



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

Programa de Doctorado 3139 Medicina

Impacto del SARS-CoV-2 en la infertilidad femenina: valor de las pruebas serológicas, impacto sobre la reserva ovárica y efecto de la vacunación sobre los resultados de un tratamiento de Reproducción Asistida

Memoria para optar al Grado de Doctor presentada por

Maria Rosaria Campitiello

Bajo la dirección de los doctores

José A. Remohí Giménez

Antonio Requena Miranda

Valencia, Noviembre 2023



Dr. José A. Remohí Giménez, Doctor en Medicina y Catedrático de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia

CERTIFICO QUE:

El trabajo de investigación titulado: **“Impacto del SARS-CoV-2 en la infertilidad femenina: valor de las pruebas serológicas, impacto sobre la reserva ovárica y efecto de la vacunación sobre los resultados de un tratamiento de Reproducción Asistida”** ha sido realizado íntegramente por Maria Rosaria Campitiello bajo mi dirección. Dicha memoria está concluida y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Valencia a 16 de Octubre de 2023

Fdo. Dr. José A. Remohí Giménez



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Dr. Antonio Requena Miranda, Doctor en Medicina por la Universidad Rey Juan Carlos

CERTIFICO QUE:

El trabajo de investigación titulado: **“Impacto del SARS-CoV-2 en la infertilidad femenina: valor de las pruebas serológicas, impacto sobre la reserva ovárica y efecto de la vacunación sobre los resultados de un tratamiento de Reproducción Asistida”** ha sido realizado íntegramente por Maria Rosaria Campitiello bajo mi dirección. Dicha memoria está concluida y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Valencia a 16 de Octubre de de 2023

Fdo. Dr. Antonio Requena Miranda

SUGGERIMENT DE TRIBUNAL DE TESI DOCTORAL

Directors (es) / Codirectors (es):

1.- Cognoms, Nom. **Remohí Giménez, José A.** N.I.F: **24307995P**; Departament/Institut: **Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Universidad de Valencia**

2.- Cognoms, Nom. **Requena Miranda, Antonio.** N.I.F: **51655591Y.** Departament/Institut: **Director General Médico IVI RMA Global**

Com a director (a) /codirector (a), tutor(a) de la tesi doctoral de D/D^a **Maria Rosaria Campitiello**, estudiant del programa de doctorat **3139 Medicina** (RD99/2011), proposen el següent tribunal para jutjar la tesi doctoral:

Tribunal Titular:

- President titular: **Dr./Dra.: Francisco Raga Bauxauli.** Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Universidad de Valencia
- Secretari/a titular: **Dr./Dra José Antonio Lluca Abellá .** Departamento de Medicina. Universitat Jaume I
- Vocal titular: **Dr./Dra.: Teresa Gómez García.** Departamento de Ciencias Médicas. Universidad de Castilla-La Mancha

Tribunal Suplent

- President suplent: **Dr./Dra: Santiago Domingo del Pozo.** Jefe Clínico de Oncología Ginecológica. Hospital Universitario y Politécnico La Fe
- Secretari/a suplent: **Dr./Dra.: Pilar Alamá Faubel.** Ginecólogo Especialista en Medicina Reproductiva IVI Valencia; IVI-RMA Global
- Vocal suplent: **Dr./Dra.: Maria Carmina Vidal Martínez.** Ginecólogo Especialista en Medicina Reproductiva. IVI Valencia; IVI-RMA Global
-

Data: València, a 16 de Octubre de 2023

Dr. José A. Remohí Giménez

Director/a

Dr. Antonio Requena Miranda

Director/a

**ESCOLA DOCTORAL
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

Impacto del SARS-CoV-2 en la infertilidad femenina: valor
de las pruebas serológicas, impacto sobre la reserva
ovárica y efecto de la vacunación sobre los resultados de
un tratamiento de Reproducción Asistida

