

Artículo

# IgA e IgG de reactividad cruzada amplia contra coronavirus humanos en la leche inducidos por la vacunación e infección por COVID-19

Jiong Wang <sup>1</sup>, Bridget E. Young <sup>2,†</sup>, Dongmei Li <sup>3,†</sup>, Antti Seppo <sup>2</sup>, Qian Zhou <sup>1</sup>, Alexander Wiltse <sup>1</sup>, Anna Nowak-Wegrzyn <sup>4,5</sup>, Katherine Murphy <sup>2</sup>, Kaili Widrick <sup>2</sup>, Nicole Diaz <sup>2</sup>, Joseline Cruz-Vasquez <sup>4</sup>, Kirsi M. Järvinen <sup>2,\*,†</sup> y Martin S. Zand <sup>1,3,\*,†</sup>



**Citación:** Wang, J.; Young, B.E.; Li, D.; Seppo, A.; Zhou, Q.; Wiltse, A.; Nowak-Wegrzyn, A.; Murphy, K.; Widrick, K.; Díaz, N.; et al. Ancho IgA e IgG de reactividad cruzada contra Coronavirus humanos en la leche inducidos por la vacunación e infección por COVID-19. *Vacunas* **2022**, *10*, 980. <https://doi.org/10.3390/vaccines10060980>

Editor académico: Martin H. Bluth

Recibido: 18 mayo 2022

Aprobado: 16 de junio de 2022

Publicado: 20 junio 2022

**Nota del editor:** MDPI se mantiene neutral con respecto a las reclamaciones jurisdiccionales en los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.



**Copyright:** © 2022 por los autores. Licenciario MDPI, Basilea, Suiza. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de Creative Commons Licencia de atribución (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

<sup>1</sup> Departamento de Medicina, División de Nefrología, Universidad de Rochester, Rochester, NY 14642, ESTADOS UNIDOS; [jjong\\_wang@urmc.rochester.edu](mailto:jjong_wang@urmc.rochester.edu) (J.W.); [qian\\_zhou@urmc.rochester.edu](mailto:qian_zhou@urmc.rochester.edu)

u (Q.Z.); [awiltse@som.umaryland.edu](mailto:awiltse@som.umaryland.edu) (A.W.)

<sup>2</sup> Departamento de Pediatría, División de Alergia e Inmunología, Universidad de Rochester, Rochester, NY 14642, EE.UU.; [bridget\\_young@urmc.rochester.edu](mailto:bridget_young@urmc.rochester.edu) (B.E.Y.); [antti\\_seppo@urmc.rochester.edu](mailto:antti_seppo@urmc.rochester.edu) (A.S.); [katherine\\_murphy@urmc.rochester.edu](mailto:katherine_murphy@urmc.rochester.edu) (K.M.); [kaili\\_widrick@urmc.rochester.edu](mailto:kaili_widrick@urmc.rochester.edu) (K.W.); [nicole\\_diaz@urmc.rochester.edu](mailto:nicole_diaz@urmc.rochester.edu) (N.D.)

<sup>3</sup> Instituto de Ciencias Clínicas y Traslacionales, Universidad de Rochester, Rochester, NY 14642, Estados Unidos; [dongmei\\_li@urmc.rochester.edu](mailto:dongmei_li@urmc.rochester.edu)

<sup>4</sup> Departamento de Pediatría, División de Alergia e Inmunología Pediátrica, Hassenfeld Children's Hospital, NYU Grossman School of Medicine, Nueva York, NY 10016, EE. UU.; [anna.nowak-wegrzyn@nyulangone.org](mailto:anna.nowak-wegrzyn@nyulangone.org) (A.N.-W.); [joseline.cruzvasquez@nyulangone.org](mailto:joseline.cruzvasquez@nyulangone.org) (J.C.-V.)

<sup>5</sup> Departamento de Pediatría, Gastroenterología y Nutrición, Collegium Medicum, Universidad de Warmia y Mazury, 10-719 Olsztyn, Polonia

\* Correspondencia: [kirsi\\_jarvinen-seppo@urmc.rochester.edu](mailto:kirsi_jarvinen-seppo@urmc.rochester.edu) (K.M.J.); [martin\\_zand@urmc.rochester.edu](mailto:martin_zand@urmc.rochester.edu) (M.S.Z.)

† Estos autores contribuyeron igualmente a este trabajo.

**Resumen:** Actualmente no está claro si la infección por SARS-CoV-2 o la vacunación con ARNm también puede inducir IgG e IgA contra los coronavirus humanos comunes (HCoV) en los padres lactantes. Aquí analizamos prospectivamente la leche humana (HM) y las muestras de sangre de padres lactantes para medir los patrones temporales de las respuestas IgA e IgG anti-SARS-CoV-2 específicas y anti-HCoV de reactividad cruzada. Se analizaron dos cohortes: una cohorte de vacunación (n = 30) que recibió vacunas basadas en ARNm para COVID-19 (ARNm-1273 o BNT162b2) y una cohorte de infección (n = 45) con enfermedad COVID-19. Se recogieron muestras longitudinales de SANGRE de HM y punción en el dedo antes y después de la vacunación o, para los sujetos infectados, en 5 puntos de tiempo 14-28 días después del diagnóstico confirmado. Los niveles de anticuerpos IgA e IgG anti-pico(S) y antinucleocápside(N) contra el SARS-CoV-2 y los HCoV se midieron mediante inmunoensayo multiplex (mPlex-CoV). Encontramos que la vacunación aumentó significativamente los niveles de IgA e IgG anti-S en HM. En contraste, mientras que los niveles de IgG aumentaron después de una segunda dosis de vacuna, la sangre y la HM IgA comenzaron a disminuir. Además, los niveles de HM y anti-S IgG en sangre se correlacionaron significativamente, pero los niveles de IgA anti-S no lo fueron. La infección aguda por SARS2 provocó IgG e IgA anti-S que mostraron correlaciones mucho más altas entre HM y sangre en comparación con la vacunación. La vacunación y la infección fueron capaces de aumentar significativamente la IgG ampliamente reactiva cruzada que reconoce los HCoV en HM y sangre que los anticuerpos IgA en HM y sangre. Además, la reactividad cruzada más amplia de IgG en HM versus sangre indica que la vacunación e infección por COVID-19 podría proporcionar inmunidad pasiva a través de HM para los bebés amamantados no solo contra el SARS-CoV-2 sino también contra los coronavirus del resfriado común.

**Palabras llave:** leche humana anticuerpos IgA e IgG; Respuesta de anticuerpos contra el SARS-CoV-2; coronavirus comunes humanos (HCoVs); anticuerpos de reactividad cruzada; Vacuna contra el COVID-19; Infección por COVID-19

## 1. Introducción

El virus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) es responsable de la pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), causando más de 5 millones de muertes en todo el mundo a partir de enero de 2022 [1]. El SARS-CoV-2 pertenece a la familia de

los coronavirus zoonóticos [2]. Los coronavirus humanos incluyen el SARS-CoV-1 (SARS-CoV), el Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y los endémicos  $\beta$ - (HCoV-OC43, HCoV-HKU1) y los coronavirus del resfriado  $\alpha$ -humano (HCoV-229E, HCoV-NL63) [3], que son responsables del 30% de las infecciones respiratorias superiores leves [4,5]. Los principales epítomos inmunodominantes para los HCoV se encuentran en la glicoproteína de pico homotrimérico (S) [2], y el SARS-CoV-2 S comparte estas homologías de secuencia con otros  $\beta$ -HCoV. La subunidad S1 de la proteína S N-terminal tiene un dominio de unión al receptor (RBD), que media la unión viral a través de interacciones de alta afinidad con la enzima convertidora de angiotensina de la célula huésped 2 (ACE2). En contraste, la subunidad S2 es responsable de la fusión de la membrana del virus y las células [6], y muestra más homología de secuencia entre cepas de HCoV que la subunidad S1 [7,8].

Las personas con infección sintomática por COVID-19 exhiben aumentos en una amplia gama de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 [6,9,10]. Los patrones de seroconversión en la mayoría de los individuos son similares a los de las respuestas inmunes secundarias, y la respuesta rápida y robusta de anticuerpos se correlacionó con la gravedad de la enfermedad [6]. Nuestro estudio clínico previo sugirió que los anticuerpos reactivos OC43 preexistentes están involucrados en la respuesta humoral temprana al SARS-CoV-2 [11]. Otros grupos han informado que los anticuerpos reactivos cruzados preexistentes o la inmunidad de las células B de memoria podrían proteger contra COVID-19 [12–14].

La leche humana (HM) proporciona protección contra diversas enfermedades infecciosas, incluidas las enfermedades respiratorias en los bebés [15]. Esta protección se debe en parte a la inmunidad pasiva transferida a través de las inmunoglobulinas maternas [16]. La IgA secretora anti-SARS-CoV-2 está presente en HM durante y después de la infección aguda [17,18], y esos anticuerpos neutralizan el SARSCoV-2 in vitro [19,20]. Actualmente, la vacunación con ARNm de COVID-19 es la forma más efectiva de prevenir la infección y transmisión por SARS-CoV-2 [21]. Los estudios también han demostrado que la vacunación con ARNm puede provocar títulos altos de anticuerpos IgA e IgG en HM [22,23], que tienen actividad neutralizante contra el SARS-CoV-2 [20]. La mayoría de la evidencia sugiere que la transmisión del SARS-CoV-2 es abrumadoramente aérea, con evidencia mínima de transmisión a través de HM [24,25]. Por lo tanto, la transferencia pasiva de anticuerpos maternos en HM puede proporcionar protección neonatal contra la infección por SARS-CoV-2 y mitigar la enfermedad grave.

