE2 (208).
- **Transfección:** células FreeStyle 293F (Life Technologies, Carlsbad, California, EE.UU.)
- **Purificación:** se usaron resinas de níquel-nitrilotriacetato (Ni-NTA) (Cityva, Uppsala, Suecia), seguidas de filtración en gel con columnas de Superose 6 10/300 (Cytiva, Uppsala, Suecia).
- **Estudio pureza e integridad:** SDS-PAGE y tinción con Coomassie-Blue.

3.2.1.2. Receptor ACE2

- **Plásmido ACE2:** codifica el dominio de la proteína ACE2 (residuos 1-165) fusionado a una StrepTag.
- **Transfección:** células FreeStyle 293F (Life Technologies, Carlsbad, California, EE.UU.)
- **Purificación:** sistema Strep-tag (IBA Lifesciences, Gottingen, Alemania) y cromatografía en gel Superdex 200 (Cytiva, Uppsala, Suecia).

3.2.2. Evaluación de la respuesta inmune

3.2.2.1. Respuesta humoral

- **Métodos:** a) inmunoensayo (ELISA) para determinar la presencia de anticuerpos (IgG, IgM, IgA) frente a la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2; b) inmunoensayo (ELISA) para cuantificar los títulos de anticuerpos frente a la proteína S del SARS-CoV-2 (linaje B.1 y variante Ómicron); c) inmunoensayo (ELISA) para cuantificar la capacidad de los anticuerpos para inhibir la unión S-ACE2.
- **Muestras:** suero, leche, plasma

3.2.2.2. Respuesta celular

- **Método:** cuantificación de la expresión de IFN- γ e IL-2 mediante inmunofluorescencia (FluoroSpot Plus Human IFN- γ /IL-2, Mabtech Inc., Cincinnati, Ohio, EE.UU.).

- **Muestras:** células mononucleares de sangre periférica (CMSP), estimuladas con péptidos de la proteína S del SARS-CoV-2.

3.2.3. Análisis estadístico

- **Programas:** IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, EE.UU.), Stata 15.0 (StataCorp, Texas, EE.UU.), GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EE.UU.).
- **Estadística:** Para calcular diferencias en variables continuas en grupos independientes, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. En grupos dependientes, se usó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Para variables categóricas, se aplicaron la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Pearson. Además, se usaron regresiones logísticas, modelos lineales generalizados (GLM) y modelos lineales mixtos generalizados (GLMM) ajustados por variables clínicas, para evaluar diferencias entre grupos.

4. RESULTADOS

4.1. Población 1: Mujeres embarazadas y sus bebés

4.1.1. Artículo 1 (201): Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later.

Introducción: Las mujeres embarazadas son vulnerables a la infección por SARS-CoV-2. Los anticuerpos neutralizantes contra la proteína S del virus protegen de enfermedad grave.

Objetivos: Examinar la respuesta inmune humoral frente a la proteína S del SARS-CoV-2 en mujeres embarazadas que han pasado el COVID-19 y en sus recién nacidos, tanto en el momento del parto como seis meses después.

Métodos: Estudio prospectivo en mujeres embarazadas con infección confirmada por SARS-CoV-2 y sus recién nacidos. Se evaluaron los títulos de anticuerpos (IgG, IgM e IgA) mediante ELISA en muestras de suero y leche. También se determinó la capacidad de estos anticuerpos para inhibir la unión entre la proteína S y su receptor, la proteína ACE2.

Resultados: En el momento del parto, se detectaron anticuerpos frente a la proteína S en el 81,9% de los sueros de las madres, el 78,9% de las muestras de sangre del cordón umbilical y el 63,2% de las muestras de leche. Los niveles de anticuerpos fueron más elevados en mujeres sintomáticas ($p < 0,05$). A los seis meses posparto, los niveles de IgG disminuyeron drásticamente en el suero de los niños ($p < 0,001$) pero permanecieron elevados en el suero de las madres. Los títulos de anticuerpos se correlacionaron positivamente con su capacidad para inhibir la interacción proteína S-ACE2 al inicio del estudio en suero materno ($R^2 = 0,203$; $p < 0,001$), del cordón umbilical ($R^2 = 0,378$; $p < 0,001$) y en la leche ($R^2 = 0,564$; $p < 0,001$), y a los seis meses en el suero materno ($R^2 = 0,600$; $p < 0,001$).

Conclusión: La mayoría de las mujeres embarazadas presentaron altos niveles de anticuerpos contra la proteína S del SARS-CoV-2. La eficiente transferencia de IgG a la sangre del cordón umbilical y los altos títulos de IgA en la leche materna sugieren que los recién nacidos pueden estar inmunizados pasivamente contra el SARS-CoV-2.

Art. 1 (201): María Martin-Vicente*, Itziar Carrasco*, **María José Muñoz-Gómez***, Alicia Hernanz Lobo, Vicente Mas, Sara Vigil-Vázquez, Mónica Vázquez, Angela Manzanares, Olga Cano, Roberto Alonso, Daniel Sepúlveda-Crespo, Laura Tarancón-Díez, María Ángeles Muñoz-Fernández, Mar Muñoz-Chapuli, Salvador Resino, Maria Luisa Navarro, Isidoro Martinez. *Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. Birth 2023; 50(2):418-427.*

* MMV, IC y MJMG han contribuido a partes iguales a este estudio.

<u>Indicadores de calidad</u>
ISSN: 0730-7659 Editorial: Wiley Periodicals LLC Índice de impacto: 2,5 Fuente de impacto: WOS (JCR) Categoría: NURSING Rango: 37/125 Cuartil: Segundo

Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later

María Martin-Vicente PhD¹  | Itziar Carrasco PhD² |
 María José Muñoz-Gomez MSc¹  | Alicia Hernanz Lobo MD, MSc^{2,3}  |
 Vicente Mas PhD⁴  | Sara Vigil-Vázquez MD⁵ | Mónica Vázquez MLT⁴ |
 Angela Manzanares MD³  | Olga Cano MLT⁴ | Roberto Alonso PhD⁶ |
 Daniel Sepúlveda-Crespo PhD¹  | Laura Tarancón-Díez PhD⁷  |
 María Ángeles Muñoz-Fernández PhD^{7,8}  | Mar Muñoz-Chapuli MD, MSc⁹  |
 Salvador Resino PhD^{1,10}  | María Luisa Navarro PhD^{2,3,10} | Isidoro Martínez PhD^{1,10} 

¹Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain

²Grupo de Investigación en Infectología Pediátrica, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

³Servicio de Pediatría, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁴Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

⁵Servicio de Neonatología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁶Departamento de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁷Laboratorio de Inmunobiología Molecular, Sección de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁸HIV-HGM BioBank, Madrid, Spain

⁹Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

¹⁰Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Correspondence

Isidoro Martínez and Salvador Resino,
 Centro Nacional de Microbiología,
 Instituto de Salud Carlos III
 (Campus Majadahonda); Carretera
 Majadahonda-Pozuelo, Km 2.2; 28220
 Majadahonda, Madrid, Spain.
 Email: imago@isciii.es (I.M.);
sresino@isciii.es (S.R.)

Funding information

This study was supported by grants
 from Instituto de Salud Carlos III
 (ISCIII; grant numbers COV20_00808).
 The study was also funded by the
 Centro de Investigación Biomédica
 en Red (CIBER) de Enfermedades
 Infecciosas (CB21/13/00044 and
 CB21/13/00077). DSC is a “Sara
 Borrell” researcher from ISCIII

Abstract

Introduction: Pregnant women are vulnerable to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) infection. Neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 spike (S) protein protect from severe disease. This study analyzes the antibody titers to SARS-CoV-2 S protein in pregnant women and their newborns at delivery, and six months later.

Methods: We conducted a prospective study on pregnant women with confirmed SARS-CoV-2 infection and newborns. Antibody (IgG, IgM, and IgA) titers were determined using immunoassays in serum and milk samples. An angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor-binding inhibition assay to the S protein was performed on the same serum and milk samples.

Results: At birth, antibodies to SARS-CoV-2 spike protein were detected in 81.9% of mothers' sera, 78.9% of cord blood samples, and 63.2% of milk samples. Symptomatic women had higher antibody titers (IgG, IgM, and IgA) than the

María Martin-Vicente, Itziar Carrasco, and María José Muñoz-Gomez contributed equally to this study

Salvador Resino, María Luisa Navarro, and Isidoro Martínez contributed equally to this study

(grant number CD20CIII/00001) and has been supported by a fellowship award from Fundación ONCE “Oportunidad al Talento”

asymptomatic ones ($P < 0.05$). At six months postpartum, IgG levels decreased drastically in children's serum ($P < 0.001$) but remained high in mothers' serum. Antibody titers correlated positively with its capacity to inhibit the ACE2–spike protein interaction at baseline in maternal sera ($R^2 = 0.203$; $P < 0.001$), cord sera ($R^2 = 0.378$; $P < 0.001$), and milk ($R^2 = 0.564$; $P < 0.001$), and at six months in maternal sera ($R^2 = 0.600$; $P < 0.001$).

Conclusions: High antibody levels against SARS-CoV-2 spike protein were found in most pregnant women. Due to the efficient transfer of IgG to cord blood and high IgA titers in breast milk, neonates may be passively immunized to SARS-CoV-2 infection. Our findings could guide newborn management and maternal vaccination policies.

KEYWORDS

antibody, breast milk, cord blood, newborn, pregnant, SARS-CoV-2, spike glycoprotein

1 | INTRODUCTION

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is expanding all over the world, causing devastating diseases in humans (coronavirus disease 2019 or COVID-19) with a tremendous impact on global health and the economy.¹ The most common symptoms of mild infections include fever, fatigue, and dry cough. However, in severe cases, pneumonia and acute respiratory distress syndrome, both with high mortality rates, are developed 1–2 weeks after the onset of the illness.² In the severe COVID-19, a deregulated proinflammatory response, known as a “cytokine storm,” leads to systemic inflammation and multiple organ failure.³

Pregnant women are at increased risk of severe COVID-19.⁴ Furthermore, the inflammatory response induced by SARS-CoV-2 may damage the placenta, raising the probability of viral vertical transmission,⁵ and the inflammatory condition may be extended to the fetus, compromising its normal development.⁵ Nonetheless, placental and fetus infections have been reported only in a few studies, and data on vertical transmission are not conclusive because false-positive results or postnatal infection can not be excluded.⁶ The mother experiences substantial physiologic and immunologic changes during normal pregnancy to ensure proper fetal growth.⁷ These changes include the overexpression in the placenta and fetal organs of the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2).⁸ ACE2 promotes an anti-inflammatory, vasodilatory, and antithrombotic response that favors the implantation and development of the fetus.⁹ However, ACE2 is the SARS-CoV-2 receptor, and its upregulation in the placenta and fetal organs may increase the risk of SARS-CoV-2 infection in these organs.³ Moreover, when the virus binds to

the ACE2, this receptor is downregulated, and its levels remain low during infection,¹⁰ promoting vasoconstriction, inflammation, and procoagulopathic effects resembling preeclampsia.¹¹

Specific neutralizing antibodies against the “spike” or S glycoprotein of SARS-CoV-2 protect from severe COVID-19. Those antibodies are raised mainly against the receptor-binding domain, which mediates the attachment to ACE2 on the host cells.^{12,13} A few studies have shown that SARS-CoV-2-specific immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM) antibodies are present in the blood of pregnant women, while immunoglobulin A (IgA) predominates in breast milk.^{14–18} SARS-CoV-2 IgG is transferred to the fetus through the placenta.^{14,17} However, IgM and IgA do not cross the placenta, and their presence in the fetus' umbilical cord blood could indicate a possible infection.^{5,19}

In the present study, we aimed to analyze the antibody levels to SARS-CoV-2 S protein at delivery in the serum and milk of SARS-CoV-2-infected pregnant women and their newborns' umbilical cord serum. Six months after delivery, antibody levels were also quantified in the serum of the women and their infants.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study design

We carried out a prospective study on pregnant women with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection before childbirth or at childbirth and their newborns. At delivery, we studied the antibody levels to SARS-CoV-2 S protein in the maternal serum ($n = 104$), milk ($n = 46$), and

umbilical cord serum ($n = 71$). Six months later, we also studied the paired serum samples available from those patients [mothers ($n = 33$) and children ($n = 23$)] who attended their routine medical examination.

All participants were recruited at the Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) from Madrid, Spain, between March 2020 and November 2020, inside the GESNEO-COVID Cohort.²⁰ The follow-up study (six months after delivery) was carried out in the Department of Pediatrics of the HGUGM, where the routine medical examination of children exposed to or infected by SARS-CoV-2 was performed. However, some children were lost because they were examined in other hospitals or primary care centers. Only children (and their mothers) that attended the pediatric care of the HGUGM six months after delivery were included in the follow-up study. This follow-up study was stopped on May 15, 2021. The study was approved by the HGUGM Ethics Committee (Ref.: IRB 00006051) and was conducted following the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed consent before enrollment.

2.2 | Clinical data and samples

Epidemiological, clinical, and microbiological data (PCR test and serological analysis for COVID-19 diagnosis) of mothers and newborns were collected from the hospital's electronic medical history through Research Electronic Data Capture (REDCap) platform, hosted on a secure server at the Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain.

Mothers were tested for SARS-CoV-2 infection by polymerase chain reaction (PCR, TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix, Applied Biosystems) on a respiratory specimen (nasopharyngeal swab) or by detecting IgG or/and IgM antibodies by immunoassay (IgG/IgM against SARS-CoV-2 by SARS-CoV-2 IgG Reagent Kit, Abbott) in maternal serum before childbirth or on the day of childbirth. Newborns were tested for SARS-CoV-2 infection (nasopharyngeal PCR) at birth and 15 days later. Both mother and child were followed up for six months.

For anti-SARS-CoV-2 S antibody detection, blood samples were collected in ethylene diamine tetra-acetic acid tubes from the mothers during childbirth and six months later. At delivery, cord blood samples were collected for the same purpose. For some children, blood samples were also collected six months after birth. Breast milk was collected in sterile sample bottles during the first 48 hours after delivery and, when not possible, after 15 days. All samples were received, processed, and stored at the Spanish HIV BioBank at -20°C until use.²¹

2.3 | Immunoassay for antibody quantification

The plasmid p α H coding for the S protein ectodomain (residues 1–1208) of SARS-CoV-22019-nCoV (GenBank: MN908947) stabilized in the prefusion conformation was kindly provided by Dr. Jason McLellan (the University of Texas at Austin-USA). Mutagenesis was conducted to obtain a HexaPro construct that allowed a high-yield production of a stabilized prefusion spike protein. The following substitutions were included at the ectodomain: glycine at residue 614 (D614G), a “GSAS” substitution at the furin cleavage site (residues 682–685), and proline at residues 817, 892, 899, 942, 986, and 987. A plasmid coding for residues 1–165 of ACE2, the cell receptor for the SARS-CoV-2 S protein, fused to a StrepTag was also built. The expression vector coding for the ectodomain of the SARS-CoV-2 S protein was used to transfect FreeStyle 293F cells transiently. The S protein domain was purified from filtered cell supernatants using Ni-NTA resins followed by size-exclusion chromatography. The ACE2 receptor was expressed in the same way and purified by the Insights into the Strep-tag system followed by size-exclusion chromatography (full description in Appendix S1).

Antibody titers against the S protein were determined in an ELISA assay by incubating serial dilutions of serum samples with the purified S protein ectodomain in 96-well plates, followed by successive incubations with a secondary peroxidase-conjugated anti-human IgG, IgM, or IgA (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA, USA) and the OPD substrate (Sigma Aldrich, San Luis, MO, USA). One-phase exponential decay least-squares fit curves and the area under the curve (AUC) were calculated using GraphPad Prism 9.0. The capacity of the antibodies to inhibit the binding of the soluble ACE2 receptor to the SARS-CoV-2 S protein was determined by ELISA (full description in Appendix S1). A pool of sera from individuals negative for anti-S antibodies, collected in 2016, was used as a control. After subtraction of the background, the percentage of inhibition was calculated as $[1 - (\text{OD}_{493} \text{ test serum} / \text{OD}_{493} \text{ control serum})] \times 100\%$. The percentage of inhibition relative to ACE2 in which the StrepTag was removed was further calculated as $(\% \text{ inhibition of serum samples} / \% \text{ inhibition of ACE2}) \times 100\%$ (full description in Appendix S1).

2.4 | Statistical analysis

Statistical analysis was carried out with IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, USA), and figures were generated by GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). The level of significance was defined as $P < 0.05$ (two-tailed).

TABLE 1 Characteristics of mothers and babies

Parameters	Values
(A) Mothers	
No.	104
Age (years)	34.3 (29.4; 36.9)
Country of birth	
Spain	52 (50%)
Latin American Countries	40 (38.5%)
Other	12 (11.5%)
Comorbidities	
Obesity	10 (9.6%)
Hypertension	4 (3.8%)
Diabetes	6 (5.8%)
COPD	4 (3.8%)
Hypothyroidism	4 (3.8%)
COVID-19	
Diagnosis (+)	
> Two weeks before childbirth	35 (33.7%)
Two weeks before childbirth	37 (35.6%)
In childbirth	33 (30.8%)
SARS-CoV-2 PCR (+)	
Pregnancy	87 (83.6%)
Childbirth	66 (63.4%)
Gestational age (weeks) at diagnosis	38 (33.3; 39.4)
Symptoms	46 (44.2%)
Severe symptoms	10 (9.6%)
Hospitalization	15 (14.9%)
Treatment	
Oxygen therapy	5 (4.8%)
Lopinavir/r	9 (8.7%)
Hydroxychloroquine	8 (7.7%)
Corticosteroids	3 (2.9%)
Heparin	14 (13.5%)
Antibiotics	13 (12.5%)
(B) Newborn	
No.	71
Gestational age (weeks)	36.7 (38.4; 40.4)
Mode of delivery	
Vaginal	86 (82.7%)
Caesarean	18 (17.3%)
Gender (male)	55 (52.9%)
Breastfeeding	91 (93.8%)
Admitted to NICU by prematurity	10 (9.7%)
Condition at birth	
APGAR1	9 (9; 9)
APGAR5	10 (10; 10)

TABLE 1 (Continued)

Parameters	Values
Weight (kg)	3.3 (2.9; 3.5)
Height (cm)	50 (48; 51)
Head circumference (cm)	34 (33; 35)
SARS-CoV-2 PCR (+)	
Preperinatal	1 (1%)
Postnatal	2 (1.9%)

Note: Statistics: Values are expressed as the median (Q1; Q3) and absolute count (percentage).

Abbreviations: APGAR, Appearance, Pulse, Grimace, Activity, and Respiration; APGAR1, 1-minute APGAR; APGAR5, 5-minute APGAR; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; COVID-19, coronavirus disease 2019; NICU, Neonatal Intensive Care Unit; PCR, polymerase chain reaction; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Data were shown as absolute counts (percentages) for categorical variables and median (interquartile range, IQR = P25th; P75th) for continuous variables. The Mann-Whitney U test calculated differences between independent groups and the Wilcoxon signed-rank test for dependent groups. Correlation analysis was performed using the Pearson test.

3 | RESULTS

3.1 | Patient characteristics

The characteristics of the study population are described in Table 1. Most mothers (83.7%) were PCR positive for SARS-CoV-2 during pregnancy or childbirth. However, 16.3% of pregnant women had a negative SARS-CoV-2 PCR but positive anti-SARS-CoV-2 antibodies. COVID-19 diagnosis was performed at childbirth (30.8%), two weeks before childbirth (35.6%), or more than two weeks before childbirth (33.7%). Only 43.3% had symptoms (9.6% were severe), and 4.8% needed oxygen therapy. Newborns had a mean gestational age of 36.7 weeks, 82.7% were born vaginally, and 93.8% were breastfed at hospital discharge. In general, anthropometric measurements and health status were within normal ranges. Finally, 9.7% were admitted to the Neonatal Intensive Care Unit by prematurity, and three newborns had a positive PCR for SARS-CoV-2.

3.2 | Antibody titers in mothers and neonates

At birth, antibodies to SARS-CoV-2 S protein were detected in 81.9% of mothers' sera, 78.9% of cord sera

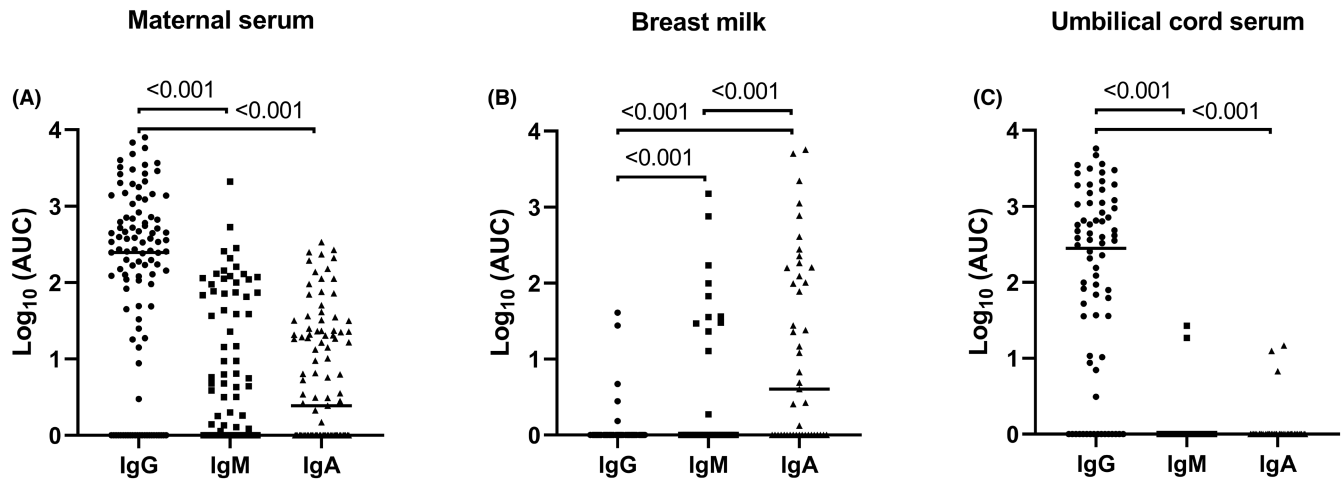


FIGURE 1 Antibody levels against SARS-CoV-2 S protein in maternal serum (A), breast milk (B), and umbilical cord serum (C). Statistics: Differences were calculated by the Wilcoxon signed-rank test, and only P -values <0.05 are shown. Medians are represented by a horizontal bar. In some cases, the horizontal bar is not visible because it overlaps with the X-axis. Abbreviations: AUC, the area under the curve; IgG, anti-SARS-CoV-2 S IgG; IgM, anti-SARS-CoV-2 S IgM; IgA, anti-SARS-CoV-2 S IgA

samples, and 63.2% of milk samples. A significant relationship between the positive antibodies to SARS-CoV-2 S protein and the time of infection was only found in maternal sera. Mothers diagnosed more than two weeks before delivery had higher percentages of positive sera for IgG (94.3% vs. 68.6%; $P = 0.003$), IgM (65.7% vs. 36.8%; $P = 0.009$), and IgA (65.7% vs. 45.7%; $P = 0.056$) than mothers diagnosed later (at two weeks before delivery or at the childbirth). The presence/absence of antibodies to SARS-CoV-2 S protein correlated between mother sera, cord sera, and milk. Thus, 15 newborns had undetectable IgG, and 13 were born to mothers diagnosed with COVID-19 near delivery (<30 days). Except for one, IgG antibodies were detected in all preterm infants (less than 37 weeks gestation). Among the newborns with positive IgG cord sera, 94.6% were delivered by mothers who also had positive IgG sera. Concerning negative IgG cord sera, 86.7% of the newborns with negative results were delivered by mothers with negative sera ($P < 0.001$). Among the mothers with IgA positive serum samples, 61.5% also had IgAs in their milk, while 73.7% of mothers with no detectable IgAs in their serum also were IgA negative in milk ($P = 0.021$).

Levels of anti-SARS-CoV-2 S protein IgG in maternal serum (264.4 [IQR = 11.5; 697.2]) were higher than levels of IgM (1 [IQR = 1; 29.6]; $P < 0.001$) and IgA (2.4 [IQR = 1; 22.6]; $P < 0.001$) (Figure 1A). In breast milk (Figure 1B), levels of anti-SARS-CoV-2 S IgA (4 [IQR = 1; 141.1]) were higher than IgM levels (1 [IQR = 1; 7.32]; $P < 0.001$) and IgG levels (1 [IQR = 1; 1]; $P < 0.001$). Regarding umbilical cord serum (Figure 1C), 78.9% of samples had IgG antibodies (280.8

[IQR = 7.4; 1031]), but only a few samples had detectable IgMs or IgAs. The average ratio of IgG antibody levels between the umbilical cord and maternal serum was 1.4.

There were three children with a positive PCR for SARS-CoV-2. A neonate was diagnosed at the time of delivery, whose mother was ill and had no antibodies to SARS-CoV-2 S protein in serum and milk. The other two neonates were diagnosed 15 days after delivery. However, only one of them had anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in the umbilical cord and six months later in the serum, and whose mother also had antibodies against SARS-CoV-2 (IgG, IgM, and IgA) at delivery and six months later.

There were also two umbilical cord samples with low levels of anti-SARS-CoV-2 S IgM and three with low anti-SARS-CoV-2 S IgA levels, which corresponded to neonates with a negative PCR for SARS-CoV-2. These children had, however, high levels of anti-SARS-CoV-2 S IgG antibodies.

3.3 | Antibody titers according to COVID-19 symptoms

Women with COVID-19 symptoms had higher serum values of anti-SARS-CoV-2 S protein IgG (350.3 [IQR = 110.1; 1449] vs. 150.6 [IQR = 1; 523.6]; $P = 0.013$; Figure 2A), IgM (4.8 [IQR = 1; 75.1] vs. 1 [IQR = 1; 5.8]; $P = 0.015$; Figure 2B), and IgA (9.4 [IQR = 1; 37.7] vs. 1 [IQR = 1; 19.3]; $P = 0.040$; Figure 2C) than women without COVID-19 symptoms. Additionally, newborns of women with COVID-19 symptoms had higher serum

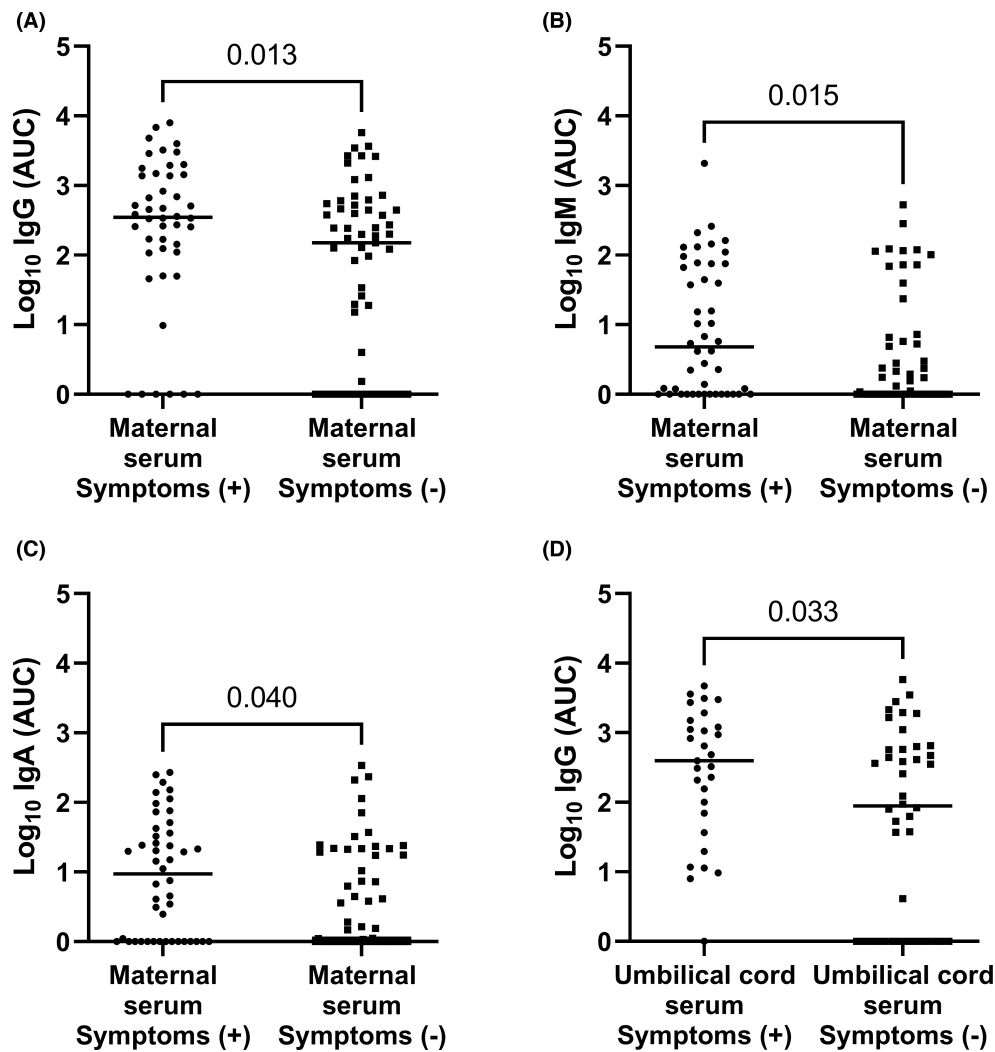


FIGURE 2 Antibody levels against SARS-CoV-2 S protein in maternal serum (A, B, and C) and umbilical cord serum (D) according to COVID-19 symptoms. Statistics: Differences were calculated by the Mann–Whitney U test, and *P*-values are shown. Medians are represented by a horizontal bar. Abbreviations: AUC, the area under the curve; IgG, anti-SARS-CoV-2 S IgG; IgM, anti-SARS-CoV-2 S IgM; IgA, anti-SARS-CoV-2 S IgA

IgG values than newborns of women without COVID-19 symptoms (395.9 [IQR = 53.2; 1353] vs. 88.8 [IQR = 1; 592.3]; *P* = 0.033; [Figure 2D](#)).

3.4 | Antibody titers at six months postpartum

For some participants with paired samples at baseline and six-month of follow-up, serum antibody levels against SARS-CoV-2 S protein were determined ([Figure 3](#)). IgG levels remained relatively high in most mothers ([Figure 3A](#)). In contrast, in 33 mothers, we observed a pronounced decrease in serum IgM levels during the follow-up (4.4 [IQR = 1; 102.2] vs. 1 [IQR = 1; 3.47]; *P* < 0.001; [Figure 3B](#)). In 23 children, serum IgG levels decreased

drastically at six months postpartum (440 [IQR = 79.1; 1501] vs. 1 [IQR = 1; 2.6]; *P* < 0.001; [Figure 3D](#)).

3.5 | Antibody titers and their capacity to inhibit ACE2-S protein interaction

We found a positive and significant correlation between serum antibody titers against SARS-CoV-2 S protein and the percentage of inhibition of ACE2 binding to the S protein at baseline in maternal serum ($R^2 = 0.203$; *P* < 0.001; [Figure 4A](#)), umbilical cord serum ($R^2 = 0.378$; *P* < 0.001; [Figure 4B](#)), and breast milk ($R^2 = 0.564$; *P* < 0.001; [Figure 4C](#)). Moreover, a positive and significant correlation, much higher than at baseline, was found in maternal serum samples six months after delivery ($R^2 = 0.600$; *P* < 0.001; [Figure 4D](#)).

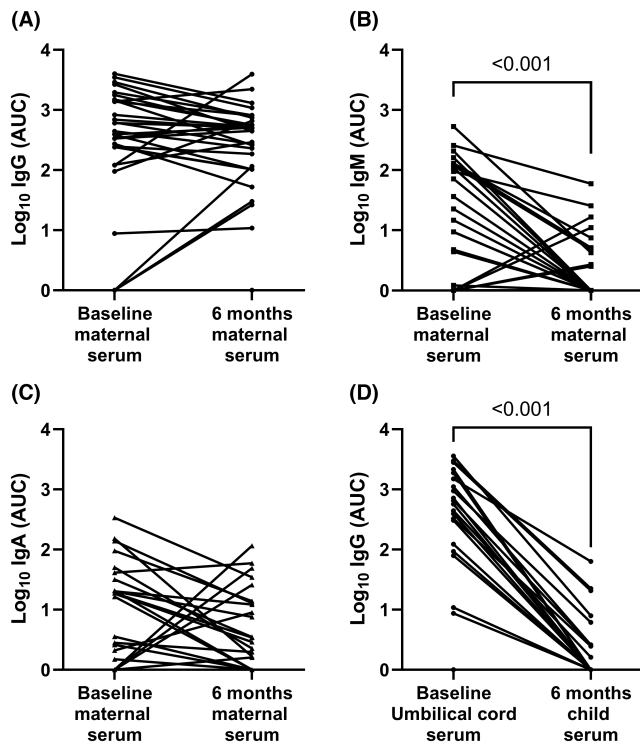


FIGURE 3 Evolution of antibody levels against SARS-CoV-2 S protein from delivery to six months postpartum in maternal serum (A, B, and C) and newborn serum (D). Statistics: Differences were calculated by the Wilcoxon signed-rank test, and only P -values <0.05 are shown. Abbreviations: AUC, the area under the curve; IgG, anti-SARS-CoV-2 S IgG; IgM, anti-SARS-CoV-2 S IgM; IgA, anti-SARS-CoV-2 S IgA

4 | DISCUSSION

This study analyzed the antibody levels against the SARS-CoV-2 S protein in pregnant women and neonates. The main findings were: (a) most pregnant women displayed high antibody levels in serum and milk; (b) IgG was transferred efficiently from mother to fetus, while the presence of IgM antibodies in the cord blood was exceptional; (c) symptomatic women had higher titers of antibodies than the asymptomatic ones; (d) IgG titers remained relatively high in mother serum after six months of delivery while they decreased drastically in children; and (e) antibody titers correlated positively with its capacity to inhibit the binding of the ACE2 receptor to the S protein.

We observed high antibody levels against SARS-CoV-2 S protein in the serum and milk of pregnant women. However, according to a recent report, these levels may be lower than in nonpregnant women,²² although other studies have not confirmed this result.²³ In line with previous findings, we also noted that antibody levels were higher in symptomatic women than in asymptomatic ones, indicating a correlation between COVID-19 severity

and antibody titers.^{18,24} Besides, antibody titers against SARS-CoV-2 S protein, primarily to the receptor-binding site, correlate with neutralization titers.^{12,25,26} According to this, we have seen a positive correlation between antibody titers by ELISA and inhibition of ACE2 binding to the S protein in pregnant women. This positive correlation was much better after six months of follow-up than at baseline, indicating antibody affinity maturation during this period.

Neonatal protection from infections depends on transplacentally acquired IgG antibodies from the mother. We observed that the mean IgG ratio of umbilical cord serum to maternal serum was 1.4, indicating an efficient transplacental transfer of anti-S antibodies. This is in line with previous reports on SARS-CoV-2 and other pathogens.^{23,27–30} The transfer ratio increases with increasing time between maternal infection and delivery, regardless of the severity of the disease.³⁰ However, inefficient transplacental antibody transfer specific to SARS-CoV-2 has been observed in other studies.^{6,17,23} This may be due to perturbed Fc glycosylation of antibodies caused by SARS-CoV-2 infection. However, this effect was observed when SARS-CoV-2 infection occurred in the third trimester but not in the second trimester, suggesting that glycosylation alterations in anti-SARS-CoV-2-specific antibodies normalize over infection time.²³ Although most mothers in our study were diagnosed with SARS-CoV-2 in the third trimester, we cannot precisely define when they were infected. Despite this, we observed that most mothers with very low antibody levels were diagnosed with COVID-19 close to delivery (<30 days). Consequently, 13 out of 15 infants born to these mothers had undetectable IgG in the cord serum. Therefore, rather than prematurity or dysfunctional transplacental transport, the low levels of IgG antibodies in the mothers' serum seem to cause the non-detection of antibodies in their infants. Moreover, other factors, such as ethnicity and accompanying comorbidities, may affect the transplacental transfer of antibodies.¹⁷ Those conflicting results raise some concerns about the efficacy of vaccination during pregnancy. In this sense, efficient transplacental transfer of IgG after SARS-CoV-2 vaccination has been observed recently,^{31,32} but it remains to be elucidated whether the antibody levels transferred to the fetus are high enough to protect against infection. However, even in the case of low transplacental antibody transfer, vaccination should be helpful to protect pregnant women, which are at risk for severe COVID-19 and related pregnancy complications.

IgM immunoglobulins cannot cross the placenta, and their presence in cord blood suggests fetus infections.^{5,6} However, the detection of IgM in the umbilical cord does not necessarily imply intrauterine infection since it may be

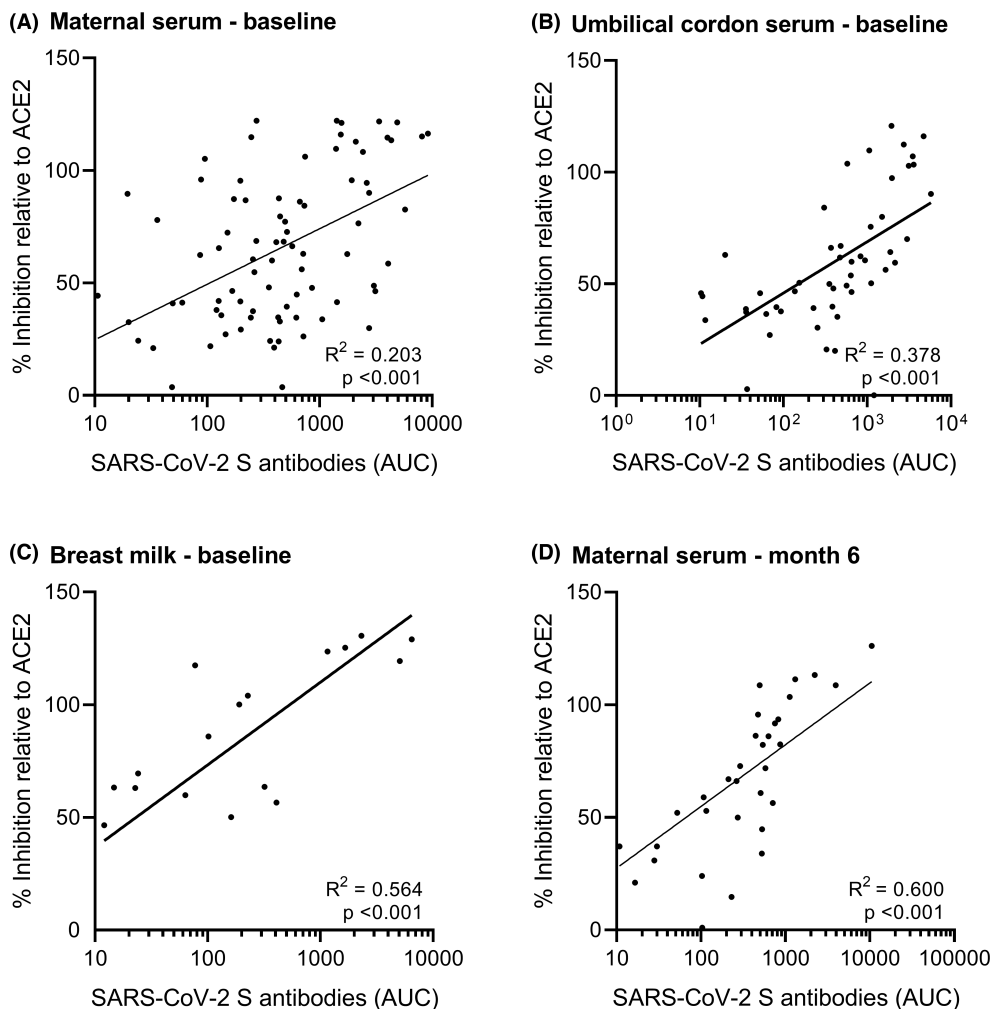


FIGURE 4 Correlation between antibody levels against SARS-CoV-2 S protein (sum of the AUC of IgG, IgM, and IgA) and percentages of inhibition of ACE2 receptor binding to the S protein. Antibodies at baseline against S protein in maternal serum (A), umbilical cord serum (B), breast milk (C), and maternal serum six months later (D) are represented. Statistics: Correlation analysis was performed using the Spearman test. Abbreviations: AUC, area under the curve; ACE2, angiotensin-converting enzyme 2

due to assay errors, sample contamination, or increased permeability of the syncytiotrophoblast barrier by infection-induced inflammation.³³ Thus, low IgM levels have been detected in the umbilical cord without fetal infection in some cases.^{6,30,34,35} Likewise, there was no concordance between SARS-CoV-2 positive PCR of newborns and the presence of IgM antibodies in their umbilical cord in our study. Thus, three infants were PCR positive for SARS-CoV-2, but only two of them had specific anti-SARS-CoV-2 IgM antibodies in the cord serum. A similar interpretation can be made for the presence of IgA in the umbilical cord.