Memoria para optar al Grado de Doctor presentada por

Maria Rosaria Campitiello

Lista de figuras

Figura 1.- Estructura del SARS-CoV-2. Se destaca la estructura de la proteína S, elemento que media la entrada del virus a las células huésped.....	8
Figura 2. Mecanismo de entrada del SARS-CoV-2. La proteína S del SARS-CoV-2 se somete a la escisión proteolítica por la proteasa TMPRSS2. La subunidad S1 se divide en el dominio N-terminal (NTD) y C-terminal (CTD) y se une a ACE2, mientras que la subunidad S2 es responsable de la fusión de ambas membranas.....	9
Figura 3. Medidas implementadas por el Grupo IVI conforme aumentaban los casos en Italia y España.....	14
Figura 4.- Descenso en el número de transferencias embrionarias comparadas con el mismo periodo de los años anterior en el grupo IVI en España.....	16
Figura 5.- SARS-CoV-2 en el sistema reproductor femenino.....	18
Figura 6.- Efectos directos e indirectos de la infección por SARS-CoV-2 en el feto y la placenta.....	21
Figura 7.- Intervalos de tiempo estimados y tasas de detección virales.....	24
Figura 8.- Flujo de trabajo para realización de pruebas serológicas y moleculares.....	36
Figura 9.- Seroprevalencia del SARS-CoV-2 por provincia mediante detección por inmunoensayo.....	38

Listado de Tablas

Tabla 1.- Riesgo relativo de seropositividad en función de la edad.....	45
Tabla 2.- Incidencia de IgG positiva y riesgo relativo de seropositividad por demografía y serología.....	46
Tabla 3.- Seropositividad de acuerdo con el estatus de la pareja.....	47
Tabla 4.- Incidencia de IgM/PCR positiva y riesgo relativo de seropositividad por demografía y serología.....	50
Tabla 5.- Resumen de resultados de seroprevalencia por semanas y área geográfica.....	51
Tabla 6.- Variación en los niveles de AMH tras infección con SARS-CoV-2...	53
Tabla 7.- Resultados del ciclo tras infección con SARS-CoV-2.....	54
Tabla 8.- Resultados pre/post-vacunación con vacunas de adenovirus.....	58
Tabla 9. Resultados pre/post-vacunación con vacunas de ARN mensajero.....	59
Tabla 10.- Resultados entre los diferentes tipos de vacuna vs. grupo no vacunado.....	60

Lista de abreviaturas

ACE2. *Angiotensin-converting enzyme 2*

AMH. *Antimüllerian hormone*

BSG. *Basiginina*

ESHRE. *European Society of Human Reproduction and Embryology*

FIV. *Fecundación in vitro*

FSH. *Follicle-stimulating hormone*

hCG. *human Chorionic Gonadotropin*

IgG. *Inmunoglobulina G*

IgM. *Inmunoglobulina*

IMC. *Índice de masa corporal*

LH. *Luteinizing hormone*

MERS. *Middle East respiratory syndrome*

OMS. *Organización Mundial de la Salud*

Proteína E. *Envelope protein*

Proteína M. *Membrane protein*

Proteína N. *Nucleocapside protein*

Proteína S. *Spike protein*

RBD. *Receptor binding domain*

RT-PCR. *Real time polymerase chain reaction*

RR. *Riesgo relativo*

Rh. *Factor Rhesus*

SARS-CoV-2. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2*

ssRNA. *Single-strand RNA*

TMPRSS2. *Transmembrane protease serine -2*

Resumen

La declaración de pandemia del Covid-19 en marzo de 2020 por parte de la Organización Mundial de la Salud provocó una interrupción repentina e inesperada de la actividad sanitaria, incluida la prestación de servicios no esenciales. La actividad en los centros de Medicina Reproductiva se detuvo una media de 7 semanas y durante este periodo, se realizaron tratamientos urgentes de preservación de la fertilidad bajo medidas específicas de minimización de riesgos. Esta interrupción de los tratamientos de Reproducción Asistida, aún por un periodo de tiempo limitado, afectó a las posibilidades de los pacientes de conseguir un embarazo, pero dos años después, la situación no parece estar resuelta. Además de la edad, considerado el principal factor limitante, la causa de infertilidad fue otro factor para tener en cuenta en las posibilidades de éxito después del retraso en el inicio de tratamiento.