La reactividad cruzada de anticuerpos a través de diferentes cepas virales es una fuente importante de inmunidad preexistente a las variantes virales emergentes [10,26,27]. Del mismo modo, la vacunación contra una nueva cepa viral puede "volver a impulsar" la inmunidad de reactividad cruzada a cepas previamente circulantes [28,29]. Este parece ser el caso del SARS-CoV-2. Se ha informado que las muestras de HM prepandémicas exhibieron reactividad cruzada de bajo nivel a la subunidad RBD del SARS-CoV-2 [18]. Sin embargo, no está claro si la infección por SARS-CoV-2 o la vacunación pueden producir anticuerpos contra los HCoV comunes en HM o en la sangre, y las características de dichos anticuerpos de reactividad cruzada provocados. Este estudio evaluó cuantitativamente los anticuerpos anti-S y anti-N HM IgA e IgG contra el SARS-CoV-2, el SARS-CoV-1 y otros cuatro HCoV comunes (OC43, HKU1, NL63, 229E) después de la infección por COVID-19 y la vacunación.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Cohortes de estudio

Este estudio fue aprobado por las Juntas de Revisión Institucional (IRB) de la Escuela de Medicina Grossman de la NYU (IRB i20-00601) y el Centro Médico de la Universidad de Rochester (IRB STUDY00004889). Todos los participantes dieron su consentimiento informado. La información y los datos de investigación de todos los sujetos se codificaron de conformidad con las Regulaciones del Departamento de Salud y Servicios Humanos para la Protección de Sujetos Humanos (45 CFR 46.101 (b) (4)).

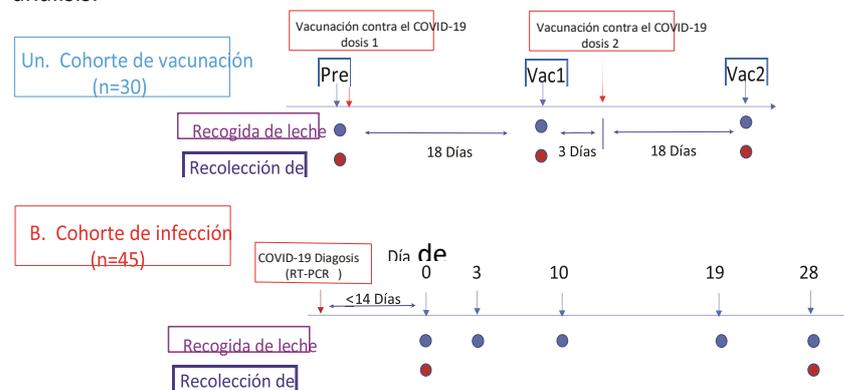
*Cohorte infectada.* Cuarenta y seis padres lactantes con infección por COVID-19 fueron reclutados a nivel nacional entre julio de 2020 y abril de 2021. Para ser elegibles, los participantes debían tener un diagnóstico de RT-PCR COVID-19 dentro de los 14 días anteriores y proporcionar

HM a un bebé  $\leq$  de 6 meses de edad. Los sujetos elegibles de  $\geq$  18 años recolectaron muestras de leche en casa los días 0, 3, 7, 10 y 28 como se describe a continuación.

**Cohorte vacunada.** Treinta participantes programados para recibir su primera dosis de Pfizer-BioNTech / BNT162b2 o Moderna / mRNA-1273 entre diciembre de 2020 y enero de 2021, y amamantar con un bebé de cualquier edad. El diagnóstico conocido y previo de COVID-19 de madre o bebé fue un criterio de exclusión. se recogieron muestras de leche y punción en el dedo antes de recibir la primera dosis de la vacuna (Pre), 18 días después de la primera dosis (Vac1) y 18 días después de la segunda dosis (Vac2).

## 2.2. Recogida de muestras

Consulte la Figura 1 para obtener más información. **Muestras de HM:** Todos los participantes recolectaron leche y muestras de sangre capilar por punción en el dedo en casa como se describió anteriormente [20]. Las muestras de HM de 5 a 10 ml se almacenaron en el congelador de la casa a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su transporte al laboratorio, empaquetadas en hielo por correo nocturno. Las muestras de leche se hilaron a  $10.000\times g$  durante 10 min a 4 grados para eliminar la leche descremada en el laboratorio, y se alicitaron y almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis.



**Figura 1.** Cohortes de estudio y diseño experimental. Este estudio prospectivo consta de dos cohortes: **(A)** La cohorte de vacunación inscribió a padres lactantes ( $n = 30$ ) mayores de 18 años sin antecedentes de infección por COVID-19 y programada para recibir la vacuna pfizer-BioNTech/BNT162b2 o Moderna/mRNA1273 mRNA. Las muestras de leche humana y sangre de punción en el dedo se recolectaron antes de la vacunación y 18 días después de la primera y segunda dosis cada una. **(B)** La cohorte de infección inscribió a padres lactantes que habían recibido un diagnóstico de RT-PCR COVID-19 en los 14 días anteriores. Las muestras de leche humana se recolectaron en el día de inscripción 0, luego en los días 3, 10, 19 y 28. Las muestras de sangre por punción en el dedo se recogieron los días 0 y 28.

**Muestras de sangre por punción en el dedo:** Todas las muestras de sangre capilar se recogieron con un dispositivo de micromuestreo de absorción volumétrica (VAMS) de  $10\ \mu\text{L}$  (Mitra Collection Kit; Neoteryx, CA, USA) como se publicó anteriormente [30]. Cada sujeto recolectó dos hisopos volumétricos separados de  $10\ \mu\text{L}$ , para un total de  $20\ \mu\text{L}$  de sangre. Todas las puntas VAMS se colocaron en recipientes sellados con paquetes de desecante de sílice inmediatamente después del muestreo, y se almacenaron en el congelador doméstico a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se devolvieron al laboratorio con las muestras HM. Una vez en el laboratorio, las muestras se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis. Para extraer los anticuerpos, las puntas VAMS se empaparon individualmente en tampón de extracción de  $200\ \mu\text{L}$  (PBS + 1% BSA + 0.5% Tween) en placas de 96 pocillos de 1 ml de profundidad (Masterblock, GBO, Austria) y se agitaron durante la noche. El eluyente se almacenó a  $4^{\circ}\text{C}$  y se analizó mediante ensayo multiplex en 24 h.

## 2.3. Ensayo mPlex-Cov

El ensayo mPlex-CoV, desarrollado en nuestro laboratorio, es un inmunoensayo basado en Luminex que puede estimar simultáneamente las concentraciones de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 y otros HCoV a partir de muestras de sangre por punción en el dedo. Brevemente, en la casa expresada y purificada trimerizada

La proteína S y la proteína N del SARS-CoV-2, así como las proteínas recombinantes de dominio S1, S2 y RBD (SinoBio, Beijing, China), se acoplaron a perlas magnéticas de microesfera (Luminex, Austin, TX, EE. UU.) a una concentración de 40 pmole/10<sup>6</sup> perlas utilizando el kit de acoplamiento de anticuerpos xMAP® (Luminex, Austin, TX, EE. UU.). Para el ensayo, 200 µL de eluyente de dispositivos VAMS (1:20) se diluyeron aún más 1:50 (ensayo IgG), o 1:10 (IgA) para producir diluciones finales de muestra de 1:1000 (IgG) y 1:200 (IgA). Se agregó un volumen de 50 µL de cada muestra diluida a pozos duplicados de placas de pozos negros de fondo transparente de 96 (Microplate, GBO, Kremsmünster, Austria), con 50 µL del panel de cuentas mPLex-CoV agregado a cada pozo, como se describió anteriormente [11,30]. Después del lavado, se utilizaron anticuerpos secundarios IgG e IgA conjugados con PE humano de cabra (Southern Biotech, Birmingham, AL, EE. UU., Cal No: 2040-09, 2050-09) como reactivo de detección. El cálculo de las concentraciones de anticuerpos IgG contra cada cepa del virus HCoV se realizó utilizando el software Bio-Plex Manager™ 6.2 (Bio-Rad Co., Hercules, CA, USA) con curvas estándar de IgG e IgA generadas por muestras de suero positivas estándar HCoV internas (CoV-STD) [30].

#### 2.4. Análisis de datos y métodos estadísticos

Las correlaciones de Spearman se utilizaron para calcular la matriz de correlación de las concentraciones de anticuerpos IgA e IgG contra el pico completo del SARS-CoV-2 (SARS2), S1, S2 y RBD tanto en leche como en sangre. También se calcularon las correlaciones de Spearman de los niveles de anticuerpos IgA e IgG entre la leche y la sangre. Del mismo modo, la matriz de correlación de la leche y la sangre anti-S IgA, las concentraciones de IgG contra el SARS2, el SARS-CoV-1 (SARS1) y otros HCoV provocados por la vacunación y la infección aguda por COVID-19 también se calcularon utilizando la correlación de Spearman. Las pruebas de Spearman se utilizaron para examinar si las correlaciones calculadas de Spearman eran significativamente diferentes de cero. Las correlaciones y pruebas de Spearman se realizaron utilizando el software de análisis estadístico R versión 4.0.2 (R Core Team, 2017).

Las respuestas longitudinales de anticuerpos IgA e IgG específicos anti-S, S1, S2, RBD y anti-N SARS-CoV-2 provocadas por la vacunación con ARNm covid-19 en muestras de leche y sangre por punción en el dedo se examinaron utilizando los modelos lineales generalizados de efectos mixtos. Del mismo modo, los niveles longitudinales de anticuerpos IgA e IgG reactivos a HCoV en leche y sangre contra las proteínas espiga de SARS-CoV-2, SARS-CoV-1, OC43, HUK1, 229E y NL63 también se estimaron a través de modelos lineales generalizados de efectos mixtos. Se utilizaron comparaciones por pares dentro del marco del modelo lineal generalizado de efectos mixtos para examinar las diferencias en los niveles de anticuerpos a lo largo del tiempo. Se utilizó el software de análisis estadístico SAS V9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) para ajustar los modelos lineales generalizados de efectos mixtos y las correspondientes comparaciones por pares. Los niveles de significancia para todas las pruebas se establecieron en el 5% con pruebas de dos caras.