Anti-SARS-CoV-2 S protein IgM peak around 14 days after symptom onset and then decline. IgG titers peak around 21–28 days and remain high for several weeks.^{36–39} Similarly, we have found that anti-SARS-CoV-2 S protein IgM in mother serum decreased almost to undetectable levels in most cases at six months after delivery, while IgG and IgA levels remained high. On the contrary, IgG antibodies

dropped drastically in children at that point, which agrees with previous reports,^{40,41} indicating that potential IgG-mediated protection of neonates is limited in time.

Milk antibodies also may protect infants from infections via breastfeeding. Secretory IgA (sIgA) derives mainly from the gut-associated lymphoid tissue and is actively secreted into the milk via the polymeric immunoglobulin receptor.⁴² We have observed high antibody titers in most breast milk, principally IgA, that correlated with inhibition of ACE2 binding to the S protein, indicating neutralizing activity. A strong sIgA neutralizing response against SARS-CoV-2 S protein has also been described in milk from infected women.^{14–16} These results encourage breastfeeding of SARS-CoV-2-infected mothers to protect infants from COVID-19.

Finally, it should be noted that this study has a small sample size and, despite the study's prospective design, biases that are difficult to control may have been introduced.

Besides, some samples have been lost at six months, although these are complicated samples to obtain. Additionally, a control group of nonpregnant women was not included.

In conclusion, high antibody titers against SARS-CoV-2 S protein were found in most pregnant women, and fetus infection, if any, was rare. Due to the efficient transfer of IgG to cord blood and high IgA titers in breast milk, neonates may be passively immunized to SARS-CoV-2 infection. Our findings could guide newborn management and maternal vaccination policies.⁴³

ACKNOWLEDGMENTS

This study would not have been possible without the collaboration of all the patients, medical and nursery staff, and data managers who have taken part in the project.

DATA AVAILABILITY STATEMENT


The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.


ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

The study was approved by the HGUGM Ethics Committee (Ref.: IRB 00006051) and was conducted following the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed consent before enrollment.

ORCID

Maria Martin-Vicente  <https://orcid.org/0000-0001-9148-1476>

Maria José Muñoz-Gomez  <https://orcid.org/0000-0002-9244-4500>


Alicia Hernanz Lobo  <https://orcid.org/0000-0002-9560-9104>

Vicente Mas  <https://orcid.org/0000-0002-0887-0743>


Angela Manzanares  <https://orcid.org/0000-0002-4230-5035>

Daniel Sepúlveda-Crespo  <https://orcid.org/0000-0002-8053-6045>

Laura Tarancón-Díez  <https://orcid.org/0000-0002-9528-4098>

Maria Ángeles Muñoz-Fernández  <https://orcid.org/0000-0002-0813-4500>

Mar Muñoz-Chapulí  <https://orcid.org/0000-0003-3972-8907>

Salvador Resino  <https://orcid.org/0000-0001-8783-0450>

Isidoro Martínez  <https://orcid.org/0000-0002-9949-9264>

REFERENCES

1. Park JJH, Mogg R, Smith GE, et al. How COVID-19 has fundamentally changed clinical research in global health. *Lancet Glob Health*. 2021;9(5):e711-e720.
2. Zhou M, Zhang X, Qu J. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a clinical update. *Front Med*. 2020;14(2):126-135.
3. Tang L, Yin Z, Hu Y, Mei H. Controlling cytokine storm is vital in COVID-19. *Front Immunol*. 2020;11:570993.
4. Chmielewska B, Barratt I, Townsend R, et al. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2021;9:e1066.
5. Fenizia C, Biasin M, Cetin I, et al. Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy. *Nat Commun*. 2020;11(1):5128.
6. Edlow AG, Li JZ, Collier AY, et al. Assessment of maternal and neonatal SARS-CoV-2 viral load, transplacental antibody transfer, and placental pathology in pregnancies during the COVID-19 pandemic. *JAMA Netw Open*. 2020;3(12):e2030455.
7. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(8):469-482.
8. Valdes G, Neves LA, Anton L, et al. Distribution of angiotensin-(1-7) and ACE2 in human placentas of normal and pathological pregnancies. *Placenta*. 2006;27(2-3):200-207.
9. Pringle KG, Tadros MA, Callister RJ, Lumbers ER. The expression and localization of the human placental prorenin/renin-angiotensin system throughout pregnancy: roles in trophoblast invasion and angiogenesis? *Placenta*. 2011;32(12):956-962.
10. Glowacka I, Bertram S, Herzog P, et al. Differential downregulation of ACE2 by the spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus and human coronavirus NL63. *J Virol*. 2010;84(2):1198-1205.
11. Lumbers ER, Delforce SJ, Arthurs AL, Pringle KG. Causes and consequences of the dysregulated maternal renin-angiotensin system in preeclampsia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:563.
12. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(48):eabc8413.
13. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281-92 e6.
14. Demers-Mathieu V, Do DM, Mathijssen GB, et al. Difference in levels of SARS-CoV-2 S1 and S2 subunits- and nucleocapsid protein-reactive SIgM/IgM, IgG and SIgA/IgA antibodies in human milk. *J Perinatol*. 2020;1:850-859.
15. Fox A, Marino J, Amanat F, et al. Robust and specific secretory IgA against SARS-CoV-2 detected in human milk. *iScience*. 2020;23(11):101735.
16. Pace RM, Williams JE, Jarvinen KM, et al. COVID-19 and human milk: SARS-CoV-2, antibodies, and neutralizing capacity. *medRxiv*. 2020.
17. Joseph NT, Dude CM, Verkerke HP, et al. Maternal antibody response, neutralizing potency, and placental antibody transfer after severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) infection. *Obstet Gynecol*. 2021;138(2):189-197.
18. Kubiak JM, Murphy EA, Yee J, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 serology levels in pregnant women and their neonates. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;225:73.e1-73.e7.
19. Gao X, Wang S, Zeng W, et al. Clinical and immunologic features among COVID-19-affected mother-infant pairs: antibodies to

- SARS-CoV-2 detected in breast milk. *New Microbes New Infect.* 2020;37:100752.
20. Carrasco I, Munoz-Chapuli M, Vigil-Vazquez S, et al. SARS-CoV-2 infection in pregnant women and newborns in a Spanish cohort (GESNEO-COVID) during the first wave. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):326.
 21. Garcia-Merino I, de Las Cuevas N, Jimenez JL, et al. The Spanish HIV BioBank: a model of cooperative HIV research. *Retrovirology.* 2009;6:27.
 22. Sherer ML, Lei J, Creisher P, et al. Pregnancy alters IL-1beta expression and anti-viral antibody responses during SARS-CoV-2 infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225:301.e1-301.e14.
 23. Atyeo C, Pullen KM, Bordt EA, et al. Compromised SARS-CoV-2-specific placental antibody transfer. *Cell.* 2021;184(3):628-642.
 24. Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;26(8):1200-1204.
 25. Liu L, Wang P, Nair MS, et al. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature.* 2020;584(7821):450-456.
 26. Seow J, Graham C, Merrick B, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol.* 2020;5(12):1598-1607.
 27. Heininger U, Riffelmann M, Leineweber B, Wirsing von Koenig CH. Maternally derived antibodies against Bordetella pertussis antigens pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in preterm and full term newborns. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(5):443-445.
 28. Munoz FM, Bond NH, Maccato M, et al. Safety and immunogenicity of tetanus diphtheria and acellular pertussis (Tdap) immunization during pregnancy in mothers and infants: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2014;311(17):1760-1769.
 29. Martinez DR, Fong Y, Li SH, et al. Fc characteristics mediate selective placental transfer of IgG in HIV-infected women. *Cell.* 2019;178(1):190-201. e11.
 30. Flannery DD, Gouma S, Dhudasia MB, et al. Assessment of maternal and neonatal cord blood SARS-CoV-2 antibodies and placental transfer ratios. *JAMA Pediatr.* 2021;175:594-600.
 31. Collier AY, McMahan K, Yu J, et al. Immunogenicity of COVID-19 mRNA vaccines in pregnant and lactating women. *JAMA.* 2021;325:2370-2380.
 32. Rottenstreich A, Zerbiv G, Oiknine-Djian E, Zigron R, Wolf DG, Porat S. Efficient maternofetal transplacental transfer of anti-SARS-CoV-2 spike antibodies after antenatal SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA vaccination. *Clin Infect Dis.* 2021;73:1909-1912.
 33. Ben-Hur H, Gurevich P, Elhayany A, Avinoach I, Schneider DF, Zusman I. Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *Int J Mol Med.* 2005;16(3):401-407.
 34. Croveto F, Crispi F, Llorba E, et al. Impact of SARS-CoV-2 infection on pregnancy outcomes: a population-based study. *Clin Infect Dis.* 2021;73:1768-1775.
 35. Egerup P, Fich Olsen L, Christiansen AH, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibodies at delivery in women, partners, and newborns. *Obstet Gynecol.* 2021;137(1):49-55.
 36. Hou H, Wang T, Zhang B, et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunol.* 2020;9(5):e01136.
 37. Liu X, Wang J, Xu X, Liao G, Chen Y, Hu CH. Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1269-1274.
 38. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(6):845-848.
 39. Wang Y, Zhang L, Sang L, et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest.* 2020;130(10):5235-5244.
 40. Gao J, Li W, Hu X, et al. Disappearance of SARS-CoV-2 antibodies in infants born to women with COVID-19, Wuhan, China. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(10):2491-2494.
 41. Wang X, Yang P, Zheng J, et al. Dynamic changes of acquired maternal SARS-CoV-2 IgG in infants. *Sci Rep.* 2021;11(1):8021.
 42. Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr.* 2010;156(2 Suppl):S8-S15.
 43. Carosso A, Cosma S, Serafini P, Benedetto C, Mahmood T. How to reduce the potential risk of vertical transmission of SARS-CoV-2 during vaginal delivery? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020;250:246-249.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Martin-Vicente M, Carrasco I, Muñoz-Gomez MJ, et al. Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. *Birth.* 2022;00:1-10. doi: [10.1111/birt.12667](https://doi.org/10.1111/birt.12667)

4.1.2. Artículo 2 (202): IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother–child dyads after COVID-19 vaccination.

Introducción: La vacunación contra la COVID-19 en las mujeres embarazadas es necesaria para proteger tanto a ellas como a sus bebés mediante la generación de anticuerpos neutralizantes contra la proteína S del SARS-CoV-2.

Objetivos: Analizar la respuesta inmune humoral en madres vacunadas contra la COVID-19 y en sus hijos, tanto en el momento del parto como después de 2-3 meses.

Métodos: Estudio prospectivo con madres que recibieron al menos una dosis de la vacuna de Pfizer-BNT162b2, Moderna mRNA-1273 u Oxford-AstraZeneca ChAdOx1-S durante el embarazo, junto con sus recién nacidos.

Resultados: En el momento del parto, se observaron niveles elevados de IgG dirigidos contra la proteína S del linaje B.1 del SARS-CoV-2 en las madres y en recién nacidos (IgG anti-SARS-CoV-2 S). Aunque los títulos de anticuerpos se mantuvieron estables en las madres a los 2-3 meses posparto, disminuyeron significativamente en los lactantes ($p < 0,001$). Además, se observaron correlaciones positivas y significativas entre los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S y su capacidad de inhibición de la unión S-ACE2 en las madres y recién nacidos, tanto al nacimiento como a los 2-3 meses posparto ($r > 0,8$, $p < 0,001$). En cuanto a la respuesta humoral frente a la variante Ómicron post-vacunación, se detectaron niveles de anticuerpos más bajos contra Ómicron en comparación con el linaje B.1 en madres e hijos ($p < 0,001$) a los 2-3 meses posparto. Nuevamente, se evidenció una correlación positiva para Ómicron entre los títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S y la capacidad de inhibición de la unión S-ACE2, en madres ($r = 0,818$, $p < 0,001$) y en hijos ($r = 0,386$, $p < 0,005$). Además, se observó que la infección previa por SARS-CoV-2 y la vacunación cercana al parto influyeron positivamente en los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S.

Conclusión: Las vacunas contra la COVID-19 generan altos niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 S en mujeres embarazadas, capaces de inhibir la unión S-ACE2. Además, estos anticuerpos se transfieren eficientemente al feto. Sin embargo, se observó una rápida disminución de los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S en los lactantes a los 2 o 3 meses posparto.

Art. 2 (202): María José Muñoz-Gómez, María Martin-Vicente, Sara Vigil-Vazquez, Itziar Carrasco, Alicia Hernanz Lobo, Vicente Mas, Mónica Vázquez, Angela Manzanares, Olga Cano, Clara Zamora, Roberto Alonso, Daniel Sepúlveda-Crespo, Laura Tarancon-Diez, María Ángeles Muñoz-Fernández, Mar Muñoz-Chapuli, Salvador Resino, Maria Luisa Navarro, Isidoro Martinez. *IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother–child dyads after COVID-19 vaccination. Infection 2024; 52, 813-824.*

<u>Indicadores de calidad</u>
ISSN: 0300-8126 Editorial: Springer Índice de impacto: 7,5 Fuente de impacto: WOS (JCR) Categoría: INFECTIOUS DISEASES Rango: 15/96 Cuartil: Primero



IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother–child dyads after COVID-19 vaccination

María José Muñoz-Gómez^{1,2} · María Martín-Vicente¹ · Sara Vigil-Vazquez³ · Itziar Carrasco³ · Alicia Hernanz Lobo^{2,4,5} · Vicente Mas⁶ · Mónica Vázquez⁶ · Angela Manzanares⁵ · Olga Cano⁶ · Clara Zamora⁷ · Roberto Alonso⁸ · Daniel Sepulveda-Crespo^{1,2} · Laura Tarancon-Diez⁹ · María Ángeles Muñoz-Fernández^{9,10,11} · Mar Muñoz-Chapuli⁷ · Salvador Resino^{1,2} · María Luisa Navarro^{2,4,5,12} · Isidoro Martínez^{1,2}

Received: 27 April 2023 / Accepted: 8 October 2023 / Published online: 28 October 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany 2023

Abstract

Purpose We aimed to assess IgG antibodies against the SARS-CoV-2 spike protein (anti-SARS-CoV-2 S IgG) in vaccinated mothers and their infants at delivery and 2–3 months of age.

Methods We conducted a prospective study on mothers who received at least one dose of the COVID-19 vaccine (Pfizer-BNT162b2, Moderna mRNA-1273, or Oxford-AstraZeneca ChAdOx1-S) during pregnancy and on their infants. The baseline was at the time of delivery ($n=93$), and the end of follow-up was 2 to 3 months post-partum ($n=53$). Serum anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2 binding inhibition levels were quantified by immunoassays.

Results Mothers and infants had high anti-SARS-CoV-2 S IgG titers against the B.1 lineage at birth. However, while antibody titers were maintained at 2–3 months post-partum in mothers, they decreased significantly in infants ($p<0.001$). Positive and significant correlations were found between anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2-binding inhibition levels in mothers and infants at birth and 2–3 months post-partum ($r>0.8$, $p<0.001$). Anti-S antibodies were also quantified for the Omicron variant at 2–3 months post-partum. The antibody titers against Omicron were significantly lower in mothers and infants than those against B.1 ($p<0.001$). Again, a positive correlation was observed for Omicron between IgG titers and ACE2-binding inhibition both in mothers ($r=0.818$, $p<0.001$) and infants ($r=0.386$, $p<0.005$). Previous SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccination near delivery positively impacted anti-SARS-CoV-2 S IgG levels.

Conclusions COVID-19 mRNA vaccines induce high anti-SARS-CoV-2 S titers in pregnant women, which can inhibit the binding of ACE2 to protein S and are efficiently transferred to the fetus. However, there was a rapid decrease in antibody levels at 2 to 3 months post-partum, particularly in infants.

Keywords SARS-CoV-2 · Spike glycoprotein · Antibody · Vaccine · Pregnant · Infant

Abbreviations

SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2	Anti-SARS-CoV-2 S IgG	IgG against the SARS-CoV-2 spike protein
COVID-19	Coronavirus disease 2019	HGUGM	Hospital General Universitario Gregorio Marañón
ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2	ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
IgG	Immunoglobulin G	AUC	Area under the curve
		IQR	Interquartile range
		GLM	Generalized Linear Models
		AMR	Arithmetic mean ratio
		aAMR	Adjusted arithmetic mean ratio
		95%CI	95% Confidence interval

María José Muñoz-Gómez, María Martín-Vicente and Sara Vigil-Vazquez have contributed equally to this study as first authors.

Salvador Resino, María Luisa Navarro and Isidoro Martínez have contributed equally to this study as last authors.

Extended author information available on the last page of the article

Introduction

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic continues to cause high morbidity and mortality worldwide as new, highly transmissible Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) variants emerge. Vaccination is the best option to avoid severe COVID-19 pathology [1]. Several vaccine formulations are being administered globally, although mRNA-based vaccines (BNT162b2 from Pfizer-BioNTech and mRNA-1273 from Moderna) are the most widely distributed in Western countries. These vaccines induce specific neutralizing antibodies against the “spike” or S glycoprotein of SARS-CoV-2, which mediates attachment to the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor on host cells [2, 3].

Pregnant women are at an increased risk of COVID-19-related intensive care admission, mortality, preterm delivery, pregnancy loss, and stillbirth [4–10]. These findings may be related to the significant physiological and immunologic changes during normal pregnancy to ensure fetal growth [11]. Additionally, although COVID-19 is usually mild in infants, severe illness and hospitalization can happen in this population [12, 13]. Therefore, protecting the mother–infant dyad against COVID-19 is crucial, and pregnant women should get vaccinated and stay up-to-date with their COVID-19 shots [14].

Although pregnant women were excluded from early vaccine clinical trials for safety and ethical reasons, current data show that vaccination with mRNA vaccines for COVID-19 is safe and prevents severe COVID-19 in them [15–19]. Additionally, vaccine-induced antibodies in mothers may protect their infants through transplacental antibody transfer and breast milk [20–28]. Several reports have indicated that COVID-19 vaccination of pregnant women induces even higher anti-S IgG titers than natural infection. Furthermore, these antibodies are efficiently transferred to the fetus [18, 29–34], particularly following booster vaccination [35]. As a result, neutralizing IgG levels against the S protein have been reported to be higher in infants born to vaccinated mothers than in those born to SARS-CoV-2-infected mothers [36], encouraging vaccination of pregnant women. Nevertheless, some reports have noted that maternal and infant IgG antibody levels decrease over time [34, 36]. Therefore, additional studies are necessary to confirm the magnitude, duration, and efficacy of the vaccine-induced humoral immune response.

Objective

This study aimed to analyze the IgG antibody response against the SARS-CoV-2 spike protein, the primary target of neutralizing antibodies, in vaccinated mothers and their infants at delivery and 2–3 months of age.

Materials and methods

Study design

We conducted a prospective study on pregnant women who were vaccinated with two doses of the COVID-19 vaccine, or one dose if they had previously been infected with SARS-CoV-2, at least one month before delivery. Some women were also vaccinated within 2–3 months after delivery. The study included their infants. All participants were from the Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) in Madrid, Spain, and were recruited within the GESNEO-COVID Cohort [37, 38].

The baseline for the study was at the time of delivery, between September 2021 and December 2021. At this point, we collected 93 serum samples from mothers and babies. The end of the follow-up period was 2–3 months post-partum, between December 2021 and March 2022. At this time, serum samples were only available from 53 mothers and infants, those who returned to the HGUGM pediatric care facility 2–3 months after delivery.

The HGUGM Ethics Committee approved the study (Ref.: IRB 00006051), which was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants provided their informed consent before enrollment.

Clinical data and samples

Epidemiological and clinical data from mothers and babies were collected from the hospital's electronic medical records. Serum samples from mothers were obtained via venipuncture at the time of delivery and again 2–3 months later. Serum samples from babies were collected either from heel blood (concurrent with blood collection for metabolic tests) or via venipuncture within 48 h of life. All samples were received, processed, and stored in the laboratory of the HGUGM Microbiology Service.

Previous SARS-CoV-2 infection

Serum samples from mothers and infants at delivery and 2–3 months post-partum were tested for SARS-CoV-2 infection by detecting antibodies (IgM/IgA/IgG) against the SARS-CoV-2 N protein using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Platelia SARS-CoV-2 Total Ab, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, California, USA). A sample was considered positive when the optical density ratio between the test and the control samples included in the kit was greater than 1 (ratio ≥ 1.0). The sensitivity and the specificity of this cut-off are 94.7% and 97.5%, respectively [39]. Previous infections were differentiated from recent

infections based on anti-N antibody data (IgM/IgA/IgG) in the series of available samples. When a sample was positive for anti-N antibodies at delivery, it was considered positive. If a mother or infant had a negative sample at delivery but tested positive at 2–3 months after delivery, this indicated an infection during the follow-up period.

Immunoassay for anti-SARS-CoV-2 S IgG quantification

A complete description of the materials and protocols for antibody quantification is given in Martin-Vicente et al. [21].

Briefly, the plasmid p α H, encoding the S protein ectodomain (residues 1–1208) of SARS-CoV-2 2019-nCoV (GenBank: MN908947) stabilized in the prefusion conformation, was kindly provided by Dr. Jason McLellan (University of Texas at Austin, USA) [40]. Mutagenesis was performed to create a HexaPro construct that enabled high-yield production of a stabilized prefusion spike protein [41]. The ectodomain of this protein includes the following substitutions: glycine at residue 614 (D614G), a “GSAS” substitution at the furin cleavage site (residues 682–685), and proline at residues 817, 892, 899, 942, 986, and 987. Throughout this text, we will be referred to this protein as B.1. The SARS-CoV-2 S Omicron (B.1.1.529) HexaPro construct contains the natural cleavage site “RRAR” (residues 682–685) and the following Omicron specific mutations: A67V, Δ 69–70, T95I, G142D/ Δ 143–145, Δ 211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, and L981F. Additionally, a plasmid encoding the ACE2 SARS-CoV-2 cell receptor (residues 1–165) was also constructed and fused to a StrepTag.

Antibody titers to the S protein were determined in an ELISA assay by incubating serial 1:3 dilutions of serum samples, starting from a 1:50 dilution and ending at a 1:36,450 dilution, with the purified S protein ectodomain. One-phase exponential decay least-squares fit curves and the area under the curve (AUC) were calculated using GraphPad Prism 9.0. Antibody inhibition of the ACE2-S protein interaction was tested by ELISA. A pool of sera from individuals negative for anti-S antibodies, collected in 2016, was used as a control. After subtracting the background, the percentage of inhibition was calculated as $[1 - (\text{OD}_{493} \text{ test serum} / \text{OD}_{493} \text{ control serum})] \times 100\%$.

Statistical analysis

Figures were generated with GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). The Y-axis of the figures was transformed to a logarithmic scale (log₁₀) to compress it.

Statistical analysis was performed with IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, USA) and Stata 15.0 (StataCorp, Texas, USA). The significance level was set at $p < 0.05$ (two-tailed). The Kolmogorov–Smirnov test was used for evaluating data normality, finding that the antibody level variables had a non-normal distribution. Data were presented as follows: absolute counts (percentages) for categorical variables and median (interquartile range, IQR = P25th; P75th) for continuous variables. The Mann–Whitney U test was used to calculate differences between independent groups, and the Wilcoxon test for dependent groups. Correlation analysis was performed using the Spearman test. Generalized Linear Models (GLM) with a gamma distribution (log-link) were used to assess the association between various factors, such as previous SARS-CoV-2 infection and the timing of COVID-19 vaccination, and anti-SARS-CoV-2 S IgG levels. The GLM with a gamma distribution and log-link is an alternative way of analyzing right-skewed continuous variables. This test provides the arithmetic mean ratio (AMR) and the 95% confidence interval (95% CI). GLMs were also adjusted by the participant’s characteristics, including age at delivery, comorbidities (hypothyroidism, diabetes, hypertension, preeclampsia, and others), and gestational age.

Results

Patient characteristics

The clinical characteristics of mother–child dyads after COVID-19 vaccination are shown in Table 1. Among the mothers, 11.8% (11/93) tested positive for anti-N antibodies (IgM/IgA/IgG) at the time of delivery. At 2–3 months after delivery, 39.6% (21/53) tested positive for anti-N antibodies. Among these, 18.8% (10/53) became positive during the follow-up period. As for the infants, 20.7% (11/53) tested positive for anti-N antibodies (IgM/IgA/IgG) at 2–3 months after delivery, with 11.3% (6/53) acquiring positivity during the follow-up period. All SARS-CoV-2 infections were asymptomatic or had mild symptoms; none required hospital admission.

Table 2 provides detailed information about COVID-19 vaccination among the mothers in the study. All vaccine antigens used were based on the Wuhan-Hu-1 strain. In the first dose, 66 (71%) received the Pfizer BNT162b2 mRNA vaccine, 26 (27.9%) received the Moderna mRNA-1273 vaccine, and 1 (1.1%) received the Oxford-AstraZeneca ChAdOx1-S vaccine. Additionally, 79 (84.9%) of the mothers received a second dose before delivery, and 6 (11.3%) received a third dose at 2–3 months post-partum (before sample collection).

Table 1 Clinical characteristics of mothers and their infants

Parameters	Values
A) Mothers	
No.	93
Age (years)	34.8 (32.2; 39.1)
Country of birth	
Spain	74 (79.6%)
Latin American Countries	15 (16.1%)
Other	4 (4.3%)
Comorbidities	
Hypertension	5 (5.4%)
Diabetes	8 (8.6%)
Hypothyroidism	8 (8.6%)
Preeclampsia	6 (6.5%)
Other	3 (3.2%)
SARS-CoV-2 Infection (+)	
Pre-perinatal (pre-pregnancy and pregnancy)	11 (11.8%)
Postnatal (<i>n</i> = 53)	21 (39.6%)
B) Newborns	
No.	93
Gestational age (weeks)	39.7 (38.3; 40.4)
Mode of delivery	
Vaginal	81 (87.1%)
Cesarean	12 (12.9%)
Sex (male)	53 (57.0%)
Breastfeeding	88 (94.6%)
Condition at birth	
APGAR1	9 (9; 9)
APGAR5	10 (10; 10)
Weight (gr.)	3.3 (3.0; 3.5)
Height (cm)	50 (49; 51)
Head circumference (cm)	34 (33; 35)
SARS-CoV-2 Infection (+)	
Postnatal (<i>n</i> = 53)	11 (20.7%)

Statistics: values are expressed as the median (Q1; Q3) and absolute count (percentage)

SARS-CoV-2 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, APGAR Appearance, Pulse, Grimace, Activity, and Respiration, APGAR1 1-min APGAR, APGAR5 5-min APGAR

Serum anti-SARS-CoV-2 S antibodies in mothers and infants against the B.1 lineage

Similar high anti-SARS-CoV-2 S IgG titers against the B.1 variant were observed at birth and 2–3 months post-partum in mothers (Fig. 1A). However, the IgG antibody titers decreased significantly in infants at 2–3 months post-partum ($p < 0.001$; Fig. 1B). As a result, the median titer of infants was three times higher than that of the mothers at childbirth ($p < 0.001$; Supplementary Fig. 1A), but it decreased to 2.3 times lower at 2–3 months post-partum ($p < 0.001$; Supplementary Fig. 1B). A similar pattern of results was observed

Table 2 Characteristics of COVID-19 vaccination

Parameters	Values
No.	93
SARS-CoV-2 vaccine	
First dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	66 (71.0%)
Moderna (mRNA-1273)	26 (27.9%)
Oxford-AstraZeneca (ChAdOx1-S)	1 (1.1%)
Second dose (<i>n</i> = 79)	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	57 (72.2%)
Moderna (mRNA-1273)	22 (27.8%)
Third dose (<i>n</i> = 6)	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	4 (66.7%)
Moderna (mRNA-1273)	2 (33.3%)
SARS-CoV-2 vaccine before pregnancy (<i>n</i> = 6)	
One dose	3 (50%)
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	2 (66.7%)
Moderna (mRNA-1273)	1 (33.3%)
Two doses	3 (50%)
First dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	2 (66.7%)
Moderna (mRNA-1273)	1 (33.3%)
Second dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	2 (66.7%)
Moderna (mRNA-1273)	1 (33.3%)
SARS-CoV-2 vaccine during pregnancy	
One dose	14 (15.1%)
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	10 (71.4%)
Moderna (mRNA-1273)	4 (28.6%)
Two doses	79 (84.9%)
First dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	56 (70.9%)
Moderna (mRNA-1273)	22 (27.8%)
Oxford-AstraZeneca (ChAdOx1-S)	1 (1.3%)
Second dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	57 (72.2%)
Moderna (mRNA-1273)	22 (27.8%)
SARS-CoV-2 vaccine after childbirth (<i>n</i> = 53)	
One dose	7 (13.2%)
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	5 (71.4%)
Moderna (mRNA-1273)	2 (28.6%)
Two doses	40 (75.5%)
First dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	30 (75.0%)
Moderna (mRNA-1273)	9 (22.5%)
Oxford-AstraZeneca (ChAdOx1-S)	1 (2.5%)
Second dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	31 (77.5%)
Moderna (mRNA-1273)	9 (22.5%)
Three doses	6 (11.3%)
First dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	5 (83.3%)

Table 2 (continued)

Parameters	Values
Moderna (mRNA-1273)	1 (16.7%)
Second dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	5 (83.3%)
Moderna (mRNA-1273)	1 (16.7%)
Third dose	
Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	4 (66.7%)
Moderna (mRNA-1273)	2 (33.3%)

Statistics: values are expressed as absolute count (percentage)
 SARS-CoV-2 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

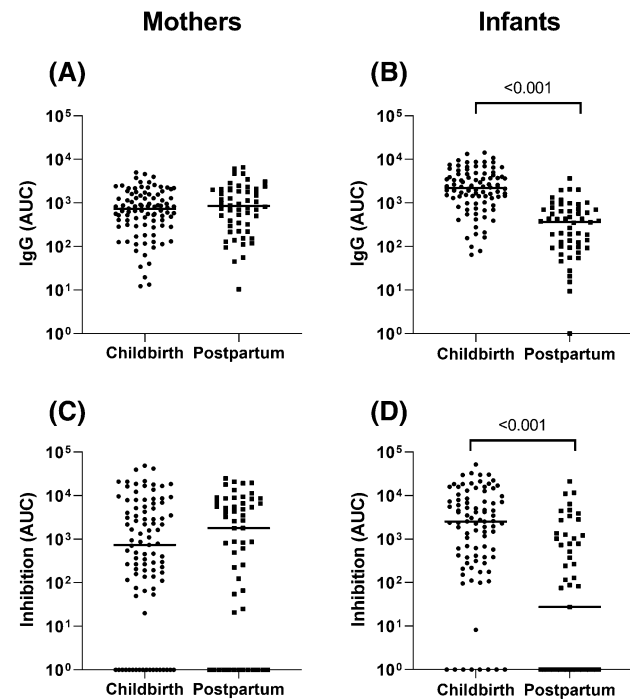


Fig. 1 **A, B** IgG antibody levels against SARS-CoV-2 S protein (B.1 lineage) at childbirth and 2–3 months post-partum in maternal serum (**A**) and infant serum (**B**). **C, D** Inhibition of ACE-S interaction titers (B.1 lineage) at childbirth and 2–3 months post-partum in maternal serum (**C**) and infant serum (**D**). Statistics: differences were calculated by the Wilcoxon test, and only p values < 0.05 are shown. Medians are represented by a horizontal bar. *AUC* Area under the curve, *IgG* anti-SARS-CoV-2 S *IgG*

when evaluating the antibody capacity to inhibit the binding of ACE2 to S (Fig. 1C, D, Supplementary Figs. 1C, D).

These findings agree with the high correlation observed between IgG antibody titers and the capacity to inhibit the ACE2-S interaction in all cases (Fig. 2). Additionally, a high correlation was observed between IgG antibody titers of mothers and infants, particularly at delivery ($r = 0.860$, $p < 0.001$) (Supplementary Fig. 2). Furthermore, the average ratio of IgG antibody levels between infant and maternal sera

was 3.7, indicating quantitative trans-placental transfer of antibodies from mother to fetus.

Serum anti-SARS-CoV-2 S antibodies in mothers and infants against the Omicron variant

IgG antibody levels against the S protein of the Omicron variant were determined only at 2–3 months post-partum and compared to the levels against the B.1 lineage (Fig. 3). The median IgG antibody titers were 3.3 times lower against Omicron than against B.1 in mothers ($p < 0.001$; Fig. 3A) and 3.7 in infants ($p < 0.001$; Fig. 3B). The median inhibition titers of the ACE2-S interaction were also lower against Omicron than against the B.1 lineage in mothers ($p < 0.003$; Fig. 3C). Infants also had lower values against Omicron than the B.1 lineage (Fig. 3D), but statistically significant differences were not achieved.

A good correlation was observed between IgG antibody titers and inhibition of the ACE2-S interaction, particularly in mothers ($r = 0.818$, $p < 0.001$; Fig. 3E). As observed

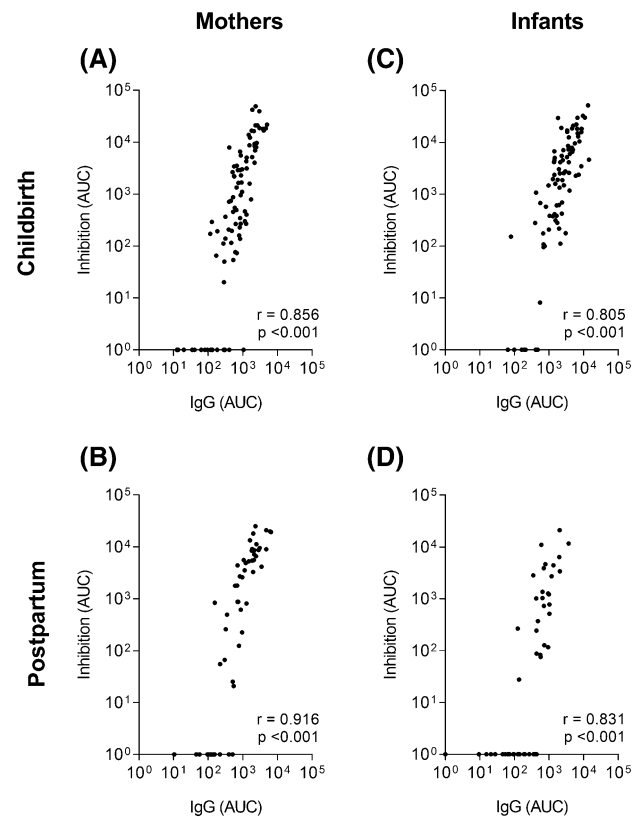


Fig. 2 Correlation between IgG antibody levels against SARS-CoV-2 S protein (B.1 lineage) and its capacity to inhibit the ACE2 receptor-S protein interaction in maternal (**A, B**) and infant (**C, D**) serum at childbirth (**A, C**) and 2–3 months post-partum (**B, D**). Statistics: correlation analysis was performed using the Spearman test. *AUC* the area under the curve, *IgG* anti-SARS-CoV-2 S *IgG*, *ACE2* angiotensin-converting enzyme 2

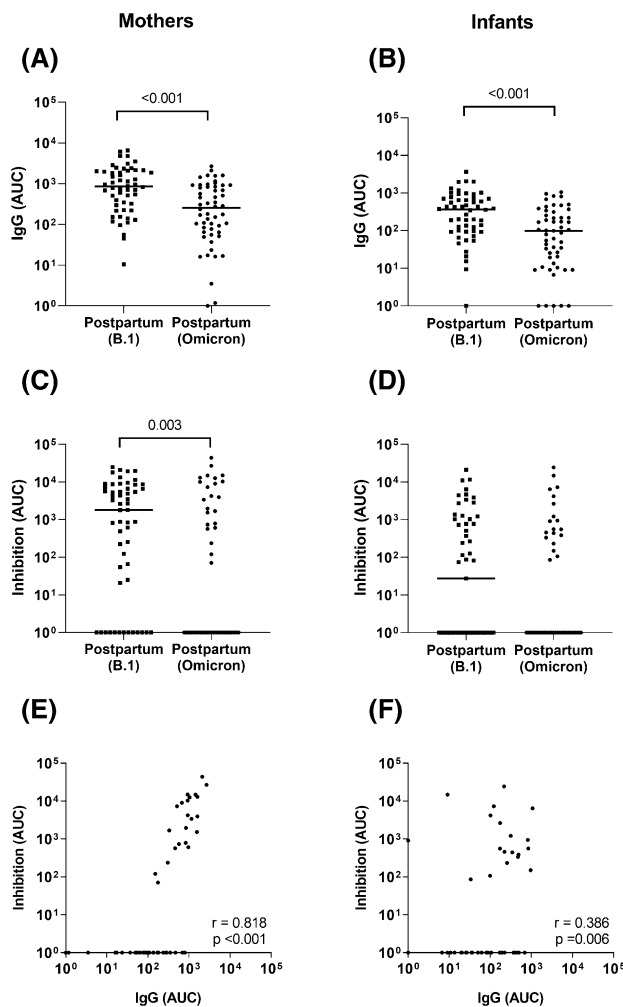


Fig. 3 Comparison of IgG antibody levels against SARS-CoV-2 S protein (**A**, **B**) and ACE2-S inhibition titers (**C**, **D**) between B.1 and Omicron variants in maternal (**A**, **C**) and infant serum (**B**, **D**) at 2–3 months post-partum. Correlation between anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and inhibition titers to the Omicron variant in mother (**E**) and infant (**F**) serum. Statistics: differences were calculated by the Mann–Whitney *U* test. Only *p* values < 0.05 are shown, and medians are represented by a horizontal bar. Correlation analysis was performed using the Spearman test. *AUC* the area under the curve, *IgG* anti-SARS-CoV-2 S IgG

with the B.1 lineage, IgG levels against Omicron were lower in infants than in mothers (2.6 times, $p < 0.02$; Supplementary Fig. 3A). However, the differences between the inhibition titers of mothers and infants were not significant, and many individuals without antibodies with detectable inhibition capacity were found (Supplementary Fig. 3B). A positive correlation was observed between IgG titers against Omicron of mothers and infants (Supplementary Fig. 3C). Similar results were obtained for the inhibition titers (Supplementary Fig. 3D).