A lo largo de estos dos años se ha planteado la posibilidad de que el SARS-CoV-2 pueda afectar a las funciones reproductivas femeninas y, potencialmente, a la fertilidad. Sin embargo, se ha concluido que el riesgo de transmisión del virus por relaciones sexuales es bajo y que no hay co-expresión de los receptores ACE2 y TMPRSS2 en los órganos reproductores femeninos, lo que indicaría una susceptibilidad muy baja o nula a la infección.

Otro aspecto fundamental de este periodo de pandemia ha sido la vacunación contra el SARS-CoV-2, recomendada por la OMS y las autoridades gubernamentales con el objetivo de proteger frente a los casos graves de la enfermedad, las hospitalizaciones y las muertes por Covid-19. Sin embargo, la exclusión de mujeres embarazadas de los ensayos clínicos de la vacuna derivó en una falta de datos sobre la seguridad de las vacunas antes o durante un tratamiento de Reproducción Asistida y/o durante el embarazo. Esta incertidumbre generó ciertas reticencias hacia la vacunación, que se han

prolongado incluso hasta después de la publicación de numerosos estudios que demostraban que la vacuna contra el SARS-CoV-2 no afectaba negativamente ni al embarazo ni al recién nacido. Gradualmente, el conocimiento que se ha adquirido del virus y de sus vías de transmisión permitió la reanudación de la actividad con ciertas restricciones y medidas de seguridad. La vacunación contra el SARS-CoV-2 ha demostrado ser segura, incluso para las mujeres embarazadas; aun así, quedan preguntas por resolver en cuanto al impacto del virus sobre la fertilidad. Se necesitan respuestas a estas preguntas con el objetivo de ayudar a los centros de Medicina Reproductiva a continuar realizando tratamientos seguros en esta era post Covid-19.

INTRODUCCIÓN

La aparición de la infección por coronavirus que surgió en Wuhan, China en diciembre de 2019 ha dado lugar a una epidemia que se ha expandido rápidamente hasta convertirse en una de las amenazas para la salud pública más importantes de los últimos tiempos. El virus se identificó en China a principios de enero de 2020 e inicialmente se denominó 2019-nCoV para posteriormente pasar a ser conocido como SARS-CoV-2. La enfermedad que provoca ha sido denominada Covid-19 (Anonymous , 2020)

Desafortunadamente, la enfermedad se extendió rápidamente a nivel mundial. El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró al Covid-19 como una pandemia y llamó a los gobiernos a tomar medidas urgentes y agresivas para intentar cambiar el curso del brote. Se hizo necesario desarrollar de forma urgente un plan y políticas sólidas para evitar la propagación de la enfermedad. A medida que se extendía la enfermedad, la comunicación coherente y consistente basada en la ciencia, ha sido esencial (The Lancet Respiratory, 2020)

1.- SARS-CoV-2: cómo es y cómo actúa

Los coronavirus son miembros de la subfamilia *Orthocoronavirinae* dentro de la familia *Coronaviridae*. Esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* de acuerdo con su estructura genética (Wang *et al.*, 2020).

Estructuralmente, los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta de bicapa lipídica y que contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 26-32 kilobases de longitud (Garcia-Montero *et al.*, 2021). El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica cuatro proteínas estructurales: la proteína S (*spike protein*), la proteína E (*envelope*), la proteína M (*membrane*) y la proteína N (nucleocapsid). La proteína N se encuentra en el interior del virión asociado al RNA viral,

y las otras tres proteínas están asociadas a la envuelta viral que oculta aún más el material genético. Además, la proteína S presenta una función adicional y particularmente relevante, ya que media la entrada del virus en las células huésped, permitiendo la infección; esta proteína estructural, está compuesta de dos subunidades funcionales: S1 de unión al receptor y S2, con actividad de fusión