### 3. Resultados

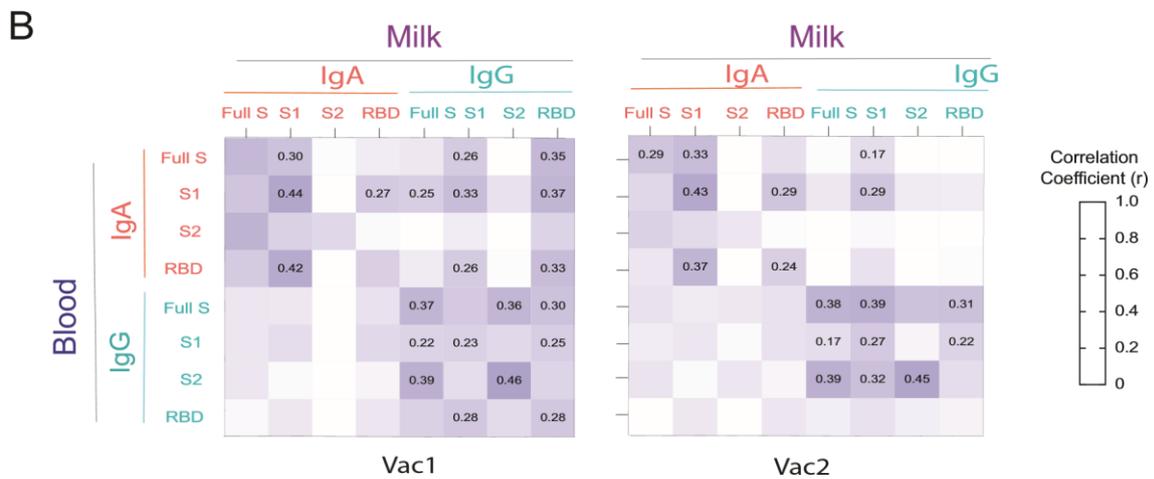
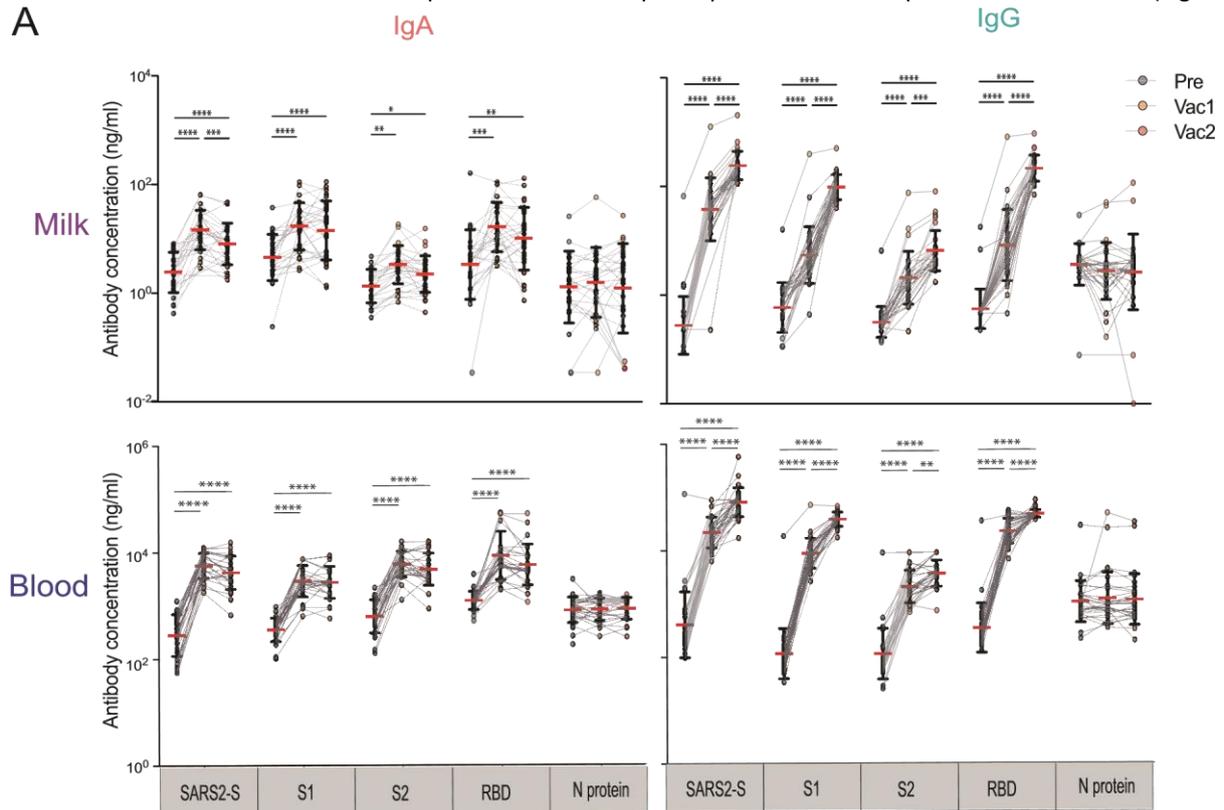
#### 3.1. Cohortes y muestras de estudio

Las cohortes y el plan de investigación se presentaron en la Figura 1. Las características del participante enumeradas en la Tabla Suplementaria S1 han sido reportadas previamente [20]. Este estudio fue aprobado por las Juntas de Revisión Institucional (IRB) del Centro Médico de la Universidad de Rochester y la Facultad de Medicina Grossman de la Universidad de Nueva York. Todos los participantes dieron su consentimiento informado.

#### 3.2. La vacunación provocó fuertes respuestas específicas de IgA e IgG del SARS-CoV-2 en sangre y leche

Primero estimamos las respuestas de anticuerpos IgA e IgG anti-SARS-CoV-2 contra las subunidades de proteína S completa (SARS-CoV-2-S), S1, S2 y RBD provocadas por la vacunación con ARNm. La IgA y la IgG en la leche materna (HM) y la sangre aumentaron significativamente en 18 días después de la primera dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2 mRNA (Vac1) en comparación con la prevacunación ( $p < 0,0001$ ) (Figura 2), de acuerdo con los informes anteriores para HM [20,22,31,32] y nuestros hallazgos recientes de respuestas de IgG en sangre en adultos sanos [11]. A excepción de un participante, que tenía niveles más altos de IgG anti-S y anti-N de

la leche antes de la vacunación consistentes con la exposición previa al SARS-CoV-2, los niveles de HM anti-S aumentaron uniformemente 10 (IgA) y 100 veces (IgG) después de la vacunación. Sin embargo, los niveles de IgA anti-S en la leche y la sangre se mantuvieron constantes o disminuyeron después de la segunda dosis de la vacuna (Vac2). En contraste, los niveles de HM e IgG en sangre continuaron aumentando en comparación con los niveles después de Vac1 ( $p < 0.0001$ ), que podrían perseverar hasta 187 días después de Vac2, como lo muestra nuestro estudio anterior [20]. Además, los niveles de IgG específicas de la subunidad anti-S2 no aumentaron tanto como la IgG contra las subregiones completas de proteína S, S1 y RBD. Como era de esperar, no detectamos respuestas de anticuerpos específicos de N después de la vacunación (Figura 2A).



**Figura 2.** Leche materna y respuesta de anticuerpos IgG específicos al SARS-CoV-2 en sangre a la vacunación con ARNm en padres lactantes. (A) Respuestas de anticuerpos IgA e IgG al SARS-CoV-2 S (SARS2-S), S1, S2, RBD y N del SARS-CoV-2 provocados por la vacunación de ARNm contra la COVID-19. Las muestras de leche y sangre por punción en el dedo se recogieron antes de la vacuna (PRE), 18 días después de la primera dosis (Vac1) y 18 días después de la segunda dosis (Vac2). Las concentraciones de anticuerpos se estimaron mediante el ensayo mPLEX-CoV (ver Métodos). Se utilizaron modelos lineales generalizados de efectos mixtos para probar las diferencias entre los puntos temporales (\*\*  $p < 0,0001$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p$

< 0,05). (B) Mapa de calor de las correlaciones de Spearman entre las concentraciones de IgA e IgG contra SARS2-S, S1, S2 y RBD en leche y sangre. Los coeficientes de correlación ( $r$ ) se codifican por colores como se muestra en la figura y los valores numéricos se dan cuando el valor  $p$  de correlación es inferior a 0,005.