Factors associated with anti-SARS-CoV-2 S IgG levels

The influence of previous SARS-CoV-2 infection and the timing of COVID-19 vaccination on anti-SARS-CoV-2 S IgG levels is shown in Fig. 4 (full description provided in Supplementary Table 1).

For mothers at birth (Fig. 4, section A), those with a history of previous SARS-CoV-2 infection (adjusted AMR (aAMR) = 2.52; $p = 0.002$) or those who received the 1st or 2nd dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy (aAMR = 2.08 ($p < 0.001$) and aAMR = 2.6 ($p < 0.001$), respectively) exhibited higher IgG anti-SARS-CoV-2 S titers against the B.1 lineage. Furthermore, the 2nd dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy was associated with increased levels of ACE2 binding inhibition (aAMR = 4.91; $p = 0.002$).

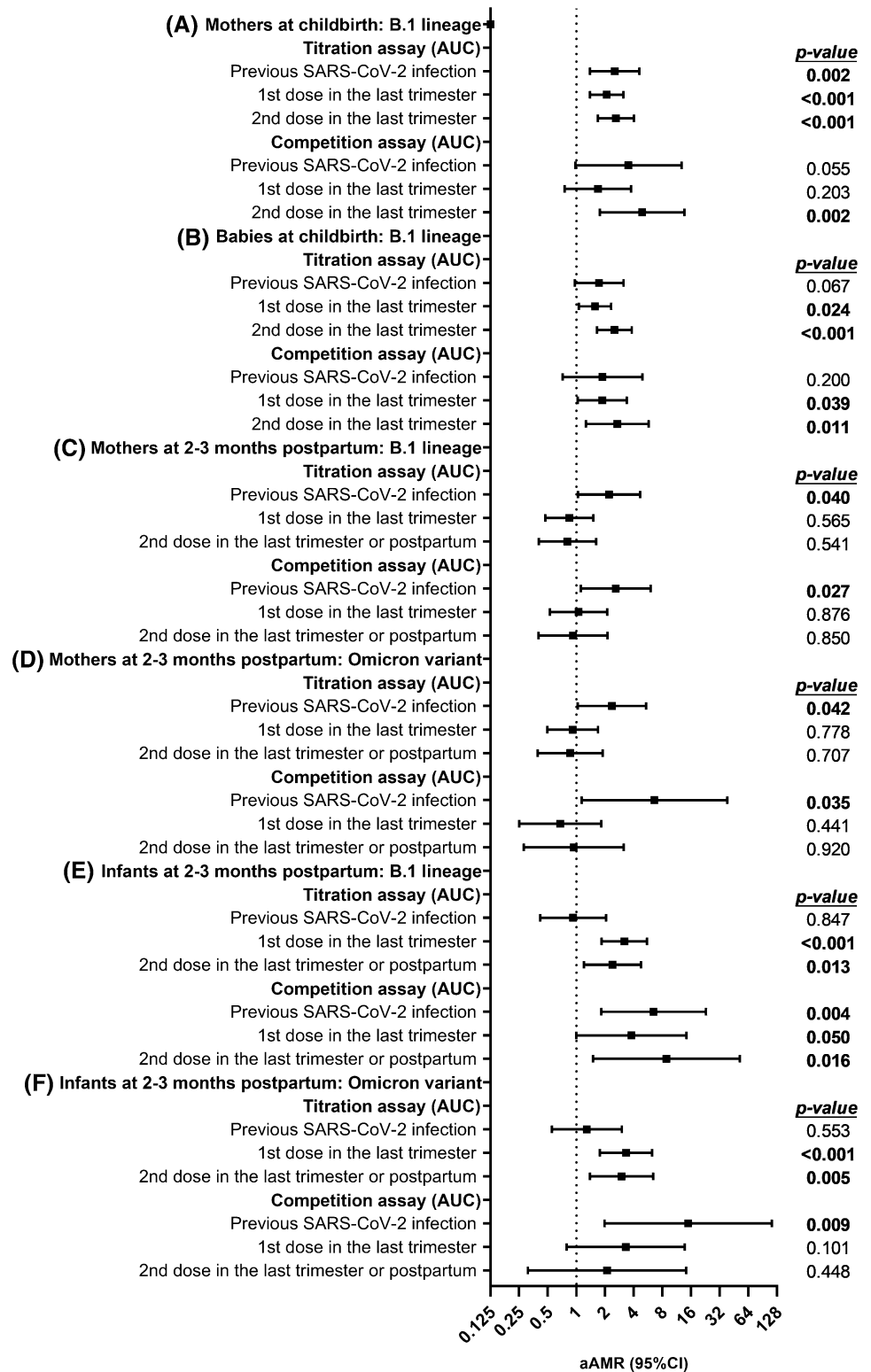
For babies at childbirth (Fig. 4, section B), factors linked to higher levels of anti-SARS-CoV-2 S IgG response against the B.1 included receiving the 1st dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy (aAMR = 1.57 ($p = 0.024$) for IgG levels and aAMR = 1.87 ($p = 0.039$) for ACE2 binding inhibition) and receiving the 2nd dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy (aAMR = 2.51 ($p < 0.001$) for IgG levels and aAMR = 2.69 ($p = 0.011$) for inhibition of ACE2 binding).

For mothers at 2–3 months post-partum (Fig. 4, section C & D), a history of previous SARS-CoV-2 S IgG (aAMR = 2.2; $p = 0.040$) and increased ACE2-binding inhibition levels (aAMR = 2.59; $p = 0.027$) against the B.1 lineage (Fig. 4, section C). Similarly, for the Omicron variant (Fig. 4, section D), a previous SARS-CoV-2 S IgG (aAMR = 2.36; $p = 0.042$) and higher ACE2-binding inhibition levels (aAMR = 6.61; $p = 0.035$).

For infants at 2–3 months post-partum and the B.1 lineage (Fig. 4, section E), receiving the 1st dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy (aAMR = 3.19; $p < 0.001$) and the 2nd dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy or 2–3 months post-partum (aAMR = 2.4; $p = 0.013$) were associated with higher levels of anti-SARS-CoV-2 S IgG against the B.1 lineage. Furthermore, previous SARS-CoV-2 infection (aAMR = 6.48; $p = 0.004$), receiving the 1st dose of COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy (aAMR = 3.78; $p < 0.05$), and the 2nd dose of COVID-19 vaccine in the last trimester of pregnancy or 2–3 months post-partum (aAMR = 8.85; $p = 0.016$) were linked to increased ACE2-binding inhibition levels against the B.1 lineage.

For infants at 2–3 months post-partum and the Omicron variant (Fig. 4, section F), receiving the 1st dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy

Fig. 4 Impact of previous SARS-CoV-2 infection and the timing of COVID-19 vaccination during pregnancy or the follow-up on anti-SARS-CoV-2 S IgG levels. Statistic: the statistics were performed using Generalized Linear Models with gamma distribution and logarithmic link. Values are expressed as the adjusted arithmetic mean ratio (aAMR) and 95% confidence interval (95%CI). Significant differences are shown in bold. *protein S* protein spike, *COVID-19* coronavirus disease 2019, *SARS-CoV-2* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, *AUC* Area under the Curve



(aAMR = 3.32; $p < 0.001$) and the 2nd dose of the COVID-19 vaccine during the last trimester of pregnancy or 2–3 months post-partum (aAMR = 2.99; $p = 0.005$) were associated with higher levels of anti-SARS-CoV-2 S IgG

against the Omicron variant. Furthermore, a history of previous SARS-CoV-2 infection was linked to elevated levels of ACE2-binding inhibition against the Omicron variant (aAMR = 14.97; $p = 0.009$).

Discussion

Pregnant women and their babies are vulnerable to SARS-CoV-2 infection [42]. Therefore, studies on the immune response after vaccination, including the analysis of antibody levels, their trans-placental transfer to the fetus, and the durability and amplitude of the anti-SARS-CoV-2 S IgG response, are relevant for better protecting both the mothers and newborns. This study addressed these issues in pregnant women who received monovalent COVID-19 mRNA vaccines based on the Wuhan-Hu-1 strain. The main findings were as follows: (i) at delivery, most mothers had high levels of anti-SARS-CoV S antibodies against the B.1 lineage, which were efficiently transferred to the fetus; (ii) these antibodies were capable of inhibiting the ACE2-S interaction; (iii) while anti-SARS-CoV-2 S antibody levels remained high after 2–3 months post-partum in mothers, they decreased significantly in infants; (iv) anti-SARS-CoV-2 S antibody levels against the Omicron variant were substantially lower than those against the B.1 lineage; (v) previous infection with SARS-CoV-2 or COVID-19 vaccination near delivery positively influenced anti-SARS-CoV-2 S antibody levels.

Recent studies have shown that COVID-19 vaccination induces even higher levels of anti-SARS-CoV-2 S antibodies than natural infection and that these antibodies are efficiently transferred to the fetus in pregnant women [19, 34, 43, 44]. Anti-SARS-CoV-2 S antibodies have been reported to correlate with the inhibition of the ACE2-S interaction and neutralizing activity [18, 21]. The present study also demonstrated a high correlation between anti-S IgG titers and ACE2-S inhibition in both mothers and infants at delivery and 2–3 months post-partum. These findings support the observation that COVID-19 vaccination during pregnancy protects both mothers and infants against severe infections [23, 45]. In addition, the infections observed in mothers and infants 2–3 months after birth, during the period when the highly contagious Omicron variant was circulating in the country, were asymptomatic or mild (data not shown).

Our study observed a median IgG transfer ratio of approximately three, which is higher than what is typically seen after SARS-CoV-2 infection [21]. Due to efficient trans-placental transfer, anti-SARS-CoV-2 S antibody levels in infants correlated very well with maternal antibody levels, as previously seen after SARS-CoV-2 infection [46–48] and vaccination [31, 49, 50]. However, despite mothers maintaining high antibody titers 2–3 months post-partum, median antibody levels in infants decreased six-fold, suggesting that infants may become more vulnerable to SARS-CoV-2 infection after this period [51]. Consequently, Burns et al. [51] reported that antibody-mediated

protection against SARS-CoV-2 completely waned in infants by six months of age. Furthermore, although mothers maintained high antibody levels 2–3 months after delivery, the effectiveness of the vaccine decreased 5–6 months after the second dose, highlighting the need for a booster dose [52].

Given that the highest levels of anti-SARS-CoV-2 S at birth correlate with extended infection-free periods in infants [51], it is imperative to develop an optimized vaccination schedule to increase antibody levels in pregnant women and newborns. Some studies have reported that the majority of maternal IgGs are transferred to the fetus during the last four weeks of pregnancy [44, 53, 54]. This aligns with our findings, which show higher antibody levels in infants born to mothers vaccinated during the last trimester of pregnancy. Therefore, optimizing vaccination schedules, considering the number of vaccine doses and the administration period, particularly in the last trimester of pregnancy, can increase the antibody levels acquired by infants, as observed in this study and others [34, 44, 49, 55, 56]. Vaccination should be performed even after SARS-CoV-2 infection, as combined immune stimulation (infection and vaccination) leads to increased antibody titers, as observed in this study and elsewhere [55, 57, 58].

Finally, we found substantially lower antibody levels against the Omicron variant than against the B.1 lineage. The high number of mutations in the Omicron S protein could explain the lower levels of antibodies that recognize this variant and its resistance to neutralization by vaccine-induced antibodies [59]. The decreased immunity against new variants not fully covered by the current vaccine is expected to increase vulnerability to SARS-CoV-2 infection, particularly in infants. Consequently, Burns et al. [51] observed an abrupt increase in infant-infected cases during the emergence of Omicron. Other studies also found reduced neutralizing antibody titers against the Delta variant in vaccinated women and their newborns' serum [44, 60]. These results highlight the importance of updating the vaccine formulation according to the circulating variants.

Study limitations

This study has several limitations that must be taken into account. First, the sample size is small, limiting statistical power and increasing the risk of false positive results. Second, this study had a prospective design that introduced some unavoidable biases, such as the loss of follow-up for some samples at 2–3 months. This occurred because some infants were examined in other hospitals or primary care centers. Third, the study did not include a control group of non-pregnant vaccinated women. Fourth, although we analyzed IgM/IgA/IgG levels in the breast milk of vaccinated pregnant women, we found low IgG levels in only a few

mothers and negligible IgM and IgG values in all samples (data not shown), which precluded further analysis. Probably, a more sensitive assay would have detected IgG in more pregnant women. A positive correlation between serum and breast milk in vaccinated women has been observed for anti-S IgG antibody levels. However, median anti-S IgG antibody levels were more than 200 times lower in milk than in serum [25, 61].

Conclusions

COVID-19 mRNA vaccines generate high anti-SARS-CoV-2 S titers in pregnant women, which are efficiently transferred to the fetus. These antibodies inhibit ACE2-S interaction. However, it is crucial to carefully design immunization schedules and formulations due to the rapid decrease in antibody levels, especially in infants. Factors to consider were the number of doses, the administration period, previous SARS-CoV-2 infection, and circulating variants.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02111-x>.

Acknowledgements This study would not have been possible without the collaboration of all the patients, medical and nursery staff, and data managers who participated in the project.

Author contributions Data curation: MJMG, MMV, SVV, IC, AHL, LTD, MMC, CZ, RA, MMC, MLN, and IM. Investigation: MJMG, MMV, SVV, IC, AHL, VM, MV, AM, OC, SR, MMF, MLN, and IM. Data analysis and interpretation: MJMG, SR, and IM. Supervision and visualization: MLN, SR, and IM. Funding acquisition: SR, MAMF, and MLN.

Drafting the article: MJMG, SR, and IM. Critical revision of the article: MMV, DSC, VM, and MLN. All authors have read and approved the final manuscript.

Funding This study was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (ISCIII; grant numbers COV20_00808). The study was also funded by the Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Infecciosas (CB21/13/00044 and CB21/13/00077) and de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) (CB22/01/00041). LTD is supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) under grant agreement “CD20/00025” through the Sara Borrell Program. DSC is a ‘Sara Borrell’ researcher supported by ISCIII (grant number CD20CIII/00001).

Availability of data and materials The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no competing interests. The funding sources played no role in the study’s design, collection, analysis, interpretation of the data, or manuscript writing.

Ethical approval and consent to participate The HGUGM Ethics Committee approved the study (Ref.: IRB 00006051), which was con-

ducted following the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed consent before enrollment.

Consent for publication Not applicable.

References

- Korang SK, von Rohden E, Veroniki AA, Ong G, Ngalamika O, Siddiqui F, et al. Vaccines to prevent COVID-19: a living systematic review with trial sequential analysis and network meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS ONE*. 2022;17(1): e0260733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260733>.
- Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesele D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281–92 e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>.
- Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol*. 2020. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abc8413>.
- Chmielewska B, Barratt I, Townsend R, Kalafat E, van der Meulen J, Gurol-Urganci I, et al. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2021. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(21\)00079-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00079-6).
- Zambrano LD, Ellington S, Strid P, Galang RR, Oduyebo T, Tong VT, et al. Update: characteristics of symptomatic women of reproductive age with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection by pregnancy status—United States, January 22–October 3, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(44):1641–7. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6944e3>.
- DeSisto CL, Wallace B, Simeone RM, Polen K, Ko JY, Meaney-Delman D, et al. Risk for stillbirth among women with and without COVID-19 at delivery hospitalization—United States, March 2020–September 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(47):1640–5. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7047e1>.
- Woodworth KR, Olsen EO, Neelam V, Lewis EL, Galang RR, Oduyebo T, et al. Birth and infant outcomes following laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection in pregnancy—SET-NET, 16 jurisdictions, March 29–October 14, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(44):1635–40. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6944e2>.
- Metz TD, Clifton RG, Hughes BL, Sandoval G, Saade GR, Grobman WA, et al. Disease severity and perinatal outcomes of pregnant patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Obstet Gynecol*. 2021;137(4):571–80. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004339>.
- Metz TD, Clifton RG, Hughes BL, Sandoval GJ, Grobman WA, Saade GR, et al. Association of SARS-CoV-2 infection with serious maternal morbidity and mortality from obstetric complications. *JAMA*. 2022;327(8):748–59. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.1190>.
- Schwartz DA, Avvad-Portari E, Babal P, Baldewijns M, Blomberg M, Bouachba A, et al. Placental tissue destruction and insufficiency from COVID-19 causes stillbirth and neonatal death from hypoxic-ischemic injury. *Arch Pathol Lab Med*. 2022;146(6):660–76. <https://doi.org/10.5858/arpa.2022-0029-SA>.
- Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(8):469–82. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.64>.
- Marks KJ, Whitaker M, Agathis NT, Anglin O, Milucky J, Patel K, et al. Hospitalization of infants and children aged 0–4 years

- with laboratory-confirmed COVID-19—COVID-NET, 14 States, March 2020–February 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022;71(11):429–36. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7111e2>.
13. Hobbs CV, Woodworth K, Young CC, Jackson AM, Newhams MM, Dapul H, et al. Frequency, characteristics and complications of COVID-19 in hospitalized Infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2022;41(3):e81–6. <https://doi.org/10.1097/INF.00000000000003435>.
 14. Centers for Disease Control and Prevention. Pregnant and Recently Pregnant People. At Increased Risk for Severe Illness from COVID-19. 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/pregnant-people.html>
 15. Butt AA, Chemaitelly H, Al Khal A, Coyle PV, Saleh H, Kaleeckal AH, et al. SARS-CoV-2 vaccine effectiveness in preventing confirmed infection in pregnant women. *J Clin Invest.* 2021. <https://doi.org/10.1172/JCI153662>.
 16. Dagan N, Barda N, Biron-Shental T, Makov-Assif M, Key C, Kohane IS, et al. Effectiveness of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in pregnancy. *Nat Med.* 2021;27(10):1693–5. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01490-8>.
 17. Shimabukuro TT, Kim SY, Myers TR, Moro PL, Oduyebo T, Panagiotakopoulos L, et al. Preliminary findings of mRNA Covid-19 vaccine safety in pregnant persons. *N Engl J Med.* 2021;384(24):2273–82. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2104983>.
 18. Collier AY, McMahan K, Yu J, Tostanoski LH, Aguayo R, Ansel J, et al. Immunogenicity of COVID-19 mRNA vaccines in pregnant and lactating women. *JAMA.* 2021;325(23):2370–80. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.7563>.
 19. Gray KJ, Bordt EA, Atyeo C, Deriso E, Akinwunmi B, Young N, et al. Coronavirus disease 2019 vaccine response in pregnant and lactating women: a cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(3):303 e1–e17. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.03.023>.
 20. Halasa NB, Olson SM, Staat MA, Newhams MM, Price AM, Boom JA, et al. Effectiveness of maternal vaccination with mRNA COVID-19 vaccine during pregnancy against COVID-19-associated hospitalization in infants aged <6 months—17 States, July 2021–January 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022;71(7):264–70. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7107e3>.
 21. Martin-Vicente M, Carrasco I, Munoz-Gomez MJ, Lobo AH, Mas V, Vigil-Vazquez S, et al. Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. *Birth.* 2022. <https://doi.org/10.1111/birt.12667>.
 22. Carlsen EO, Magnus MC, Oakley L, Fell DB, Greve-Isdahl M, Kinge JM, et al. Association of COVID-19 vaccination during pregnancy with incidence of SARS-CoV-2 infection in infants. *JAMA Intern Med.* 2022. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2022.2442>.
 23. Halasa NB, Olson SM, Staat MA, Newhams MM, Price AM, Panaraj PS, et al. Maternal vaccination and risk of hospitalization for Covid-19 among infants. *N Engl J Med.* 2022. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2204399>.
 24. Atyeo CG, Shook LL, Brigida S, De Guzman RM, Demidkin S, Muir C, et al. Maternal immune response and placental antibody transfer after COVID-19 vaccination across trimester and platforms. *Nat Commun.* 2022;13(1):3571. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31169-8>.
 25. Pietrasanta C, Darwich A, Ronchi A, Crippa B, Spada E, Mosca F, et al. Humoral response to anti-SARS-CoV-2 vaccine in breastfeeding mothers and mother-to-infant antibody transfer through breast milk. *NPJ Vaccines.* 2022;7(1):63. <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00499-5>.
 26. Fox A, Marino J, Amanat F, Krammer F, Hahn-Holbrook J, Zolla-Pazner S, et al. Robust and specific secretory IgA against SARS-CoV-2 detected in human milk. *iScience.* 2020;23(11):101735. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101735>.
 27. Perl SH, Uzan-Yulzari A, Klainer H, Asiskovich L, Youngster M, Rinott E, et al. SARS-CoV-2-specific antibodies in breast milk after COVID-19 vaccination of breastfeeding women. *JAMA.* 2021;325(19):2013–4. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.5782>.
 28. Goncalves J, Juliano AM, Charepe N, Alenquer M, Athayde D, Ferreira F, et al. Secretory IgA and T cells targeting SARS-CoV-2 spike protein are transferred to the breastmilk upon mRNA vaccination. *Cell Rep Med.* 2021;2(12): 100468. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100468>.
 29. Dude CM, Joseph NT, Forrest AD, Verkerke HP, Cheedarla N, Govindaraj S, et al. Antibody response, neutralizing potency, and transplacental antibody transfer following SARS-CoV-2 infection versus mRNA-1273, BNT162b2 COVID-19 vaccination in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 2023;162(1):154–62. <https://doi.org/10.1002/ijgo.14648>.
 30. Gray KJ, Bordt EA, Atyeo C, Deriso E, Akinwunmi B, Young N, et al. COVID-19 vaccine response in pregnant and lactating women: a cohort study. *medRxiv.* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.07.21253094>.
 31. Nir O, Schwartz A, Toussia-Cohen S, Leibovitch L, Strauss T, Asraf K, et al. Maternal-neonatal transfer of SARS-CoV-2 immunoglobulin G antibodies among parturient women treated with BNT162b2 messenger RNA vaccine during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2022;4(1): 100492. <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2021.100492>.
 32. Prabhu M, Murphy EA, Sukhu AC, Yee J, Singh S, Eng D, et al. Antibody response to coronavirus disease 2019 (COVID-19) messenger RNA vaccination in pregnant women and transplacental passage into cord blood. *Obstet Gynecol.* 2021;138(2):278–80. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004438>.
 33. Mithal LB, Otero S, Shanes ED, Goldstein JA, Miller ES. Cord blood antibodies following maternal coronavirus disease 2019 vaccination during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(2):192–4. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.03.035>.
 34. Otero S, Miller ES, Sunderraj A, Shanes ED, Sakowicz A, Goldstein JA, et al. Maternal antibody response and transplacental transfer following severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection or vaccination in pregnancy. *Clin Infect Dis.* 2023;76(2):220–8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac793>.
 35. Munoz FM, Posavad CM, Richardson BA, Badell ML, Bunge KE, Mulligan MJ, et al. COVID-19 booster vaccination during pregnancy enhances maternal binding and neutralizing antibody responses and transplacental antibody transfer to the newborn. *Vaccine.* 2023;41(36):5296–303. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.06.032>.
 36. Shook LL, Atyeo CG, Yonker LM, Fasano A, Gray KJ, Alter G, et al. Durability of anti-spike antibodies in infants after maternal COVID-19 vaccination or natural infection. *JAMA.* 2022;327(11):1087–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.1206>.
 37. Carrasco I, Munoz-Chapuli M, Vigil-Vazquez S, Aguilera-Alonso D, Hernandez C, Sanchez-Sanchez C, et al. SARS-CoV-2 infection in pregnant women and newborns in a Spanish cohort (GESNEO-COVID) during the first wave. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):326. <https://doi.org/10.1186/s12884-021-03784-8>.
 38. Vazquez-Alejo E, Tarancon-Diez L, Carrasco I, Vigil-Vazquez S, Munoz-Chapuli M, Rincon-Lopez E, et al. SARS-CoV2 infection during pregnancy causes persistent immune abnormalities in women without affecting the newborns. *Front Immunol.* 2022;13: 947549. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.947549>.
 39. Tre-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Favresse J, Dogne JM, Douxfils J, et al. Analytical and clinical validation of an ELISA for specific SARS-CoV-2 IgG, IgA, and IgM antibodies. *J Med Virol.* 2021;93(2):803–11. <https://doi.org/10.1002/jmv.26303>.
 40. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in

- the prefusion conformation. *Science*. 2020;367(6483):1260–3. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
41. Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, DiVenere AM, Kuo HC, Javanmardi K, et al. Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science*. 2020;369(6510):1501–5. <https://doi.org/10.1126/science.abd0826>.
 42. Jamieson DJ, Rasmussen SA. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;226(2):177–86. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.08.054>.
 43. Falsaperla R, Leone G, Familiari M, Ruggieri M. COVID-19 vaccination in pregnant and lactating women: a systematic review. *Expert Rev Vaccines*. 2021;20(12):1619–28. <https://doi.org/10.1080/14760584.2021.1986390>.
 44. Matsui Y, Li L, Prahm M, Cassidy AG, Ozarslan N, Golan Y, et al. Neutralizing antibody activity against SARS-CoV-2 variants in gestational age-matched mother-infant dyads after infection or vaccination. *JCI Insight*. 2022. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.157354>.
 45. Theiler RN, Wick M, Mehta R, Weaver AL, Virk A, Swift M. Pregnancy and birth outcomes after SARS-CoV-2 vaccination in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2021;3(6): 100467. <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2021.100467>.
 46. Flannery DD, Gouma S, Dhudasia MB, Mukhopadhyay S, Pfeifer MR, Woodford EC, et al. Assessment of maternal and neonatal cord blood SARS-CoV-2 antibodies and placental transfer ratios. *JAMA Pediatr*. 2021;175(6):594–600. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2021.0038>.
 47. Joseph NT, Dude CM, Verkerke HP, Irby LS, Dunlop AL, Patel RM, et al. Maternal antibody response, neutralizing potency, and placental antibody transfer after severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. *Obstet Gynecol*. 2021;138(2):189–97. <https://doi.org/10.1097/AOG.00000000000004440>.
 48. Rathberger K, Hausler S, Wellmann S, Weigl M, Langhammer F, Bazzano MV, et al. SARS-CoV-2 in pregnancy and possible transfer of immunity: assessment of peripartur maternal and neonatal antibody levels and a longitudinal follow-up. *J Perinat Med*. 2021;49(6):702–8. <https://doi.org/10.1515/jpm-2021-0166>.
 49. Rottenstreich A, Zarbiv G, Oiknine-Djian E, Vorontsov O, Zigrion R, Kleinstern G, et al. Timing of SARS-CoV-2 vaccination during the third trimester of pregnancy and transplacental antibody transfer: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(3):419–25. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.10.003>.
 50. Popescu DE, Citu C, Jura AMC, Lungu N, Navolan D, Craina M, et al. The benefits of vaccination against SARS-CoV-2 during pregnancy in favor of the mother/newborn dyad. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(6):848. <https://doi.org/10.3390/vaccines10060848>.
 51. Burns MD, Muir C, Atyeo C, Davis JP, Demidkin S, Akinwunmi B, et al. Relationship between anti-spike antibodies and risk of SARS-CoV-2 infection in infants born to COVID-19 vaccinated mothers. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(10):1696. <https://doi.org/10.3390/vaccines10101696>.
 52. Kalafat E, Magee LA, von Dadelszen P, Heath P, Khalil A. COVID-19 booster doses in pregnancy and global vaccine equity. *Lancet*. 2022;399(10328):907–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00166-0).
 53. Moore KM, Suthar MS. Comprehensive analysis of COVID-19 during pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021;538:180–6. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.12.064>.
 54. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012: 985646. <https://doi.org/10.1155/2012/985646>.
 55. Yang YJ, Murphy EA, Singh S, Sukhu AC, Wolfe I, Adurty S, et al. Association of gestational age at coronavirus disease 2019 (COVID-19) vaccination, history of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection, and a vaccine booster dose with maternal and umbilical cord antibody levels at delivery. *Obstet Gynecol*. 2022;139(3):373–80. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004693>.
 56. Kugelman N, Nahshon C, Shaked-Mishan P, Cohen N, Lahav Sher M, Barsha H, et al. Third trimester messenger RNA COVID-19 booster vaccination upsurge maternal and neonatal SARS-CoV-2 immunoglobulin G antibody levels at birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2022;274:148–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2022.05.029>.
 57. Cortes-Sarabia K, Gutierrez-Torres M, Mendoza-Renteria EM, Leyva-Vazquez MA, Vences-Velazquez A, Hernandez-Sotelo D, et al. Variation in the humoral immune response induced by the administration of the BNT162b2 Pfizer/BioNTech vaccine: a systematic review. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(6):909. <https://doi.org/10.3390/vaccines10060909>.
 58. Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, et al. Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(14):1372–4. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2101667>.
 59. Hoffmann M, Kruger N, Schulz S, Cossmann A, Rocha C, Kempf A, et al. The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic. *Cell*. 2022;185(3):447–56 e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.032>.
 60. Shen CJ, Fu YC, Lin YP, Shen CF, Sun DJ, Chen HY, et al. Evaluation of transplacental antibody transfer in SARS-CoV-2-immunized pregnant women. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(1):101. <https://doi.org/10.3390/vaccines10010101>.
 61. Esteve-Palau E, Gonzalez-Cuevas A, Guerrero ME, Garcia-Terol C, Alvarez MC, Garcia G, et al. Quantification and progress over time of specific antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in breast milk of lactating women vaccinated with BNT162b2 Pfizer-BioNTech coronavirus disease 2019 vaccine (LacCOVID). *Open Forum Infect Dis*. 2022;9(6):239. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac239>.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Authors and Affiliations

María José Muñoz-Gómez^{1,2} · María Martín-Vicente¹ · Sara Vigil-Vazquez³ · Itziar Carrasco³ · Alicia Hernanz Lobo^{2,4,5} · Vicente Mas⁶ · Mónica Vázquez⁶ · Angela Manzanares⁵ · Olga Cano⁶ · Clara Zamora⁷ · Roberto Alonso⁸ · Daniel Sepulveda-Crespo^{1,2} · Laura Tarancon-Diez⁹ · María Ángeles Muñoz-Fernández^{9,10,11} · Mar Muñoz-Chapuli⁷ · Salvador Resino^{1,2} · María Luisa Navarro^{2,4,5,12} · Isidoro Martínez^{1,2}

✉ Salvador Resino
sresino@isciii.es

✉ Isidoro Martínez
imago@isciii.es

María José Muñoz-Gómez
munozgomez.mjose@gmail.com

María Martín-Vicente
maria.mvicente92@gmail.com

Sara Vigil-Vazquez
saravv90@gmail.com

Itziar Carrasco
itziiaarcg@gmail.com

Alicia Hernanz Lobo
h.loba.alicia@gmail.com

Vicente Mas
vmas@isciii.es

Mónica Vázquez
mvazquez@isciii.es

Angela Manzanares
angela.manzacas@gmail.com

Olga Cano
olgacm@isciii.es

Clara Zamora
clara.zdp@gmail.com; clara.zamora@salud.madrid.org

Roberto Alonso
roberto.alonso@salud.madrid.org

Daniel Sepulveda-Crespo
danisecre@hotmail.com

Laura Tarancon-Diez
ltarancondiez@gmail.com

María Ángeles Muñoz-Fernández
mmunoz.hugm@gmail.com

Mar Muñoz-Chapuli
mar.mchg@gmail.com; mar.munozchapuli@salud.madrid.org

María Luisa Navarro
marisa.navarro.gomez@gmail.com

- ¹ Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain
- ² Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
- ³ Servicio de Neonatología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁴ Grupo de Investigación en Infectología Pediátrica, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁵ Servicio de Pediatría, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁶ Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
- ⁷ Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁸ Departamento de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ⁹ Laboratorio de InmunoBiología Molecular, Sección de Inmunología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
- ¹⁰ Spanish HIV-HGM BioBank, Madrid, Spain
- ¹¹ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
- ¹² Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

4.2. Población 2: Personas con VIH

4.2.1. Artículo 3 (203): Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19.

Introducción: La respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 en personas con VIH es un tema de controversia y de intensa investigación, ya que la infección por VIH puede afectar a esta respuesta.

Objetivos: Estudiar la respuesta inmune humoral en personas con VIH (PVIH) recuperadas de la COVID-19, cuantificando los niveles de anticuerpos plasmáticos contra la proteína S del SARS-CoV-2 (IgG anti-SARS-CoV-2 S).

Métodos: Estudio transversal con 91 PVIH de la Cohorte de la Red Española de Investigación en VIH (CoRIS) que se recuperaron de la COVID-19 en 2020. Se compararon con 21 sujetos control no infectados por el VIH (CTRL) que también superaron la COVID-19. Se evaluaron los niveles de anticuerpos IgG, IgM e IgA contra la proteína S del SARS-CoV-2 y su capacidad de inhibir la unión de la proteína S al receptor ACE2.

Resultados: El 92,3% de las PVIH tuvieron COVID-19 asintomático o leve, el 7,7% fueron hospitalizadas y el tiempo medio desde los síntomas hasta la recolección de plasma fue de 11 semanas. Los CTRL tenían características similares a las PVIH excepto el género. No se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de IgG anti-SARS-CoV-2 S, ni en los porcentajes de inhibición de la unión S-ACE2 entre ambos grupos. La mayoría de PVIH estaban bajo tratamiento antirretroviral, con un buen control virológico, lo que podría haber influido en los resultados. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los títulos de anticuerpos ni en los porcentajes de inhibición de la unión S-ACE2 al estratificar las PVIH según el recuento de células T CD4(+) (<350, 350-500, >500 células/mm³).

Conclusión: Las PVIH mostraron una respuesta inmune humoral específica contra el SARS-CoV-2 similar a la de sujetos sin infección por VIH tras la COVID-19.

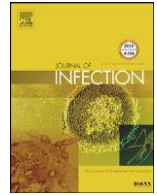
Art. 3 (203): María Martín-Vicente, Juan Berenguer, **María José Muñoz-Gómez**, Cristina Díez, Rafael Micán, María Jesús Pérez-Elías, Lucio Jesús García-Fraile, Joaquin Peraire, Inés Suárez-García, María Ángeles Jiménez-Sousa, Amanda Fernández-Rodríguez, Mónica Vázquez, Pablo Ryan, Juan González-García, Inmaculada Jarrín, Vicente Mas, Isidoro Martínez, Salvador Resino. *Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19. J Infect. 2022 Mar; 84(3):418-467.*

<u>Indicadores de calidad</u>
ISSN: 0163-4453 Editorial: Elsevier Índice de impacto: 38,637 Fuente de impacto: WOS (JCR) Categoría: INFECTIOUS DISEASES Rango: 4/95 Cuartil: Primero (D1)



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Infection

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinf

Letter to the Editor

Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19

Dear editor

We have read with interest the article of Venturas et al., who found persons living with HIV (PWH) are not at higher risk of moderate or severe COVID-19 than the general population¹. The immune response against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in PWH is a matter of controversy and intense research, as HIV infection may impair the immune response to SARS-CoV-2². High levels of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 spike (S) protein are associated with less severe disease and a good prognosis in COVID-19³. These antibodies against the SARS-CoV-2 S protein block the virus union to its cellular receptor, the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor².

Thus, it is critical to determine whether the anti-SARS-CoV-2 neutralizing antibody response is impaired in PWH². This study aimed to characterize plasma antibodies against SARS-CoV-2 S protein in PWH and CTRLs recovered from COVID-19.

We performed a cross-sectional study in 91 PWH from the Cohort of the Spanish HIV Research Network (CoRIS) seropositive for SARS-CoV-2 and with plasma specimens collected from April 1, 2020, to September 30, 2020⁴. We also included HIV-uninfected CTRLs seropositive for SARS-CoV-2 with plasma specimens stored in the National center for Microbiology Instituto de Salud Carlos III. Both groups were matched for age and time since initiation of symptoms and were not vaccinated against SARS-CoV-2. The Ethics Committee of Hospital General Universitario Gregorio Marañón approved the study (Ref# 162/20).

Blood samples were collected by venipuncture in EDTA tubes and were sent the same day to the Spanish HIV BioBank, where plasma samples were obtained and stored at -80°C . These samples were sent to the Instituto de Salud Carlos III for its analysis. We used immunoassays to evaluate the antibody titer against the SARS-CoV-2 S protein, which gives us the area under the curve (AUC) of IgG, IgM, and IgA titration curves. Besides, we assayed the capacity of the antibodies to inhibit the binding of the soluble ACE2 receptor to S protein (see Supplemental file 1).

The differences between groups were calculated by the Mann-Whitney U test for continuous variables and the Chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables. Generalized Linear Models (GLM) with a gamma distribution (log-link) adjusted by age, gender, and COVID-19 disease severity were used to evaluate the differences in plasma anti-SARS-CoV-2 S protein antibody levels (IgG, IgM, and IgA) between groups. The inhibition of ACE2 binding to the S protein (inhibition percentage, y-axis) and the titers of plasma anti-SARS-CoV-2 S protein antibodies (sum of AUCs of IgG, IgM, and IgA titration curves, x-axis) were plotted ac-

ording to a semilog line, and Pearson's correlation coefficient (r) was calculated. Then, GLM tests were used to assess if regression slopes in PWH and CTRLs were different by analyzing the interaction between the groups (PWH vs. CTRLs) with the sum of AUCs and inhibition percentages. Statistical analysis was performed with GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) and IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, USA). The level of significance was two-tailed and defined as $p < 0.05$ (two-tailed).

The study population included 91 PWH – fully described elsewhere⁴ – and 21 CTRLs, whose characteristics are shown in Table 1. Concerning COVID-19, 92.3% PWH had asymptomatic or mild COVID-19 disease, 7.7% were hospitalized, and the median time from symptoms to plasma collection was 11 weeks. CTRLs had similar characteristics to PWH, except for gender.