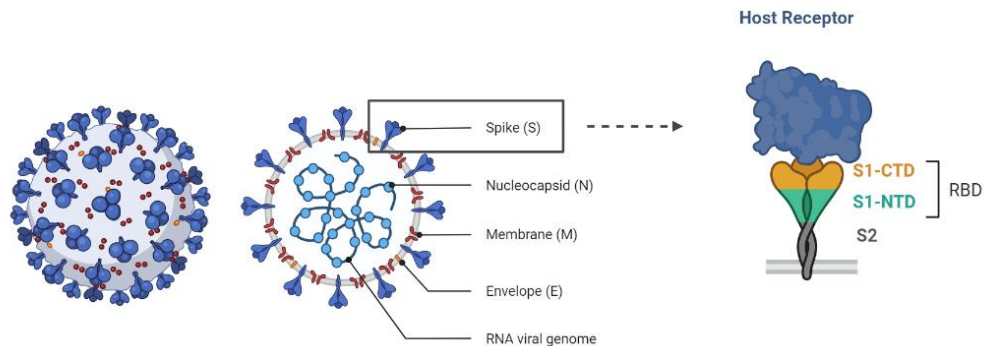


Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2. Se destaca la estructura de la proteína S, elemento que media la entrada del virus a las células huésped (Wang, 2020)

La subunidad S1 se une al receptor de ACE2 (*angiotensin-converting enzyme 2*) presente en la célula huésped a través de su dominio de unión al receptor RBD (*receptor binding domain*), mientras que la subunidad S2 lleva a cabo la fusión entre las membranas del virus y la célula huésped (Wang *et al.*, 2020). Alternativamente, la endocitosis del virión y la posterior fusión de la envoltura viral con la membrana endosómica para liberar el genoma viral en el citoplasma también se ha reportado para este tipo de virus (Peng *et al.*, 2021)

Después de acceder al citoplasma de la célula huésped, tiene lugar el proceso de replicación, transcripción y traducción del genoma viral, lo que deriva en la síntesis de ARN subgenómico junto con las cuatro proteínas anteriormente mencionadas (Kumar and Al Khodor, 2020). Las proteínas N, M y E se ensamblan en el virus y se liberan por exocitosis, mientras que la proteína S interviene en la fusión intercelular entre las células

infectadas, creando grandes células multinucleadas que permiten que el virus se propague fácilmente por el organismo debido a su capacidad para permanecer sin ser detectados por los anticuerpos (Ochani *et al.*, 2021)

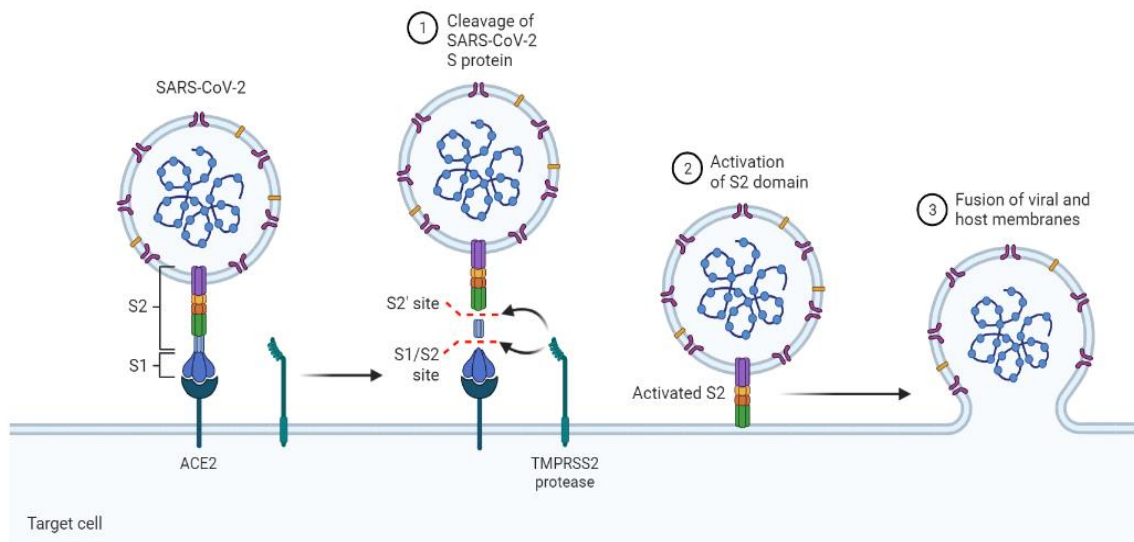


Figura 2. Mecanismo de entrada del SARS-CoV-2. La proteína S del SARS-CoV-2 se somete a la escisión proteolítica por la proteasa TMPRSS2. La subunidad S1 se divide en el dominio N-terminal (NTD) y C-terminal (CTD) y se une a ACE2, mientras que la subunidad S2 es responsable de la fusión de ambas membranas (Wang, 2020)