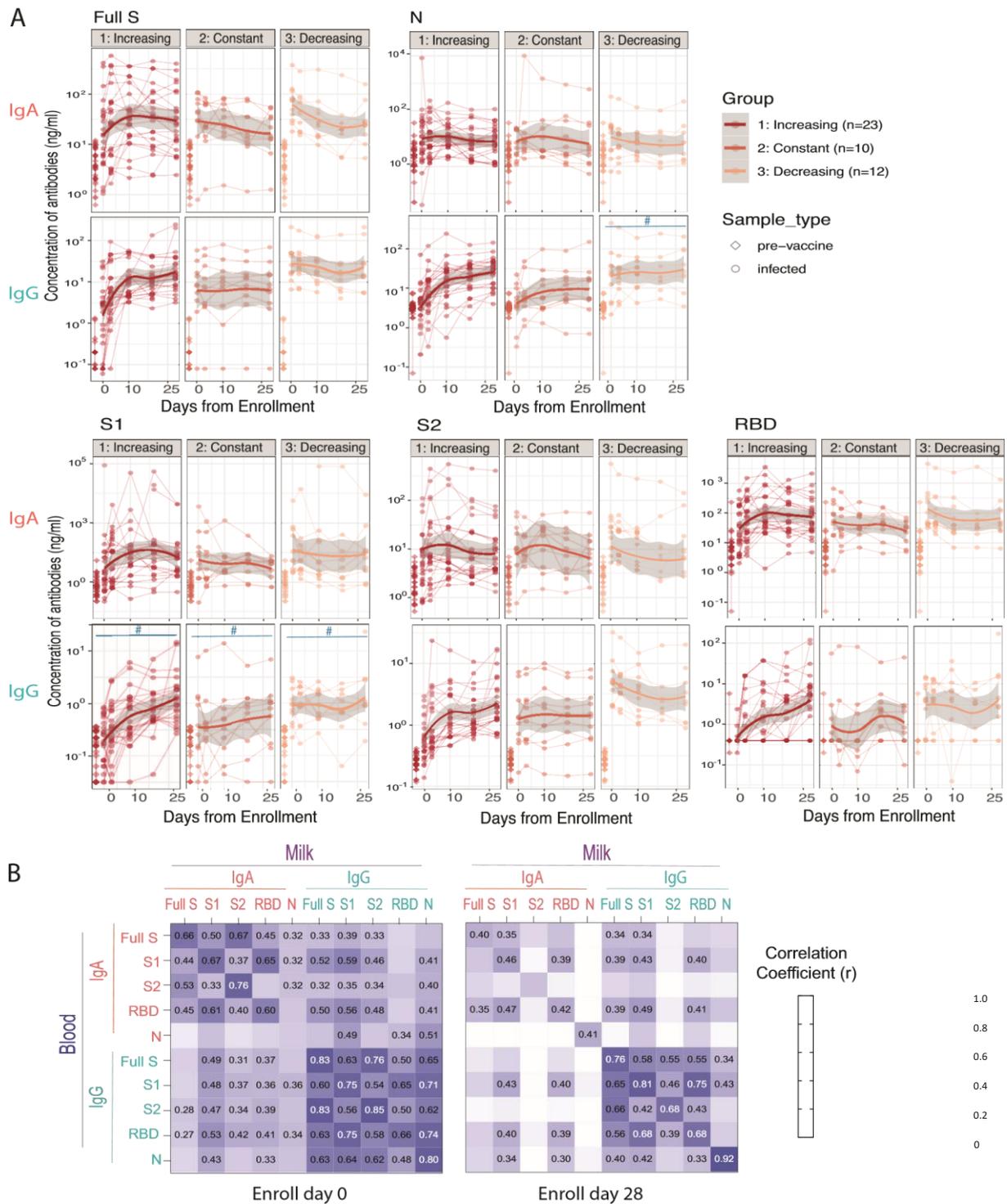
Para comprender la relación entre las respuestas reactivas de IgA e IgG del SARS-CoV-2 inducidas por la vacuna en sangre versus HM, se realizó un análisis de correlación (Figura 2B). Existen correlaciones positivas significativas entre HM y los anticuerpos IgA e IgG en sangre contra las subunidades de proteína de espiga completa, S1, S2 y RBD ( $r$  de Pearson en el rango 0.22–0.46, Figura 2B). Los niveles elevados de anticuerpos IgG después de Vac2 mostraron una mayor correlación entre la leche y la sangre en comparación con Vac1, pero los valores de  $r$  disminuyeron después de Vac2. En general, los niveles de IgA de la leche no se correlacionaron con la IgG en sangre ( $p > 0,05$ ). En contraste, la IgG de la leche tuvo la mayor correlación con la IgG en sangre (media  $r = 0,36$ ,  $p < 0,05$ ). Esto sugiere una fuente común de leche e IgG sérica, pero una fuente diferente de IgA de leche, consistente con nuestro trabajo anterior [33]. Cabe destacar que las concentraciones de IgA anti-SARS-CoV-2-S, S2 y RBD en la leche no se correlacionaron con las concentraciones en sangre después de Vac1. Esta falta de correlación sugiere fuertemente que la IgA en la leche se origina en un grupo de células B de la mucosa y es distinta de la IgA sérica.

### 3.3. La infección por COVID-19 aumenta significativamente los niveles específicos de anticuerpos IgA e IgG específicos del SARS-CoV-2 en sangre y leche

Informes anteriores han indicado una amplia variabilidad interindividual de la respuesta de anticuerpos IgG anti-S SARS-CoV2 entre los participantes con infección [20]. Para evaluar de manera concisa la respuesta de IgA e IgG de la leche a la infección, categorizamos a los 45 sujetos en tres grupos en función de la proporción de niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 S de leche entre el día 0 (D0) vs. el día 28 (D28). El grupo *creciente* ( $n = 23$ ) tenía relaciones de concentración de anticuerpos D28/D0  $> 1,2$ . El grupo *Constante* ( $n = 10$ ) tuvo una relación de anticuerpos D28/D0 entre 0,8 y 1,2. Finalmente, el grupo *decreciente* ( $n = 12$ ) tuvo una proporción de anticuerpos D28/D0  $< 0,8$ . En la Figura 3 A se muestran anticuerpos anti-S, anti-N de IgA e IgG en la leche, así como anticuerpos que reconocieron las subunidades S1, S2 y RBD de las proteínas espiga.

Estos resultados demuestran que la infección por SARS-CoV-2 puede aumentar significativamente los niveles de IgA e IgG anti-S en la mayoría de los sujetos en comparación con la cohorte de prevacunación sana ingenua; solo la IgG de leche de un sujeto permaneció indetectable durante los 28 días. En los grupos Constante y Decreciente, los niveles de anticuerpos del día 0 frente al día 25 no cambian significativamente ( $p > 0,05$ ). Otros estudios han documentado la aparición de IgG anti-S 7-10 días después de la infección [6,10]; IgM e IgA aparecen incluso antes. Nuestros sujetos se inscribieron de 0 a 14 días después del diagnóstico de COVID-19 (promedio: 8 días), y pudimos detectar una trayectoria ascendente de los niveles de anticuerpos IgG en la mitad de los sujetos (el grupo creciente). En comparación con la IgA anti-S, las concentraciones de IgG no exhibieron cambios tan robustos desde el día 0 hasta el 28. Dado que recolectamos nuestra primera muestra (Día0) en un promedio de 8 días después del diagnóstico, es probable que nos perdiéramos el aumento inicial de anticuerpos IgA, que se ha demostrado que ocurre antes que el aumento de IgG de la leche [20]. Este patrón también es consistente con la trayectoria de HM IgA e IgG después de la vacunación y otros informes [32,34,35].

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que informa los niveles de IgA e IgG anti-N de la leche en participantes lactantes infectados. Nuestros resultados muestran que la infección aguda provocó anticuerpos antiN IgA e IgG significativos en HM, con trayectorias muy similares después de la infección. Sin embargo, el cambio en la IgA anti-N fue más uniforme entre los sujetos inscritos que el de la IgA anti-S, con un aumento promedio de 26,7 y 13,1 veces (igual a  $[\text{Con}_{t2}]/[\text{Con}_{t1}] - 1$ ), respectivamente, en todos los puntos temporales. En contraste, los cambios de HM anti-S IgG fueron mucho mayores que el aumento de anticuerpos anti-N IgG, y los cambios promedio en el pliegue fueron de 87.4 y 8.6, incluidas todas las muestras posteriores a la infección, respectivamente. Las respuestas de anticuerpos anti-S y -N IgA e IgG en sangre a la infección se muestran en la Figura Suplementaria S1. Mientras que los anticuerpos anti-S y -N IgG siguieron aumentando desde la inscripción hasta 28 días después, los niveles de IgA se mantuvieron estables.



**Figura 3.** Respuestas de anticuerpos IgG e IgA anti-SARS-CoV-2 en leche materna después del SARS-CoV-2 Infección. La cohorte de infección se separó en grupos crecientes, constantes o decrecientes en función de las proporciones de nivel de anticuerpos IgG de la leche de D28/D0: Aumentando con > 1; Constante con 0.8–1.2; Disminuyendo con ratios < 0,8. **(A)** Los niveles de anticuerpos IgA e IgG específicos del SARS-CoV-2 en la leche contra las proteínas S y N completas, y las subunidades S1, S2 y RBD, antes de la vacunación y después de la infección. Los niveles de anticuerpos en todos los puntos temporales posteriores a la infección en todos los grupos son significativamente más altos que los de los controles previos a la vacunación ( $p < 0,0001$ ) y contra todos los antígenos y todos los grupos. **(B)** Mapa de calor de spearman correlación de los niveles de anticuerpos IgA e IgG de la leche con los niveles de anticuerpos IgA e IgG en sangre. Los coeficientes de correlación están codificados por colores como se muestra en la figura y los valores numéricos se muestran cuando los valores p de correlación < 0.05.