No significant differences were found between groups in plasma levels of different classes of immunoglobulins against SARS-CoV-2 S protein [IgG ($p = 0.414$; Fig. 1A), IgM ($p = 0.862$; Fig. 1B), and IgA ($p = 0.134$; Fig. 1C)], and percentages of inhibition of ACE2 binding to the S protein ($p = 0.237$; Fig. 1D). Adjusted regression analysis also found no significant differences (Supplemental Table 1). Furthermore, we found solid and similar correlations between total plasma antibody titers against SARS-CoV-2 S protein and the percentage of inhibition of ACE2 binding to the S protein in CTRLs ($r = 0.580$; $p = 0.005$; Fig. 1E) and PWH ($r = 0.548$; $p < 0.001$; Fig. 1F). No differences were found between the regression slopes of the two study groups ($p = 0.849$).

Several studies have reported that PWH usually shows poor antibody response to other viruses or viral vaccines^{5–7}, raising concerns about whether they can mount an adequate humoral response against SARS-CoV-2. This issue is relevant since high antibody titers against the SARS-CoV-2 S protein correlate with virus neutralization and protection³. Our study shows that PWH and CTRLs who recovered from COVID-19 display a similar antibody response against the S protein. To detect neutralizing antibodies, we used a stabilized trimeric S protein in its native pre-fusion conformation. The suitability of our assay was confirmed by the strong correlation between the antibody titers and their capacity to inhibit the interaction S protein-ACE2 receptor.

Our data agree with recently published results showing comparable anti-SARS-CoV-2 neutralizing antibody levels between PWH under effective antiretroviral therapy (ART) and HIV-uninfected individuals^{8,9}. Successful HIV suppression seems to be crucial for developing an adequate humoral immune response. In our study, almost all HIV patients analyzed were on ART, with good clinical, virological, and immunological control, which may have contributed to similar anti-SARS-CoV-2 antibody titers between PWH and CTRLs. We analyzed the antibody titers against the SARS-CoV-2 S protein and percentages of inhibition of ACE2 binding to the S protein according to CD4⁺ strata (< 350 , $350–500$, > 500 cells/mm³), and we did not find significant differences (data

Table 1
Epidemiological and clinical characteristics of SARS-CoV-2 infected patients.

Variable	Control group	HIV group	p-value
No.	21	91	
Demographic data			
Male sex at birth – No./with data (%)	13 (61.9%)	85 (93.4%)	< 0.001
Age - Median (Q1; Q3) – yr.	42.3 (38.9; 48.8)	44.2 (36.8; 51.6)	0.902
COVID-19 data			
Severity status (asymptomatic or mild) – No./with data (%)	18 (85.7%)	84 (92.3%)	0.277
Hospital admission – No./with data (%)	3 (14.3%)	7 (7.7%)	0.340
Time from symptoms - Median (Q1; Q3) – wk.	12.3 (11.1; 19.7)	11 (8.1; 15.4)	0.106
Oxygen-therapy – No./with data (%)	3 (14.3%)	6 (6.6%)	0.340
HIV infection data			
Mechanism of HIV acquisition – No./with data (%)			
Men having sex with men	-	68 (74.7%)	-
Heterosexual	-	20 (22%)	-
Injection drug use	-	1 (1.1%)	-
Other	-	2 (2.2%)	-
Age of HIV diagnosis - Median (Q1; Q3) – yr.	-	36.4 (28.1; 43.6)	-
Time with HIV infection - Median (Q1; Q3) – yr.	-	6.2 (3.3; 11.5)	-
Prior AIDS-defining conditions – No./with data (%)	-	11 (12.1%)	-
Age - Median (Q1; Q3) – yr.	-	45 (36.9; 46.9)	-
Last CD4+ count			
Median (Q1; Q3) - cells/mm3	-	696.5 (491.5; 939)	-
Distribution – No./with data (%)			
< 350	-	9/84 (10.7%)	-
350–499	-	13/84 (15.5%)	-
≥ 500	-	62/84 (73.8%)	-
Last HIV-RNA load ≤ 50 copies/mm3 – No./with data (%)	-	80 (94.1%)	-
Antiretroviral therapy – No./with data (%)	-	88 (96.7%)	-
Antiretroviral therapy (N[t]RTI backbone) – No./with data (%)			
TAF/FTC	-	40 (44%)	-
ABC/3TC	-	25 (27.5%)	-
TDF/FTC	-	5 (5.5%)	-
Antiretroviral therapy (third drug)			
NNRTI	-	48 (52.7%)	-
Protease inhibitor	-	4 (4.4%)	-
Integrase inhibitor	-	51 (56%)	-

Abbreviations: PWH. People with HIV; Q1. 1st quartile; Q3. 3rd quartile; N(t)RTI. nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors; TAF. tenofovir alafenamide; FTC. emtricitabine; ABC. abacavir; 3TC. lamivudine; TDF; tenofovir disoproxil fumarate; NNRTI. non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors.

not shown). In contrast, lower neutralizing antibody titers against SARS-CoV-2 were found in PWH than in HIV-uninfected individuals recovering from COVID-19 by Spinelli et al.¹⁰, although its sample size was three times lower than in our study. Differences in the characteristics of the study cohorts (sample size, ethnicity, age, sex, COVID-19 severity, percentage of people with unsuppressed viral loads, among others), study design, or assays for antibody characterization may explain these conflicting results.

In conclusion, no differences in quantitative and qualitative SARS-CoV-2-specific immune humoral response were found between well-controlled PWH and CRTIs after recovery from COVID-19. This finding suggests that PWH are not an at-risk population for this infection and are potentially good vaccination responders.

Contribution

- Study conception and design: Salvador Resino, Juan Berenguer, and Isidoro Martínez.
- Acquisition of data: all authors.
- Laboratory procedures: María Martín-Vicente, and María José Muñoz-Gómez.
- Analyses and interpretation of data: Salvador Resino and Isidoro Martínez.
- Drafting the article: Salvador Resino and Isidoro Martínez.
- Critical revision of the article: Juan Berenguer.
- Funding acquisition: Salvador Resino and Juan Berenguer.
- All authors have read and approved the final manuscript.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

We are indebted to all the patients who participated in this research. We want to acknowledge the patients in this study for their participation and the Spanish HIV HGM BioBank integrated into the Spanish AIDS Research Network (RIS) and collaborating Centers for the generous gifts of clinical samples used in this work. This study would not have been possible without the collaboration of all medical and nursing staff and data managers who have taken part in the project.

Funding

This study was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (ISCII; grant numbers COV20/00108 and COV20/1144). The study was also funded by the Spanish AIDS Research Network (RD16/0025/0017, RD16/0025/0018 and RD16CIII/0002/0002) and Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) en Enfermedades Infecciosas (CB21/13/00044). AFR and MAJS are Miguel Servedet researchers supported and funded by ISCIII (grant numbers: CP14CIII/00010 to AFR and CP17CIII/00007 to MAJS).

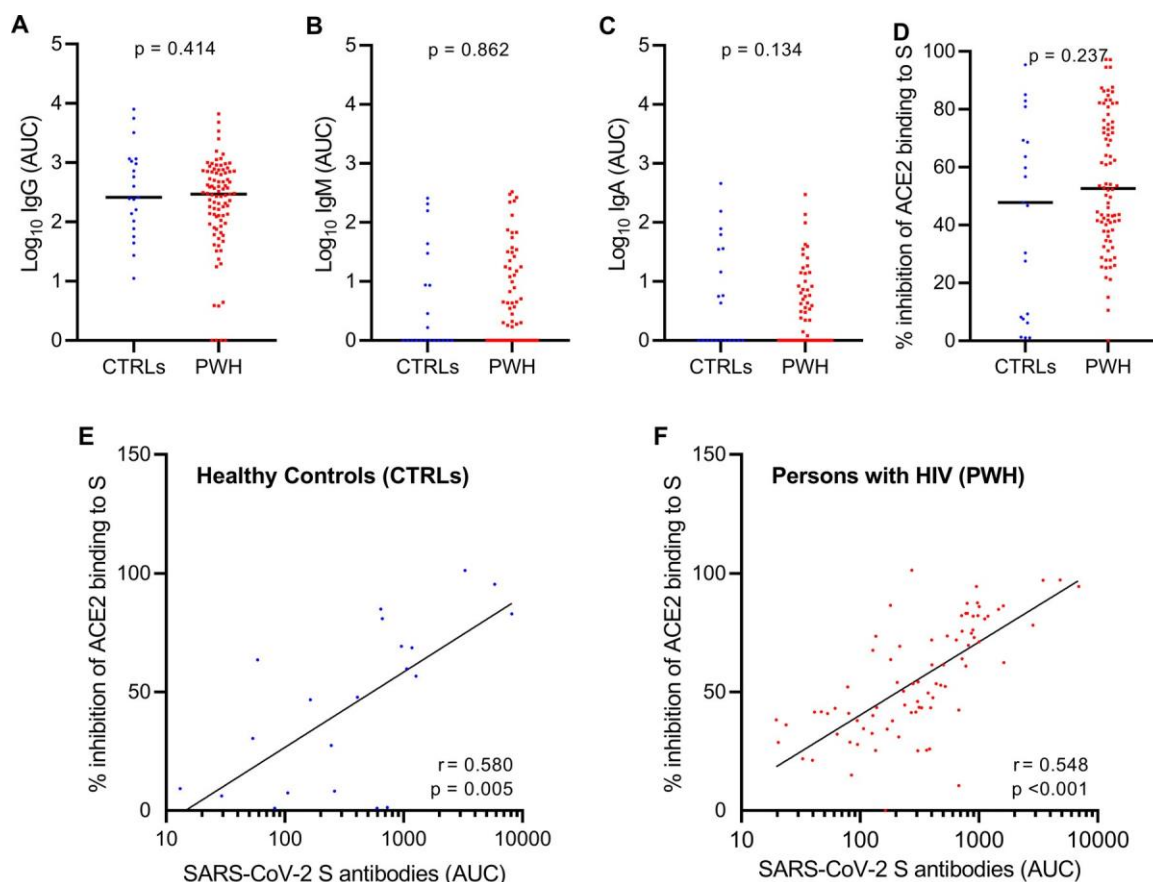


Fig. 1. Plasma levels of antibody against SARS-CoV-2 S protein (A–C) and percentages of inhibition of ACE2 receptor binding to the S protein (D). Correlation between antibody levels against SARS-CoV-2 S protein (sum of the AUC of IgG, IgM, and IgA) and percentages of inhibition of ACE2 receptor binding to the S protein (E and F).

Statistics: Differences were calculated by the Mann-Whitney U test, and medians were represented by a horizontal bar. Correlation analysis was performed using the Pearson test.

Abbreviations: AUC, the area under the curve; ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; CTRLs, HIV-uninfected patients, PWH, persons living with human immunodeficiency virus; SARS-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus; IgG, anti-SARS-CoV-2 S IgG; IgM, anti-SARS-CoV-2 S IgM; IgA, anti-SARS-CoV-2 S IgA.

Ethics approval and consent to participate

All participants gave their consent before enrollment. The Ethics Committee of Hospital General Universitario Gregorio Marañón approved the study (Ref# 162/20).

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding authors upon reasonable request.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.jinf.2021.11.002](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.11.002).

References

- Venturas J, Zamparini J, Shaddock E, Stacey S, Murray L, Richards GA, et al. Comparison of outcomes in HIV-positive and HIV-negative patients with COVID-19. *J Infect* 2021;**83**(2):217–27 AugPubMed PMID: 34051225. Pubmed Central PMCID: PMC8152212. Epub 2021/05/30.
- Ambrosioni J, Blanco JL, Reyes-Uruena JM, Davies MA, Sued O, Marcos MA, et al. Overview of SARS-CoV-2 infection in adults living with HIV. *Lancet HIV* 2021;**8**(5):e294–305 MayPubMed PMID: 33915101. Pubmed Central PMCID: PMC8075775 consulting honoraria or research grants, or both, from Gilead Sciences, Janssen Pharmaceuticals, and ViiV Healthcare, outside the submitted work. EM reports grants and personal fees from Merck Sharp & Dohme and ViiV Healthcare, and personal fees from Gilead Sciences and Janssen Pharmaceuticals, outside the submitted work. JMM reports grants and personal fees from AbbVie, Angelini, ContraFect, Cubist, Genentech, Gilead Sciences, Janssen Pharmaceuticals, Lysovant, Medtronic, Merck Sharp & Dohme, Novartis, Pfizer, and ViiV Healthcare, outside the submitted work. All other authors declare no competing interests. The views and opinions expressed in this Review are those of the authors and do not necessarily reflect the official policy or position of the WHO. Epub 2021/04/30.
- Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med* 2021;**27**(7):1205–11 2021/07//PubMed PMID: 34002089. eng.
- Berenguer J, Diez C, Martín-Vicente M, Mican R, Perez-Elias MJ, Garcí-a-Fraile LJ, et al. Prevalence and factors associated with SARS-CoV-2 seropositivity in the Spanish HIV research network cohort. *Clin Microbiol Infect* 2021;**27**(11):1678–84 Jun 26PubMed PMID: 34186209. Pubmed Central PMCID: PMC8267776. Epub 2021/06/30.
- Overton ET, Sungkanuparph S, Powderly WG, Seyfried W, Groger RK, Aberg JA. Undetectable plasma HIV RNA load predicts success after hepatitis B vaccination in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis* 2005;**41**(7):1045–8 Oct 1PubMed PMID: 16142673. Epub 2005/09/06.
- George VK, Pallikkuth S, Parmigiani A, Alcaide M, Fischl M, Arheart KL, et al. HIV infection worsens age-associated defects in antibody responses to influenza vaccine. *J Infect Dis* 2015;**211**(12):1959–68 Jun 15PubMed PMID: 25556252. Pubmed Central PMCID: PMC4836723. Epub 2015/01/04.
- Kerneis S, Launay O, Turbelin C, Batteux F, Hanslik T, Boelle PY. Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic re-

- view and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2014;58(8):1130–9 AprPubMed PMID: 24415637. Pubmed Central PMCID: PMC4761378. Epub 2014/01/15.
- [8]. Alrubayyi A, Gea-Mallorqui E, Touizer E, Hameiri-Bowen D, Kopycinski J, Charlton B, et al. Characterization of humoral and SARS-CoV-2 specific T cell responses in people living with HIV. *Res Sq*. 2021 Mar 17. PubMed PMID: 33758833. Pubmed Central PMCID: PMC7987102. Epub 2021/03/25.
- [9]. Snyman J, Hwa SH, Krause R, Muema D, Reddy T, Ganga Y, et al. Similar antibody responses against SARS-CoV-2 in HIV uninfected and infected individuals on antiretroviral therapy during the first South African infection wave. *Clin Infect Dis* 2021 Sep 2PubMed PMID: 34472583. Epub 2021/09/03.
- [10]. Spinelli MA, Lynch KL, Yun C, Glidden DV, Peluso MJ, Henrich TJ, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence, and IgG concentration and pseudovirus neutralising antibody titres after infection, compared by HIV status: a matched case-control observational study. *Lancet HIV* 2021;8(6):e334–ee41 JunPubMed PMID: 33933189. Pubmed Central PMCID: PMC8084354 National Institutes of Health during conduct of the study. DVG reports personal fees from Gilead Sciences outside the submitted work. All other authors declare no competing interests. Epub 2021/05/03.

María Martín-Vicente

Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain.
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Juan Berenguer*

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Unidad de Enfermedades Infecciosas/VIH, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, IISGM, Madrid, Spain

María José Muñoz-Gómez

Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain.
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Cristina Díez

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Unidad de Enfermedades Infecciosas/VIH, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, IISGM, Madrid, Spain

Rafael Micán

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario La Paz, IdiPaz, Madrid, Spain

María Jesús Pérez-Elías

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá, IRYCIS, Madrid, Spain

Lucio Jesús García-Fraile

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, Spain

Joaquín Peraire

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain.

Inés Suárez-García

Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Infanta Sofía, San Sebastián de los Reyes, Spain
Universidad Europea, Villaviciosa de Odón, Madrid, Spain.

María Ángeles Jiménez-Sousa, Amanda Fernández-Rodríguez
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain.
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Mónica Vázquez

Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

Pablo Ryan

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Medicina Interna, Hospital Infanta Leonor, IISGM, Madrid, Spain

Juan González-García

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario La Paz, IdiPaz, Madrid, Spain

Inmaculada Jarrín

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Vicente Mas

Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

Isidoro Martínez¹, Salvador Resino*
¹

Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain.
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

*Corresponding authors at: Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

E-mail addresses: maria.mvicente92@gmail.com (M.

Martín-Vicente), jbb4@me.com (J. Berenguer),

mjose.munoz@isciii.es (M.J. Muñoz-Gómez), crispu82@gmail.com

(C. Díez), micanrafael@hotmail.com (R. Micán),

mjperez90@gmail.com (M.J. Pérez-Elías),

lucio.garciafraile@gmail.com (L.J. García-Fraile),

jjperaire.hj23.ics@gencat.cat (J. Peraire),

inessuarezgarcia@gmail.com (I. Suárez-García),

jimenezsousa@isciii.es (M.Á. Jiménez-Sousa), amandafr@isciii.es (A.

Fernández-Rodríguez), mvarez@isciii.es (M. Vázquez),

pabloryan@gmail.com (P. Ryan), juangonzalezgar@gmail.com (J.

González-García), ijarrin@isciii.es (I. Jarrín), vmas@isciii.es (V.

Mas), imago@isciii.es (I. Martínez), sresino@isciii.es (S. Resino)

¹ These authors contributed equally to this work.

4.2.2. Artículo 4 (204): Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein in people with HIV after COVID-19 vaccination.

Introducción: Las personas con VIH (PVIH) a menudo tienen una respuesta subóptima a las vacunas, lo que ha generado preocupación sobre la eficacia de las vacunas contra la COVID-19 en esta población.

Objetivos: Evaluar la respuesta inmune humoral frente al linaje B.1 y la variante Ómicron en PVIH después de la vacunación contra la COVID-19.

Métodos: Estudio prospectivo con 19 PVIH que recibieron dos dosis de la vacuna de ARNm contra la COVID-19 y un refuerzo seis meses después. Se incluyó un grupo control sano (HC) sin infección por VIH. Se midió la respuesta humoral a la vacuna (niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S y la capacidad de bloquear la interacción S-ACE2) contra el linaje B.1 y la variante Ómicron mediante inmunoensayos.

Resultados: Las PVIH mostraron una robusta respuesta humoral tras la segunda dosis y la dosis de refuerzo (GMFR >8 y GMFR >4 , respectivamente) tanto frente al linaje B.1 como frente a la variante Ómicron. No se observaron diferencias significativas en la respuesta humoral frente al linaje B.1 y la variante Ómicron entre los grupos PVIH y HC después de la segunda dosis y la dosis de refuerzo ($q>0,05$). La vacuna COVID-19 generó una respuesta humoral significativamente más débil contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1 en ambos grupos ($q<0,05$). Sin embargo, esta respuesta mejoró tras la dosis de refuerzo, aunque la inhibición de la interacción S-ACE2 siguió siendo más débil en las PVIH.

Conclusión: Las PVIH generaron una fuerte respuesta humoral a la vacuna contra la COVID-19, tanto contra el linaje B.1 como contra la variante Ómicron, similar a la de los individuos sin infección por VIH. Sin embargo, nuestros datos sugieren la necesidad de una dosis de refuerzo para mejorar la inmunogenicidad y actualizar las vacunas COVID-19 para nuevas variantes como Ómicron.

Title page

Type of manuscript: Brief Research Report

Title: Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein in people with HIV after COVID-19 vaccination

Running head: Antibody response to COVID-19 vaccine in HIV patients

Authors: María José Muñoz-Gómez¹ (‡), Pablo Ryan^{2,3,4,5} (‡), Marta Quero-Delgado¹, María Martín-Vicente¹, Guillermo Cuevas³, Jorge Valencia³, Eva Jimenez-Gonzalez³, Natalia Blanca³, Amalia Martínez de Gandara³, Gerardo Redondo³, Vicente Mas⁶, Mónica Vázquez⁶, Juan Torres-Macho^{3,4}, Isidoro Martínez^{1,2} (¥), Salvador Resino^{1,2} (* ¥)

(‡) M.J.M.G. and P.R. contributed equally to this study; (¥) I.M and S.R., contributed equally to this study; (*) Corresponding author.

Authors' affiliations:

(1) Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain.

(2) Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

(3) Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, Spain.

(4) Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.

(5) Instituto de Investigaciones Sanitarias Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid, Spain.

(6) Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Correspondence and requests for reprints:

Corresponding author: Salvador Resino; Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (Campus Majadahonda); Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2.2; 28220 Majadahonda (Madrid); Phone: +34918223266. E-mail: sresino@isciii.es

Alternative corresponding author: Isidoro Martínez; Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (Campus Majadahonda); Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2.2; 28220 Majadahonda (Madrid); Phone: +34918223272. E-mail: imago@isciii.es

Emails:

María José Muñoz-Gómez: munozgomez.mjose@gmail.com

Pablo Ryan: pablo.ryan@salud.madrid.org

Marta Quero-Delgado: querodelgadomarta@gmail.com

María Martin-Vicente: maria.mvicente92@gmail.com

Guillermo Cuevas: guillermocuevascon@gmail.com

Jorge Valencia: jorge_vlr@yahoo.es

Eva Jimenez Gonzalez: ejgonzalezbuitrago@salud.madrid.org

Natalia Blanca: Natalia.blanca@gmail.com

Amalia Martinez de Gandara: am.gandara@gmail.com

Gerardo Redondo: gerardoredondo383@hotmail.com

Vicente Mas: vmass@isciii.es

Mónica Vázquez: mvazquez@isciii.es

Juan Torres-Macho: juan.torresm@salud.madrid.org

Isidoro Martinez: imago@isciii.es

Salvador Resino: sresino@isciii.es

Character count of Title: 96

Word count of Text: 2280

Character count of Running Head: 53

Count of References: 24

Word count of Abstract: 259

Count of Tables: 2

Word count of Keywords: 5

Count of Figures: 2

Abstract

Background: People with HIV (PWH) often have a suboptimal response to vaccines, raising concerns about the efficacy of coronavirus disease 2019 (COVID-19) vaccines in this population. We aimed to evaluate the humoral immune response to the B.1 lineage and Omicron variant in PWH following COVID-19 vaccination.

Methods: We conducted a prospective study on 19 PWH who received a two-dose series of the COVID-19 mRNA vaccine and a booster six months later. Participants without HIV infection were included as a healthy control (HC) group. The humoral response to the COVID-19 vaccine (anti-SARS-CoV-2 S IgG levels and ability to block ACE2-S interaction) against both the original B.1 lineage and the Omicron variant was measured by immunoassays.

Results: The humoral response in PWH was very strong (GMFR >8) after the second dose and strong (GMFR >4) after the booster dose for both the B.1 lineage and the Omicron variant. We found similar humoral responses to the B.1 lineage and Omicron variant between PWH and HC groups after the second and booster doses (q-value >0.05). The COVID-19 vaccine generated a significantly weaker humoral response against the Omicron variant compared to the B.1 lineage in both groups (q-value <0.05). However, this response improved after the booster dose, although the inhibition of ACE2-S interaction remained weaker in PWH.

Conclusions: PWH generated a strong humoral response to the COVID-19 vaccine against both the B.1 lineage and the Omicron variant, similar to individuals without HIV infection. However, our data suggest the need for booster doses to improve immunogenicity and update COVID-19 vaccines for new variants like Omicron.

Keywords

HIV; SARS-CoV-2; spike glycoprotein; antibody; vaccine

Introduction

Human immunodeficiency virus (HIV) infection causes significant alterations in the immune system, particularly in people with HIV (PWH) without antiretroviral therapy (ART).

However, even in PWH who have achieved HIV suppression with ART, chronic immune impairment may persist [1], potentially contributing to suboptimal antibody production following vaccination, resulting in diminished vaccine efficacy [2].

PWH are a high-risk group for severe coronavirus disease 2019 (COVID-19), with a 38% higher risk of dying from COVID-19 compared to people without HIV [3]. Consequently, PWH were designated as a priority group for COVID-19 vaccination [2]. The most effective COVID-19 vaccines in preventing severe COVID-19 are the COVID-19 mRNA vaccines, BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) and mRNA-1273 (Moderna). However, considering that PWH may exhibit suboptimal responses to other vaccines [4], concerns remain about the potential efficacy of COVID-19 vaccines in this population. Besides, PWH were not included in clinical trials [2], so most of the available information comes from observational studies.

COVID-19 mRNA vaccines induce specific neutralizing antibodies against the spike glycoprotein (S) of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), which mediates the binding to the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor on host cells [5, 6]. While numerous studies have established the safety of COVID-19 mRNA vaccines among PWH, there are conflicting data regarding the vaccine-induced humoral immune response in this population [7]. Some studies suggest that there is no difference between PWH and HIV-negative individuals concerning antibody kinetics, peak titers, and neutralization activity [8]. Conversely, other researchers have demonstrated that the antibody response in PWH is correlated with their CD4 cell count levels and viremia, with a compromised immune response in PWH with a CD4 below 200 cells per μL [9, 10].

SARS-CoV-2 mutates quickly, evolving into new variants that increase transmissibility and virulence or reduce the effectiveness of COVID-19 vaccines [2]. The Omicron variant is highly transmissible and resistant to vaccine-induced immunity. Antibody and neutralizing responses against Omicron are significantly lower compared to those against the wild-type SARS-CoV-2 [11, 12]. In the general population, completing a primary vaccination series with two doses offers limited protection against severe Omicron outcomes, but a booster dose increases protection. However, data on PWH are limited.

Objective

We aimed to evaluate the humoral immune response against the B.1 lineage and Omicron variant generated in response to the COVID-19 vaccine in PWH.

Materials and Methods

Study design

We conducted a prospective study on 19 PWH who received the COVID-19 mRNA vaccine, based on the Wuhan-Hu-1 strain, for the first time between February 2021 and July 2021 at the Hospital Universitario Infanta Leonor (HUIL) in Madrid, Spain. We included a healthy control (HC) group of participants without HIV, matched by age and sex to the PWH group.

The vaccination schedule followed international guidelines [13], consisting of two doses of a COVID-19 mRNA vaccine with a 28-day interval, followed by a third booster dose six months later. At the first and second dose (n=44), 18 PWH received the Moderna mRNA-1273 vaccine, one PWH received the Pfizer BNT162b2 mRNA vaccine, and 25 HC received the Moderna mRNA-1273 vaccine. At the booster dose (n=27), 15 PWH received the Moderna mRNA-1273 vaccine, eight HC received the Moderna mRNA-1273 vaccine, and seven HC received the Pfizer BNT162b2 mRNA vaccine.

The HUIL Ethics Committee approved the study (Ref.: 030-21). The research followed the Declaration of Helsinki, and all participants gave their informed consent before enrollment.

Clinical data and samples

Participant characteristics were collected from the hospital's electronic medical records. Data were stored using the Research Electronic Data Capture system [14 TN, USA] [14].

Blood samples were collected in ethylene diamine tetra-acetic acid tubes at three points: the first COVID-19 vaccination (baseline), around four weeks after the second vaccine dose, and around ten weeks after the booster dose. All samples were processed and preserved at -80°C in the HUIL until analysis.

Previous SARS-CoV-2 infection

Participant plasma samples were tested for SARS-CoV-2 infection at baseline, after the second dose, and after the booster dose of the COVID-19 vaccine. The test detected IgG, IgA, and IgM antibodies against SARS-CoV-2 N protein using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Platelia SARS-CoV-2 Total Ab, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, California, USA). A sample was considered positive if the optical density ratio between the test and control samples was greater than or equal to 1 (ratio ≥ 1.0). This cut-off has a sensitivity of 94.7% and a specificity of 97.5% [15].

Immunoassay for anti-SARS-CoV-2 S IgG quantification

A complete description of the protocols and materials for antibody quantification is provided by Martin-Vicente et al. [16]. We used the plasmid p α H, kindly provided by Dr. McLellan (University of Texas, Austin, USA), encoding the S protein ectodomain (residues 1-1208) of SARS-CoV-2 2019-nCoV (GenBank: MN908947). Two HexaPro constructs were created by mutagenesis to stabilize the prefusion spike protein. For the first construct (B.1 lineage), the following substitutions were made: glycine at residue 614 (D614G), a "GSAS" substitution at the furin cleavage site (residues 682-685), and proline at residues 817, 892, 899, 942, 986, and 987. For the second construct (SARS-CoV-2 S Omicron, B.1.1.529), the natural cleavage site "RRAR" (residues 682-685) was included, along with these Omicron specific mutations: A67V, Δ 69-70, T95I, G142D/ Δ 143-145, Δ 211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, and L981F). The plasmid encoding the ACE2 SARS-CoV-2 cell receptor (residues 1-165) was also constructed and fused to a StrepTag.

Antibodies against the S protein were titrated using an ELISA assay. Serial 1:3 dilutions of plasma samples (starting from 1:50 and ending at 1:36450), were incubated with the purified S protein ectodomain. One phase exponential decay least-squares fit curves, and the area under the curve was calculated using GraphPad Prism 9.0.

Antibody inhibition of the ACE2-S protein interaction was tested by ELISA. Serum samples were diluted serially 1:2, starting from 1:10 to 1:320. These dilutions were incubated with the S protein before adding the ACE2 receptor complexed with StrepTactin-peroxidase. A 2016 sera pool from people who tested negative for anti-S antibodies was used as a control. After background subtraction, the inhibition percentage was calculated as $[1 - (OD_{493} \text{ test plasma} / OD_{493} \text{ control plasma})] \times 100 \%$.

Statistical analysis

IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, USA) and Stata 15.0 (StataCorp, Texas, USA) were used for statistical analysis. GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) was used to create the figures. The significance level was set at $p < 0.05$ (two-tailed).

The two main factors analyzed were the study population (PWH vs. HC) and the immune response to SARS-CoV-2 variants (B.1 vs. Omicron). The primary outcome was the humoral response to the COVID-19 vaccine, measured by anti-SARS-CoV-2 S IgG levels and their ability

to block ACE2-S interaction against both the original B.1 lineage and the Omicron variant after the second dose and booster dose. Humoral response data were log₁₀-transformed.

Generalized linear mixed models (GLMM) were used to calculate the geometric mean fold rise (GMFR) and their 95% CI between post- and pre-vaccination. The interpretation of the GMFR values was as follows: GMFR > 8 indicated a very strong humoral response with a significant amount of antibodies, GMFR 4 – 8 indicated a strong humoral response, and GMFR <4 indicated a weak humoral response.

GLMM also evaluated the impact of two main factors (study population and SARS-CoV-2 variants) on the COVID-19 vaccine humoral response, providing differences among groups. P-values were corrected by the False Discovery Rate (q-value). The rate of non-responders (AUC = 0) was compared using the Chi-squared test.

Results

Patient characteristics

Baseline characteristics of PWH are shown in **Table 1**. All patients were on ART, two had a detectable viral load (>50 HIV RNA copies/mL), and six had a CD4 count below 200 cells/mm³.

Humoral response to the COVID-19 vaccine

GMFR values of the humoral response (anti-SARS-CoV-2 S IgG and inhibition of ACE2-S interaction) were higher than 8 after the second dose and higher than 4 after the booster dose for both the B.1 lineage and the Omicron variant (**Table 2**). Additionally, there was a strong correlation between anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2-S interaction inhibition in all cases (**Supplementary Figure 1**).

Humoral response to COVID-19 vaccine between study groups

We found similar humoral responses (anti-SARS-CoV-2 S IgG and inhibition of ACE2-S interaction) to the B.1 lineage and Omicron variant between PWH and HC groups after the second and booster doses of the COVID-19 vaccine (q -value >0.05 ; **Supplementary Figure 2A & 2B**). Therefore, the humoral response in the PWH group was comparable to that of the HC group.

Humoral response to COVID-19 vaccine between SARS-CoV-2 variants

After the second dose, both PWH and HC groups showed lower humoral responses against the Omicron variant compared to the B.1 lineage (q -value <0.05 ; **Figure 1A**). However, after the booster dose, we only found significant differences in ACE2-S interaction inhibition between the B.1 lineage and the Omicron variant among PWH (q -value = 0.035; **Figure 1B**). The rate of PWH non-responders in the ACE2-S interaction inhibition (AUC = 0) against Omicron was significantly higher than against B.1 after the second dose (p -value = 0.007), but this difference was not significant after the booster dose (**Figure 2**). Therefore, the COVID-19 vaccine generated a significantly weaker humoral response against the Omicron variant than the B.1 lineage in both the HC and PWH groups. However, this response improved after the booster dose, although ACE2-S interaction inhibition in PWH remained significantly weaker.

Discussion

PWH might have a weaker humoral response to vaccination, even with antiretroviral therapy. Moreover, although COVID-19 vaccines are effective against the original strain of SARS-CoV-2, the Omicron variant has impacted the efficacy of the immune response to vaccines. This study examined the humoral response to both the B.1 lineage and the Omicron variant following COVID-19 vaccination in PWH and HIV-negative controls. The major findings were: 1) PWH showed a strong humoral response after the second and booster doses. 2) The humoral response against the B.1 lineage and the Omicron variant after the second and booster doses was similar in the PWH and HC groups. 3) The humoral response to the Omicron variant was weaker than to the B.1 lineage in both groups but improved after the booster dose.

This study provides evidence of a robust humoral response against the COVID-19 vaccine in PWH. It shows a substantial increase in antibody levels against the B.1 lineage and the Omicron variant. The GMFR values were ≥ 8 after the second dose and ≥ 4 after the booster dose, indicating strong immunogenicity. These results align with previous studies showing a strong humoral response after the second and third doses of the COVID-19 vaccine [17]. Our data underscore the potential benefits of COVID-19 vaccination in protecting PWH against SARS-CoV-2 infection.

Moreover, anti-SARS-CoV-2 S IgG levels and the ability of these antibodies to inhibit the ACE2-S interaction were similar between PWH and the HC group for both the B.1 lineage and the Omicron variant, following the second and booster dose of the COVID-19 vaccine. These findings are consistent with previous research, which has also reported a comparable humoral immune response between PWH and HIV-negative controls following mRNA COVID-19 vaccination [18-20]. Of note, in these studies, the PWH were on ART with suppressed HIV viral loads and exhibited higher baseline CD4 counts compared to studies reporting diminished IgG responses in PWH relative to the HC group [20, 21]. In our study, patients were on suppressive ART with a median CD4 count < 300 cells/mm³ and 31.6% had a CD4+ count < 200 cells/mm³. Despite this, our study also found a robust immune response to the COVID-19 vaccine in PWH.

Our findings also showed that after the second vaccine dose, IgG levels against the Omicron variant and the inhibition of the ACE2-S interaction were significantly lower compared to those against the B.1 lineage. The Omicron variant contains many mutations, mainly within the S protein, the principal target of COVID-19 vaccines. These mutations help the virus evade the humoral response, reducing vaccine efficacy [22]. However, the response to Omicron

significantly improved in both groups following administration of a booster dose. Significant differences between the B.1 lineage and the Omicron variant were observed only in the inhibition of the ACE2-S interaction in PWH after the booster. Despite this difference, the rate of PWH non-responders in ACE2-S interaction inhibition (AUC = 0) was not significantly different between the B.1 lineage and the Omicron variant after the booster dose. Consistent with these observations, previous studies have shown that despite the immune evasion of the Omicron variant to COVID-19 vaccines, booster doses are critical to enhance the efficacy of the immune response [23, 24]. These results underscore the crucial role of booster shots in sustaining protection against Omicron despite its partial evasion of the immune response elicited by the initial vaccination series.

Study limitations

This study has several limitations that should be considered when interpreting the results. First, the sample size is limited, which reduces statistical power and increases the risk of false positive results. Second, the prospective nature of the study may have introduced biases, such as the loss of follow-up for some participants. Third, patient subgroup analysis, such as CD4 <200 or hybrid COVID-19 immunity, was not analyzed in detail due to the low number of patients. Fourth, our findings are primarily relevant to PWH who are on suppressive ART and may not apply to PWH who are not on ART with severe immune deficiency.

Conclusions

PWH generated a strong humoral response to the COVID-19 vaccine against both the B.1 lineage and the Omicron variant, which were similar to that of individuals without HIV infection. However, our data suggest the need for booster doses to improve immunogenicity and update COVID-19 vaccines to new variants such as Omicron.

List of abbreviations

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)

People With Human Immunodeficiency Virus (PWH)

Antiretroviral therapy (ART)

Spike glycoprotein (S)

Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)

Hospital Universitario Infanta Leonor (HUIL)

Healthy controls (HC)

Immunoglobulin G (IgG)

Immunoglobulin M (IgM)

Immunoglobulin A (IgA)

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Anti-SARS-CoV-2 S IgG (IgG against the SARS-CoV-2 spike protein)

Area under the curve (AUC)

Generalized Linear Mixed Models (GLMM)

Geometric mean fold rise (GMFR)

95% confidence interval (95%CI)

Geometric mean titer (GMT)

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The HUIL Ethics Committee authorized the study (Ref.: 030-21), which was conducted following the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed consent before enrollment.

Consent for publication

Not applicable

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Competing interests

The authors have no competing interests, and funding sources played no role in the study's design and research.

Funding

The Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Infecciosas (CB21/13/00044) funded the study.

Acknowledgments

The authors appreciate the collaboration of all the patients, medical and nursing staff and data managers who participated in the project. Besides, Dr. Jason McLellan (University of Texas, Austin, USA) generously provided the plasmid p α H, which encodes the S protein ectodomain (residues 1-1208) of SARS-CoV-2 2019-nCoV (GenBank: MN908947), stabilized in the prefusion conformation.

Author contributions

Data curation: MJMG, PR, MQD, MMV, GC, JV, EJG, NB, AMG, GR, VM, MV, and JTM.

Investigation: MJMG, PR, MQD, MMV, and IM.

Data analysis and interpretation: MJMG, SR, and IM.

Supervision and visualization: PR, SR, and IM.

Funding acquisition: SR.

Drafting the article: MJMG, SR, and IM.

Critical revision of the article: PR.

All authors have read and approved the final manuscript.

Authors' information

Not applicable.