Los coronavirus humanos se transmiten fundamentalmente a través de gotas respiratorias, pero también se ha reportado que se pueden transmitir a través de aerosoles, contacto directo con superficies contaminadas y transmisión fecal-oral (Li, Y. *et al.*, 2005, Otter *et al.*, 2016, Yu *et al.*, 2004). Los primeros informes de pacientes con tos, “ground glass opacities” en los pulmones y progresión de los síntomas hacia una neumonía severa indicaron la posibilidad de que el SARS-CoV-2 se transmitiera a través de las vías respiratorias. Esta transmisión directa a través de gotas respiratorias se ve reforzada por la replicación eficaz del virus tanto en las vías respiratorias superiores como en las inferiores, y por el número creciente de trabajos que indican la transmisión persona a persona entre contactos cercanos que presentan tos activa.

También se describieron casos de transmisión asintomática/presintomática del SARS-CoV-2, que contrasta con la dinámica de expansión descrita hasta el momento (Arons *et al.*, 2020). Este hallazgo subrayó la capacidad del SARS-CoV-2 para colonizar y replicarse en la garganta durante las fases iniciales de la infección (Zou *et al.*, 2020). Comprender la importancia relativa de la transmisión en la actual pandemia de Covid-19 se reveló como esencial para que las autoridades de salud pública tomaran las medidas de control más integrales y efectivas entre las que se incluyeron el uso de mascarillas, el rastreo de contactos y el aislamiento físico.

En general, los coronavirus del resfriado común tienden a causar síntomas leves en las vías respiratorias superiores y algún tipo de compromiso intestinal, Por el contrario, la infección por coronavirus altamente patógenos como el SARS-CoV-2 causa síntomas graves similares a los de la gripe, y que pueden progresar hacia una enfermedad respiratoria aguda, neumonía, insuficiencia renal y muerte (Harrison *et al.*, 2020). El periodo de incubación de la enfermedad es de aproximadamente 5-6 días. A medida que la pandemia avanzaba se hizo más evidente que la Covid-19 abarcaba no sólo enfermedades respiratorias y/o intestinales, sino que también puede tener ramificaciones a largo plazo en forma de miocarditis. Además, la enfermedad no se limitaba únicamente a la población anciana como inicialmente se había pensado, sino que los niños y los jóvenes también se encontraban en riesgo de contraer la enfermedad.

Los pacientes con síntomas graves de Covid-19 presentaron proporciones más altas de macrófagos proinflamatorios y neutrófilos en el fluido broncoalveolar en comparación con aquellos individuos que desarrollaron una forma más moderada de la enfermedad (Liao *et al.*, 2020). Este entorno altamente inflamatorio se ha asociado con patología pulmonar grave en pacientes con SARS-CoV-2, junto con la denominada “tormenta de citoquinas” asociada a pacientes gravemente afectados por la infección;

estos mediadores proinflamatorios pueden, a su vez, perpetuar la enfermedad pulmonar y aumentar las cantidades de proteína C reactiva hepática. Por lo tanto, un aumento de las concentraciones de proteína C reactiva suele correlacionarse con una producción elevada de interleukina-6 en pacientes con Covid-19.

2.- Impacto del Covid-19 en Reproducción Asistida

En el contexto de la Reproducción Asistida, tanto los especialistas en Medicina Reproductiva como los pacientes han luchado contra esta pandemia sin precedentes recientes. Las prioridades han sido maximizar el bienestar de los pacientes, de los trabajadores y de la sociedad, en general. Sin embargo, en un principio fue difícil ya que había mucha confusión en cuanto a los efectos de la infección sobre los tratamientos de fertilidad (ESHRE COVID-19 Working Group *et al.*, 2020). A la vista de los acontecimientos, la mayoría de los centros optaron por tomar medidas más drásticas, muchas de ellas sin evidencias científicas sólidas debido a las circunstancias y con el único objetivo de garantizar la seguridad de nuestras pacientes, reducir los contactos no esenciales y prevenir las posibles complicaciones materno-fetales en los futuros embarazos. Conforme el número de casos aumentaba en Italia y España, comenzaron a aplicarse una serie de medidas centradas en reducir progresivamente la actividad asistencias en todos los centros IVI localizados en estos dos países