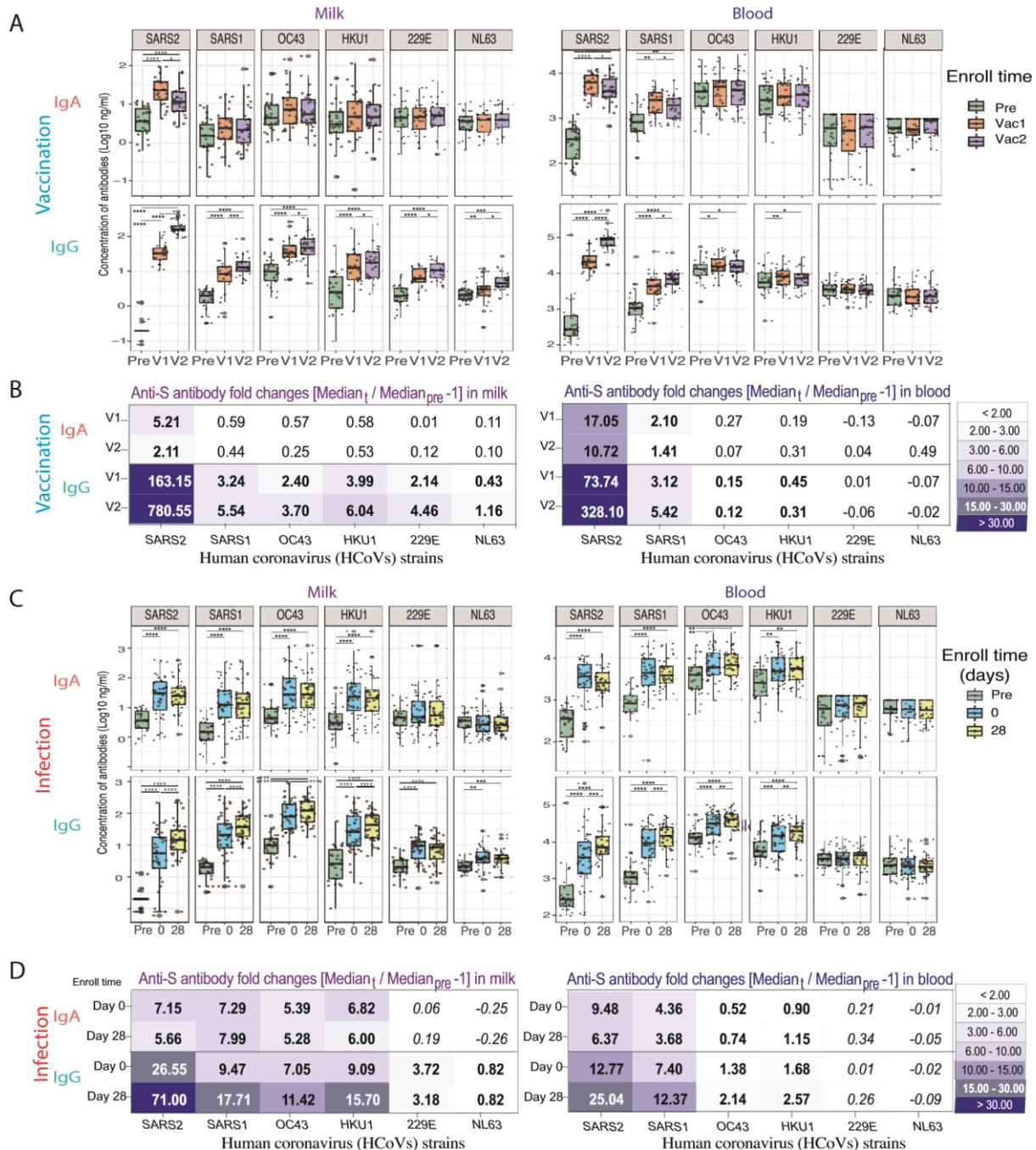
También se realizó un análisis de correlación de anticuerpos IgA e IgG en HM y sangre en la cohorte de Infección. Los resultados indicaron que los anticuerpos IgA e IgG estaban altamente correlacionados entre la sangre y la leche (Figura 3B). Durante la infección aguda, los anticuerpos IgG específicos del SARS-CoV-2 contra S, S1, S2 y N, se correlacionaron altamente con los anticuerpos IgG en la sangre ( $r = 0,48-0,85$ ; Figura 3B), lo que sugiere que la IgG reactiva al SARS-CoV-2 de la leche probablemente esté relacionada con la IgG en sangre. La IGA HM también mostró una correlación de alto nivel con las concentraciones en la sangre ( $r = 0,33-0,76$ ;  $p < 0,001$ ). Además, los niveles de IgA anti-SARSCoV-2 de HM se correlacionaron significativamente con los niveles de IgG en sangre, lo que no fue el caso con la vacunación. Los niveles de IgG de la leche se correlacionaron con los niveles de IgA en sangre, a valores  $r$  más bajos. Las correlaciones entre HM e IgA en sangre (cuadrante superior izquierdo de la matriz de correlación en Figura 3B), entre HM IgA con IgG en sangre (cuadrante inferior izquierdo), y entre HM IgG con IgA en sangre (cuadrante superior derecho) disminuyó de 0 a 28 días ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, los niveles de HM IgG todavía estaban altamente correlacionados con IgG en sangre en el día 28. Estos datos sugieren una respuesta acoplada entre IgG e IgA entre HM y sangre en la infección que incluye una respuesta mucosa observada también en HM que no fue el caso con la vacunación. Esto se espera ya que la vacunación intramuscular no tiene afectación de la mucosa, mientras que la enfermedad COVID-19 sí.

En general, el anticuerpo IgA e IgG del virus anti-SARS-CoV-2 de la leche mostró valores  $r$  de correlación más altos durante la infección aguda (día 0) que 28 días después. Además, las correlaciones entre la leche y los anticuerpos sanguíneos son mayores en la cohorte de infección aguda que en la cohorte de vacunación. Además, los resultados anteriores sugieren que el participante lactante puede producir anticuerpos IgA e IgG anti-SARS-CoV-2 durante la infección aguda, y que los anticuerpos IgG persisten en concentraciones elevadas hasta al menos 28 días. De nota clínica, nuestro trabajo previo establece que estos anticuerpos pueden neutralizar el SARS-CoV-2 vivo in vitro, lo que probablemente confiere protección clínica al bebé receptor [20].

### *3.4. Anticuerpos IgA e IgG de reactividad cruzada anti-HCoV en la leche provocados por la vacunación y la infección por COVID-19*

Como se describió anteriormente, la IGG HM anti-SARS-CoV-2 aumentó robustamente después de la primera dosis y la segunda dosis de vacunación, pero la IgA aumentó más modestamente (Figura 4A, B). La IGG hm anti-SARS-CoV-2 aumentó robustamente después de la primera dosis (163 veces en comparación con el control previo a la vacunación) y la segunda dosis (780 veces) de la vacunación con ARNm, pero la IgA anti-SARSCoV-2 solo aumentó 5,21 y 2,11 veces, respectivamente. Curiosamente, la vacunación también resultó en una elevación significativa de los anticuerpos IgG que reconocen los virus SARS1, OC43, HKU1, 229E y NL63 en HM, con un aumento de 0.43–6.04 veces. Sin embargo, no fue el caso en sangre donde la vacunación indujo una IgG de amplia reactividad solo contra OC43 y HKU1 (aumento de 0.12-0.45 veces), pero no indujo IgG a 229E y NL63, dos  $\alpha$ -HCoV que son más antigénicamente divergentes.

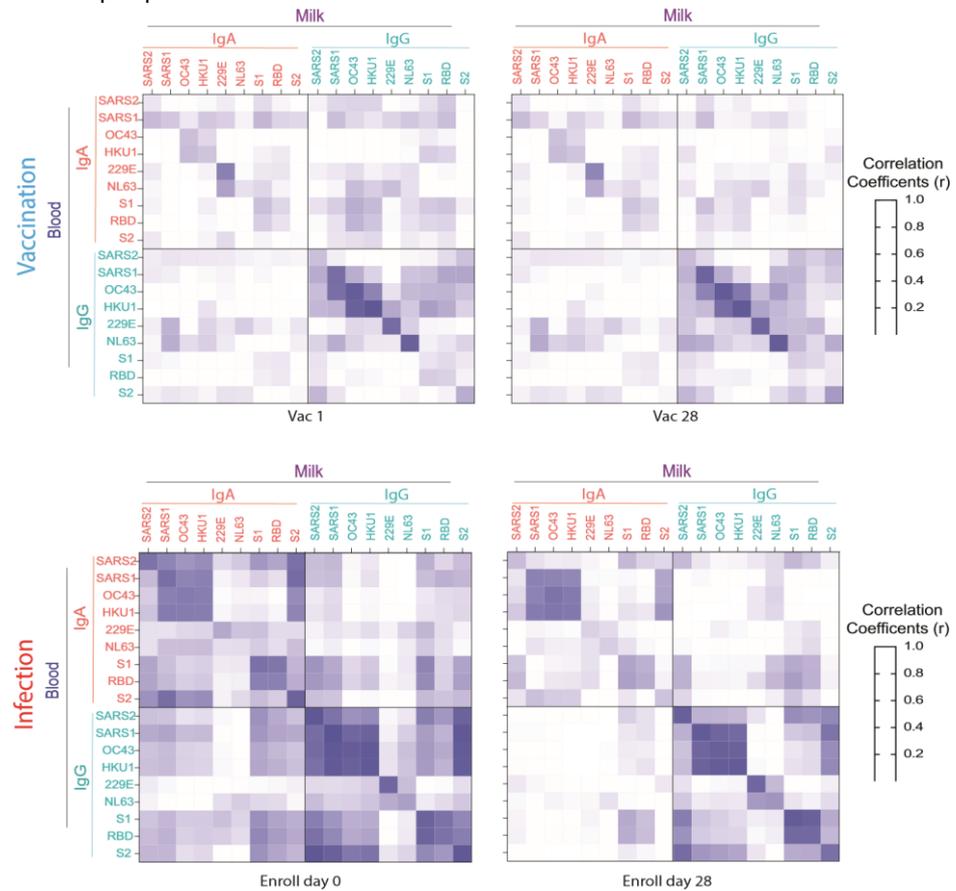
Durante la infección, se observaron patrones similares de unión de anticuerpos IgA e IgG de reactividad cruzada en la HM y las muestras de sangre (Figura 4C, D). La infección hizo que la HM anti-SARS-CoV-2 IgA después del día 0 y el día 28 aumentara 7,15 y 5,56 veces, y la IgG 28,5 y 71,00 veces, respectivamente. En particular, la HM y la IgA e IgG en sangre mostraron una unión reactiva cruzada más amplia y fuerte a las proteínas S de OC43 y HKU1  $\beta$ - HCoV que las inducidas por la vacunación. Sorprendentemente, hm IgG inducida por la infección por SARS-CoV-2 mostró una reactividad cruzada más amplia que HM IgA e IgG en sangre, incluida la reactividad contra NL63 y 229E, dos  $\alpha$ -HCoV.