References

1. Deeks SG: **HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging.** *Annu Rev Med* 2011, **62**:141-155.
2. Levy I, Rahav G: **The effect of HIV on COVID-19 vaccine responses.** *Curr Opin HIV AIDS* 2023, **18**(3):135-141.
3. Bertagnolio S, Thwin SS, Silva R, Nagarajan S, Jassat W, Fowler R, Haniffa R, Reveiz L, Ford N, Doherty M *et al*: **Clinical features of, and risk factors for, severe or fatal COVID-19 among people living with HIV admitted to hospital: analysis of data from the WHO Global Clinical Platform of COVID-19.** *Lancet HIV* 2022, **9**(7):e486-e495.
4. Kerneis S, Launay O, Turbelin C, Batteux F, Hanslik T, Boelle PY: **Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis.** *Clin Infect Dis* 2014, **58**(8):1130-1139.
5. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D: **Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein.** *Cell* 2020, **181**(2):281-292 e286.
6. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, Cornaby C, Bartelt L, Weiss S, Park Y *et al*: **The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients.** *Sci Immunol* 2020, **5**(48).
7. Farhadian N, Sharifi S, Taghadosi M, Farhadian M, Vaziri S: **Humoral immune response to two doses of COVID-19 mRNA-based vaccines in people living with HIV: A systematic review and meta-analysis.** *Rev Med Virol* 2023:e2451.
8. Snyman J, Hwa SH, Krause R, Muema D, Reddy T, Ganga Y, Karim F, Leslie A, Sigal A, Ndung'u T *et al*: **Similar Antibody Responses Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Individuals Living Without and With Human Immunodeficiency Virus on Antiretroviral Therapy During the First South African Infection Wave.** *Clin Infect Dis* 2022, **75**(1):e249-e256.
9. Noe S, Ochana N, Wiese C, Schabaz F, Von Krosigk A, Heldwein S, Rasshofer R, Wolf E, Jonsson-Oldenbuettel C: **Humoral response to SARS-CoV-2 vaccines in people living with HIV.** *Infection* 2022, **50**(3):617-623.
10. Mullender C, da Costa KAS, Alrubayyi A, Pett SL, Peppia D: **SARS-CoV-2 immunity and vaccine strategies in people with HIV.** *Oxf Open Immunol* 2022, **3**(1):iqac005.
11. Park JH, Chung H, Kim MC, Choi SH, Chung JW: **Immune Responses against the Omicron Variant of SARS-CoV-2 after a Third Dose of COVID-19 Vaccine in Patients Living with Human Immunodeficiency Virus (PLWH): Comparison with Healthcare Workers.** *Vaccines (Basel)* 2022, **10**(12).
12. Vergori A, Cozzi-Lepri A, Matusali G, Colavita F, Cicalini S, Galli P, Garbuglia AR, Fusto M, Puro V, Maggi F *et al*: **SARS-CoV-2 Omicron Variant Neutralization after Third Dose Vaccination in PLWH.** *Viruses* 2022, **14**(8).

13. World Health Organization: **Interim recommendations for use of the Moderna mRNA-1273 vaccine against COVID-19: interim guidance, 25 January 2021**. In. Geneva: World Health Organization; 2021.
14. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG: **Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support**. *Journal of biomedical informatics* 2009, **42**(2):377-381.
15. Tre-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Favresse J, Dogne JM, Douxfils J, Blairon L: **Analytical and clinical validation of an ELISA for specific SARS-CoV-2 IgG, IgA, and IgM antibodies**. *J Med Virol* 2021, **93**(2):803-811.
16. Martin-Vicente M, Carrasco I, Munoz-Gomez MJ, Lobo AH, Mas V, Vigil-Vazquez S, Vazquez M, Manzanares A, Cano O, Alonso R *et al*: **Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later**. *Birth* 2022.
17. Knudsen ML, Nielsen SD, Heftdal LD: **Immune responses to mRNA-based vaccines given as a third COVID-19 vaccine dose in people living with HIV-a literature review**. *APMIS* 2024, **132**(4):236-244.
18. Woldemeskel BA, Karaba AH, Garliss CC, Beck EJ, Wang KH, Laeyendecker O, Cox AL, Blankson JN: **The BNT162b2 mRNA Vaccine Elicits Robust Humoral and Cellular Immune Responses in People Living With Human Immunodeficiency Virus (HIV)**. *Clin Infect Dis* 2022, **74**(7):1268-1270.
19. Lombardi A, Butta GM, Donnici L, Bozzi G, Oggioni M, Bono P, Matera M, Consonni D, Ludovisi S, Muscatello A *et al*: **Anti-spike antibodies and neutralising antibody activity in people living with HIV vaccinated with COVID-19 mRNA-1273 vaccine: a prospective single-centre cohort study**. *Lancet Reg Health Eur* 2022, **13**:100287.
20. Verburgh ML, van Pul L, Grobben M, Boyd A, Wit F, van Nuenen AC, van Dort KA, Tejjani K, van Rijswijk J, Bakker M *et al*: **Robust Vaccine-Induced as Well as Hybrid B- and T-Cell Immunity across SARS-CoV-2 Vaccine Platforms in People with HIV**. *Microbiol Spectr* 2023, **11**(3):e0115523.
21. Spinelli MA, Peluso MJ, Lynch KL, Yun C, Glidden DV, Henrich TJ, Deeks SG, Gandhi M: **Differences in Post-mRNA Vaccination Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Immunoglobulin G (IgG) Concentrations and Surrogate Virus Neutralization Test Response by Human Immunodeficiency Virus (HIV) Status and Type of Vaccine: A Matched Case-Control Observational Study**. *Clin Infect Dis* 2022, **75**(1):e916-e919.
22. Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez MSA, Zheng C, Hossain MG: **Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines**. *J Med Virol* 2022, **94**(5):1825-1832.
23. Wei Z, He J, Wang C, Bao J, Leng T, Chen F: **The importance of booster vaccination in the context of Omicron wave**. *Front Immunol* 2022, **13**:977972.
24. Garcia-Beltran WF, St Denis KJ, Hoelzemer A, Lam EC, Nitido AD, Sheehan ML, Berrios C, Ofoman O, Chang CC, Hauser BM *et al*: **mRNA-based COVID-19 vaccine boosters**

induce neutralizing immunity against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell* 2022, 185(3):457-466.e454.

Tables and figures

Table 1. Characteristics of people with HIV infection at baseline.

Characteristics	Data
No.	19
Age (years)	41 (33; 5)
Sex (male)	15 (78.9%)
Previous SARS-CoV-2 Infection (+)	6 (31.6%)
HIV infection	
ART	19 (100.0%)
CD4⁺ count (cells/mm³)	232 (158; 278)
CD4⁺ count <200 cells/mm³	6 (31.6%)
HIV viral load >50 copies/mL	2 (10.5%)

Statistics: Values are expressed as the median (Q1; Q3) and absolute count (percentage).

Abbreviations: PWH, people with HIV; COVID-19, coronavirus disease 2019; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; ART, antiretroviral treatment; PWH, people with HIV; COVID-19, coronavirus disease 2019.

Table 2. Humoral response in PWH generated by COVID-19 vaccine stratified by SARS-CoV-2 variants.

	Baseline	After the second dose		After the booster dose	
	GMT (95%CI)	GMT (95%CI)	GMFR (95%CI)	GMT (95%CI)	GMFR (95%CI)
Wuhan (B.1)					
IgG antibody titers	0.7 (0.2; 2.6)	1866.5 (975.4; 3571.7)	30.4 (18.7; 49.6)	1134.9 (638.1; 2018.4)	5 (3.5; 7.1)
Inhibition ACE2-S titer	0.3 (0.1; 1.5)	1326.5 (159.6; 11027.6)	35.1 (14.7; 83.9)	3780.1 (1395.5; 10239.6)	7.6 (5.5; 10.5)
Omicron					
IgG antibody titers	0.3 (0.1; 0.8)	539.5 (262.3; 1109.6)	26 (18.4; 36.8)	597.3 (319.3; 1117.4)	5.3 (4.1; 6.7)
Inhibition ACE2-S titer	0.1 (0.1; 0.1)	28 (3; 264.8)	11.6 (5.2; 25.9)	234.3 (18.9; 2906.4)	5.4 (3.7; 8)

Statistics: Values are expressed as geometric mean fold rise (95% confidence interval). Data were calculated using generalized linear mixed models adjusted (GLMM, see Statistical analysis section). **Abbreviations:** GMT, geometric mean titer; GMFR, geometric mean fold rise from baseline, 95% CI, 95% confidence interval; IgG, immunoglobulin G; ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; S, Spike glycoprotein

Figure 1. Comparison of humoral response to COVID-19 vaccine (anti-SARS-CoV-2 S IgG and inhibition of ACE2-S interaction) between SARS-CoV-2 variants in study groups after the second (A) and booster dose (B) of the COVID-19 vaccine.

Statistics: The graph shows the geometric means and 95% confidence intervals in gray lines. P-values were calculated using generalized linear mixed models. Significant differences are shown in bold.

Abbreviations: HC, healthy controls; PWH, people with HIV; Log₁₀, base-10 logarithm; AUC, the area under the Curve; IgG, immunoglobulin G.

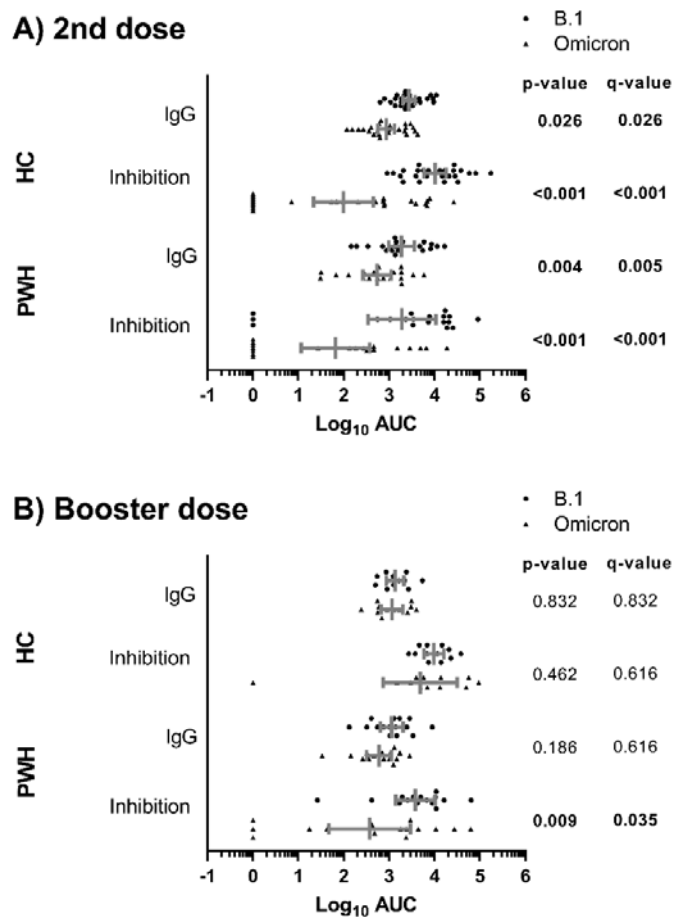
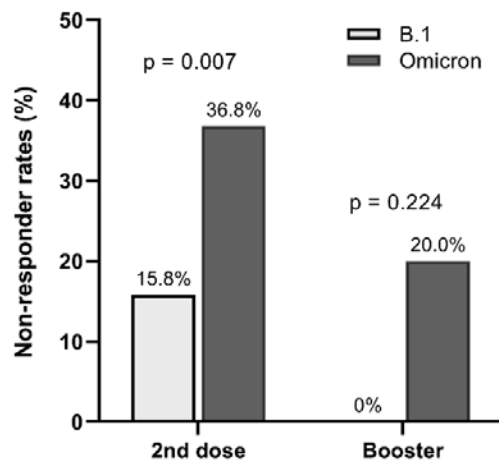


Figure 2. Rates of PWH non-responders in the inhibition of the ACE2-S interaction (AUC = 0), according to SARS-CoV-2 variants, after the second dose and the booster dose of the COVID-19 vaccine.

Statistics: P-values were calculated using the Chi-square test.



4.3. Población 3: Pacientes oncológicos

4.3.1. Artículo 5 (205): Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 vaccination during the Omicron wave: a prospective study

Introducción: Los pacientes con cáncer a menudo tienen el sistema inmune debilitado, lo que puede resultar en una respuesta reducida a las vacunas, especialmente en aquellos que reciben tratamiento oncológico inmunosupresor (TO-IS).

Objetivos: Evaluar el impacto del TO-IS en la respuesta inmune humoral y celular (células T) frente al linaje B.1 y la variante Ómicron del SARS-CoV-2, tras la vacunación contra la COVID-19 en pacientes con neoplasias sólidas y hematológicas.

Métodos: Estudio prospectivo en pacientes oncológicos, divididos en grupos con y sin TO-IS, que recibieron una serie de dos dosis de la vacuna mRNA-1273 de Moderna y un refuerzo seis meses después. Se evaluó la respuesta humoral (títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S y su capacidad de inhibir la interacción S-ACE2) y celular (focos de células T específicas de SARS-CoV-2 S por millón de CMSP) contra el linaje B.1 y la variante Ómicron.

Resultados: La respuesta humoral después de la segunda dosis de la vacuna contra el linaje B-1 y la variante Ómicron fue significativamente más baja en el grupo con TO-IS en comparación con el grupo sin TO-IS ($q < 0,05$). No obstante, una dosis de refuerzo mejoró significativamente la respuesta humoral en el grupo con TO-IS, alcanzando niveles similares al grupo sin TO-IS. La vacuna mRNA-1273, diseñada para la cepa original de Wuhan, generó una respuesta humoral más débil contra Ómicron en comparación con el linaje B.1, independientemente del tratamiento oncológico o la dosis de vacuna ($q < 0,05$). La respuesta celular, incluyendo la variante Ómicron, ya fue fuerte tras la segunda dosis de vacuna y no se vio significativamente afectada por los tratamientos oncológicos.

Conclusiones: Se necesitaron tres dosis de vacuna para elevar la respuesta inmune humoral del grupo con TO-IS a niveles similares al grupo sin TO-IS. Sin embargo, esta respuesta siguió siendo menor frente a Ómicron que frente a B.1 en ambos grupos, aunque mejoró con la dosis de refuerzo. No obstante, la respuesta inmune celular fue similar entre los grupos después de la segunda dosis de la vacuna contra la COVID-19.

Art. 5 (205): María José Muñoz-Gómez, Pablo Ryan, Marta Quero-Delgado, María Martin-Vicente, Guillermo Cuevas, Jorge Valencia, Eva Jiménez, Natalia Blanca-López, Miguel Ángel Lara-Álvarez, José Ángel Hernández-Rivas, Gerardo Redondo, Vicente Mas, Daniel Sepúlveda Crespo, Mónica Vázquez, Juan Torres-Macho, Isidoro Martínez, Salvador Resino. *Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 during the Omicron wave: a prospective study. Journal of Infection and Public Health 2024; 17(7).*

<u>Indicadores de calidad</u>
ISSN: 1876-0341 Editorial: Elsevier Índice de impacto: 6,7 Fuente de impacto: WOS (JCR) Categoría: INFECTIOUS DISEASES Rango: 19/129 Cuartil: Primero



Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 vaccination during the Omicron wave: a prospective study

María José Muñoz-Gómez ^{a,1}, Pablo Ryan ^{b,c,d,e,1}, Marta Quero-Delgado ^{a,1},
 María Martín-Vicente ^a, Guillermo Cuevas ^c, Jorge Valencia ^{b,c}, Eva Jiménez ^{c,d},
 Natalia Blanca-López ^c, Miguel Ángel Lara-Álvarez ^{c,d}, José Ángel Hernández-Rivas ^{c,d},
 Gerardo Redondo ^c, Vicente Mas ^f, Daniel Sepúlveda-Crespo ^{a,b}, Mónica Vázquez ^f,
 Juan Torres-Macho ^{c,d}, Isidoro Martínez ^{a,b,*,2}, Salvador Resino ^{a,b,*,2}

^a Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain

^b Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

^c Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, Spain

^d Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

^e Instituto de Investigaciones Sanitarias Gregorio Marañón (IISGM), Madrid, Spain

^f Unidad de Biología Viral, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 January 2024

Received in revised form 22 May 2024

Accepted 3 June 2024

Keywords:

SARS-CoV-2

COVID-19 vaccine

Immune response

B.1 lineage

Omicron variant

ABSTRACT

Background: Cancer patients often have weakened immune systems, resulting in a lower response to vaccines, especially those receiving immunosuppressive oncological treatment (OT). We aimed to assess the impact of OT on the humoral and T-cell response to the B.1 lineage and Omicron variant following COVID-19 vaccination in patients with solid and hematological neoplasms.

Methods: We conducted a prospective study on cancer patients, stratified into OT and non-OT groups, who received a two-dose series of the COVID-19 mRNA vaccine and a booster six months later. The outcomes measured were the humoral (anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2-S interaction inhibition capacity) and cellular (SARS-CoV-2 S-specific T-cell spots per million PBMCs) responses against the B.1 lineage and Omicron variant. These responses were evaluated four weeks after the second dose (n = 98) and eight weeks after the booster dose (n = 71).

Results: The humoral response after the second vaccine dose against the B.1 lineage and Omicron variant was significantly weaker in the OT group compared to the non-OT group (q-value < 0.05). A booster dose of the mRNA-1273 vaccine significantly improved the humoral response in the OT group, making it comparable to the non-OT group. The mRNA-1273 vaccine, designed for the original Wuhan strain, elicited a weaker humoral response against the Omicron variant compared to the B.1 lineage, regardless of oncological treatment or vaccine dose. In contrast, T-cell responses against SARS-CoV-2, including the Omicron variant, were already present after the second vaccine dose and were not significantly affected by oncological treatments.

Conclusions: Cancer patients, particularly those receiving immunosuppressive oncological treatments, should require booster doses and adapted COVID-19 vaccines for new SARS-CoV-2 variants like Omicron.

Abbreviations: COVID-19, Coronavirus Disease 2019; SARS-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2; S, Spike glycoprotein; HUIL, Hospital Universitario Infanta Leonor; PBMC, Peripheral blood mononuclear cell; ELISA, Enzyme-linked immunosorbent assay; IgG, Immunoglobulin G; IgM, Immunoglobulin M; IgA, Immunoglobulin A; N, Nucleocapsid protein; AUC, Area under the curve; ACE2, Angiotensin-converting enzyme 2; IL-2, Interleukin 2; IFN- γ , Interferon-gamma; mAb, Monoclonal antibody; OT, Oncological treatment; OR, Odds ratio; 95 % CI, 95 % confidence interval; GLMM, Generalized Linear Mixed Models; GMR, Geometric mean ratio; GMFR, Geometric mean fold rise

* Corresponding authors at: Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain.

E-mail addresses: munozgomez.mjose@gmail.com (M.J. Muñoz-Gómez), pablo.ryan@salud.madrid.org (P. Ryan), querodelgadomarta@gmail.com (M. Quero-Delgado), maria.mvicente92@gmail.com (M. Martín-Vicente), guillermocuevastascn@gmail.com (G. Cuevas), jorge_vlr@yahoo.es (J. Valencia), ejgonzalezbuitrago@salud.madrid.org (E. Jiménez), Natalia.blanca@gmail.com (N. Blanca-López), Mangel.lara@salud.madrid.org (M.Á. Lara-Álvarez), jahernandezr@salud.madrid.org (J.Á. Hernández-Rivas), gerardoredondo383@hotmail.com (G. Redondo), vmas@isciii.es (V. Mas), daniel.sepulveda@isciii.es (D. Sepúlveda-Crespo), mvazquez@isciii.es (M. Vázquez), juan.torresm@salud.madrid.org (J. Torres-Macho), imago@isciii.es (I. Martínez), sresino@isciii.es (S. Resino).

¹ M.J.M.G., P.R., and M.Q.D contributed equally to this study

² I.M and S.R. contributed equally to this study

<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102473>

1876-0341/© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Ltd on behalf of King Saud Bin Abdulaziz University for Health Sciences. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Future studies should evaluate the durability of the immune response and the efficacy of individualized regimens.

© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Ltd on behalf of King Saud Bin Abdulaziz University for Health Sciences. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Since the emergence of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in December 2019 in Wuhan, China, the disease caused by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) rapidly became a global pandemic, constituting a significant public health threat [1,2]. As of May 2024, SARS-CoV-2 has caused over 775 million infections and nearly seven million deaths worldwide [3].

SARS-CoV-2 mainly targets the respiratory system but also affects the cardiovascular, central nervous, and gastrointestinal systems [4]. The infection causes significant changes in the gut and airway microbiota, influencing disease progression and outcome [5]. Elderly patients and those with comorbidities, impaired organ function, and preexisting polypharmacy tend to experience more severe COVID-19 complications [5].

The mRNA vaccines, including mRNA-1273 (Moderna), prevent symptomatic COVID-19 infections in the general population. They elicit robust humoral immune responses by activating B cells, leading to the production of specific neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 "spike" or S glycoprotein [6]. These vaccines also induce antigen-specific T cells, contributing to long-term protective immunity [7]. However, SARS-CoV-2 continually evolves, with new variants emerging that carry mutations in the spike protein, a crucial component of the COVID-19 vaccines, reducing their effectiveness [8]. The Omicron variant is particularly concerning due to its numerous mutations, high transmissibility, and ability to evade immunity [9]. Omicron's increased transmissibility has made it the dominant variant worldwide [10].

Approximately 75 % of hospitalized COVID-19 patients have at least one comorbidity, such as hypertension, neurological disorders, diabetes, endothelial dysfunction, cardiovascular diseases, or cancer [11]. Cancer patients often have weakened immune systems due to the disease or its treatments. This significantly impacts the body's ability to respond effectively to infections or vaccinations. Evidence indicates that cancer patients are more susceptible to viral infections, including COVID-19, and face higher risks of severe complications and mortality compared to the general population [12–15]. Clinical factors like age or specific oncological therapies are linked to worse outcomes in cancer patients with COVID-19 [14,16,17]. Consequently, immunocompromised cancer patients were prioritized for receiving COVID-19 vaccines. However, cancer patients were initially excluded from COVID-19 vaccine clinical trials, leading to low vaccination rates in this group [18,19]. Therefore, data on the immune response to the COVID-19 vaccine in cancer patients are more limited than in the general population.

COVID-19 vaccines can induce an immune response in cancer patients. However, this response is often lower in patients with hematological and solid malignancies, resulting in higher rates of low or absent serological responses than in the general population, especially in those receiving immunosuppressive oncological treatment [20–22]. Therefore, it is necessary to gather comprehensive information to establish vaccination guidelines for cancer patients due to the impact of oncological treatments on the immune response [18,19]. Furthermore, with the emergence of variants like Omicron, which exhibits heightened immune evasion, it is crucial to gather information on the efficacy of COVID-19 vaccines in vulnerable groups [23].

Objective

This study assessed how oncological treatments with immunosuppressive effects impact humoral and T-cell responses to the B.1 lineage and Omicron variant after COVID-19 vaccination in a cohort of patients with solid and hematological neoplasms.

Materials and methods

Study design

We conducted a prospective study on oncology patients who received their first COVID-19 vaccination between February 2021 and January 2022 at the Hospital Universitario Infanta Leonor (HUIL) in Madrid, Spain. The vaccination regimen included two doses of mRNA-1273 (Moderna) administered 28 days apart and a booster dose 6 months later, following international guidelines [24]. Inclusion criteria included: (i) cancer patients over 18 years old; (ii) life expectancy of over 6 months; (iii) confirmed diagnosis of solid or hematological cancer. We collected biological samples from cancer patients to evaluate their immune response to the COVID-19 vaccine about four weeks after the second dose (N = 98) and eight weeks after the booster dose (N = 71).

The HUIL Ethics Committee authorized the study (Ref.: 030-21). The research adhered to the Declaration of Helsinki. All participants gave informed consent before enrollment.

Clinical samples

A peripheral blood sample was collected via venous puncture using ethylene diamine tetra-acetic acid tubes. Samples were taken at three points: baseline (first COVID-19 vaccine dose), about four weeks after the second dose, and eight weeks after the booster dose. Plasma and peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated using a Ficoll gradient. PBMCs were stored in liquid nitrogen, and plasma samples were stored at -80°C .

Clinical data

Patient characteristics were collected from the hospital's electronic medical records and stored using the Research Electronic Data Capture system (REDCap, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA). Cancer diagnosis and oncological treatments followed international guidelines [25].

Test for SARS-CoV-2 infection

We determined the presence of SARS-CoV-2 antibodies in plasma samples both before vaccination and after receiving the second and booster doses of the vaccine. The detection method used was a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Platelia SARS-CoV-2 Total Ab, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, California, USA). This ELISA test identified IgG, IgA, and IgM antibodies against the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (N). The optical density ratio ≥ 1.0 of the test sample to the control sample provided in the kit was considered positive. This cut-off point was chosen based on the test's sensitivity and specificity, which are 94.7 % and 97.5 %, respectively [26].

Immunoassays for COVID-19 vaccine humoral response

A detailed description of the materials and protocols for antibody quantification is provided in Martin-Vicente et al. [27]. Briefly, Dr. Jason McLellan (University of Texas at Austin-USA) kindly provided the plasmid pH encoding the S protein ectodomain (residues 1–1208) of SARS-CoV-2 2019-nCoV (GenBank: [MN908947](#)) stabilized in the prefusion conformation [28]. Mutagenesis was used to create a HexaPro construct that produces a high yield of the stabilized prefusion spike protein [29]. The ectodomain was modified with the following substitutions: glycine at residue 614 (D614G), a "GSAS" substitution at the furin cleavage site (residues 682–685), and proline at residues 817, 892, 899, 942, 986, and 987. This protein is referred to as B.1 throughout the text. The SARS-CoV-2 S Omicron (B.1.1.529) HexaPro construct contains the natural cleavage site "RRAR" (residues 682–685) and the following Omicron-specific mutations: A67V, Δ69–70, T95I, G142D/Δ143–145, Δ211/L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, and L981F. A plasmid containing the ACE2 SARS-CoV-2 cell receptor (residues 1–165) was also constructed and linked to a StrepTag.

Antibody titers to the S protein were measured in ELISA assays by incubating serial 1:3 dilutions of serum samples, starting at 1:50 and ending at 1:36450, with 0.2 μg of the S protein ectodomain. One-phase exponential decay, least-squares fit curves, and the area under the curve (AUC) were calculated using GraphPad Prism 9.0.

Antibody inhibition of the ACE2-S protein interaction was tested by ELISA. Serum samples were diluted serially (1:2 dilutions) from 1:10 to 1:320. These dilutions were incubated with the S protein, followed by the addition of ACE2 complexed with StrepTactin-peroxidase [27]. A pool of sera collected in 2016 from individuals negative for anti-S antibodies served as a control. After subtracting the background, the percentage of inhibition was calculated as $[1 - (\text{OD}_{493} \text{ test serum} / \text{OD}_{493} \text{ control serum})] \times 100 \%$.

Immunoassays for COVID-19 vaccine cellular response

The FluoroSpot Plus Human IFN-γ/IL-2 Kit (Mabtech Inc., Cincinnati, Ohio, USA) was used to detect interleukin 2 (IL-2) and interferon-gamma (IFN-γ) secretion in T-cells. PBMC samples were stimulated with protein S peptides and an anti-CD28 monoclonal antibody (mAb) as co-stimulus. As a positive control, PBMC samples were stimulated with anti-CD3 mAb and anti-CD28 mAb. As a negative control, PBMC samples were incubated only with anti-CD28 mAb. For specific stimulation, two distinct peptide pools were employed. The first pool contained 166 peptides covering the S1 domain of the spike protein from the ancestral (Wuhan) strain of SARS-CoV-2 (Mabtech Inc., Cincinnati, Ohio, USA). The second pool contained 168 peptides from the S1 domain of the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant, lineage BA.1, with the following mutations: A67V, Δ69–70, T95I, G142D, Δ143–145, Δ211, L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H (Mabtech Inc., Cincinnati, Ohio, USA).

Briefly, 96-well microplates pre-coated with monoclonal capture antibodies against IFN-γ and IL-2 were used. The base medium was RPMI with penicillin/streptomycin, L-glutamine, fetal bovine serum, non-essential amino acids, and anti-CD28 mAb (1 μg/ml). For the negative control, 20 μl of this base medium was added per well. Additionally, 20 μl of the base medium was added to wells with anti-CD3 mAb (0.2 μg/ml, positive control) or peptide pools (final concentration of 0.2 μg/ml for each peptide), diluted in the base medium. Then, 300,000 PBMCs were added per well in 80 μl of the base medium, and the plates were incubated at 37 °C and 5 % CO₂ for 18 h.

After the incubation, the plates were washed with sterile phosphate-buffered saline with Ca²⁺ and Mg²⁺. Biotin-conjugated antibodies against IL-2 and BAM-labeled antibodies against IFN-γ were added. Following a two-hour incubation and subsequent washing, Cy3-conjugated streptavidin and FITC-conjugated anti-BAM were added for another hour. After further washing, a fluorescence enhancer was applied for 5 min.

The plates were dried, and readings were taken using an AID iSpot ELISpot FluoroSpot Reader (AID GmbH, Strassberg, Germany) with two specific filters. The calculations were done by subtracting the number of spots in the negative control wells, and the results were expressed as the number of spots per million PBMCs.

Main factors and outcomes

This study examined the immune response of cancer patients to the COVID-19 vaccine, stratifying them based on whether they received concurrent or recent oncological treatment (OT) with immunosuppressive effects. The study compared the OT group to the non-OT group. At the second dose of the COVID-19 vaccine (n = 98), the OT group had 61 patients (38 chemotherapy, 11 radiotherapy, 11 immunotherapy, 18 targeted therapy, and 1 other oncological treatment). The non-OT group had 37 patients (23 never received oncological treatments, and 14 completed the oncological treatments 6 months before vaccination). At the booster dose, only 71 individuals were analyzed, as 27 patients were lost to follow-up. The OT group had 51 patients (23 chemotherapy, 6 radiotherapy, 10 immunotherapy, 14 targeted therapy, and 2 other oncological treatments). The non-OT group had 20 patients (13 never received oncological treatment, and 7 completed the oncological treatments 6 months before vaccination).

The primary outcome was the humoral response to the COVID-19 vaccine (anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2-S interaction inhibition capacity) against the B.1 lineage and Omicron variant after the second and booster doses. The secondary outcome was the cellular response (SARS-CoV-2 S-specific T-cell spots per million PBMCs) against the B.1 lineage and Omicron variant after the second dose.

Statistical analysis

IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk, NY, USA) and Stata 15.0 (StataCorp, Texas, USA) were used for statistical analysis. GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) was used to generate figures. Significance was set at $p < 0.05$ (two-tailed).

Descriptive analysis included absolute counts (percentages) and median (P25th; P75th). The Chi-squared test compared categorical variables, and the Mann-Whitney U test compared continuous variables.

COVID-19 vaccine immune response data were log₁₀-transformed. The impact of oncological treatment with immunosuppressive effect on the COVID-19 vaccine immune response (OT vs. non-OT groups) was evaluated using logistic regressions. These regressions were adjusted for clinical variables (age, sex, previous SARS-CoV-2 infection, tumor type (solid or hematological), and COVID-19 vaccination timing) selected by a stepwise forward selection method (pin < 0.15 and pout < 0.20). This test provided the odds ratio (OR) and the 95 % confidence interval (95 %CI). Differences between dependent measures in the COVID-19 vaccine immune response were also evaluated using generalized linear mixed models (GLMM), a repeated measures test where each patient serves as their control. This test provided the geometric mean ratio (GMR) for differences between the Omicron variant and the B.1 lineage and the geometric mean fold rise (GMFR) for the differences between post-

and pre-vaccination, along with their 95%CI. P-values were adjusted by the False Discovery Rate (q-value).

Results

Patient characteristics

At the second dose of the COVID-19 vaccine (n = 98, Table 1), the median age was 60. Among participants, 41.8 % were male, and 24.5 % had a previous SARS-CoV-2 infection. In addition, 45.9 % had solid neoplasms, with breast cancer being the most common (40 %). Meanwhile, 54.1 % had hematological neoplasms, with lymphoproliferative neoplasia being the most frequent (34 %). Participant characteristics at the booster dose (n = 71) were similar to those at the second dose (Supplementary Table (ST) 1).

Patients were stratified by the primary outcome variable (OT or non-OT) and the timing of vaccine response assessment (after the second dose or booster dose). We found 37 patients in the non-OT group and 61 patients in the OT group after the second dose (Table 1). After the booster dose, there were 20 patients in the non-OT group and 51 in the OT group (ST1). The OT group had lower lymphocyte counts and fewer hematological neoplasms than the non-OT group, both after the second dose and after the booster dose (Table 1 & ST1).

Additionally, eight patients in the non-OT group and 16 in the OT group tested positive for SARS-CoV-2 infection after the second dose (Table 1). After the booster dose, three patients in the non-OT group and 14 in the OT group tested positive (ST1). However, there were no statistically significant differences in infection rates between the groups (Table 1 & ST1).

Table 1
Characteristics of the patients at the second dose of COVID-19 vaccine.

	All	Oncological treatment (OT)		p
		Non-OT group	OT group	
No.	98	37	61	
Sex (male), N (%)	41 (41.8)	16 (43.2)	25 (41)	0.826
Age (years). median (IQR)	60 (52 - 66)	61 (52 - 66)	60 (51 - 66)	0.814
Spanish. N (%)	83 (84.7)	32 (86.5)	51 (83.6)	0.701
Comorbidities. N (%)				
Hypertension	28 (28.6)	6 (16.2)	22 (36.1)	0.035
Dyslipidemia	21 (21.4)	6 (16.2)	15 (24.6)	0.327
Diabetes	16 (16.3)	7 (18.9)	9 (14.8)	0.589
Obesity	12 (12.2)	2 (5.4)	10 (16.4)	0.108
Smoker	23 (23.5)	9 (24.3)	14 (23)	0.876
HPSCT. N (%)	5 (9.4)	3 (11.1)	2 (7.7)	0.670
SARS-CoV-2 Infection. N (%)	24 (24.5)	8 (21.6)	16 (26.2)	0.607
Lymphocytes (10 ³ /l). median (IQR)	1.7 (1.1 - 2.3)	1.85 (1.4 - 2.95)	1.5 (1.1 - 1.9)	0.006
Solid neoplasms. N (%)	45 (45.9)	10 (27)	35 (57.4)	0.003
Lung	5 (11.1)	1 (10)	4 (11.4)	0.657
Breast	18 (40)	4 (40)	14 (40)	0.714
Prostate	1 (2.2)	1 (10)	0 (0)	0.499
Colorectal	7 (15.6)	1 (10)	6 (17.1)	0.956
Stomach	2 (4.4)	0 (0)	2 (5.7)	0.923
Esophagus	3 (6.7)	0 (0)	3 (8.6)	0.811
Pancreas	1 (2.2)	0 (0)	1 (2.9)	0.499
Uterus	1 (2.2)	0 (0)	1 (2.9)	0.499
Head and neck	1 (2.2)	1 (10)	0 (0)	0.499
Bladder	2 (4.4)	1 (10)	1 (2.9)	0.923
Others	4 (8.9)	1 (10)	3 (8.6)	0.624
Hematologic neoplasms. N (%)	53 (54.1)	27 (73)	26 (42.6)	0.003
Acute Lymphocytic Leukemia	1 (1.9)	0 (0)	1 (3.8)	0.999
Chronic Lymphocytic Leukemia	7 (13.2)	5 (18.5)	2 (7.7)	0.448
Multiple Myeloma and Gammopathy	4 (7.5)	1 (3.7)	3 (11.5)	0.576
Myelodysplastic syndrome	4 (7.5)	3 (11.1)	1 (3.8)	0.603
Lymphoproliferative neoplasm	18 (34)	12 (44.4)	6 (23.1)	0.101
Myeloproliferative neoplasm	13 (24.5)	5 (18.5)	8 (30.8)	0.302
Chronic Myeloid Leukemia	6 (11.3)	1 (3.7)	5 (19.2)	0.177

Statistics: Values are expressed as the median (P25; P75) and absolute count (percentage). P-values were calculated using the Chi-square test for categorical variables and the Mann-Whitney U-test for continuous variables.

Abbreviations: COVID-19, coronavirus disease 2019; HPSCT, Hematopoietic stem cell transplant; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Humoral immune response to the COVID-19 vaccine

Table 2 shows the GMFR in humoral response, measured by IgG antibody levels against SARS-CoV-2 S protein and ACE2-S inhibition titers, after the second and booster doses of the COVID-19 vaccine. Notably, the GMFR values were higher after the second dose compared to the booster dose.

Impact of oncological treatment with immunosuppressive effect

After the second dose of the COVID-19 vaccine, the OT group exhibited lower humoral response (measured by anti-SARS-CoV-2 S IgG titers and ACE2-S interaction inhibition capacity) against the B.1 lineage and Omicron variant compared to the non-OT group (q-value < 0.05; Fig. 1A; full description in ST2). However, after the booster dose, the humoral response against both the B.1 lineage and the Omicron variant was similar between OT and non-OT groups (Fig. 1B; full description in ST2). Therefore, the booster dose improved the humoral response in the OT group to levels comparable to the non-OT group.

Response against the Omicron variant

The humoral response, characterized by anti-SARS-CoV-2 S IgG levels and ACE2-S interaction inhibition, was consistently lower against the Omicron variant compared to the B.1 lineage after both the second and booster COVID-19 vaccine doses in OT and non-OT groups (q-value < 0.05; Fig. 2; full description in ST3). Notably, the rate of non-responders (AUC = 0) for ACE2-S interaction inhibition against Omicron was significantly higher than against B.1 after the

Table 2
Summary of geometric mean fold rises from baseline stratified by the oncological treatment with immunosuppressive effect during follow-up.

	After the second dose GMFR (95 %CI)	After the booster dose GMFR (95 %CI)
All patients		
Wuhan (B.1)		
IgG antibody titers	39.4 (29.4; 52.7)	5.9 (5; 7)
Inhibition ACE2-S titer	34.6 (22.5; 53.2)	8.1 (6.7; 9.9)
Omicron		
IgG antibody titers	27.2 (21.2; 34.9)	5.7 (5; 6.6)
Inhibition ACE2-S titer	7.1 (4.8; 10.6)	6 (4.9; 7.4)
Non-OT group		
Wuhan (B.1)		
IgG antibody titers	54.3 (35.1; 84.1)	7.1 (5.4; 9.3)
Inhibition ACE2-S titer	75.3 (45.6; 124.3)	10.1 (7.9; 12.9)
Omicron		
IgG antibody titers	39.6 (28.2; 55.6)	6.9 (5.5; 8.5)
Inhibition ACE2-S titer	15.1 (8; 28.4)	6.4 (4.5; 9.1)
OT group		
Wuhan (B.1)		
IgG antibody titers	32.4 (22.2; 47.1)	5.5 (4.5; 6.8)
Inhibition ACE2-S titer	21.5 (12; 38.6)	7.9 (6.2; 9.9)
Omicron		
IgG antibody titers	21.7 (15.7; 30.2)	5.3 (4.4; 6.3)
Inhibition ACE2-S titer	4.5 (2.8; 7.3)	5.9 (4.6; 7.6)

Statistics: Values are expressed as median (95 % confidence interval). Data were calculated using generalized linear mixed models adjusted (GLMM, see Statistical analysis section). **Abbreviations:** GMFR, geometric mean fold rise (GMFR) from baseline, 95 % CI, 95 % confidence interval; OT, oncological treatment; Area under the Curve; IgG, immunoglobulin G; ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; S, Spike glycoprotein.

second dose in both groups (q-value <0.05; [Supplementary Fig. 1](#)). However, these differences were not statistically significant after the booster dose. Therefore, the COVID-19 vaccine elicited a weaker humoral response against Omicron than B.1, regardless of oncological treatment. However, this response improved after the booster dose.