Dado que el estado de emergencia se declaró en el norte de Italia el 31 de enero de 2020 y que posteriormente se estableció una zona roja de aislamiento a medida que aumentaba el número de contagios (La Marca *et al.*, 2020), nuestra primera decisión fue establecer visitas *online* a pacientes del norte de Italia, mientras que los pacientes asintomáticos del resto del país pudieron continuar con su plan de tratamiento inicial. Al mismo tiempo, comenzó a darse información específica de prevención y profilaxis a los trabajadores de IVI-RMA tanto en Italia como en España para todos los pacientes

procedentes de las zonas afectadas. Puesto que la situación en Italia no mejoraba y en previsión de un posible confinamiento del país (lo que se produjo el 9 de marzo de 2020), se ampliaron las medidas restrictivas para todo paciente de Italia que viniera a realizarse un ciclo de tratamiento en España. Estas restricciones incluyeron la suspensión de la mayoría de los tratamientos de donación de ovocitos y de las transferencias embrionarias de pacientes italianas, recomendando una estrategia de “freeze-all” y una posterior transferencia de embriones cuando la situación se haya normalizado.

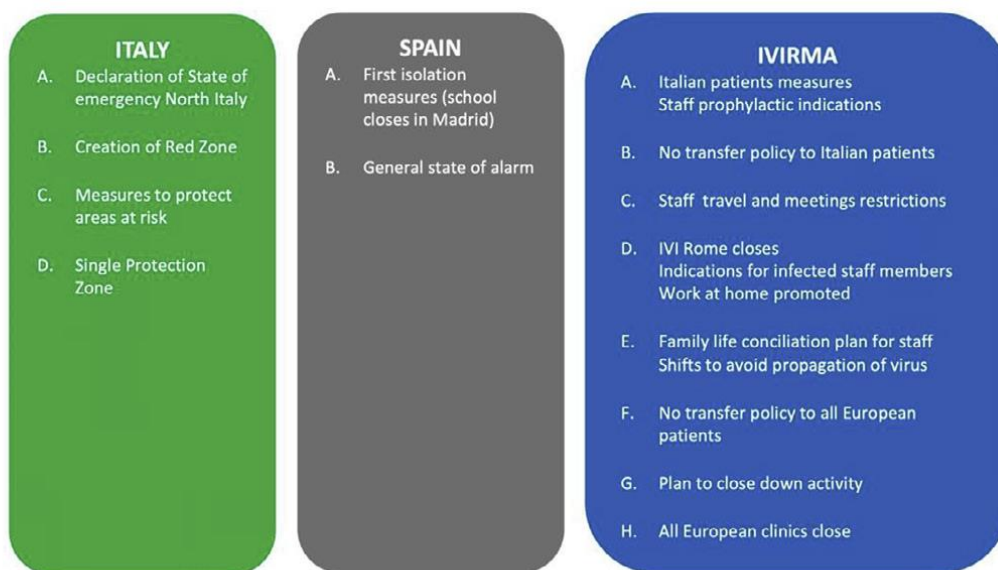


Figura 3. Medidas implementadas por el Grupo IVI conforme aumentaban los casos en Italia y España (Requena et al., 2020)

Continuando con las medidas tomadas inicialmente, y considerando que en España la situación de la sanidad pública comenzaba a ser crítica, con una suspensión casi total de todos los procedimientos no urgentes y siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, se decidió interrumpir el inicio de cualquier protocolo de estimulación ovárica, tanto en ciclos propios como de donantes de ovocitos, así como cualquier transferencia embrionaria. Por otro lado, y teniendo en cuenta que el perfil de la paciente infértil era de buena salud y asintomática, se resolvió continuar con los ciclos de gametos propios que ya estaban en fase de estimulación hasta la recuperación de

ovocitos, para no perjudicar a todas aquellas parejas que ya habían iniciado un tratamiento de Reproducción Asistida.