**Figura 4.** Respuesta de anticuerpos Anti-S IgA e IgG contra los coronavirus del resfriado común (HCoV) humanos después de la vacunación e infección por SARS-CoV-2. Los niveles de anticuerpos IgA e IgG reactivos al HCoV en la leche y la sangre contra las proteínas espiga del SARS-Cov-2 (SARS2), sars-CoV-1 (SARS1) y HCoV se midieron mediante ensayo multiplex. Todas las muestras se analizaron en un lote por duplicado, y se identificaron aumentos significativos de disminuciones a lo largo del tiempo con modelos lineales generalizados de efectos mixtos (\*\*  $p < 0,0001$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ ). (A) Anticuerpos IgA e IgG de leche y sangre contra las proteínas espiga del SARS2, SARS1 y HCoV provocadas por la vacunación contra el COVID-19. (B) Los cambios en el pliegue de anticuerpos de la leche y los anticuerpos anti-S IgA e IgG en sangre provocados por la vacunación aguda contra la COVID-19. (Cambio de pliegue = [Mediana post-vac]/[Mediana pre-vacunación] - 1). Los cambios estadísticamente significativos se indican en negrita ( $p < 0,05$ ). (C) Leche y sangre anticuerpos anti-S IgA e IgG provocados por la infección aguda por COVID-19. (D) Los cambios en el pliegue de anticuerpos de la leche y los anticuerpos anti-S IgA e IgG en sangre provocados por la vacunación aguda contra la COVID-19. (Cambio de pliegue = [Mediana post-infección]/[Mediana pre-vacunación] - 1). Los cambios estadísticamente significativos se indican en negrita ( $p < 0,05$ ).

Se realizó un análisis de correlación adicional entre los anticuerpos en HM versus sangre, e IgG versus IgA. Hm IgG estuvo altamente correlacionado con los niveles de IgG en sangre

después de la vacunación, mientras que la infección causó una mayor correlación entre HM y sangre e IgG con IgA, especialmente en la fase temprana de COVID-19 (Figura 5). Además, los anticuerpos anti-β-HCoV están más correlacionados entre sí que con los anticuerpos anti-α-HCoV, y los anticuerpos anti-SARS2 S2 subunidad están altamente correlacionados con todos los anticuerpos β-HCoV S.



**Figura 5.** Mapa de calor de la matriz de correlación de las respuestas de anticuerpos entre la leche y la sangre IgA e IgG contra la proteína espiga del SARS-CoV-2 (Full-S), los dominios S1, S2 y RBD, los dominios SARS-CoV-1 (SARS1) y los HCoV (OC43, HKU1, 229E, NL63) provocados por la vacunación (Vac1 y Vac2) y los que fueron provocados por la infección aguda por COVID-19 (Día 0 y Día 28). Los coeficientes de correlación de Spearman (r) entre la leche y las inmunoglobulinas sanguíneas están codificados por colores como se indica en la figura.

#### 4. Discusión

Este es el primer estudio que documenta que en la leche materna (HM) tanto la vacunación con ARNm de COVID-19 como la infección por SARS-CoV-2 (SARS2) indujeron anticuerpos IgG e IgA ampliamente reactivos cruzados contra los coronavirus del resfriado común (HCoV) humanos, según lo estimado por inmunoensayo multiplex (mPlex-CoV) [30]. En general, encontramos que la infección aguda provocó una respuesta más amplia de anticuerpos de reactividad cruzada contra las proteínas espiga del HCoV en comparación con las vacunas de ARNm de dos dosis. Además, nuestros resultados demuestran una alta correlación entre la IgG anti-S de reactividad cruzada en HM y la sangre periférica amplia después de la infección y la vacunación, sin correlación leche-sangre para la IgA anti-S. Curiosamente, la IgG de reactividad cruzada HM demostró una reactividad cruzada más amplia y de mayor magnitud a las proteínas S probadas, incluidos los oc43 y HKU1 β-HCoV, los α-HCoV 229E y NL63. Estos resultados resaltan la cuestión del origen de esta proteína S anti-coronavirus IgG e IgA de reactividad cruzada.

La IgA de la mucosa es producida por las células plasmáticas en la lámina propia y son transportadas a través de las células epiteliales por el receptor de inmunoglobulina polimérica (pIgR) [36]. La IgA de la leche es producida por las células B de la glándula mamaria que han migrado desde el intestino de la madre a través del "enlace enteromamario" [37], como se muestra en estudios con animales [38–41]. Esto está controlado por la direccionina vascular de la mucosa, MadCAM-1, que interactúa con el receptor intestinal α467 integrina [42] y CCR10

asociada a la mucosa [43]. Además, en un modelo de conejo, el VSR oral o inhalado dio lugar a la producción de IgA específica del VSR en la leche, las secreciones bronquiales y enterales, mientras que la inmunización sistémica no [44]. Los estudios en humanos han demostrado que la inmunización oral en mujeres resulta en un aumento de las células plasmáticas específicas de las cepas no patógenas de *E. coli* en la leche, pero no en la saliva o la sangre [45]. Esta compartimentación de las células B secretoras de IgA de la mucosa puede explicar la falta de correlación entre HM y los anti-HCoVs IgA en sangre después de la infección o la vacunación.

En contraste con la IgA, encontramos una alta correlación entre los perfiles de unión a HCoV anti-S en IgG. Esto puede deberse a la fuente dicotómica de HM IgG: En el VIH, por ejemplo, se ha demostrado que se pueden encontrar células secretoras de IgG específicas en HM, que predominan sobre las células secretoras de IgA y tienen un perfil de localización de la mucosa similar a las células B del tejido linfóide asociado a la tripaciada [46]. Además, las IgG anti-VIH específicas aisladas de HM y plasma tienen potencias de neutralización similares, a pesar de las concentraciones más bajas de HM, lo que sugiere que las respuestas de neutralización en HM se deben principalmente a IgG derivada del plasma [47]. Por lo tanto, la capacidad neutralizante de HM IgG puede ser una función de la relación entre IgG anti-VIH específica producida por las células secretoras de IgG de sangre mucosa versus sangre periférica, que puede variar entre las madres [48].

La fuente de los anticuerpos Anti-S IgG ampliamente reactivos cruzados que se encuentran en HM no se conoce con precisión. Los anticuerpos HM IgG son producidos por las células B, que se originan en el tejido linfóide asociado al bronquio gutor y albergan HM, o circulan en el plasma durante las infecciones respiratorias [47]. La amplia reactividad cruzada con los coronavirus humanos estacionales puede indicar que esta producción de IgG se incrementa en las vías respiratorias a través de las células B de memoria asociadas a la mucosa dentro del tejido linfóide en el sitio de exposición previa a los coronavirus estacionales. Este sería un mecanismo novedoso que proporcionaría anticuerpos ampliamente interreactivos. Independientemente de su origen, estos anticuerpos IgA e IgG anti-SARS-CoV-2 potencialmente sirven para proporcionar anticuerpos ampliamente protectores al bebé.

Es bien sabido que el subdominio S2 de la proteína espiga comparte más homología con otros HCoV que el subdominio S1, *incluidos los  $\beta$ - (SARS-CoV-1, OC43 y HKU1) y los HCoV  $\alpha$  (229E y NL63)* [2,3,5]. Los estudios también han demostrado que la infección por SARS-CoV-2 puede mejorar la inmunidad preexistente del HCoV a través de la formación de células B anti-S2 IgG y de memoria [14]. Durante la infección, un rápido aumento en los niveles de IgG reactiva s2 se correlaciona en gran medida con un rápido aumento de la IgG del SARS-CoV-2 y, contraintuitivamente, con la gravedad de la enfermedad COVID-19 [11]. Por lo tanto, sigue sin estar claro si un predominio de IgG anti-S2 en la leche contribuye sustancialmente a la inmunidad protectora pasiva del lactante a la exposición al SARS-CoV-2 en los lactantes. En este estudio, encontramos una alta correlación entre los anticuerpos IgG contra el SARS-CoV-2 con  $\beta$ -HCoVs IgG en leche y sangre (Figura 5), después de la vacunación y después de la infección. Curiosamente, la alta correlación entre la IgA reactiva al SARS-CoV-2 S2 y la IgA reactiva al  $\beta$ -HCoV se produjo solo en la cohorte posterior a la infección, y no después de la vacunación. Esto sugiere que la infección puede provocar una respuesta de IgA de reactividad cruzada más amplia en la leche que la vacunación. Se necesitan más estudios para determinar si la IgA predominante de SARS-CoV-2 anti-S2 en la leche proporciona protección neutralizante contra la exposición.

Una fortaleza de este estudio es la recolección longitudinal de leche humana (HM) y muestras de sangre de punción en el dedo. Especialmente para la cohorte de vacunación, cada sujeto tenía las muestras previas y posteriores a la vacunación en múltiples puntos de tiempo. El ensayo mPlex-Cov utilizado en este estudio para estimar las actividades de unión de anticuerpos de reactividad cruzada en las muestras de leche y sangre después de la vacunación y la infección. La limitación de la baja concentración de anticuerpos de las muestras de punción en el dedo sería un desafío técnico para medir los anticuerpos neutralizantes contra el OC43, HKU1 en ensayos *in vitro*. Sin embargo, nuestro trabajo anterior [20] demostró que los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 neutralizantes de la leche podrían ser inducidos por la vacunación con ARNm de COVID-19 y la infección por SARS-CoV-2.