T-cell immune response to the COVID-19 vaccine

The T-cell response to the B.1 lineage and Omicron variant was similar between the OT and non-OT groups after the second COVID-19 vaccine dose ([Fig. 3A](#); full description in [ST4](#)). Additionally, the T-cell response to the Omicron variant was similar to that of the B.1 lineage in both groups ([Fig. 3B](#); full description in [ST5](#)). Therefore, after the second vaccine dose, the T-cell response reached comparable levels in both OT and non-OT groups for both the B.1 lineage and the Omicron variant.

Discussion

Cancer patients have an elevated risk of SARS-CoV-2 infection and related complications due to systemic immunodeficiency, primarily induced by oncological therapy [[30](#)]. This study investigated the immune response after COVID-19 vaccination in cancer patients, with or without immunosuppressive oncological treatments, who received the monovalent Moderna mRNA-1273 vaccine based on the Wuhan-Hu-1 strain. The main findings were: i) The humoral immune response, after the second vaccine dose, against the B.1 lineage and Omicron variant was significantly weaker in cancer patients undergoing oncological treatment (OT group) compared to those not receiving treatment (non-OT group). ii) A booster dose of the mRNA-1273 vaccine significantly improved the humoral immune response in the OT group, bringing it to a level comparable to the non-OT group. iii) The mRNA-1273 vaccine, designed for the original Wuhan strain, elicited a weaker humoral response against the Omicron variant compared to the B.1 lineage, regardless of oncological treatment or vaccine dose. iv) In contrast, T-cell responses against SARS-CoV-2, including the Omicron variant, were already present after the second vaccine dose and were not significantly affected by oncological treatments. Overall, our data offers valuable insights into the immune response of cancer patients to COVID-19 vaccination. It

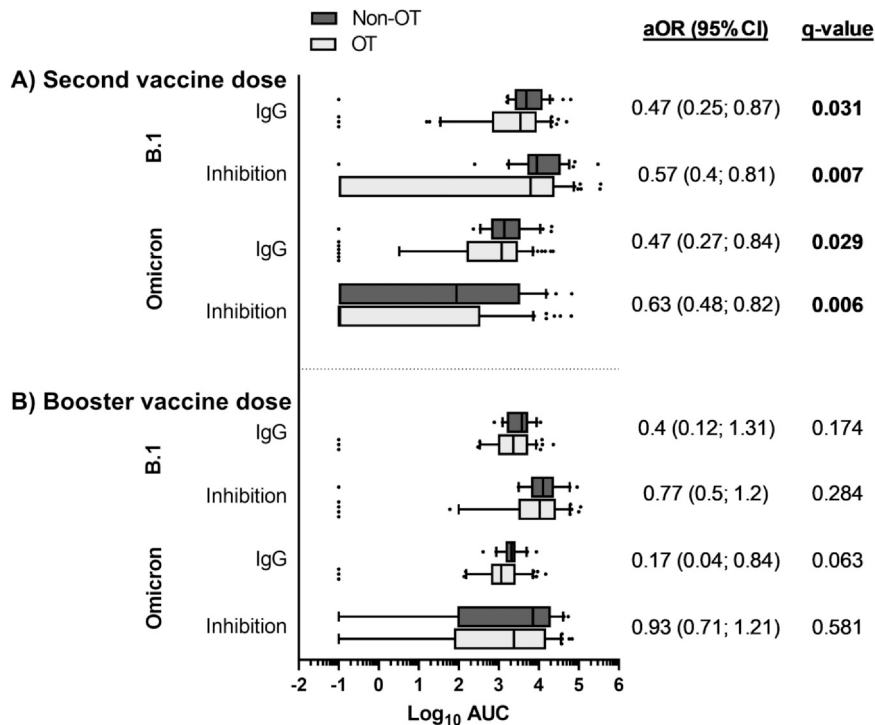


Fig. 1. Plasma IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 S protein and ACE2-S inhibition titers, stratified by oncological treatment and SARS-CoV-2 variants, weeks after the administration of the second (A) and booster dose (B) of the COVID-19 vaccine. **Statistics:** Data were calculated by logistic regression analysis adjusted for the most relevant clinical and epidemiological characteristics. Significant differences are shown in bold. **Abbreviations:** aOR, adjusted odds ratio; 95 % CI, 95 % confidence interval; AUC, the area under the Curve; IgG, immunoglobulin G.

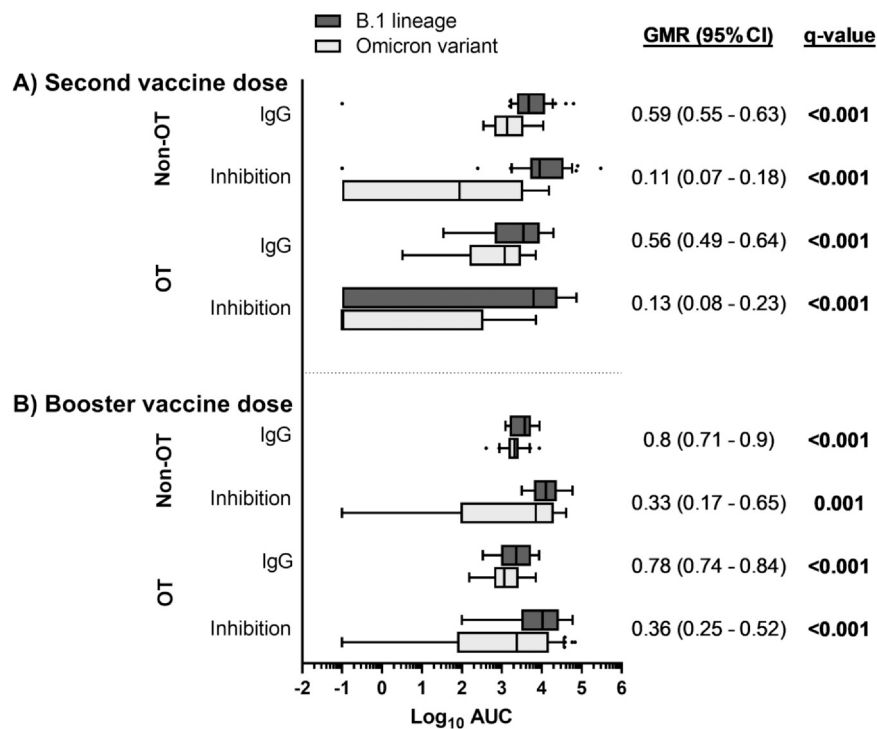


Fig. 2. Plasma IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 S protein and ACE2-S inhibition titers, stratified by SARS-CoV-2 variants and oncological treatment, several weeks after the administration of the second (A) and booster dose (B) of the COVID-19 vaccine. **Statistics:** Data were calculated using generalized linear mixed models. Significant differences are shown in bold. **Abbreviations:** GMR, geometric mean ratio; 95% CI, 95% confidence interval; AUC, the area under the Curve; IgG, immunoglobulin G.

highlights the need for personalized vaccination approaches and the potential benefits of booster doses in enhancing humoral immunity, especially against challenging variants like Omicron.

An important finding is the improved humoral immune response after the booster vaccine dose in the OT group, aligning it with the non-OT group. Our findings are consistent with prior studies that reported a reduced humoral response in patients undergoing oncological treatment after two doses of the COVID-19 vaccine [22,31–34]. This response improves with a booster dose [35–41] and lasts at least 6 months [41]. Therefore, for cancer patients on immunosuppressive oncological treatment, a booster dose is crucial for adequate immunization. These findings suggest the need to revise vaccination strategies to include additional doses for this vulnerable population.

Oncological treatments with an immunosuppressive effect alter the intestinal microbiota, causing dysbiosis and modifying the immune response [42]. This has been linked to the modulation of the immune response against SARS-CoV-2 [43]. Gut-lung axis dysbiosis worsens COVID-19 symptoms, increases systemic inflammation, and causes greater tissue damage, leading to long-term complications and death [5]. However, this dysbiosis and the translocation of bacterial components (lipopolysaccharides, flagellin, peptidoglycan, and short-chain fatty acids) appear to enhance COVID-19 vaccine efficacy by improving the production of antibodies by plasma B cells [43]. Although we lack data on bacterial translocation in the analyzed patients, we should not rule out the possible impact of cancer treatments on gut microbiota and humoral response to the COVID-19 vaccine, which recovered after the booster dose.

Both OT and non-OT groups showed weaker responses against the Omicron variant compared to the B.1 lineage after the second and booster vaccine doses. Monovalent vaccines, based on the Wuhan strain, are less effective against Omicron in both the general population and cancer patients [44,45]. This is due to many amino acid changes in Omicron's S protein, which helps it evade the humoral response and reduces vaccine protection [44]. Previous data

highlighted the need for booster doses to achieve adequate neutralizing antibody levels against Omicron [46]. Our findings support this, showing no significant differences in non-responder rates for the ACE2-S interaction inhibition between the B.1 lineage and Omicron after the booster dose in both the OT and non-OT groups. However, the bivalent COVID-19 vaccine, introduced after our study's enrollment period had closed, has shown improved neutralization against Omicron sub-variants [47]. This underscores the importance of monitoring variants and developing adapted vaccines to control SARS-CoV-2 effectively.

The cellular immune response may play a crucial role in preventing severe COVID-19 [48]. Previous reports show that vaccinated individuals generate T-cell responses against epitopes conserved across many variants [49]. In our study, the antigen-specific T-cell responses after the second dose of the COVID-19 vaccine showed no significant differences between the OT and non-OT groups. These results align with previous studies indicating that systemic oncological therapy impairs antibody responses but does not significantly affect cellular responses [40,50]. Despite this T-cell response, patients undergoing cancer treatment have higher morbidity and mortality than the general population [18]. Our results also showed a T-cell response against the Omicron variant similar in magnitude to the response against the Wuhan lineage. This underscores the significant benefits of vaccination, particularly for patients with compromised humoral immunity.

Our article uniquely combines a comparative analysis of oncological treatment effects, an evaluation of variant-specific immune responses, and the impact of multiple vaccine doses. Overall, the study significantly enhances the understanding of COVID-19 vaccine efficacy in cancer patients and informs future vaccination strategies to ensure adequate protection for this high-risk group.

Promoting vaccination is crucial for oncology patients with compromised immune systems [18]. Our findings, along with other studies, underscore the need for personalized vaccination strategies for those undergoing oncological treatments. These strategies should

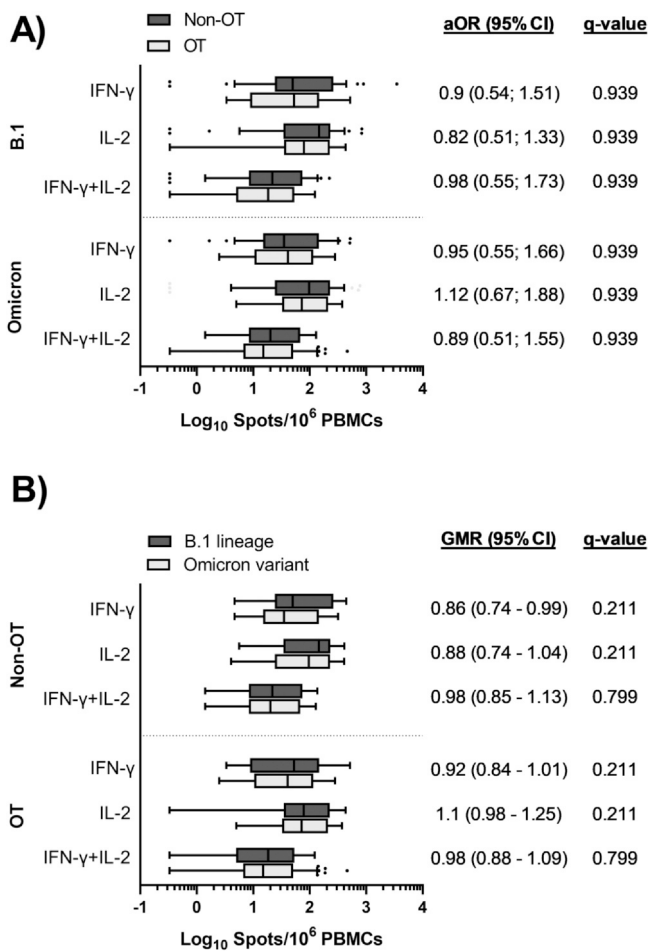


Fig. 3. SARS-CoV-2 S-specific T-cell response against the B.1 lineage and Omicron variant, stratified by oncological treatment (A) or SARS-CoV-2 variants (B), several weeks after the second dose of the COVID-19 vaccine. **Statistics:** Data were calculated using logistic regression analysis adjusted for the most relevant clinical and epidemiological characteristics, as well as generalized linear mixed models. **Abbreviations:** aOR, adjusted odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval; GMR, geometric mean ratio; IFN, interferon; IL-2, interleukin 2; AUC, Area under the Curve; PBMCs, peripheral blood mononuclear cells.

include personalized vaccination schedules and booster doses to ensure optimal protection against COVID-19, especially with the emergence of new variants. Emphasizing the benefits of vaccination can encourage higher vaccination rates among oncology patients, providing broader protection against COVID-19 and reducing the risk of severe disease in this high-risk group.

Limitations

This study has several limitations. First, the small sample size reduces statistical power and increases the risk of false positives. In this regard, hybrid immunity was not analyzed in detail due to the low number of patients with SARS-CoV-2 infection in the non-OT group. However, prior infection status was included in multivariate regression analyses to account for the potential protective effects of this hybrid immunity. A larger sample size could provide a more accurate depiction of the immune response in oncology patients. Second, the prospective design of this study introduced biases, including patient and sample loss to follow-up. Third, conclusions could not be reached for certain subgroups, such as those with different tumors or specific anti-cancer regimens. Fourth, patient follow-up was limited to four weeks after the second dose and eight weeks after the booster dose. A longer follow-up could provide

valuable information on the durability and effectiveness of the long-term immune response. Fifth, some cancer patients showed no immune response to the COVID-19 vaccine, possibly due to test sensitivity issues. Sixth, there was no healthy control group. Differences between cancer patients and healthy subjects are well documented, so this was not a priority for our study. Finally, no significant differences were found in the immune response against COVID-19 vaccination between solid and hematological cancer patients, possibly due to treatment heterogeneity and combined treatment regimens.

Conclusions

Cancer patients, particularly those on immunosuppressive oncological treatments, need booster doses and updated COVID-19 vaccines for new variants like Omicron. Future studies should evaluate the durability of the vaccine-induced immune response and the efficacy of personalized vaccine regimens.

Ethics approval and consent to participate

The HUIL Ethics Committee authorized the study (Ref.: 030–21), which was conducted following the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed consent before enrollment.

Funding

The Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Infecciosas (CB21/13/00044) funded the study. DSC is a 'Sara Borrell' researcher supported by ISCIII (grant number CD20CIII/00001).

CRediT authorship contribution statement

Data curation: MJMG, PR, GC, JV, EJ, NBL, MALA, JAHR, GR, and JTM. Investigation: MJMG, MMV, MQD, VM, DSC, MV, PR, SR, and IM. Data analysis and interpretation: MJMG, SR, and IM. Supervision and visualization: SR, IM, and PR. Funding acquisition: SR, IM, and PR. Drafting the article: MJMG, SR, and IM. Critical revision of the article: PR. All authors have read and approved the final manuscript.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors appreciate the collaboration of all the patients who participated in the study. We want to thank the healthcare professionals at our center who worked tirelessly during the COVID-19 pandemic. We also thank the Department of Internal Medicine, the Oncology Service, the Hematology Service, and the Allergy Service for storing the samples in their laboratory. Additionally, we are immensely grateful to all the nursing staff and the Preventive Service team for their crucial role in administering vaccine doses and processing samples.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at [doi:10.1016/j.jiph.2024.102473](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102473).

References

- [1] Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Krishnan UM. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie* 2020;179:85–100.
- [2] Farooqi T, Malik JA, Mulla AH, Al Hagbani T, Almansour K, Ubaid MA, et al. An overview of SARS-CoV-2 epidemiology, mutant variants, vaccines, and management strategies. *J Infect Public Health* 2021;14(10):1299–312.
- [3] **WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard.** (<https://data.who.int/dashboards/covid19>). Accessed 15 May 2024.
- [4] Duloquin G, Pommier T, Georges M, Giroud M, Guenancia C, Bejot Y, et al. Is COVID-19 Infection a Multiorgan Disease? Focus on Extrapulmonary Involvement of SARS-CoV-2. *J Clin Med* 2024;13(5).
- [5] Malik JA, Ahmed S, Yaseen Z, Alanazi M, Alharby TN, Alshammari HA, et al. Association of SARS-CoV-2 and polypharmacy with gut-lung axis: from pathogenesis to treatment. *ACS Omega* 2022;7(38):33651–65.
- [6] Park JW, Lagniton PNP, Liu Y, Xu RH. mRNA vaccines for COVID-19: what, why and how. *Int J Biol Sci* 2021;17(6):1446–60.
- [7] Painter MM, Mathew D, Goel RR, Apostolidis SA, Pattekar A, Kuthuru O, et al. **Rapid induction of antigen-specific CD4(+) T cells is associated with co-ordinated humoral and cellular immunity to SARS-CoV-2 mRNA vaccination.** *Immunity* 2021;54(9):2133–42. e2133.
- [8] Malik JA, Ahmed S, Mir A, Shinde M, Bender O, Alshammari F, et al. The SARS-CoV-2 mutations versus vaccine effectiveness: New opportunities to new challenges. *J Infect Public Health* 2022;15(2):228–40.
- [9] Fan Y, Li X, Zhang L, Wan S, Zhang L, Zhou F. SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives. *Signal Transduct Target Ther* 2022;7(1):141.
- [10] **Coronavirus Pandemic (COVID-19).** Published online at [OurWorldInData.org](https://ourworldindata.org). Retrieved from: (<https://ourworldindata.org/coronavirus>) [Online Resource].
- [11] Ahmad Malik J, Ahmed S, Shinde M, Almermesh MHS, Alghamdi S, Hussain A, et al. The Impact of COVID-19 on comorbidities: a review of recent updates for combating It. *Saudi J Biol Sci* 2022;29(5):3586–99.
- [12] Cook G, John Ashcroft A, Pratt G, Popat R, Ramasamy K, Kaiser M, et al. Real-world assessment of the clinical impact of symptomatic infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus (COVID-19 disease) in patients with multiple myeloma receiving systemic anti-cancer therapy. *Br J Haematol* 2020;190(2):e83–6.
- [13] Mato AR, Roeker LE, Lamanna N, Allan JN, Leslie L, Pagel JM, et al. Outcomes of COVID-19 in patients with CLL: a multicenter international experience. *Blood* 2020;136(10):1134–43.
- [14] Pinato DJ, Scotti L, Gennari A, Colomba-Blameble E, Dolly S, Loizidou A, et al. Determinants of enhanced vulnerability to coronavirus disease 2019 in UK patients with cancer: a European study. *Eur J Cancer* 2021;150:190–202.
- [15] Desai A, Gupta R, Advani S, Ouellette L, Kuderer NM, Lyman GH, et al. Mortality in hospitalized patients with cancer and coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer* 2021;127(9):1459–68.
- [16] Grivas P, Khaki AR, Wise-Draper TM, French B, Hennessy C, Hsu CY, et al. Association of clinical factors and recent anticancer therapy with COVID-19 severity among patients with cancer: a report from the COVID-19 and Cancer Consortium. *Ann Oncol* 2021;32(6):787–800.
- [17] Robliotti EV, Babady NE, Mead PA, Rolling T, Perez-Johnston R, Bernardes M, et al. Determinants of COVID-19 disease severity in patients with cancer. *Nat Med* 2020;26(8):1218–23.
- [18] Fendler A, de Vries EGE, GeurtsvanKessel CH, Haanen JB, Wormann B, Turajlic S, et al. COVID-19 vaccines in patients with cancer: immunogenicity, efficacy and safety. *Nat Rev Clin Oncol* 2022;19(6):385–401.
- [19] Negahdaripour M, Shafiekhani M, Moezzi SMI, Amiri S, Rasekh S, Bagheri A, et al. Administration of COVID-19 vaccines in immunocompromised patients. *Int Immunopharmacol* 2021;99:108021.
- [20] Corti C, Antonarelli G, Scotti F, Spano JP, Barriere J, Michot JM, et al. Seroconversion rate after vaccination against COVID-19 in patients with cancer—a systematic review. *Ann Oncol* 2022;33(2):158–68.
- [21] Becerril-Gaitan A, Vaca-Cartagena BF, Ferrigno AS, Mesa-Chavez F, Barrientos-Gutierrez T, Tagliamento M, et al. Immunogenicity and risk of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection after Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) vaccination in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2022;160:243–60.
- [22] Tang K, Wei Z, Wu X. Impaired serological response to COVID-19 vaccination following anticancer therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2022;94(10):4860–8.
- [23] Chen J, Wang R, Gilby NB, Wei GW. Omicron variant (B.1.1.529): infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. *J Chem Inf Model* 2022;62(2):412–22.
- [24] World Health Organization. Interim recommendations for use of the Moderna mRNA-1273 vaccine against COVID-19: interim guidance, **25 January 2021** (In). Geneva: World Health Organization; 2021.
- [25] **NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.** (https://www.nccn.org/guidelines/category_1). Accessed 15 Dec 2023.
- [26] Tre-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Favresse J, Dogne JM, Douxfils J, et al. Analytical and clinical validation of an ELISA for specific SARS-CoV-2 IgG, IgA, and IgM antibodies. *J Med Virol* 2021;93(2):803–11.
- [27] Martin-Vicente M, Carrasco I, Munoz-Gomez MJ, Lobo AH, Mas V, Vigil-Vazquez S, et al. Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. *Birth* 2022.
- [28] Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020;367(6483):1260–3.
- [29] Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, DiVenere AM, Kuo HC, Javanmardi K, et al. Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science* 2020;369(6510):1501–5.
- [30] Liang W, Guan W, Chen R, Wang W, Li J, Xu K, et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol* 2020;21(3):335–7.
- [31] Greenberger LM, Saltzman LA, Senefeld JW, Johnson PW, DeGennaro LJ, Nichols GL. Antibody response to SARS-CoV-2 vaccines in patients with hematologic malignancies. *Cancer Cell* 2021;39(8):1031–3.
- [32] Perry C, Luttwak E, Balaban R, Shefer G, Morales MM, Aharon A, et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv* 2021;5(16):3053–61.
- [33] Herishanu Y, Avivi I, Aharon A, Shefer G, Levi S, Bronstein Y, et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2021;137(23):3165–73.
- [34] Ghione P, Gu JJ, Attwood K, Torka P, Goel S, Sundaram S, et al. Impaired humoral responses to COVID-19 vaccination in patients with lymphoma receiving B-cell-directed therapies. *Blood* 2021;138(9):811–4.
- [35] Shroff RT, Chalasani P, Wei R, Pennington D, Quirk K, Schoenle MV, et al. Immune responses to two and three doses of the BNT162b2 mRNA vaccine in adults with solid tumors. *Nat Med* 2021;27(11):2002–11.
- [36] Rottenberg Y, Grinshpun A, Ben-Dov IZ, Oiknine Djian E, Wolf DG, Kadouri L. Assessment of Response to a Third Dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA vaccine in patients with solid tumors undergoing active treatment. *JAMA Oncol* 2022;8(2):300–1.
- [37] Fenioux C, Teixeira L, Fourati S, Melica G, Lelievre JD, Gallien S, et al. SARS-CoV-2 antibody response to 2 or 3 doses of the BNT162b2 vaccine in patients treated with anticancer agents. *JAMA Oncol* 2022;8(4):612–7.
- [38] Shapiro LC, Thakkar A, Campbell ST, Forest SK, Pradhan K, Gonzalez-Lugo JD, et al. Efficacy of booster doses in augmenting waning immune responses to COVID-19 vaccine in patients with cancer. *Cancer Cell* 2022;40(1):3–5.
- [39] Munro APS, Janani L, Cornelius V, Aley PK, Babbage G, Baxter D, et al. Safety and immunogenicity of seven COVID-19 vaccines as a third dose (booster) following two doses of ChAdOx1 nCoV-19 or BNT162b2 in the UK (COV-BOOST): a blinded, multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2021;398(10318):2258–76.
- [40] Lim SH, Stuart B, Joseph-Pietras D, Johnson M, Campbell N, Kelly A, et al. Immune responses against SARS-CoV-2 variants after two and three doses of vaccine in B-cell malignancies: UK PROSECO study. *Nat Cancer* 2022;3(5):552–64.
- [41] Thakkar A, Pradhan K, Duva B, Carreno JM, Sahu S, Thiruthuvanathan V, et al. Study of efficacy and longevity of immune response to third and fourth doses of COVID-19 vaccines in patients with cancer: A single arm clinical trial. *Elife* 2023;12.
- [42] Lu Y, Yuan X, Wang M, He Z, Li H, Wang J, et al. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies. *J Hematol Oncol* 2022;15(1):47.
- [43] Ng HY, Leung WK, Cheung KS. Association between gut microbiota and SARS-CoV-2 infection and vaccine immunogenicity. *Microorganisms* 2023;11(2).
- [44] Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez MSA, Zheng C, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *J Med Virol* 2022;94(5):1825–32.
- [45] Debie Y, Van Audenaerde JRM, Vandamme T, Croes L, Teuwen LA, Verbruggen L, et al. Humoral and cellular immune responses against SARS-CoV-2 after third dose BNT162b2 following double-dose vaccination with BNT162b2 versus ChAdOx1 in patients with cancer. *Clin Cancer Res* 2023;29(3):635–46.
- [46] Muik A, Lui BG, Wallisch AK, Bacher M, Muhl J, Reinholz J, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron by BNT162b2 mRNA vaccine-elicited human sera. *Science* 2022;375(6581):678–80.
- [47] Davis-Gardner ME, Lai L, Wali B, Samaha H, Solis D, Lee M, et al. Neutralization against BA.2.75.2, BQ.1.1, and XBB from mRNA Bivalent Booster. *N Engl J Med* 2023;388(2):183–5.
- [48] Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep* 2021;34(6):108728.
- [49] Tarke A, Coelho CH, Zhang Z, Dan JM, Yu ED, Methot N, et al. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell* 2022;185(5):847–59. e811.
- [50] Oosting SF, van der Veldt AAM, GeurtsvanKessel CH, Fehrmann RSN, van Binnendijk RS, Dingemans AC, et al. mRNA-1273 COVID-19 vaccination in patients receiving chemotherapy, immunotherapy, or chemoimmunotherapy for solid tumours: a prospective, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2021;22(12):1681–91.

5. DISCUSIÓN

La lucha contra la pandemia de COVID-19 ha dependido en gran medida de nuestra capacidad para comprender y fortalecer la respuesta inmune al SARS-CoV-2. Esto ha sido especialmente importante para proteger a las poblaciones más vulnerables, incluidas personas con sistemas inmunológicos debilitados, como los pacientes oncológicos, las personas con VIH (PVIH) y las mujeres embarazadas. El estudio de la respuesta inmune permite desarrollar estrategias de vacunación más eficientes y adaptadas, asegurando una protección más amplia y duradera. Además, comprender la respuesta inmune frente a las variantes virales es crucial para ajustar las intervenciones sanitarias y mantener la eficacia de las vacunas.

5.1. Respuesta inmune en poblaciones vulnerables

Desde el inicio de la crisis sanitaria, se ha observado que las personas con sistemas inmunes comprometidos o condiciones médicas subyacentes tienen un mayor riesgo de desarrollar formas graves de la enfermedad (209). Además, la afectación del sistema inmune en estas poblaciones ha planteado dudas sobre su capacidad para generar una respuesta humoral adecuada contra el SARS-CoV-2. Esto es relevante, ya que altos títulos de anticuerpos contra la proteína S del SARS-CoV-2 (Abs anti-SARS-CoV-2 S) se correlacionan con la neutralización del virus y la protección (210).

Los cambios fisiológicos, mecánicos e inmunológicos que experimentan las mujeres durante el embarazo hacen a esta población más vulnerable a la infección por SARS-CoV-2 y a desarrollar formas más graves de la enfermedad (211). Estos cambios, como la reducción de células B, son necesarios para el desarrollo del feto, ya que evitan la producción de anticuerpos contra antígenos paternos y previenen el rechazo. Sin embargo, también pueden debilitar la capacidad del sistema inmune materno para combatir infecciones virales (138, 139).

Estudios previos han demostrado que las PVIH suelen tener una respuesta de anticuerpos reducida ante infecciones virales y vacunas debido al deterioro del sistema inmunológico provocado por la infección por VIH (170, 212, 213).

Los pacientes con cáncer tienen un mayor riesgo de infección por SARS-CoV-2 y complicaciones relacionadas. Esto se debe a la inmunodeficiencia sistémica causada

principalmente por los tratamientos que reciben (175). La inmunosupresión en estos pacientes puede comprometer la capacidad del organismo para responder a la infección o la vacunación contra la COVID-19.

Comprender y reforzar la respuesta inmune en las poblaciones vulnerables es fundamental para mejorar el manejo y tratamiento de estos pacientes. La acción coordinada de las respuestas humoral y celular es esencial para controlar la infección y modular su gravedad (214). El rápido desarrollo de diversas vacunas contra la COVID-19 ha sido vital para fortalecer la respuesta inmunitaria y reducir el riesgo de enfermedad grave o mortalidad, especialmente en las poblaciones vulnerables (214, 215). Sin embargo, aunque las vacunas contra la COVID-19 son efectivas contra la cepa original del SARS-CoV-2, lo son menos contra la variante Ómicron. Esto ocurre tanto en la población general como en las poblaciones de riesgo. La variante Ómicron presenta numerosos cambios de aminoácidos en la proteína S, lo que le permite evadir la respuesta humoral, reduciéndose la protección de la vacuna frente a esta variante (216).

Al comparar las poblaciones estudiadas en este trabajo, se han identificado varios aspectos comunes relacionados con la respuesta inmune inducida tanto por la infección por SARS-CoV-2 como por la vacuna contra la COVID-19, que serán discutidos con mayor detalle a continuación.

5.2. Respuesta inmune humoral frente a la infección por SARS-CoV-2

5.2.1. Mujeres embarazadas

Tras la infección por SARS-CoV-2, se detectaron niveles elevados de Abs anti-SARS-CoV-2 S en el suero y la leche de mujeres embarazadas. Sin embargo, un informe reciente sugiere que estos niveles podrían ser más bajos que en mujeres no embarazadas (217), aunque otros estudios no han confirmado este resultado (218).

En línea con hallazgos previos, en nuestro estudio observamos que los niveles de Abs anti-SARS-CoV-2 S eran más altos en mujeres sintomáticas que en asintomáticas, lo que indica una correlación entre la gravedad de la COVID-19 y los títulos de anticuerpos (219,

220). Además, observamos una correlación positiva entre los títulos de anticuerpos determinados por ELISA y su capacidad para inhibir la unión de la proteína S a su receptor ACE2. Esta correlación positiva fue mucho mejor después de seis meses de seguimiento que al inicio, lo que indica una maduración de la afinidad de los anticuerpos durante este periodo. En línea con nuestros resultados, otros estudios han mostrado que los títulos de Abs anti-SARS-CoV-2 S, especialmente contra el sitio de unión al receptor, se correlacionan con los títulos de neutralización (97, 221, 222).

La protección neonatal contra las infecciones depende de los anticuerpos IgG adquiridos de la madre a través de la placenta. Se observó que la proporción media de IgG anti-SARS-CoV-2 S entre el suero del cordón umbilical y el suero materno fue de 1,4, lo que indica una transferencia transplacentaria eficiente de esos anticuerpos. Esto está en línea con informes previos sobre el SARS-CoV-2 y otros patógenos (218, 223-226). La proporción de transferencia aumenta con el tiempo transcurrido entre la infección materna y el parto, independientemente de la gravedad de la enfermedad (225). No obstante, algunos estudios han mostrado una transferencia transplacentaria ineficiente de anticuerpos específicos para el SARS-CoV-2 (145, 218, 227), posiblemente debido a alteraciones en la glicosilación de la región Fc de los anticuerpos causada por la infección del SARS-CoV-2. Sin embargo, este efecto se observó cuando la infección por SARS-CoV-2 se produjo en el tercer trimestre, pero no en el segundo, lo que sugiere que las alteraciones de la glicosilación en los anticuerpos específicos anti-SARS-CoV-2 se normalizan a lo largo del tiempo de infección (218). Aunque la mayoría de las madres en nuestro estudio fueron diagnosticadas con SARS-CoV-2 en el tercer trimestre, no podemos determinar con precisión cuándo se infectaron. A pesar de esto, observamos que la mayoría de las madres con niveles muy bajos de anticuerpos fueron diagnosticadas cerca del parto (<30 días), lo que resultó en que no se detectaran IgG anti-SARS-CoV-2 S en el cordón umbilical de 13 de los 15 bebés nacidos de estas madres. Por tanto, más que la prematuridad o el transporte transplacentario disfuncional, los bajos niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S en el suero materno parecen ser la causa de la no detección de anticuerpos en sus bebés. Además, otros factores, como la etnia y las comorbilidades acompañantes, pueden afectar la transferencia transplacentaria de anticuerpos (145). Estos hallazgos contradictorios generaron dudas sobre la eficacia de

la vacunación durante el embarazo, aunque estudios recientes indican una transferencia transplacentaria eficiente de IgG después de la vacunación contra el SARS-CoV-2 (228, 229).

La IgM no puede atravesar la placenta, y su presencia en la sangre del cordón umbilical generalmente indica infecciones fetales (227, 230). No obstante, la detección de IgM en el cordón umbilical no implica necesariamente una infección intrauterina, ya que puede deberse a errores en los ensayos, contaminación de la muestra o aumento de la permeabilidad de la barrera sincitio-trofoblástica por la inflamación inducida por la infección (231). En algunos casos, se han detectado bajos niveles de IgM en el cordón umbilical sin presencia de infección fetal (225, 227, 232, 233). En nuestro estudio, no hubo concordancia entre una PCR positiva para SARS-CoV-2 en recién nacidos y la presencia de IgM anti-SARS-CoV-2 S en su cordón umbilical. Una interpretación similar puede aplicarse a la presencia de IgA anti-SARS-CoV-2 S en el cordón umbilical.

Los niveles de IgM anti-SARS-CoV-2 S alcanzan su punto máximo aproximadamente 14 días después del inicio de los síntomas y luego disminuyen. Los títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S alcanzan su máximo alrededor de los 21-28 días y permanecen altos durante varias semanas (92, 234-236). De acuerdo con esto, observamos que los niveles de IgM anti-SARS-CoV-2 S en el suero materno disminuyeron casi hasta niveles indetectables en la mayoría de los casos a los seis meses después del parto, mientras que los niveles de IgG e IgA se mantuvieron altos. Por el contrario, los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 S disminuyeron significativamente en los niños, seis meses después del parto, lo que concuerda con informes previos (237, 238). Esto indica que la posible protección mediada por IgG en los recién nacidos es limitada en el tiempo.

Los anticuerpos presentes en la leche materna también pueden proteger a los bebés de infecciones a través de la lactancia. La IgA secretora (sIgA) deriva principalmente del tejido linfoide asociado al intestino y se secreta activamente en la leche a través del receptor de inmunoglobulina polimérica (239). Nuestro estudio reveló altos títulos de Abs anti-SARS-CoV-2 S en la mayoría de las muestras de leche materna, principalmente IgA, que se correlacionaron con la inhibición de la unión de la proteína S a ACE2, indicando actividad neutralizante. También se ha descrito una fuerte respuesta

neutralizante de IgA contra la proteína S del SARS-CoV-2 en la leche de mujeres infectadas (144, 240, 241). Estos resultados respaldan la importancia de la lactancia materna en madres infectadas por el SARS-CoV-2 como una medida para proteger a los lactantes contra la COVID-19.

5.2.2. Personas con VIH

Tras la infección por SARS-CoV-2, encontramos niveles comparables de Abs anti-SARS-CoV-2 S entre las PVIH bajo terapia antirretroviral efectiva y los personas no infectadas por el VIH, lo que coincide con los resultados obtenidos en estudios previos (172, 242). Sin embargo, otros estudios, como el de Spinelli et al. (243), informaron de títulos más bajos de anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 en PVIH en comparación con individuos no infectados por el VIH. Esas discrepancias podrían explicarse por las diferencias en las características de las cohortes de estudio (tamaño de la muestra, etnia, edad, sexo, gravedad de la COVID-19, porcentaje de personas con cargas virales no suprimidas, entre otras), el diseño del estudio o los métodos empleados para la caracterización de anticuerpos. Es de destacar que el tamaño muestral de nuestro estudio es tres veces mayor que el de Spinelli et al. Además, la supresión efectiva de la replicación del VIH parece ser crucial para desarrollar una respuesta inmune humoral adecuada. En nuestro estudio, casi todas las PVIH estaban recibiendo terapia antirretroviral, con buen control clínico, virológico e inmunológico, lo que puede haber contribuido a los títulos similares de Abs anti-SARS-CoV-2 S entre las PVIH y los controles sin VIH. Es más, al analizar los títulos de anticuerpos y los porcentajes de inhibición de la unión S-ACE2 según los estratos de recuento de células CD4(+) (<350, 350-500, >500 células/mm³), no encontramos diferencias significativas (datos no mostrados). Esto indica que, incluso con diferentes niveles de inmunosupresión, las PVIH pueden generar una respuesta humoral comparable a la de individuos no infectados por el VIH.

En conclusión, no se observaron diferencias en la respuesta inmune humoral, tanto en términos cuantitativos como cualitativos, frente al SARS-CoV-2 entre las PVIH bien controladas y los controles tras la recuperación de la COVID-19. Este hallazgo sugiere que las PVIH no son una población especialmente vulnerable a esta infección y pueden responder adecuadamente a la vacunación.

5.3. Respuesta inmune humoral frente a la vacunación contra la COVID-19

5.3.1. Mujeres embarazadas

Estudios recientes han mostrado que la vacunación contra la COVID-19 en esta población induce niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S aún más altos que en la infección natural, y que estos anticuerpos se transfieren eficientemente al feto (148, 244-246). Se ha observado que las IgG anti-SARS-CoV-2 S correlacionan con la inhibición de la interacción S-ACE2 y muestran actividad neutralizante (201, 229). Nuestro estudio también demostró una alta correlación entre los títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S y la inhibición de la interacción S-ACE2, tanto en madres como en lactantes al momento del parto y 2-3 meses después del mismo. Estos resultados respaldan la observación de que la vacunación contra la COVID-19 durante el embarazo protege tanto a madres como a lactantes contra infecciones graves (247, 248). Además, las infecciones observadas en madres y lactantes 2-3 meses después del parto, durante el periodo en el que la variante Ómicron circulaba por el país, fueron asintomáticas o leves (datos no mostrados). Esto sugiere que la vacuna confiere protección, al menos contra enfermedades graves, después de la infección con esta variante.