El cumplimiento de estas acciones resultó en una reorganización completa del personal de la clínica. Con el fin de proteger a los trabajadores y mantener la actividad decreciente de los laboratorios, se desarrolló un plan de concienciación y respuesta ante enfermedades infecciosas, estableciéndose dos turnos de trabajo completamente separados entre sí con el objetivo de evitar la cuarentena de todo el grupo en caso de contagio. Esta decisión afectó fundamentalmente al laboratorio de *fecundación in vitro* (FIV), ya que se consideró que pertenecían a una de las actividades más sensibles de la clínica asistencial.

En este punto nos gustaría destacar cómo afectó a nuestra casuística la decisión de reducir la actividad asistencial de nuestros pacientes. La figura 4 muestra una comparativa del número de transferencias embrionarias realizadas en el mismo periodo de 2019 y 2020. Como podemos observar, desde la puesta en marcha de las primeras medidas restrictivas a causa de la pandemia, el descenso fue progresivo durante el mes de febrero seguido de una caída pronunciada de la actividad desde el 10 marzo de 2020, fecha casi coincidente con la declaración del estado de alarma en España; por otro lado, y tal como era de prever, aumentaron paulatinamente los procedimientos de preservación de la fertilidad a medida que disminuían el resto de tratamientos, según las recomendaciones establecidas por las diferentes sociedades científicas. Estos datos podrían considerarse un reflejo de la aceptación que tuvieron estas decisiones entre nuestras pacientes.

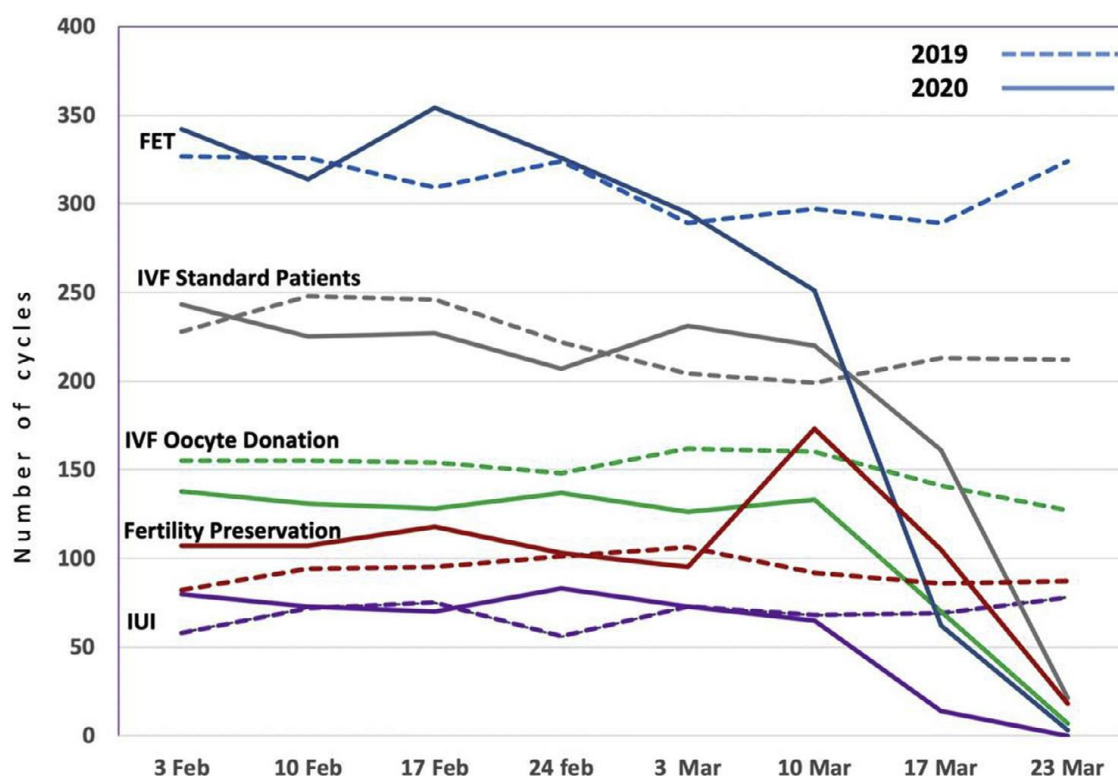


Figura 4. Descenso en el número de transferencias embrionarias comparadas con el mismo periodo del año anterior en el grupo IVI en España (Requena et al., 2020)