**Materiales complementarios:** La siguiente información de apoyo se puede descargar en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/vaccines10060980/s1>, Tabla S1. La demografía de las cohortes de estudio

de vacunación e infección. Cuadro S2. El panel de ensayo mPlex-CoV de coronavirus humanos. Figura S1. Respuesta de anticuerpos sanguíneos IgG anti-SARS-CoV-2 después de la infección por SARS-CoV-2. En la cohorte de infección, los anticuerpos IgG en muestras de sangre por punción en el dedo se evaluaron mediante el ensayo mPLEX-CoV. Todas las muestras se analizaron al mismo tiempo por duplicado, y los resultados significativos se calcularon con modelos lineales generalizados de efectos mixtos (\*\*  $p < 0,0001$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ ). Figura S2. Respuesta de anticuerpos anti-N HCoV en leche humana y sangre después de la infección por SARS-CoV-2. En la cohorte de infección, los anticuerpos igG anti-N contra el SARS-CoV-2, el SARS1 y otros coronavirus comunes (HCoV) en las muestras de sangre de leche y punción en el dedo se evaluaron mediante el ensayo mPLEX-CoV. Todas las muestras se analizaron al mismo tiempo por duplicado, y los resultados significativos se calcularon con modelos lineales generalizados de efectos mixtos (\*\*  $p < 0,0001$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$ ).

**Contribuciones de los autores:** J.W., M.S.Z., K.M.J., B.E.Y. y A.N.-W. conceptualizaron este estudio. B.E.Y., K.M., K.W. y J.C.-V. reclutó sujetos y recogió muestras. Los experimentos fueron realizados por Q.Z. y A.W. El análisis de datos y la curación fueron realizados por D.L., J.W., A.S. y A.W. La investigación fue realizada por J.W., B.E.Y., D.L., Q.Z., A.W., A.N.-W., K.M., K.W., N.D. y J.C.-V. Las visualizaciones fueron realizadas por J.W. y A.S. J.W., K.M.J., y M.S.Z. escribieron el primer borrador del manuscrito. Todo como proyecto. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

**Financiamiento:** Este trabajo fue apoyado por la subvención U01 AI131344-04S1 del Instituto Nacional de Alergias e Infecciosas; K.M.J., B.E.Y., A.S. y M.S.Z. contribuyeron a la adquisición de fondos. Este trabajo también fue apoyado por el Instituto Nacional de Salud del Instituto de Alergia, Inmunología y Enfermedades Infecciosas R01 AI129518 (M.S.Z., J.W.), y el Premio de Ciencias Clínicas y Traslacionales ulteriores ul1 TR002001 de la Universidad de Rochester del Centro Nacional para el Avance de las Ciencias Traslacionales de los Institutos Nacionales de Salud (D.L., M.S.Z.).

**Declaración de disponibilidad de datos:** Se puede acceder a los datos desde <https://figshare.com/s/c0a418db25ed56e163cf> y DOI: 10.6084 / m9.figshare.20098235. La fecha de acceso es el 18 de junio de 2022.

**Agradecimientos:** Los autores desean agradecer a los participantes del estudio por su participación y apoyo.

**Conflictos de intereses:** Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

## Referencias

1. QUIÉN. Panel de control de la OMS sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). 2022. Disponible en línea: <https://covid19.who.int> (consultado el 20 de marzo de 2022).
2. Andersen, K.G.; Rambaut, A.; Lipkin, W.I.; Holmes, C.E.; Garry, R.F. El origen proximal del SARS-CoV-2. *NAT. Med.* **2020**, *págs.* 26, 450–452. [[CrossRef](#)]
3. Cui, J.; Li, F.; Shi, Z.L. Origen y evolución de los coronavirus patógenos. *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17*, 181–192. [[CrossRef](#)]
4. Lim, Y.X.; Ng, Y.L.; Tam, J.P.; Liu, D.X. Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Enfermedades* **2016**, *4*, 26. [[CrossRef](#)]
5. Tyrrell, D.A.; Bynoe, M.L. Cultivo de un nuevo tipo de virus del resfriado común en cultivos de órganos. *Fr. Med. J.* **1965**, *1*, 1467-1470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Zost, S.J.; Gilchuk, P.; Caso, J.B.; Binshtein, E.; Chen, R.E.; Nkolola, J.P.; Schafer, A.; Reidy, J.X.; Trivette, A.; Nargi, R.S.; et al. Anticuerpos humanos potentemente neutralizantes y protectores contra el SARS-CoV-2. *Naturaleza* **2020**, *584*, 443–449. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Pan, Y.; Li, X.; Yang, G.; Fan, J.; Tang, Y.; Zhao, J.; Largo, X.; Guo, S.; Zhao, Z.; Liu, Y.; et al. Abordaje inmunocromatográfico serológico en el diagnóstico con pacientes infectados por SARS-CoV-2 por COVID-19. *J. Infectar.* **2020**, *81*, e28–e32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Lan, J.; Ge, J.; Yu, J.; Shan, S.; Zhou, H.; Fan, S.; Zhang, P.; Shi, X.; Wang, P.; Zhang, L.; et al. Estructura del dominio de unión al receptor de espigas del SARS-CoV-2 unido al receptor ACE2. *Naturaleza* **2020**, *581*, 215–220. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Zóhar, T.; Loos, C.; Fischinger, S.; Atyeo, C.; Wang, C.; Slein, M.D.; Burke, J.; Yu, J.; Feldman, J.; Hauser, B.M.; et al. Compromised Humoral Functional Evolution Tracks with SARS-CoV-2 Mortality (Seguimientos de la evolución funcional humoral comprometida con mortalidad por SARS-CoV-2). *Celda* **2020**, *183*, 1508–1519.e12. [[CrossRef](#)]
10. Zóhar, T.; Alter, G. Diseción de la protección mediada por anticuerpos contra el SARS-CoV-2. *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 392–394. [[CrossRef](#)]
11. Wang, J.; Li, D.; Zhou, Q.; Wiltse, A.; Zand, M.S. Inmunidad mediada por anticuerpos contra el SARS-CoV-2 y los coronavirus humanos: ensayo multiplex de perlas y micromuestreo de absorción volumétrica para generar cartografía de repertorio inmune. *Frente. Immunol.* **2021**, *12*, 696370. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Hicks, J.; Klumpp-Thomas, C.; Kalish, H.; Shunmugavel, A.; Mehalko, J.; Denson, J.P.; Snead, K.R.; Drew, M.; Corbett, K.S.; Graham, B.S.; et al. Serologic Cross-Reactivity of SARS-CoV-2 with Endemic and Seasonal Betacoronavirus (Reactivity of SARS-CoV-2 with Endemic and Seasonal Betacoronavirus). *J. Clin. Immunol.* **2021**, *págs.* 41, 906–913. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Dan, J.M.; Mateus, J.; Kato, Y.; Hastie, K.M.; Yu, E.D.; Faliti, C.E.; Grifoni, A.; Ramírez, S.I.; Haupt, S.; Frazier, A.; et al. Memoria inmunológica al SARS-CoV-2 evaluada hasta 8 meses después de la infección. *Ciencia* **2021**, *371*, abf4063. [[CrossRef](#)]