En nuestro estudio, se observó una mediana de la proporción de transferencia de IgG anti-SARS-CoV-2 S al feto de aproximadamente tres, superior a la observada tras la infección por SARS-CoV-2 (201). Debido a la eficiente transferencia transplacentaria, los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S en lactantes se correlacionaron estrechamente con los niveles de anticuerpos maternos, como se ha observado previamente tras la infección por SARS-CoV-2 (145, 225, 249) y la vacunación (250-252).

No obstante, a pesar de que las madres mantuvieron altos títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S 2-3 meses después del parto, los niveles medios de estos anticuerpos en los lactantes disminuyeron seis veces, sugiriendo que los lactantes pueden volverse más vulnerables a la infección por SARS-CoV-2 después de este periodo (253). Consecuentemente, Burns et al. (253) informaron que la protección mediada por IgG anti-SARS-CoV-2 S se perdió completamente en lactantes a los seis meses de edad. Además, aunque las madres

mantienen altos niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S 2-3 meses después del parto, la efectividad de la vacuna disminuyó a los 5-6 meses después de la segunda dosis, subrayando la necesidad de una dosis de refuerzo (254).

Dado que los niveles más altos de IgG anti-SARS-CoV-2 S al nacer se correlacionan con períodos más largos libres de infección en los lactantes (253), es esencial desarrollar un calendario de vacunación optimizado para aumentar los niveles de estos anticuerpos en mujeres embarazadas y recién nacidos. Algunos estudios indican que la mayoría de las IgG anti-SARS-CoV-2 S maternas se transfieren al feto durante las últimas cuatro semanas del embarazo (246, 255). Estos hallazgos concuerdan con nuestros resultados, que muestra niveles más altos de anticuerpos en recién nacidos de madres vacunadas durante el último trimestre del embarazo. Por tanto, la optimización de los calendarios de vacunación, considerando el número de dosis y el momento de administración, especialmente en el último trimestre de embarazo, puede aumentar los niveles de anticuerpos adquiridos por los lactantes, como se observó en nuestro estudio y en otros (244, 246, 251, 256, 257). La vacunación debe realizarse incluso después de la infección por SARS-CoV-2, ya que la estimulación inmune combinada (inmunización híbrida) conduce a un aumento en los títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 S, como se observó en nuestro estudio y en otros (256, 258, 259).

5.3.2. Personas con VIH

Tras la vacunación contra la COVID-19, se observó una respuesta humoral robusta en PVIH. Los valores de GMFR fueron ≥ 8 tras la segunda dosis y ≥ 4 tras la dosis de refuerzo, indicando una fuerte inmunogenicidad. Estos resultados coinciden con estudios previos que muestran una fuerte respuesta humoral después de la segunda y tercera dosis de la vacuna contra la COVID-19 (260). Nuestros datos subrayan los beneficios potenciales de la vacunación contra la COVID-19 en la protección de las PVIH frente a la infección por SARS-CoV-2.

Los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S y la capacidad de estos anticuerpos para inhibir la interacción S-ACE2 fueron similares entre las PVIH y el grupo control sin infección por VIH, tras la segunda dosis y la dosis de refuerzo. Estos resultados son consistentes con investigaciones anteriores que también han reportado una respuesta inmune humoral

comparable entre las PVIH y los controles sin VIH tras la vacunación contra la COVID-19 con vacunas de ARNm (261-263). Cabe destacar que, en estos estudios, las PVIH estaban bajo tratamiento antirretroviral, con cargas virales de VIH suprimidas y recuentos basales de CD4(+) más altos en comparación con estudios que reportan respuestas de IgG disminuidas en las PVIH en relación con grupos control (263, 264). En nuestro estudio, los pacientes estaban bajo tratamiento antirretroviral, con una mediana de recuento de CD4(+) <300 células/mm³ y el 31,6% tenía un recuento de CD4(+) <200 células/mm³. A pesar de esto, nuestro estudio también encontró una respuesta inmune robusta a la vacuna contra la COVID-19 en PVIH.

5.3.3. Pacientes oncológicos

La respuesta humoral tras la segunda dosis de la vacuna fue significativamente más débil en los pacientes con tratamiento oncológico inmunosupresor (TO-IS) en comparación con los pacientes sin TO-IS. Esto sugiere que los tratamientos inmunosupresores pueden reducir la efectividad de la vacuna en inducir una respuesta inmune adecuada. Sin embargo, la respuesta humoral en pacientes TO-IS mejoró significativamente tras la dosis de refuerzo de la vacuna, alineándola con la del grupo sin TO-IS. Nuestros resultados son consistentes con estudios anteriores que informaron de una respuesta humoral reducida en pacientes sometidos a TO-IS tras dos dosis de la vacuna contra la COVID-19 (265-269). Esta respuesta mejora con una dosis de refuerzo (270-276) y dura al menos 6 meses (276). Por lo tanto, para los pacientes con cáncer bajo tratamiento oncológico inmunosupresor, una dosis de refuerzo es crucial para una inmunización adecuada. Estos hallazgos sugieren la necesidad de revisar las estrategias de vacunación para incluir dosis adicionales para esta población vulnerable.

5.4. Respuesta inmune humoral frente a las variantes del SARS-CoV-2 tras la vacunación contra la COVID-19: Ómicron

Desde su aparición, el SARS-CoV-2 ha experimentado múltiples mutaciones, dando lugar a varias variantes de interés (VOI) y variantes de preocupación (VOC) que han impactado la dinámica de la pandemia de la COVID-19. Estas variantes pueden diferir significativamente en su capacidad de transmisión, severidad de la enfermedad y

capacidad para evadir la inmunidad inducida por infecciones previas o vacunación. Entre las variantes más notables se encuentra Ómicron, por su alto número de mutaciones en la proteína S y su capacidad para evadir el sistema inmune.

5.4.1. Mujeres embarazadas

En esta población observamos niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S significativamente más bajos contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1. El alto número de mutaciones en la proteína S de Ómicron podría explicar los niveles más bajos de anticuerpos que reconocen esta variante y su resistencia a la neutralización por anticuerpos inducidos por vacunas contra la COVID-19 desarrolladas a partir de la cepa original de Wuhan (280). La menor protección humoral frente a nuevas variantes no completamente cubiertas por la vacuna actual puede aumentar la vulnerabilidad a la infección por SARS-CoV-2, especialmente en lactantes. A este respecto, Burns et al. (253) observaron un aumento brusco de casos de infección en lactantes durante la propagación de la variante Ómicron. Otros estudios también encontraron títulos de anticuerpos neutralizantes reducidos contra la variante Delta en mujeres vacunadas y en el suero de sus recién nacidos (246, 281).

5.4.2. Personas con VIH

Tras la segunda dosis de vacuna, los niveles de IgG contra Ómicron y la inhibición de la interacción S-ACE2 fueron significativamente más bajos en comparación con los del linaje B.1. Sin embargo, la respuesta a Ómicron mejoró significativamente en ambos grupos tras la administración de una dosis de refuerzo. Las diferencias significativas entre el linaje B.1 y la variante Ómicron solo se observaron en la inhibición de la interacción S-ACE2 en PVIH tras la dosis de refuerzo. A pesar de esta diferencia, la tasa de no respondedores de PVIH en la inhibición de la interacción S-ACE2 (AUC=0) no fue significativamente diferente entre el linaje B.1 y la variante Ómicron después de la dosis de refuerzo. En consonancia con estas observaciones, estudios previos han mostrado que, a pesar de la evasión inmune de la variante Ómicron a las vacunas contra la COVID-19, las dosis de refuerzo son críticas para aumentar la eficacia de la respuesta inmune (282, 283).

5.4.3. Pacientes oncológicos

Después de la segunda dosis y la dosis de refuerzo, tanto los pacientes bajo tratamiento inmunosupresor como sin TO-IS mostraron respuestas más débiles contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1. Datos previos destacaron la importancia de las dosis de refuerzo para alcanzar niveles adecuados de anticuerpos neutralizantes contra Ómicron (284). Nuestros hallazgos respaldan estos resultados, ya que no observamos diferencias significativas en las tasas de no-respondedores para la inhibición de la interacción S-ACE2 entre el linaje B.1 y Ómicron después de la dosis de refuerzo en ambos grupos, con TO-IS y sin TO-IS. Estos resultados subrayan la importancia de las dosis de refuerzo para mantener la protección contra Ómicron, a pesar de su evasión parcial de la respuesta inmune provocada por la serie de vacunación inicial.

Por otro lado, la vacuna bivalente contra la COVID-19, introducida después de que se cerrara el periodo de inscripción de nuestros estudios, ha mostrado una mejor neutralización frente a las subvariantes de Ómicron (285). Por lo tanto, es esencial monitorizar las variantes y mantener actualizadas las formulaciones de las vacunas en función de las variantes circulantes.

5.5. Respuesta inmune de células T frente a la vacunación contra la COVID-19

En el caso de los pacientes oncológicos también se estudió la respuesta celular (células T) tras la vacunación contra la COVID-19. La respuesta inmune celular puede desempeñar un papel crucial en la prevención de la COVID-19 grave (286). Estudios previos muestran que los individuos vacunados generan respuesta de células T contra epítopos conservados en una amplia gama de variantes (123). En nuestro estudio, la respuesta de células T antígeno-específicas después de la segunda dosis de la vacuna contra la COVID-19 no mostró diferencias significativas entre pacientes con y sin TO-IS. Estos resultados son consistentes con estudios previos que indican que el TO-IS deteriora las respuestas de anticuerpos, pero no afecta significativamente a la respuesta

celular (275, 287). Sin embargo, a pesar de esta respuesta de células T, los pacientes con TO-IS tienen mayor morbilidad y mortalidad que la población general (288).

Nuestros resultados también mostraron una respuesta celular contra la variante Ómicron similar en magnitud a la respuesta contra el linaje B.1. Esto subraya los importantes beneficios de la vacunación, particularmente para los pacientes con inmunidad humoral comprometida.

5.6. Sinopsis

La respuesta inmune desempeña un papel esencial en la defensa contra el SARS-CoV-2, ya sea inducida por la infección natural o la vacunación contra la COVID-19. Sin embargo, en ciertas poblaciones vulnerables, esta respuesta puede ser menos efectiva, aumentando el riesgo de infección, complicaciones graves y mortalidad.

La presente tesis doctoral ha explorado la respuesta inmune adaptativa al SARS-CoV-2 en tres poblaciones de riesgo: mujeres embarazadas y sus bebés, personas con VIH (PVIH) y pacientes oncológicos. Se han analizado las respuestas inmunes inducidas tanto por la infección natural como por la vacunación contra la COVID-19, proporcionando una visión integral de cómo estas poblaciones responden a la amenaza del SARS-CoV-2 y las variantes emergentes. (Figura 16).

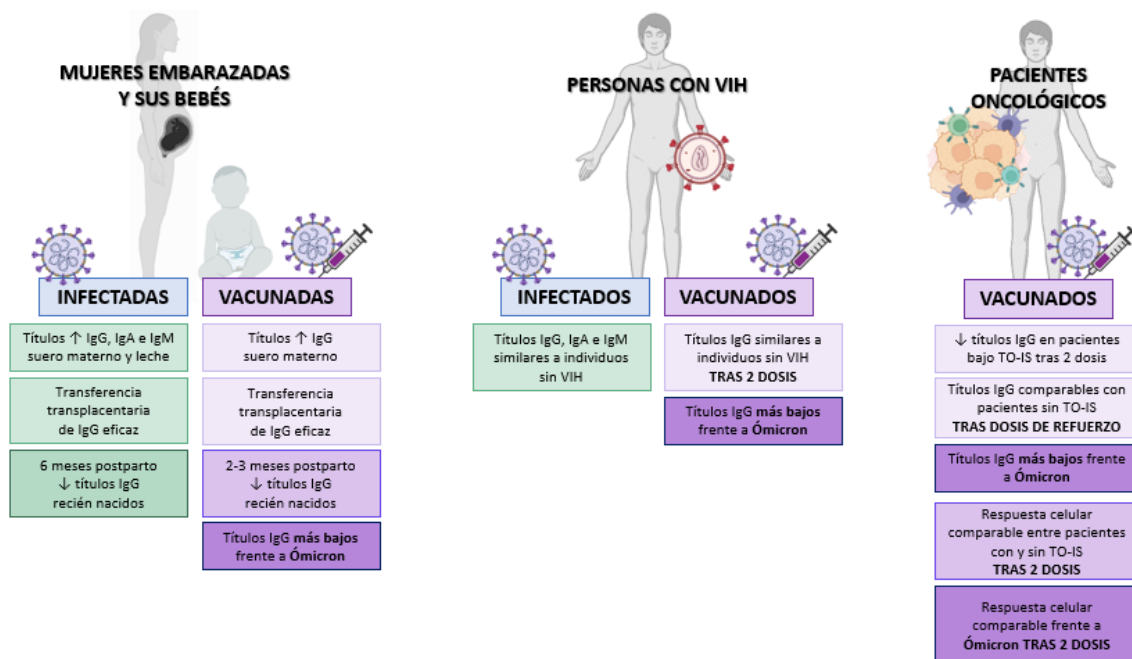


Figura 16. Representación esquemática de los resultados obtenidos en nuestros estudios.

Los estudios en mujeres embarazadas han demostrado que tanto la infección por SARS-CoV-2 como la vacunación inducen una respuesta humoral significativa. Las mujeres embarazadas que contraen COVID-19 desarrollan anticuerpos que se transfieren eficientemente al feto, lo que sugiere una protección neonatal. Sin embargo, se ha observado que los niveles de anticuerpos en los recién nacidos disminuyen con el tiempo, lo que sugiere la necesidad de estrategias de vacunación infantil para mantener la protección. Además, la respuesta humoral a variantes como Ómicron es más débil en comparación con la cepa original, lo que subraya la necesidad de actualizar las formulaciones de las vacunas.

Las PVIH bajo terapia antirretroviral efectiva pueden desarrollar una respuesta humoral robusta tanto a la infección por SARS-CoV-2 como a la vacunación. Los niveles de anticuerpos y la capacidad de inhibición de la unión S-ACE2 en PVIH son comparables a los de individuos no infectados por el VIH. Sin embargo, la vacunación en PVIH requiere consideraciones especiales, como la administración de dosis de refuerzo para mantener niveles adecuados de anticuerpos, especialmente frente a variantes como Ómicron.

Los pacientes con cáncer, especialmente aquellos bajo tratamiento inmunosupresor, presentan una respuesta humoral más débil a la vacuna contra la COVID-19. Sin embargo, las dosis de refuerzo pueden mejorar significativamente esta respuesta, alineándola con la de pacientes sin tratamientos inmunosupresores. La respuesta celular frente al SARS-CoV-2 se mantiene relativamente intacta en estos pacientes, lo que proporciona una línea adicional de defensa.

En resumen, la investigación sobre la respuesta inmune al SARS-CoV-2 en poblaciones vulnerables es crucial para desarrollar estrategias de vacunación efectivas y garantizar la protección de estas poblaciones frente al COVID-19. Es esencial continuar con la vigilancia epidemiológica y la investigación para adaptar las vacunas y las estrategias de vacunación a las necesidades específicas de diferentes grupos de población y a la evolución del virus.

5.7. Limitaciones de la investigación

En líneas generales, los estudios incluidos en esta memoria tienen varias limitaciones que se detallan a continuación:

1. Tamaño muestral reducido, lo que reduce la potencia estadística y aumenta el riesgo de resultados falsos positivos. Una muestra de mayor tamaño podría proporcionar una descripción más precisa de algunos subgrupos de pacientes.
2. El diseño observacional puede introducir sesgos inherentes a este tipo de estudios, algunos de los cuales han podido ser controlados ajustando los análisis de regresión por las principales características epidemiológicas y clínicas.
3. En los estudios prospectivos, el seguimiento se limitó a varias semanas/meses, faltando datos sobre la evolución de la respuesta humoral y celular a largo plazo. Además, hubo pérdida inevitable de algunos pacientes durante el seguimiento.
4. No se evaluó la protección real frente al SARS-CoV-2 en las cohortes estudiadas. Solo se midieron los niveles de anticuerpos neutralizantes, pero no las tasas de infecciones, complicaciones o muertes evitadas.
5. En algunos pacientes, no encontramos respuesta inmune a la vacuna contra la COVID-19, posiblemente debido a la falta de sensibilidad de la prueba utilizada. Un ensayo más sensible podría haber detectado la respuesta inmune buscada.
6. En algunos casos faltaron grupos de control adecuados, como mujeres no embarazadas o controles sanos.

6. CONCLUSIONES

Población 1: Mujeres embarazadas y sus bebés

Artículo 1

- 1) Se encontraron altos niveles de anticuerpos contra la proteína de S del SARS-CoV-2 en la mayoría de las mujeres embarazadas al momento del parto.
- 2) Se observó una transferencia eficiente de anticuerpos IgG de las madres a la sangre del cordón umbilical, lo que sugiere una inmunización pasiva de los recién nacidos contra el SARS-CoV-2.
- 3) Los altos niveles de IgA en la leche materna podrían proporcionar protección adicional a los bebés a través de la lactancia.
- 4) Las mujeres sintomáticas presentaron títulos de anticuerpos más altos en comparación con las asintomáticas.
- 5) A los seis meses después del parto, los niveles de IgG en el suero de las madres permanecieron altos, mientras que los niveles de IgG en el suero de los niños disminuyeron significativamente.
- 6) Los títulos de anticuerpos se correlacionaron positivamente con su capacidad para inhibir la interacción entre el receptor ACE2 y la proteína S, lo que indica actividad neutralizante.

Artículo 2

- 1) Las vacunas de ARNm contra la COVID-19 generan altos niveles de anticuerpos contra la proteína S del SARS-CoV-2 en mujeres embarazadas. Estos anticuerpos se transfieren eficazmente al feto e inhiben la interacción entre ACE2 y la proteína S.
- 2) Aunque los niveles de anticuerpos se mantienen altos en las madres 2-3 meses después del parto, disminuyen significativamente en los lactantes durante el mismo período. Esta disminución sugiere que los lactantes pueden volverse más vulnerables a la infección por SARS-CoV-2 a medida que disminuyen los anticuerpos maternos.
- 3) Un historial de infección previa por SARS-CoV-2 y la vacunación contra la COVID-19 cerca del momento del parto influyen positivamente en los niveles de anticuerpos contra la proteína S del SARS-CoV-2. Factores como el número de dosis, el período

de administración, la infección previa y las variantes circulantes deben considerarse cuidadosamente al diseñar los calendarios de inmunización.

- 4) El estudio encontró niveles significativamente más bajos de anticuerpos contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1. Esto probablemente se deba al alto número de mutaciones en la proteína S de Ómicron, que reduce el reconocimiento y la neutralización por parte de los anticuerpos inducidos por la vacuna.
- 5) La disminución de la inmunidad contra nuevas variantes no completamente cubiertas por la vacuna subraya la importancia de actualizar las formulaciones de las vacunas para que coincidan con las variantes circulantes.

Estas conclusiones destacan la efectividad de las vacunas de ARNm contra la COVID-19 en la generación de anticuerpos protectores en mujeres embarazadas y sus recién nacidos. Además, señalan la necesidad de monitoreo continuo y actualización de las formulaciones de vacunas para abordar las variantes emergentes.

Población 2: Personas con VIH

Artículo 3

- 1) El artículo concluye que no existen diferencias significativas en la respuesta humoral específica contra el SARS-CoV-2 entre personas con VIH (PVIH) y personas no infectadas por el VIH tras la recuperación de la COVID-19. Esto sugiere que las PVIH no están en mayor riesgo de infección grave por COVID-19 y pueden responder bien a la vacunación contra el SARS-CoV-2.

Artículo 4

- 1) Las PVIH generaron una fuerte respuesta humoral a la vacuna contra la COVID-19 tanto contra el linaje B.1 como contra la variante Ómicron. Esta respuesta fue comparable a la de las personas sin infección por VIH.
- 2) La vacuna generó una respuesta humoral significativamente más débil contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1 en ambos grupos. Sin embargo, esta respuesta mejoró después de la dosis de refuerzo.

Nuestros datos sugieren la necesidad de dosis de refuerzo para mejorar la inmunogenicidad y actualizar las vacunas COVID-19 para nuevas variantes como Ómicron.

Población 3: Pacientes oncológicos

Artículo 5

- 1) Los pacientes con cáncer en tratamiento oncológico mostraron una respuesta humoral significativamente más débil contra el linaje B.1 y la variante Ómicron en comparación con aquellos que no recibieron tratamiento.
- 2) La dosis de refuerzo mejoró significativamente la respuesta humoral en el grupo bajo tratamiento oncológico, haciéndola comparable al grupo sin tratamiento.
- 3) La vacuna provocó una respuesta humoral más débil contra la variante Ómicron en comparación con el linaje B.1, independientemente del tratamiento oncológico o la dosis de la vacuna.
- 4) La respuesta de las células T contra el SARS-CoV-2, incluida la variante Ómicron, se indujo eficazmente después de la segunda dosis de la vacuna y no se vio significativamente afectada por los tratamientos oncológicos.

Los pacientes con cáncer, especialmente aquellos que reciben tratamientos oncológicos inmunosupresores, necesitan dosis de refuerzo y vacunas COVID-19 actualizadas para combatir eficazmente nuevas variantes como Ómicron.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-33.
2. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses.* 2020;12(2).
3. Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Krishnan UM. The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie.* 2020;179:85-100.
4. World Health Organization (WHO). Novel coronavirus (2019-nCoV) situation report - 1 21 january 2020. *WHO Bull.* 2020:1–5.
5. World Health Organization (WHO). Novel coronavirus (2019-nCoV) situation report - 22 11 february 2020. *WHO Bull.* 2020:1–7.
6. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536-44.
7. Zhou Z, Qiu Y, Ge X. The taxonomy, host range and pathogenicity of coronaviruses and other viruses in the Nidovirales order. *Anim Dis.* 2021;1(1):5.
8. International Committee on Taxonomy of Viruses. Current ICTV Taxonomy Release [2023 October 05]. Available from: <https://ictv.global/taxonomy>.
9. Atzrodt CL, Maknojia I, McCarthy RDP, Oldfield TM, Po J, Ta KTL, et al. A Guide to COVID-19: a global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. *FEBS J.* 2020;287(17):3633-50.
10. World Health Organization (WHO). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report - 51 11 march 2020. *WHO Bull.* 2020:1–9.
11. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) 2024 [cited 2024 February 01]. Available from: <https://covid19.who.int/>.
12. Ministerio de Sanidad del Gobierno de España. Actualización nº 672. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19) 2023 [updated June 30; cited 2023 October 05]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/areas/alertasEmergenciasSanitarias/alertasActuales/nCov/documentos/Actualizacion_672_COVID-19.pdf.
13. World Health Organization (WHO). COVID-19 Epidemiological Update Edition 168 - 17 June 2024
14. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol.* 2020;41(12):1100-15.
15. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Intern Med.* 2021;174(1):69-79.

16. Furuse Y, Sando E, Tsuchiya N, Miyahara R, Yasuda I, Ko YK, et al. Clusters of Coronavirus Disease in Communities, Japan, January-April 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(9):2176-9.
17. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med.* 2020;382(22):2081-90.
18. Khan M, Adil SF, Alkathlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, *Epidemiology and Progress So Far.* *Molecules.* 2020;26(1).
19. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo, por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19. *Boletín Oficial del Estado, núm. 67*, de 14 de marzo de 2020.
20. Helmy YA, Fawzy M, Elswad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *J Clin Med.* 2020;9(4).
21. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. Real Decreto 555/2020, de 5 de junio, por el que se prorroga el estado de alarma declarado por el Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo, por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19. *Boletín Oficial del Estado, núm. 159*, de 6 de junio de 2020.
22. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. Real Decreto 926/2020, de 25 de octubre, por el que se declara el estado de alarma para contener la propagación de infecciones causadas por el SARS-CoV-2. *Boletín Oficial del Estado, núm. 282*, de 25 de octubre de 2020.
23. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. Real Decreto 956/2020, de 3 de noviembre, por el que se prorroga el estado de alarma declarado por el Real Decreto 926/2020, de 25 de octubre, por el que se declara el estado de alarma para contener la propagación de infecciones causadas por el SARS-CoV-2. *Boletín Oficial del Estado, núm. 291*, de 4 de noviembre de 2020.
24. CDC COVID-19 Response Team. Morbidity and Mortality Weekly Report. Preliminary Estimates of the Prevalence of Selected Underlying Health Conditions Among Patients with Coronavirus Disease 2019 — United States, February 12–March 28, 2020. 2020.
25. Gao YD, Ding M, Dong X, Zhang JJ, Kursat Azkur A, Azkur D, et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy.* 2021;76(2):428-55.
26. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506.
27. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708-20.
28. Li X, Ma X. Acute respiratory failure in COVID-19: is it "typical" ARDS? *Crit Care.* 2020;24(1):198.

29. Wendisch D, Dietrich O, Mari T, von Stillfried S, Ibarra IL, Mittermaier M, et al. SARS-CoV-2 infection triggers profibrotic macrophage responses and lung fibrosis. *Cell*. 2021;184(26):6243-61.e27.
30. Zhang SY, Zhang Q, Casanova JL, Su HC, Team C. Severe COVID-19 in the young and healthy: monogenic inborn errors of immunity? *Nat Rev Immunol*. 2020;20(8):455-6.
31. Lebeau G, Vagner D, Frumence É, Ah-Pine F, Guillot X, Nobécourt E, et al. Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16).
32. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(3):141-54.
33. Raveendran AV, Jayadevan R, Sashidharan S. Long COVID: An overview. *Diabetes Metab Syndr*. 2021;15(3):869-75.
34. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24(1):422.
35. Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem*. 2020;295(37):12910-34.
36. Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(11):685-700.
37. Romano M, Ruggiero A, Squeglia F, Maga G, Berisio R. A Structural View of SARS-CoV-2 RNA Replication Machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. *Cells*. 2020;9(5).
38. Bai C, Zhong Q, Gao GF. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. *Sci China Life Sci*. 2022;65(2):280-94.
39. Esakandari H, Nabi-Afjadi M, Fakkari-Afjadi J, Farahmandian N, Miresmaeili SM, Bahreini E. A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biol Proced Online*. 2020;22:19.
40. Zhu C, He G, Yin Q, Zeng L, Ye X, Shi Y, et al. Molecular biology of the SARS-CoV-2 spike protein: A review of current knowledge. *J Med Virol*. 2021;93(10):5729-41.
41. Arya R, Kumari S, Pandey B, Mistry H, Bihani SC, Das A, et al. Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *J Mol Biol*. 2021;433(2):166725.
42. Peng R, Wu LA, Wang Q, Qi J, Gao GF. Cell entry by SARS-CoV-2. *Trends Biochem Sci*. 2021;46(10):848-60.
43. Zhang J, Xiao T, Cai Y, Chen B. Structure of SARS-CoV-2 spike protein. *Curr Opin Virol*. 2021;50:173-82.
44. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022;23(1):3-20.

45. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-80 e8.
46. Li MY, Li L, Zhang Y, Wang XS. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1):45.
47. Murgolo N, Therien AG, Howell B, Klein D, Koeplinger K, Lieberman LA, et al. SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development. *PLoS Pathog*. 2021;17(2):e1009225.
48. Koch J, Uckeley ZM, Doldan P, Stanifer M, Boulant S, Lozach PY. TMPRSS2 expression dictates the entry route used by SARS-CoV-2 to infect host cells. *EMBO J*. 2021;40(16):e107821.
49. V'Kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(3):155-70.
50. Markov PV, Ghafari M, Beer M, Lythgoe K, Simmonds P, Stilianakis NI, et al. The evolution of SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21(6):361-79.
51. Robson F, Khan KS, Le TK, Paris C, Demirbag S, Barfuss P, et al. Coronavirus RNA Proofreading: Molecular Basis and Therapeutic Targeting. *Mol Cell*. 2020;79(5):710-27.
52. Domingo E, Garcia-Crespo C, Lobo-Vega R, Perales C. Mutation Rates, Mutation Frequencies, and Proofreading-Repair Activities in RNA Virus Genetics. *Viruses*. 2021;13(9).
53. Volz E, Hill V, McCrone JT, Price A, Jorgensen D, O'Toole A, et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. *Cell*. 2021;184(1):64-75 e11.
54. Peacock TP, Penrice-Randal R, Hiscox JA, Barclay WS. SARS-CoV-2 one year on: evidence for ongoing viral adaptation. *J Gen Virol*. 2021;102(4).
55. Carabelli AM, Peacock TP, Thorne LG, Harvey WT, Hughes J, Consortium C-GU, et al. SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21(3):162-77.
56. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls*. Treasure Island (FL)2024.
57. Jung C, Kmiec D, Koepke L, Zech F, Jacob T, Sparrer KMJ, et al. Omicron: What Makes the Latest SARS-CoV-2 Variant of Concern So Concerning? *J Virol*. 2022;96(6):e0207721.
58. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021;372(6538).
59. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, Iranzadeh A, Fonseca V, Giandhari J, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature*. 2021;592(7854):438-43.

60. Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, Claro IM, Candido DDS, Mishra S, et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*. 2021;372(6544):815-21.
61. Dhar MS, Marwal R, Vs R, Ponnusamy K, Jolly B, Bhojar RC, et al. Genomic characterization and epidemiology of an emerging SARS-CoV-2 variant in Delhi, India. *Science*. 2021;374(6570):995-9.
62. Raman R, Patel KJ, Ranjan K. COVID-19: Unmasking Emerging SARS-CoV-2 Variants, Vaccines and Therapeutic Strategies. *Biomolecules*. 2021;11(7).
63. Chen J, Wang R, Gilby NB, Wei GW. Omicron Variant (B.1.1.529): Infectivity, Vaccine Breakthrough, and Antibody Resistance. *J Chem Inf Model*. 2022;62(2):412-22.
64. Zhou Y, Zhi H, Teng Y. The outbreak of SARS-CoV-2 Omicron lineages, immune escape, and vaccine effectivity. *J Med Virol*. 2023;95(1):e28138.
65. Chatterjee S, Bhattacharya M, Nag S, Dhama K, Chakraborty C. A Detailed Overview of SARS-CoV-2 Omicron: Its Sub-Variants, Mutations and Pathophysiology, Clinical Characteristics, Immunological Landscape, Immune Escape, and Therapies. *Viruses*. 2023;15(1).
66. Ministerio de Sanidad del Gobierno de España. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Actualización de la situación epidemiológica de las variantes de SARS-CoV-2 en España (03 de julio de 2023)
67. Song Y, Zhang M, Yin L, Wang K, Zhou Y, Zhou M, et al. COVID-19 treatment: close to a cure? A rapid review of pharmacotherapies for the novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(2):106080.
68. European Union. Summary of European Union decisions on marketing authorisations in respect of medicinal products from 21 December 2020 to 21 December 2020. C 447 I/1. Official Journal of the European Union. 24 December 2020.
69. European Union. Summary of European Union decisions on marketing authorisations in respect of medicinal products from 6 January 2021 to 6 January 2021. C 6/13. Official Journal of the European Union. 8 January 2021.
70. European Union. Summary of European Union decisions on marketing authorisations in respect of medicinal products on 29 January 2021. C 32 I/1. Official Journal of the European Union. 29 January 2021.
71. Garcia-Montero C, Fraile-Martinez O, Bravo C, Torres-Carranza D, Sanchez-Trujillo L, Gomez-Lahoz AM, et al. An Updated Review of SARS-CoV-2 Vaccines and the Importance of Effective Vaccination Programs in Pandemic Times. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(5).
72. Smith DR. Herd Immunity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2019;35(3):593-604.
73. Vitiello A, Ferrara F, Troiano V, La Porta R. COVID-19 vaccines and decreased transmission of SARS-CoV-2. *Inflammopharmacology*. 2021;29(5):1357-60.
74. European Medicines Agency. Human regulatory. COVID-19 medicines [cited 2024 March 15]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human->

[regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/covid-19-medicines#authorised-covid-19-vaccines-section](https://www.euro.who.int/en/about-us/our-work/communicable-diseases/communicable-disease-surveillance-and-control/communicable-disease-surveillance-and-control/communicable-disease-surveillance-and-control/regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/covid-19-medicines#authorised-covid-19-vaccines-section).

75. Chalkias S, Harper C, Vrbicky K, Walsh SR, Essink B, Brosz A, et al. A Bivalent Omicron-Containing Booster Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. 2022;387(14):1279-91.
76. Link-Gelles R, Ciesla AA, Fleming-Dutra KE, Smith ZR, Britton A, Wiegand RE, et al. Effectiveness of Bivalent mRNA Vaccines in Preventing Symptomatic SARS-CoV-2 Infection - Increasing Community Access to Testing Program, United States, September-November 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022;71(48):1526-30.
77. Winokur P, Gayed J, Fitz-Patrick D, Thomas SJ, Diya O, Lockhart S, et al. Bivalent Omicron BA.1-Adapted BNT162b2 Booster in Adults Older than 55 Years. *N Engl J Med*. 2023;388(3):214-27.
78. CoVariants (GISAID). Overview of Variants/Mutations [updated 2023 October 31. Available from: <https://covariants.org/>.
79. European Centre for Disease Prevention and Control. COVID-19 Vaccine Tracker 2023 [cited 2024 February 01]. Available from: <https://vaccinetracker.ecdc.europa.eu/public/extensions/COVID-19/vaccine-tracker.html>.
80. Ministerio de Sanidad del Gobierno de España. Vacuna Covid-19. Cuadro de mando resumen de datos de vacunación 2023 [updated June 30; cited 2023 October 24]. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/areas/alertasEmergenciasSanitarias/alertasActuales/nCov/pbiVacunacion.htm>.
81. Qi H, Liu B, Wang X, Zhang L. The humoral response and antibodies against SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol*. 2022;23(7):1008-20.
82. Yamada T, Takaoka A. Innate immune recognition against SARS-CoV-2. *Inflamm Regen*. 2023;43(1):7.
83. Gusev E, Sarapultsev A, Solomatina L, Chereshev V. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3).
84. Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*. 2019;50(4):907-23.
85. Shah VK, Fimal P, Alam A, Ganguly D, Chattopadhyay S. Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Front Immunol*. 2020;11:1949.
86. Rodrigues TS, de Sa KSG, Ishimoto AY, Becerra A, Oliveira S, Almeida L, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *J Exp Med*. 2021;218(3).
87. Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons - Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host Microbe*. 2020;27(6):870-8.
88. Tay MZ, Poh CM, Renia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363-74.

89. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021;184(4):861-80.
90. Zhu Q, Xu Y, Wang T, Xie F. Innate and adaptive immune response in SARS-CoV-2 infection-Current perspectives. *Frontiers in Immunology*. 2022;13.
91. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(52).
92. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(6):845-8.
93. Piccoli L, Park YJ, Tortorici MA, Czudnochowski N, Walls AC, Beltramello M, et al. Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. *Cell*. 2020;183(4):1024-42.e21.
94. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020;181(7):1489-501 e15.
95. Sette A, Sidney J, Crotty S. T Cell Responses to SARS-CoV-2. *Annu Rev Immunol*. 2023;41:343-73.
96. IEDB. Immune Epitope Database & Tools [Available from: <https://www.iedb.org/>].
97. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Pickering S, Steel KJA, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol*. 2020;5(12):1598-607.
98. Choe PG, Kang CK, Suh HJ, Jung J, Song KH, Bang JH, et al. Waning Antibody Responses in Asymptomatic and Symptomatic SARS-CoV-2 Infection. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(1):327-9.
99. Crawford KHD, Dingens AS, Eguia R, Wolf CR, Wilcox N, Logue JK, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody Titers in the Months After Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *J Infect Dis*. 2021;223(2):197-205.
100. Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, Hatch SB, et al. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N Engl J Med*. 2021;384(6):533-40.
101. Bertoletti A, Le Bert N, Qui M, Tan AT. SARS-CoV-2-specific T cells in infection and vaccination. *Cell Mol Immunol*. 2021;18(10):2307-12.
102. Shrestha LB, Foster C, Rawlinson W, Tedla N, Bull RA. Evolution of the SARS-CoV-2 omicron variants BA.1 to BA.5: Implications for immune escape and transmission. *Rev Med Virol*. 2022;32(5):e2381.
103. Altarawneh HN, Chemaitelly H, Hasan MR, Ayoub HH, Qassim S, AlMukdad S, et al. Protection against the Omicron Variant from Previous SARS-CoV-2 Infection. *N Engl J Med*. 2022;386(13):1288-90.

104. Pulliam JRC, van Schalkwyk C, Govender N, von Gottberg A, Cohen C, Groome MJ, et al. Increased risk of SARS-CoV-2 reinfection associated with emergence of Omicron in South Africa. *Science*. 2022;376(6593):eabn4947.
105. Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CKP, Perera RAPM, Scott M, Hagan T, et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*. 2020;369(6508):1210-20.
106. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-45.e9.
107. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brügger MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*. 2020;75(7):1564-81.
108. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-4.
109. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosn J, Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(2):202-21.
110. Grigoryan L, Pulendran B. The immunology of SARS-CoV-2 infections and vaccines. *Semin Immunol*. 2020;50:101422.
111. Li Q, Wang Y, Sun Q, Knopf J, Herrmann M, Lin L, et al. Immune response in COVID-19: what is next? *Cell Death Differ*. 2022;29(6):1107-22.
112. Kedzierska K, Thomas PG. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep Med*. 2022;3(3):100562.
113. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384(5):403-16.
114. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383(27):2603-15.
115. Lafon E, Jager M, Bauer A, Reindl M, Bellmann-Weiler R, Wilflingseder D, et al. Comparative analyses of IgG/IgA neutralizing effects induced by three COVID-19 vaccines against variants of concern. *J Allergy Clin Immunol*. 2022;149(4):1242-52.e12.
116. van Gils MJ, Lavell A, van der Straten K, Appelman B, Bontjer I, Poniman M, et al. Antibody responses against SARS-CoV-2 variants induced by four different SARS-CoV-2 vaccines in health care workers in the Netherlands: A prospective cohort study. *PLoS Med*. 2022;19(5):e1003991.
117. Naranbhai V, Garcia-Beltran WF, Chang CC, Berrios Mairena C, Thierauf JC, Kirkpatrick G, et al. Comparative Immunogenicity and Effectiveness of mRNA-1273, BNT162b2, and Ad26.COV2.S COVID-19 Vaccines. *J Infect Dis*. 2022;225(7):1141-50.

118. Zhang Z, Mateus J, Coelho CH, Dan JM, Moderbacher CR, Galvez RI, et al. Humoral and cellular immune memory to four COVID-19 vaccines. *Cell*. 2022;185(14):2434-51 e17.
119. Steensels D, Pierlet N, Penders J, Mesotten D, Heylen L. Comparison of SARS-CoV-2 Antibody Response Following Vaccination With BNT162b2 and mRNA-1273. *JAMA*. 2021;326(15):1533-5.
120. Hall V, Foulkes S, Insalata F, Kirwan P, Saei A, Atti A, et al. Protection against SARS-CoV-2 after Covid-19 Vaccination and Previous Infection. *N Engl J Med*. 2022;386(13):1207-20.
121. Feikin DR, Higdon MM, Abu-Raddad LJ, Andrews N, Araos R, Goldberg Y, et al. Duration of effectiveness of vaccines against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease: results of a systematic review and meta-regression. *Lancet*. 2022;399(10328):924-44.
122. Collier AY, Yu J, McMahan K, Liu J, Chandrashekar A, Maron JS, et al. Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by Covid-19 Vaccines. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(21):2010-2.
123. Tarke A, Coelho CH, Zhang Z, Dan JM, Yu ED, Methot N, et al. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell*. 2022;185(5):847-59.e11.
124. Lasrado N, Barouch DH. SARS-CoV-2 Hybrid Immunity: The Best of Both Worlds. *J Infect Dis*. 2023;228(10):1311-3.
125. Sette A, Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccines. *Immunol Rev*. 2022;310(1):27-46.
126. Ministerio de Sanidad del Gobierno de España. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Información científico-técnica, COVID-19 en distintos entornos y grupos de personas. Actualización 25 de marzo de 2021
127. Chmielewska B, Barratt I, Townsend R, Kalafat E, van der Meulen J, Gurol-Urganci I, et al. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2021;9(6):e759-e72.
128. Rasmussen SA, Jamieson DJ. COVID-19 and Pregnancy. *Infect Dis Clin North Am*. 2022;36(2):423-33.
129. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O, et al. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;224(1):35-53 e3.
130. Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C, Prevot S, Zupan V, Suffee C, Do Cao J, et al. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):3572.
131. Jennewein MF, Abu-Raya B, Jiang Y, Alter G, Marchant A. Transfer of maternal immunity and programming of the newborn immune system. *Semin Immunopathol*. 2017;39(6):605-13.
132. Dashraath P, Wong JLJ, Lim MXK, Lim LM, Li S, Biswas A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;222(6):521-31.

133. Abu-Raya B, Michalski C, Sadarangani M, Lavoie PM. Maternal Immunological Adaptation During Normal Pregnancy. *Front Immunol.* 2020;11:575197.
134. Aghaeepour N, Ganio EA, McIlwain D, Tsai AS, Tingle M, Van Gassen S, et al. An immune clock of human pregnancy. *Sci Immunol.* 2017;2(15).
135. Robinson DP, Klein SL. Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Horm Behav.* 2012;62(3):263-71.
136. Piccinni MP, Raghupathy R, Saito S, Szekeres-Bartho J. Cytokines, Hormones and Cellular Regulatory Mechanisms Favoring Successful Reproduction. *Front Immunol.* 2021;12:717808.
137. Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):469-82.
138. Valeff N, Muzzio DO, Matzner F, Dibo M, Golchert J, Homuth G, et al. B cells acquire a unique and differential transcriptomic profile during pregnancy. *Genomics.* 2021;113(4):2614-22.
139. Medina KL, Smithson G, Kincade PW. Suppression of B lymphopoiesis during normal pregnancy. *J Exp Med.* 1993;178(5):1507-15.
140. Rad HS, Rohl J, Stylianou N, Allenby MC, Bazaz SR, Warkiani ME, et al. The Effects of COVID-19 on the Placenta During Pregnancy. *Front Immunol.* 2021;12:743022.
141. Taglauer E, Benarroch Y, Rop K, Barnett E, Sabharwal V, Yarrington C, et al. Consistent localization of SARS-CoV-2 spike glycoprotein and ACE2 over TMPRSS2 predominance in placental villi of 15 COVID-19 positive maternal-fetal dyads. *Placenta.* 2020;100:69-74.
142. Lumbers ER, Delforce SJ, Arthurs AL, Pringle KG. Causes and Consequences of the Dysregulated Maternal Renin-Angiotensin System in Preeclampsia. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:563.
143. Azinheira Nobrega Cruz N, Stoll D, Casarini DE, Bertagnolli M. Role of ACE2 in pregnancy and potential implications for COVID-19 susceptibility. *Clin Sci (Lond).* 2021;135(15):1805-24.
144. Demers-Mathieu V, Do DM, Mathijssen GB, Sela DA, Seppo A, Jarvinen KM, et al. Difference in levels of SARS-CoV-2 S1 and S2 subunits- and nucleocapsid protein-reactive SIgM/IgM, IgG and SIgA/IgA antibodies in human milk. *J Perinatol.* 2021;41(4):850-9.
145. Joseph NT, Dude CM, Verkerke HP, Irby LS, Dunlop AL, Patel RM, et al. Maternal Antibody Response, Neutralizing Potency, and Placental Antibody Transfer After Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection. *Obstet Gynecol.* 2021;138(2):189-97.
146. Butt AA, Chemaitelly H, Al Khal A, Coyle PV, Saleh H, Kaleeckal AH, et al. SARS-CoV-2 vaccine effectiveness in preventing confirmed infection in pregnant women. *J Clin Invest.* 2021;131(23).

147. Shimabukuro TT, Kim SY, Myers TR, Moro PL, Oduyebo T, Panagiotakopoulos L, et al. Preliminary Findings of mRNA Covid-19 Vaccine Safety in Pregnant Persons. *N Engl J Med*. 2021;384(24):2273-82.
148. Gray KJ, Bordt EA, Atyeo C, Deriso E, Akinwunmi B, Young N, et al. Coronavirus disease 2019 vaccine response in pregnant and lactating women: a cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;225(3):303 e1- e17.
149. Ghosn J, Taiwo B, Seedat S, Autran B, Katlama C. Hiv. *Lancet*. 2018;392(10148):685-97.
150. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet [Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>].
151. Ministerio de Sanidad del Gobierno de España. Vigilancia epidemiológica del VIH y SIDA en España en 2021. Actualización 30 de junio de 2022.
152. Deeks SG, Overbaugh J, Phillips A, Buchbinder S. HIV infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15035.
153. Chu C, Selwyn PA. Diagnosis and initial management of acute HIV infection. *Am Fam Physician*. 2010;81(10):1239-44.
154. Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, Sharma S, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*. 2015;373(9):795-807.
155. Pallikkuth S, de Armas L, Rinaldi S, Pahwa S. T Follicular Helper Cells and B Cell Dysfunction in Aging and HIV-1 Infection. *Front Immunol*. 2017;8:1380.
156. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, Menozzi M, Carli F, Garlassi E, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1120-6.
157. Deeks SG, Phillips AN. HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related morbidity. *BMJ*. 2009;338:a3172.
158. Alexandrova Y, Costiniuk CT, Jenabian MA. Pulmonary Immune Dysregulation and Viral Persistence During HIV Infection. *Front Immunol*. 2021;12:808722.
159. Durstenfeld MS, Sun K, Ma Y, Rodriguez F, Secemsky EA, Parikh RV, et al. Association of HIV infection with outcomes among adults hospitalized with COVID-19. *AIDS*. 2022;36(3):391-8.
160. Sigel K, Swartz T, Golden E, Paranjpe I, Somani S, Richter F, et al. Coronavirus 2019 and People Living With Human Immunodeficiency Virus: Outcomes for Hospitalized Patients in New York City. *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(11):2933-8.
161. Geretti AM, Stockdale AJ, Kelly SH, Cevik M, Collins S, Waters L, et al. Outcomes of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Related Hospitalization Among People With Human Immunodeficiency Virus (HIV) in the ISARIC World Health Organization (WHO) Clinical Characterization Protocol (UK): A Prospective Observational Study. *Clin Infect Dis*. 2021;73(7):e2095-e106.

162. Tesoriero JM, Swain CE, Pierce JL, Zamboni L, Wu M, Holtgrave DR, et al. COVID-19 Outcomes Among Persons Living With or Without Diagnosed HIV Infection in New York State. *JAMA Netw Open*. 2021;4(2):e2037069.
163. Bhaskaran K, Rentsch CT, MacKenna B, Schultze A, Mehrkar A, Bates CJ, et al. HIV infection and COVID-19 death: a population-based cohort analysis of UK primary care data and linked national death registrations within the OpenSAFELY platform. *Lancet HIV*. 2021;8(1):e24-e32.
164. Kanwugu ON, Adadi P. HIV/SARS-CoV-2 coinfection: A global perspective. *J Med Virol*. 2021;93(2):726-32.
165. Mullender C, da Costa KAS, Alrubayyi A, Pett SL, Peppia D. SARS-CoV-2 immunity and vaccine strategies in people with HIV. *Oxf Open Immunol*. 2022;3(1):iqac005.
166. Nomah DK, Llibre JM, Diaz Y, Moreno S, Aceiton J, Bruguera A, et al. SARS-CoV-2 Vaccination Coverage and Factors Associated with Low Uptake in a Cohort of People Living with HIV. *Microorganisms*. 2022;10(8).
167. Levy I, Wieder-Finesod A, Litchevsky V, Biber A, Indenbaum V, Olmer L, et al. Immunogenicity and safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in people living with HIV-1. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(12):1851-5.
168. Ruddy JA, Boyarsky BJ, Werbel WA, Bailey JR, Karaba AH, Garonzik-Wang JM, et al. Safety and antibody response to the first dose of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 messenger RNA vaccine in persons with HIV. *AIDS*. 2021;35(11):1872-4.
169. Frater J, Ewer KJ, Ogbe A, Pace M, Adele S, Adland E, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 in HIV infection: a single-arm substudy of a phase 2/3 clinical trial. *Lancet HIV*. 2021;8(8):e474-e85.
170. Kerneis S, Launay O, Turbelin C, Batteux F, Hanslik T, Boelle PY. Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2014;58(8):1130-9.
171. Farhadian N, Sharifi S, Taghadosi M, Farhadian M, Vaziri S. Humoral immune response to two doses of COVID-19 mRNA-based vaccines in people living with HIV: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2023;33(4):e2451.
172. Snyman J, Hwa SH, Krause R, Muema D, Reddy T, Ganga Y, et al. Similar Antibody Responses Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Individuals Living Without and With Human Immunodeficiency Virus on Antiretroviral Therapy During the First South African Infection Wave. *Clin Infect Dis*. 2022;75(1):e249-e56.
173. Noe S, Ochana N, Wiese C, Schabaz F, Von Krosigk A, Heldwein S, et al. Humoral response to SARS-CoV-2 vaccines in people living with HIV. *Infection*. 2022;50(3):617-23.
174. Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras del cáncer en España.; 2024.
175. Liang W, Guan W, Chen R, Wang W, Li J, Xu K, et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020;21(3):335-7.

176. Kuderer NM, Choueiri TK, Shah DP, Shyr Y, Rubinstein SM, Rivera DR, et al. Clinical impact of COVID-19 on patients with cancer (CCC19): a cohort study. *Lancet*. 2020;395(10241):1907-18.
177. Saini KS, Tagliamento M, Lambertini M, McNally R, Romano M, Leone M, et al. Mortality in patients with cancer and coronavirus disease 2019: A systematic review and pooled analysis of 52 studies. *Eur J Cancer*. 2020;139:43-50.
178. Holtan SG, Creedon DJ, Haluska P, Markovic SN. Cancer and pregnancy: parallels in growth, invasion, and immune modulation and implications for cancer therapeutic agents. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(11):985-1000.
179. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res*. 2006;66(2):605-12.
180. Shimizu K, Iyoda T, Okada M, Yamasaki S, Fujii SI. Immune suppression and reversal of the suppressive tumor microenvironment. *Int Immunol*. 2018;30(10):445-54.
181. Wargo JA, Reuben A, Cooper ZA, Oh KS, Sullivan RJ. Immune Effects of Chemotherapy, Radiation, and Targeted Therapy and Opportunities for Combination With Immunotherapy. *Semin Oncol*. 2015;42(4):601-16.
182. Grivas P, Khaki AR, Wise-Draper TM, French B, Hennessy C, Hsu CY, et al. Association of clinical factors and recent anticancer therapy with COVID-19 severity among patients with cancer: a report from the COVID-19 and Cancer Consortium. *Ann Oncol*. 2021;32(6):787-800.
183. Abdul-Jawad S, Bau L, Alaguthurai T, Del Molino Del Barrio I, Laing AG, Hayday TS, et al. Acute Immune Signatures and Their Legacies in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Infected Cancer Patients. *Cancer Cell*. 2021;39(2):257-75 e6.
184. Avanzato VA, Matson MJ, Seifert SN, Pryce R, Williamson BN, Anzick SL, et al. Case Study: Prolonged Infectious SARS-CoV-2 Shedding from an Asymptomatic Immunocompromised Individual with Cancer. *Cell*. 2020;183(7):1901-12 e9.
185. Choi B, Choudhary MC, Regan J, Sparks JA, Padera RF, Qiu X, et al. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2291-3.
186. Alshukairi AN, El-Kafrawy SA, Dada A, Yasir M, Yamani AH, Saeedi MF, et al. Re-infection with a different SARS-CoV-2 clade and prolonged viral shedding in a hematopoietic stem cell transplantation patient. *Int J Infect Dis*. 2021;110:267-71.
187. Baang JH, Smith C, Mirabelli C, Valesano AL, Manthei DM, Bachman MA, et al. Prolonged Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Replication in an Immunocompromised Patient. *J Infect Dis*. 2021;223(1):23-7.
188. Langerbeins P, Hallek M. COVID-19 in patients with hematologic malignancy. *Blood*. 2022;140(3):236-52.
189. van Dam P, Huizing M, Roelant E, Hotterbeekx A, De Winter FHR, Kumar-Singh S, et al. Immunoglobulin G/total antibody testing for SARS-CoV-2: A prospective cohort study of ambulatory patients and health care workers in two Belgian oncology units comparing three commercial tests. *Eur J Cancer*. 2021;148:328-39.

190. Solodky ML, Galvez C, Russias B, Detourbet P, N'Guyen-Bonin V, Herr AL, et al. Lower detection rates of SARS-CoV-2 antibodies in cancer patients versus health care workers after symptomatic COVID-19. *Ann Oncol*. 2020;31(8):1087-8.
191. Mansi L, Spehner L, Daguindau E, Bouiller K, Almotlak H, Stein U, et al. Study of the SARS-CoV-2-specific immune T-cell responses in COVID-19-positive cancer patients. *Eur J Cancer*. 2021;150:1-9.
192. Negahdaripour M, Shafiekhani M, Moezzi SMI, Amiri S, Rasekh S, Bagheri A, et al. Administration of COVID-19 vaccines in immunocompromised patients. *Int Immunopharmacol*. 2021;99:108021.
193. Blanchette PS, Chung H, Pritchard KI, Earle CC, Campitelli MA, Buchan SA, et al. Influenza Vaccine Effectiveness Among Patients With Cancer: A Population-Based Study Using Health Administrative and Laboratory Testing Data From Ontario, Canada. *J Clin Oncol*. 2019;37(30):2795-804.
194. Nakashima K, Aoshima M, Ohfuji S, Suzuki K, Katsurada M, Katsurada N, et al. Immunogenicity of trivalent influenza vaccine in patients with lung cancer undergoing anticancer chemotherapy. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(3):543-50.
195. Peeters M, Verbruggen L, Teuwen L, Vanhoutte G, Vande Kerckhove S, Peeters B, et al. Reduced humoral immune response after BNT162b2 coronavirus disease 2019 messenger RNA vaccination in cancer patients under antineoplastic treatment. *ESMO Open*. 2021;6(5):100274.
196. Cortes A, Casado JL, Longo F, Serrano JJ, Saavedra C, Velasco H, et al. Limited T cell response to SARS-CoV-2 mRNA vaccine among patients with cancer receiving different cancer treatments. *Eur J Cancer*. 2022;166:229-39.
197. Waickman AT, Lu J, Chase C, Fang H, McDowell E, Bingham E, et al. Systemic Cancer Therapy Does Not Significantly Impact Early Vaccine-Elicited SARS-CoV-2 Immunity in Patients with Solid Tumors. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(5).
198. Tran S, Truong TH, Narendran A. Evaluation of COVID-19 vaccine response in patients with cancer: An interim analysis. *Eur J Cancer*. 2021;159:259-74.
199. Riise J, Meyer S, Blaas I, Chopra A, Tran TT, Delic-Sarac M, et al. Rituximab-treated patients with lymphoma develop strong CD8 T-cell responses following COVID-19 vaccination. *Br J Haematol*. 2022;197(6):697-708.
200. Madelon N, Heikkila N, Sabater Royo I, Fontannaz P, Breville G, Lauper K, et al. Omicron-Specific Cytotoxic T-Cell Responses After a Third Dose of mRNA COVID-19 Vaccine Among Patients With Multiple Sclerosis Treated With Ocrelizumab. *JAMA Neurol*. 2022;79(4):399-404.
201. Martin-Vicente M, Carrasco I, Munoz-Gomez MJ, Lobo AH, Mas V, Vigil-Vazquez S, et al. Antibody levels to SARS-CoV-2 spike protein in mothers and children from delivery to six months later. *Birth*. 2023;50(2):418-27.
202. Muñoz-Gómez MJ, Martin-Vicente M, Vigil-Vazquez S, Carrasco I, Lobo AH, Mas V, et al. IgG antibody levels against the SARS-CoV-2 spike protein in mother-child dyads after COVID-19 vaccination. *Infection*. 2024;52:813-24.

203. Martin-Vicente M, Berenguer J, Munoz-Gomez MJ, Diez C, Mican R, Perez-Elias MJ, et al. Similar humoral immune responses against the SARS-CoV-2 spike protein in HIV and non-HIV individuals after COVID-19. *J Infect.* 2022;84(3):418-67.
204. Muñoz-Gómez MJ, Ryan P, Quero-Delgado M, Martin-Vicente M, Cuevas G, Valencia J, et al. Antibody response against SARS-CoV-2 spike protein in people with HIV after COVID-19 vaccination. *medRxiv [preprint].* 2024.
205. Muñoz-Gómez MJ, Ryan P, Quero-Delgado M, Martin-Vicente M, Cuevas G, Valencia J, et al. Immune response against the SARS-CoV-2 spike protein in cancer patients after COVID-19 vaccination during the Omicron wave: a prospective study. *Journal of Infection and Public Health.* 2024;17(7).
206. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367(6483):1260-3.
207. Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, DiVenere AM, Kuo HC, Javanmardi K, et al. Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science.* 2020;369(6510):1501-5.
208. Henderson R, Edwards RJ, Mansouri K, Janowska K, Stalls V, Gobeil SMC, et al. Controlling the SARS-CoV-2 spike glycoprotein conformation. *Nat Struct Mol Biol.* 2020;27(10):925-33.
209. Gao Y, Chen Y, Liu M, Shi S, Tian J. Impacts of immunosuppression and immunodeficiency on COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020;81(2):e93-e5.
210. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature medicine.* 2021;27(7):1205-11.
211. Jamieson DJ, Rasmussen SA. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2):177-86.
212. Overton ET, Sungkanuparph S, Powderly WG, Seyfried W, Groger RK, Aberg JA. Undetectable plasma HIV RNA load predicts success after hepatitis B vaccination in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis.* 2005;41(7):1045-8.
213. George VK, Pallikkuth S, Parmigiani A, Alcaide M, Fischl M, Arheart KL, et al. HIV infection Worsens Age-Associated Defects in Antibody Responses to Influenza Vaccine. *J Infect Dis.* 2015;211(12):1959-68.
214. Almendro-Vázquez P, Laguna-Goya R, Ruiz-Ruigomez M, Utrero-Rico A, Lalueza A, Maestro de la Calle G, et al. Longitudinal dynamics of SARS-CoV-2-specific cellular and humoral immunity after natural infection or BNT162b2 vaccination. *PLoS Pathog.* 2021;17(12):e1010211.
215. Moss P, Berenbaum F, Curigliano G, Grupper A, Berg T, Pather S. Benefit-risk evaluation of COVID-19 vaccination in special population groups of interest. *Vaccine.* 2022;40(32):4348-60.

216. Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez MSA, Zheng C, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *J Med Virol.* 2022;94(5):1825-32.
217. Sherer ML, Lei J, Creisher PS, Jang M, Reddy R, Voegtline K, et al. Pregnancy alters interleukin-1 beta expression and antiviral antibody responses during severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(3):301 e1- e14.
218. Atyeo C, Pullen KM, Bordt EA, Fischinger S, Burke J, Michell A, et al. Compromised SARS-CoV-2-specific placental antibody transfer. *Cell.* 2021;184(3):628-42 e10.
219. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;26(8):1200-4.
220. Kubiak JM, Murphy EA, Yee J, Cagino KA, Friedlander RL, Glynn SM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 serology levels in pregnant women and their neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(1):73 e1- e7.
221. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol.* 2020;5(48).
222. Liu L, Wang P, Nair MS, Yu J, Rapp M, Wang Q, et al. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature.* 2020;584(7821):450-6.
223. Munoz FM, Bond NH, Maccato M, Pinell P, Hammill HA, Swamy GK, et al. Safety and immunogenicity of tetanus diphtheria and acellular pertussis (Tdap) immunization during pregnancy in mothers and infants: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2014;311(17):1760-9.
224. Martinez DR, Fong Y, Li SH, Yang F, Jennewein MF, Weiner JA, et al. Fc Characteristics Mediate Selective Placental Transfer of IgG in HIV-Infected Women. *Cell.* 2019;178(1):190-201 e11.
225. Flannery DD, Gouma S, Dhudasia MB, Mukhopadhyay S, Pfeifer MR, Woodford EC, et al. Assessment of Maternal and Neonatal Cord Blood SARS-CoV-2 Antibodies and Placental Transfer Ratios. *JAMA Pediatr.* 2021.
226. Heininger U, Riffelmann M, Leineweber B, Wirsing von Koenig CH. Maternally derived antibodies against Bordetella pertussis antigens pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in preterm and full term newborns. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(5):443-5.
227. Edlow AG, Li JZ, Collier AY, Atyeo C, James KE, Boatman AA, et al. Assessment of Maternal and Neonatal SARS-CoV-2 Viral Load, Transplacental Antibody Transfer, and Placental Pathology in Pregnancies During the COVID-19 Pandemic. *JAMA Netw Open.* 2020;3(12):e2030455.
228. Rottenstreich A, Zarbiv G, Oiknine-Djian E, Zigran R, Wolf DG, Porat S. Efficient Maternofetal Transplacental Transfer of Anti- Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Spike Antibodies After Antenatal SARS-CoV-2 BNT162b2 Messenger RNA Vaccination. *Clin Infect Dis.* 2021;73(10):1909-12.

229. Collier AY, McMahan K, Yu J, Tostanoski LH, Aguayo R, Ansel J, et al. Immunogenicity of COVID-19 mRNA Vaccines in Pregnant and Lactating Women. *JAMA*. 2021;325(23):2370-80.
230. Fenizia C, Biasin M, Cetin I, Vergani P, Mileto D, Spinillo A, et al. Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy. *Nat Commun*. 2020;11(1):5128.
231. Ben-Hur H, Gurevich P, Elhayany A, Avinoach I, Schneider DF, Zusman I. Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *Int J Mol Med*. 2005;16(3):401-7.
232. Egerup P, Fich Olsen L, Christiansen AH, Westergaard D, Severinsen ER, Hviid KVR, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antibodies at Delivery in Women, Partners, and Newborns. *Obstet Gynecol*. 2021;137(1):49-55.
233. Crovetto F, Crispi F, Llorba E, Pascal R, Larroya M, Trilla C, et al. Impact of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection on Pregnancy Outcomes: A Population-based Study. *Clin Infect Dis*. 2021;73(10):1768-75.
234. Wang Y, Zhang L, Sang L, Ye F, Ruan S, Zhong B, et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest*. 2020;130(10):5235-44.
235. Liu X, Wang J, Xu X, Liao G, Chen Y, Hu CH. Patterns of IgG and IgM antibody response in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):1269-74.
236. Hou H, Wang T, Zhang B, Luo Y, Mao L, Wang F, et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunology*. 2020;9(5):e01136.
237. Wang X, Yang P, Zheng J, Liu P, Wei C, Guo J, et al. Dynamic changes of acquired maternal SARS-CoV-2 IgG in infants. *Sci Rep*. 2021;11(1):8021.
238. Gao J, Li W, Hu X, Wei Y, Wu J, Luo X, et al. Disappearance of SARS-CoV-2 Antibodies in Infants Born to Women with COVID-19, Wuhan, China. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(10):2491-4.
239. Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr*. 2010;156(2 Suppl):S8-15.
240. Fox A, Marino J, Amanat F, Krammer F, Hahn-Holbrook J, Zolla-Pazner S, et al. Robust and Specific Secretory IgA Against SARS-CoV-2 Detected in Human Milk. *iScience*. 2020;23(11):101735.
241. Pace RM, Williams JE, Jarvinen KM, Belfort MB, Pace CDW, Lackey KA, et al. Characterization of SARS-CoV-2 RNA, Antibodies, and Neutralizing Capacity in Milk Produced by Women with COVID-19. *mBio*. 2021;12(1).
242. Alrubayyi A, Gea-Mallorqui E, Touizer E, Hameiri-Bowen D, Kopycinski J, Charlton B, et al. Characterization of humoral and SARS-CoV-2 specific T cell responses in people living with HIV. *Nat Commun*. 2021;12(1):5839.
243. Spinelli MA, Lynch KL, Yun C, Glidden DV, Peluso MJ, Henrich TJ, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence, and IgG concentration and pseudovirus neutralising antibody titres after

- infection, compared by HIV status: a matched case-control observational study. *Lancet HIV*. 2021;8(6):e334-e41.
244. Otero S, Miller ES, Sunderraj A, Shanes ED, Sakowicz A, Goldstein JA, et al. Maternal Antibody Response and Transplacental Transfer Following Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection or Vaccination in Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2023;76(2):220-8.
245. Falsaperla R, Leone G, Familiari M, Ruggieri M. COVID-19 vaccination in pregnant and lactating women: a systematic review. *Expert Rev Vaccines*. 2021;20(12):1619-28.
246. Matsui Y, Li L, Prah M, Cassidy AG, Ozarslan N, Golan Y, et al. Neutralizing antibody activity against SARS-CoV-2 variants in gestational age-matched mother-infant dyads after infection or vaccination. *JCI Insight*. 2022;7(12).
247. Theiler RN, Wick M, Mehta R, Weaver AL, Virk A, Swift M. Pregnancy and birth outcomes after SARS-CoV-2 vaccination in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2021;3(6):100467.
248. Halasa NB, Olson SM, Staat MA, Newhams MM, Price AM, Pannaraj PS, et al. Maternal Vaccination and Risk of Hospitalization for Covid-19 among Infants. *N Engl J Med*. 2022;387(2):109-19.
249. Rathberger K, Hausler S, Wellmann S, Weigl M, Langhammer F, Bazzano MV, et al. SARS-CoV-2 in pregnancy and possible transfer of immunity: assessment of peripartal maternal and neonatal antibody levels and a longitudinal follow-up. *J Perinat Med*. 2021;49(6):702-8.
250. Nir O, Schwartz A, Toussia-Cohen S, Leibovitch L, Strauss T, Asraf K, et al. Maternal-neonatal transfer of SARS-CoV-2 immunoglobulin G antibodies among parturient women treated with BNT162b2 messenger RNA vaccine during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2022;4(1):100492.
251. Rottenstreich A, Zerbiv G, Oiknine-Djian E, Vorontsov O, Zigran R, Kleinstern G, et al. Timing of SARS-CoV-2 vaccination during the third trimester of pregnancy and transplacental antibody transfer: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(3):419-25.
252. Popescu DE, Citu C, Jura AMC, Lungu N, Navolan D, Craina M, et al. The Benefits of Vaccination against SARS-CoV-2 during Pregnancy in Favor of the Mother/Newborn Dyad. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(6).
253. Burns MD, Muir C, Atyeo C, Davis JP, Demidkin S, Akinwunmi B, et al. Relationship between Anti-Spike Antibodies and Risk of SARS-CoV-2 Infection in Infants Born to COVID-19 Vaccinated Mothers. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(10).
254. Kalafat E, Magee LA, von Dadelszen P, Heath P, Khalil A. COVID-19 booster doses in pregnancy and global vaccine equity. *Lancet*. 2022;399(10328):907-8.
255. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:985646.
256. Yang YJ, Murphy EA, Singh S, Sukhu AC, Wolfe I, Adurty S, et al. Association of Gestational Age at Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccination, History of Severe Acute

Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection, and a Vaccine Booster Dose With Maternal and Umbilical Cord Antibody Levels at Delivery. *Obstet Gynecol.* 2022;139(3):373-80.

257. Kugelman N, Nahshon C, Shaked-Mishan P, Cohen N, Lahav Sher M, Barsha H, et al. Third trimester messenger RNA COVID-19 booster vaccination upsurge maternal and neonatal SARS-CoV-2 immunoglobulin G antibody levels at birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022;274:148-54.

258. Cortes-Sarabia K, Gutierrez-Torres M, Mendoza-Renteria EM, Leyva-Vazquez MA, Vences-Velazquez A, Hernandez-Sotelo D, et al. Variation in the Humoral Immune Response Induced by the Administration of the BNT162b2 Pfizer/BioNTech Vaccine: A Systematic Review. *Vaccines (Basel).* 2022;10(6).

259. Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, et al. Antibody Responses in Seropositive Persons after a Single Dose of SARS-CoV-2 mRNA Vaccine. *N Engl J Med.* 2021;384(14):1372-4.

260. Knudsen ML, Nielsen SD, Heftdal LD. Immune responses to mRNA-based vaccines given as a third COVID-19 vaccine dose in people living with HIV-a literature review. *APMIS.* 2024;132(4):236-44.

261. Woldemeskel BA, Karaba AH, Garliss CC, Beck EJ, Wang KH, Laeyendecker O, et al. The BNT162b2 mRNA Vaccine Elicits Robust Humoral and Cellular Immune Responses in People Living With Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Clin Infect Dis.* 2022;74(7):1268-70.

262. Lombardi A, Butta GM, Donnici L, Bozzi G, Oggioni M, Bono P, et al. Anti-spike antibodies and neutralising antibody activity in people living with HIV vaccinated with COVID-19 mRNA-1273 vaccine: a prospective single-centre cohort study. *Lancet Reg Health Eur.* 2022;13:100287.

263. Verburgh ML, van Pul L, Grobben M, Boyd A, Wit F, van Nuenen AC, et al. Robust Vaccine-Induced as Well as Hybrid B- and T-Cell Immunity across SARS-CoV-2 Vaccine Platforms in People with HIV. *Microbiol Spectr.* 2023;11(3):e0115523.

264. Spinelli MA, Peluso MJ, Lynch KL, Yun C, Glidden DV, Henrich TJ, et al. Differences in Post-mRNA Vaccination Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Immunoglobulin G (IgG) Concentrations and Surrogate Virus Neutralization Test Response by Human Immunodeficiency Virus (HIV) Status and Type of Vaccine: A Matched Case-Control Observational Study. *Clin Infect Dis.* 2022;75(1):e916-e9.

265. Tang K, Wei Z, Wu X. Impaired serological response to COVID-19 vaccination following anticancer therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2022;94(10):4860-8.

266. Greenberger LM, Saltzman LA, Senefeld JW, Johnson PW, DeGennaro LJ, Nichols GL. Antibody response to SARS-CoV-2 vaccines in patients with hematologic malignancies. *Cancer Cell.* 2021;39(8):1031-3.

267. Perry C, Luttwak E, Balaban R, Shefer G, Morales MM, Aharon A, et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv.* 2021;5(16):3053-61.

268. Herishanu Y, Avivi I, Aharon A, Shefer G, Levi S, Bronstein Y, et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2021;137(23):3165-73.
269. Ghione P, Gu JJ, Attwood K, Torka P, Goel S, Sundaram S, et al. Impaired humoral responses to COVID-19 vaccination in patients with lymphoma receiving B-cell-directed therapies. *Blood*. 2021;138(9):811-4.
270. Shroff RT, Chalasani P, Wei R, Pennington D, Quirk G, Schoenle MV, et al. Immune responses to two and three doses of the BNT162b2 mRNA vaccine in adults with solid tumors. *Nat Med*. 2021;27(11):2002-11.
271. Rottenberg Y, Grinshpun A, Ben-Dov IZ, Oiknine Djian E, Wolf DG, Kadouri L. Assessment of Response to a Third Dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA Vaccine in Patients With Solid Tumors Undergoing Active Treatment. *JAMA Oncol*. 2022;8(2):300-1.
272. Fenioux C, Teixeira L, Fourati S, Melica G, Lelievre JD, Gallien S, et al. SARS-CoV-2 Antibody Response to 2 or 3 Doses of the BNT162b2 Vaccine in Patients Treated With Anticancer Agents. *JAMA Oncol*. 2022;8(4):612-7.
273. Shapiro LC, Thakkar A, Campbell ST, Forest SK, Pradhan K, Gonzalez-Lugo JD, et al. Efficacy of booster doses in augmenting waning immune responses to COVID-19 vaccine in patients with cancer. *Cancer Cell*. 2022;40(1):3-5.
274. Munro APS, Janani L, Cornelius V, Aley PK, Babbage G, Baxter D, et al. Safety and immunogenicity of seven COVID-19 vaccines as a third dose (booster) following two doses of ChAdOx1 nCov-19 or BNT162b2 in the UK (COV-BOOST): a blinded, multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021;398(10318):2258-76.
275. Lim SH, Stuart B, Joseph-Pietras D, Johnson M, Campbell N, Kelly A, et al. Immune responses against SARS-CoV-2 variants after two and three doses of vaccine in B-cell malignancies: UK PROSECO study. *Nat Cancer*. 2022;3(5):552-64.
276. Thakkar A, Pradhan K, Duva B, Carreno JM, Sahu S, Thiruthuvanathan V, et al. Study of efficacy and longevity of immune response to third and fourth doses of COVID-19 vaccines in patients with cancer: A single arm clinical trial. *Elife*. 2023;12.
277. Lu Y, Yuan X, Wang M, He Z, Li H, Wang J, et al. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies. *J Hematol Oncol*. 2022;15(1):47.
278. Ng HY, Leung WK, Cheung KS. Association between Gut Microbiota and SARS-CoV-2 Infection and Vaccine Immunogenicity. *Microorganisms*. 2023;11(2).
279. Malik JA, Ahmed S, Yaseen Z, Alanazi M, Alharby TN, Alshammari HA, et al. Association of SARS-CoV-2 and Polypharmacy with Gut-Lung Axis: From Pathogenesis to Treatment. *ACS Omega*. 2022;7(38):33651-65.
280. Hoffmann M, Kruger N, Schulz S, Cossmann A, Rocha C, Kempf A, et al. The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic. *Cell*. 2022;185(3):447-56 e11.

281. Shen CJ, Fu YC, Lin YP, Shen CF, Sun DJ, Chen HY, et al. Evaluation of Transplacental Antibody Transfer in SARS-CoV-2-Immunized Pregnant Women. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(1).
282. Wei Z, He J, Wang C, Bao J, Leng T, Chen F. The importance of booster vaccination in the context of Omicron wave. *Front Immunol*. 2022;13:977972.
283. Garcia-Beltran WF, St Denis KJ, Hoelzemer A, Lam EC, Nitido AD, Sheehan ML, et al. mRNA-based COVID-19 vaccine boosters induce neutralizing immunity against SARS-CoV-2 Omicron variant. *Cell*. 2022;185(3):457-66.e4.
284. Muik A, Lui BG, Wallisch AK, Bacher M, Muhl J, Reinholz J, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron by BNT162b2 mRNA vaccine-elicited human sera. *Science*. 2022;375(6581):678-80.
285. Davis-Gardner ME, Lai L, Wali B, Samaha H, Solis D, Lee M, et al. Neutralization against BA.2.75.2, BQ.1.1, and XBB from mRNA Bivalent Booster. *N Engl J Med*. 2023;388(2):183-5.
286. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021;34(6):108728.
287. Oosting SF, van der Veldt AAM, GeurtsvanKessel CH, Fehrmann RSN, van Binnendijk RS, Dingemans AC, et al. mRNA-1273 COVID-19 vaccination in patients receiving chemotherapy, immunotherapy, or chemoimmunotherapy for solid tumours: a prospective, multicentre, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2021;22(12):1681-91.
288. Fendler A, de Vries EGE, GeurtsvanKessel CH, Haanen JB, Wormann B, Turajlic S, et al. COVID-19 vaccines in patients with cancer: immunogenicity, efficacy and safety. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(6):385-401.

8. RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Variantes de preocupación designadas por la Organización Mundial de la Salud desde el inicio de la pandemia.

Tabla 2. Vacunas autorizadas por la Agencia Europea de Medicamentos en marzo de 2024.

Figura 1. Esquema de la clasificación taxonómica de los SARSr-CoVs, especie que engloba el SARS-CoV-2.

Figura 2. Casos de COVID-19 por región y muertes globales notificadas cada 4 semanas desde el inicio de la pandemia, a 26 de mayo de 2024.

Figura 3. Tropismo y daño multiorgánico asociado con la infección por SARS-CoV-2.

Figura 4. Esquema de la estructura del SARS-CoV-2.

Figura 5. Estructura del genoma del SARS-CoV-2. (A) Representación de las poliproteínas, pp1a y pp1ab, que dan lugar a las proteínas no estructurales y de las 4 proteínas estructurales (S, E, M, N). (B) Representación de la estructura de la proteína S del SARS-CoV-2.

Figura 6. Mecanismos de entrada del SARS-CoV-2 en la célula huésped.

Figura 7. Mecanismos de replicación viral del SARS-CoV-2 en la célula huésped.

Figura 8. Evolución de los sublinajes de Ómicron desde la semana 48 de 2021 hasta la semana 23 de 2023 (29.11.2021 a 11.06.2023).

Figura 9. Distribución mundial de las vacunas administradas por cada 100 habitantes a nivel mundial a fecha 31 de diciembre de 2023.

Figura 10. Respuesta inmune en la infección por SARS-CoV-2.

Figura 11. Representación de la cinética en la respuesta inmune desarrollada en COVID-19, para casos leves o moderados (A) y casos más graves (B).

Figura 12. Representación de la magnitud y duración de los títulos de anticuerpos neutralizantes contra la COVID-19 tras la infección, vacunación o ambas.

Figura 13. Representación de los cambios en la respuesta inmune durante el periodo de gestación.

Figura 14. Evolución clínica de la infección por el VIH en pacientes sin tratamiento.

Figura 15. Representación esquemática del estado inmunosupresor en el ambiente tumoral.

Figura 16. Representación esquemática de los resultados obtenidos en nuestros estudios.