- [PubMed]
14. Nguyen-Contant, P.; Embong, Alias; Kanagaiah, P.; Chaves, F.A.; Yang, H.; Branche, R.A.; Topham, D.J.; Sangster, M.Y. S Proteína reactiva IgG y la producción de células B de memoria después de la infección humana por SARS-CoV-2 incluye una amplia reactividad a la subunidad S2. *mBio* **2020**, *11*, e01991-20. [CrossRef] [PubMed]
  15. Sección sobre, B. La lactancia materna y el uso de la leche humana. *Pediatría* **2012**, *129*, e827–e841. [CrossRef]
  16. Río-Aige, K.; Azagra-Boronat, I.; Castell, M.; Selma-Royo, M.; Collado, M.C.; Rodríguez-Lagunas, M.J.; Perez-Cano, F.J. El inmunoglobulinoma de la leche materna. *Nutrientes* **2021**, *13*, 1810. [CrossRef]
  17. Pace, R.M.; Williams, J.E.; Jarvinen, K.M.; Belfort, M.B.; Pace, C.D.; Lacayo, K.A.; Gogel, A.C.; Nguyen-Contant, P.; Kanagaiah, P.; Fitzgerald, T.; et al. COVID-19 y leche humana: SARS-CoV-2, anticuerpos y capacidad neutralizante. *medRxiv* **2020**. [CrossRef]
  18. Fox, A.; Marino, J.; Amanat, F.; Krammer, F.; Hahn-Holbrook, J.; Zolla-Pazner, S.; Powell, R.L. IgA secretora robusta y específica contra el SARS-CoV-2 detectada en la leche materna. *iScience* **2020**, *23*, 101735. [CrossRef]
  19. Kaplonek, P.; Wang, C.; Bartsch, Y.; Fischinger, S.; Gorman, M.J.; Bowman, K.; Kang, J.; Dayal, D.; Martín, P.; Nowak, R.; et al. Firmas reactivas cruzadas tempranas de coronavirus de inmunidad humoral protectora contra COVID-19. *bioRxiv* **2021**. [CrossRef]
  20. Young, B.E.; Seppo, A.E.; Díaz, N.; Rosen-Carole, C.; Nowak-Wegrzyn, A.; Cruz Vásquez, J.M.; Ferri-Huerta, R.; Nguyen-Contant, P.; Fitzgerald, T.; Sangster, M.Y.; et al. Asociación de la inducción, persistencia y capacidad neutralizante de anticuerpos de la leche humana Con infección por SARS-CoV-2 vs vacunación por ARNm. *JAMA Pediatr.* **2022**, págs. 176, 159–168. [CrossRef]
  21. Polack, F.P.; Tomás, S.J.; Kitchin, N.; Absalón, J.; Gurtman, A.; Lockhart, S.; Pérez, J.L.; Pérez Marc, G.; Moreira, E.D.; Zerbini, C.; et al. Seguridad y eficacia de la vacuna BNT162b2 mRNA Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 2603–2615. [CrossRef]
  22. Juncker, H.G.; Mulleners, S.J.; Van Gils, M.J.; de Groot, C.J.M.; Pajkrt, D.; Korosi, A.; Van Goudoever, J.B.; van Keulen, B.J. Los niveles de anticuerpos específicos contra el SARS-CoV-2 en la leche materna después de la vacunación. *J. Hum. Lact.* **2021**, págs. 37, 477–484. [CrossRef] [PubMed]
  23. Baird, J.K.; Jensen, S.M.; Urba, W.J.; Fox, B.A.; Baird, J.R. Anticuerpos contra el SARS-CoV-2 detectados en la leche materna después de la vacunación. *J. Hum. Lact.* **2021**, págs. 37, 492–498. [CrossRef] [PubMed]
  24. Lacayo, K.A.; Pace, R.M.; Williams, J.E.; Bode, L.; Donovan, S.M.; Jarvinen, K.M.; Seppo, A.E.; Raiten, D.J.; Meehan, C.L.; McGuire, M.A.; et al. SARS-CoV-2 y la leche humana: ¿Cuál es la evidencia? *Matern. Niño Nutr.* **2020**, *16*, e13032. [CrossRef] [PubMed]
  25. Pace, R.M.; Williams, J.E.; Jarvinen, K.M.; Belfort, M.B.; Pace, C.D.W.; Lacayo, K.A.; Gogel, A.C.; Nguyen-Contant, P.; Kanagaiah, P.; Fitzgerald, T.; et al. Caracterización del ARN del SARS-CoV-2, anticuerpos y capacidad neutralizante en leche producida por mujeres con COVID-19. *mBio* **2021**, *12*, e03192-20. [CrossRef]
  26. Aydillo, T.; Rombauts, A.; Stadlbauer, D.; Aslam, S.; Abelenda-Alonso, G.; Escalera, A.; Amanat, F.; Jiang, K.; Krammer, F.; Carratala, J.; et al. Impronta inmunológica de la respuesta de anticuerpos en pacientes con COVID-19. *NAT. Comunidad.* **2021**, *12*, 3781. [CrossRef]
  27. Guo, L.; Wang, Y.; Kang, L.; Hu, Y.; Wang, L.; Zhong, J.; Chen, H.; Ren, L.; Gu, X.; Wang, G.; et al. El anticuerpo de reactividad cruzada contra la proteína espiga OC43 del coronavirus humano se correlaciona con la gravedad de la enfermedad en pacientes con COVID-19: un estudio retrospectivo. *Emerger. Los microbios infectan.* **2021**, págs. 10, 664–676. [CrossRef]
  28. Wang, J.; Li, D.; Perry, S.; Hilchey, S.P.; Wiltse, A.; Treanor, J.J.; Sangster, M.Y.; Zand, M.S. Las respuestas IgG ampliamente reactivas a la vacunación heteróloga contra la influenza H5 Prime-Boost están moldeadas por la relación antigénica con las cepas de cebado. *mBio* **2021**, *12*, e0044921. [CrossRef]
  29. Gostic, K.M.; Ambrosio, M.; Worobey, M.; Lloyd-Smith, J.O. Potente protección contra la influenza H5N1 y H7N9 a través de la impresión de hemaglutinina infantil. *Ciencia* **2016**, *354*, 722–726. [CrossRef]
  30. Wang, J.; Li, D.; Cameron, A.; Zhou, Q.; Wiltse, A.; Nayak, J.; Pecora, N. D.; Zand, M.S. IgG contra las proteínas de pico de beta-coronavirus humano se correlaciona con las respuestas de IGG anti-pico de SARS-CoV-2 y la gravedad de la enfermedad COVID-19. *J. Infectar. Dis.* **2022**, jiac022. [CrossRef]
  31. Valcarce, V.; Stafford, L.S.; Neu, J.; Cacho, N.; Parker, L.; Mueller, M.; Burchfield, D.J.; Li, N.; Larkin, J., III. Detección de IgA específica para SARS-CoV-2 en la leche materna de trabajadores de la salud lactantes vacunados con COVID-19. *Amamantar. Med.* **2021**, *16*, 1004–1009. [CrossRef]
  32. Guida, M.; Terracciano, D.; Cennamo, M.; Aiello, F.; La Civita, E.; Espósito, G.; Gargiulo, V.; Maruotti, G.M.; Portella, G.; Sarno, L. Vacuna COVID-19 mRNA BNT162b2 Elicits Respuesta de Anticuerpos Humanos en la Leche de Mujeres lactantes. *Vacunas* **2021**, *9*, 785. [CrossRef] [PubMed]
  33. Seppo, A.E.; Savilahti, E.M.; Berin, M.C.; Sampson, H.A.; Jarvinen, K.M. La IgA de la leche materna a los alimentos tiene una especificidad de epítipo diferente a la IgA sérica-Evidencia para el vínculo entero-mamario para la IgA específica de los alimentos? *Clin. Exp. Alergia* **2017**, *47*, 1275–1284. [CrossRef]
  34. Juncker, H.G.; Romijn, M.; Loth, V.N.; Ruhe, E.J.M.; Bakker, S.; Kleinendorst, S.; de Groot, C.J.M.; Pajkrt, D.; Korosi, A.; Van Goudoever, J.B.; et al. Antibodies Against SARS-CoV-2 in Human Milk: Milk Conversion Rates in the Netherlands (Anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en la leche humana: tasas de conversión de la leche en los Países Bajos). *J. Hum. Lact.* **2021**, págs. 37, 469–476. [CrossRef] [PubMed]
  35. Demers-Mathieu, V.; Do, D.M.; Mathijssen, G.B.; Sela, D.A.; Seppo, A.; Jarvinen, K.M.; Medo, E. Corrección: Diferencia en los niveles de anticuerpos SIgM/IgM, IgG y SIgM reactivos a proteínas SIgM/IgM, IgG y SIgA/IgA reactivas al SARS-CoV-2 S1 y S22 en la leche materna. *J. Perinatol.* **2021**, *41*, 1207. [CrossRef] [PubMed]
  36. Kaetzel, C.S. La cooperatividad entre la IgA secretora, el receptor de inmunoglobulina polimérica y la microbiota intestinal promueve el mutualismo huésped-microbiano. *Immunol. Letón.* **2014**, págs. 162, 10–21. [CrossRef] [PubMed]

- 
37. Hanson, Los Ángeles; Korotkova, M. El papel de la lactancia materna en la prevención de la infección neonatal. *Semin. Neonatol.* **2002**, págs. 7, 275–281. [[CrossRef](#)]
  38. Roux, M.E.; McWilliams, M.; Phillips-Quagliata, J.M.; Weisz-Carrington, P.; Lamm, M.E. Origen de las células plasmáticas secretoras de IgA en la glándula mamaria. *J. Exp. Med.* **1977**, *146*, 1311–1322. [[CrossRef](#)]
  39. Shen, L.; Fanger, M.W. Los anticuerpos Secretores IgA se sinergizan con IgG en la promoción de ADCC por células polimorfonucleares humanas, monocitos y linfocitos. *Celda. Immunol.* **1981**, *PÁGS. 59*, 75–81. [[CrossRef](#)]
  40. Dahlgren, U.I.; Ahlstedt, S.; Hanson, L.A. La localización de la respuesta de anticuerpos en la leche o la bilis depende de la naturaleza del antígeno. *J. Immunol.* **1987**, *138*, 1397–1402.
  41. Villalpando, S.; Butte, N.F.; Flores-Huerta, S.; Thotathuchery, M. Análisis cualitativo de la leche humana producida por mujeres que consumen una dieta predominante en maíz típica del México rural. *Ann. Nutr. Metab.* **1998**, págs. 42, 23–32. [[CrossRef](#)]
  42. Tanneau, G.M.; Hibrand-Saint Oyant, L.; Chevaleyre, C.C.; Salmon, H.P. Reclutamiento diferencial de linfocitos T e IgA B en la glándula mamaria en desarrollo en relación con los receptores homing y las direccioninas vasculares. *J. Histochem. Citochem.* **1999**, *47*, 1581–1592. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  43. Morteau, O.; Gerardo, C.; Lu, B.; Ghiran, S.; Rits, M.; Fujiwara, Y.; Ley, Y.; Distelhorst, K.; Nielsen, E.M.; Hill, E.D.; et al. Un papel indispensable para el receptor de quimiocinas CCR10 en la acumulación de células secretoras de anticuerpos IgA. *J. Immunol.* **2008**, *181*, 6309–6315. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
  44. Peri, B.A.; Teodoro, C.M.; Losonsky, G.A.; Fishaut, J.M.; Rothberg, R.M.; Ogra, P.L. Contenido de anticuerpos de leche de conejo y suero después de la inhalación o ingestión del virus sincitial respiratorio y albúmina sérica bovina. *Clin. Exp. Immunol.* **1982**, págs. 48, 91–101. [[PubMed](#)]
  45. Kohler, G.; Milstein, C. Cultivos continuos de células fusionadas secretando anticuerpos de especificidad predefinida. *Nature* **1975**, págs. 256, 495–497. [[CrossRef](#)]
  46. Tuaille, E.; Valea, D.; Becquart, P.; Al Tabaa, Y.; Meda, N.; Bollore, K.; Van de Perre, P.; Vendrell, J.P. Células B derivadas de la leche humana: Una población de células de memoria conmutadas altamente activada preparada para secretar anticuerpos. *J. Immunol.* **2009**, págs. 182, 7155–7162. [[CrossRef](#)]
  47. Fouda, G.G.; Yates, N.L.; Pollara, J.; Shen, X.; Overman, G.R.; Mahlokozera, T.; Wilks, A.B.; Kang, S.S.; Salazar-González, J.F.; Salazar, M.G.; et al. Las respuestas de anticuerpos funcionales específicos del VIH en la leche materna reflejan las del plasma y están mediadas principalmente por anticuerpos IgG. *J. Virol.* **2011**, *85*, 9555–9567. [[CrossRef](#)]
  48. Becquart, P.; Hocini, H.; Garin, B.; Sepou, A.; Dr. Kazatchkine; Belec, L. Compartimentación de la respuesta inmune IgG al VIH-1 en la leche materna. *SIDA* **1999**, *13*, 1323–1331. [[CrossRef](#)]