A medida que la pandemia aumentaba la presión sobre los sistemas de salud, los países comenzaron a emitir directivas e instrucciones dirigidas a la interrupción de la actividad no esencial, con el objetivo de reorganizar los recursos humanos para combatir la enfermedad (Rodriguez-Wallberg and Wikander, 2020). Definir qué se entendía por “actividad no esencial” suscitó una serie de inquietudes para ciertos grupos de interés por lo que se abrió un debate sobre qué es electivo y qué no es electivo en salud, y por qué no es tan simple desde un punto de vista bioético trazar esta línea teórica (Simopoulou *et al.*, 2020). En línea con la posición adoptadas por la Sociedad Italiana de Fertilidad y Esterilidad y Medicina Reproductiva (Vaiarelli *et al.*, 2020) pensamos que limitar indefinidamente el acceso a los tratamientos de Reproducción Asistida a estos pacientes podría afectar a sus posibilidades de ser madre una vez que la situación se estabilizara.

Se consideró que tanto la edad materna avanzada como una baja reserva ovárica eran condiciones tan urgentes como la preservación de la fertilidad para una paciente

oncológica, por lo que la nueva propuesta consistiría en realizar un tratamiento con congelación de ovocitos y/o embriones. De esta forma, no se perdería un tiempo precioso y se potenciarían las oportunidades de gestación de este grupo de mujeres (Vaiarelli *et al.*, 2020). En cualquier caso, se han publicado datos interesantes sobre cómo afecta el retraso en un tratamiento un periodo de 6 meses (Romanski *et al.*, 2020); el estudio concluyó que un breve retraso en la realización de un tratamiento de Reproducción Asistida no afecta negativamente a los resultados clínicos.

En resumen, las medidas de control deben ser equitativas e inclusivas (Berger *et al.*, 2020). Los pacientes infértiles tienen derecho a ejercer su deseo de paternidad y las indicaciones para realizarse un tratamiento de Reproducción Asistida no deben cambiar durante el tiempo que dure la crisis, especialmente cuando la concepción natural no está sujeta a ninguna restricción en cuanto a ser evitada.

3.- Seguridad de los tratamientos de Reproducción Asistida durante la pandemia de Covid-19

Las enfermedades virales crónicas han sido motivo de preocupación para los especialistas en Medicina Reproductiva. De acuerdo con este problema, las sucesivas actualizaciones de la ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*) han establecido que cualquier riesgo de contaminación viral de gametos y embriones en el laboratorio de fecundación in vitro (FIV) probablemente sea mínimo debido a los repetidos pasos de lavado requeridos para los protocolos de cultivo y congelación. El razonamiento general es que la Reproducción Asistida no actúa como vía de contagio del virus.

Como hemos comentado anteriormente, el Covid-19 es causado por el coronavirus 2 (SARS-CoV-2) del síndrome respiratorio agudo severo (SARS), que comparte con el

SARS-CoV el mismo receptor celular ACE2 (*angiotensin -converting enzyme 2* o enzima convertidora de angiotensina) y la TMPRSS2 (*transmembrane protease serine -2*), una proteasa celular (Lukassen *et al.*, 2020). Por otro lado, la proteína S del virus se compone de dos subunidades que facilitan la unión del virus al huésped. La subunidad S1, que incluye el dominio de unión al receptor (RBD), facilita la unión del virus a la membrana de la célula huésped a través del receptor de ACE2; por su parte, la subunidad S2 se une a la TMPRSS2 de la célula huésped y es responsable de la fusión de ambas membranas, lo que permite el acceso del genoma del virus a la célula huésped y la posterior activación de la proteína S (Stanley *et al.*, 2020). Además de las patologías respiratoria conocidas, hay otras dolencias asociadas a una infección por coronavirus. Los órganos que expresan los factores de entrada del virus como ACE2 y TMPRSS2 son más susceptibles de infección y en este punto, se han publicado diferentes estudios que confirman la expresión de estos factores de entrada en los órganos reproductivos.

Se ha descrito la expresión de ACE2 dependiente de gonadotropinas en ovarios humano (Fenizia *et al.*, 2020, Zeng *et al.*, 2020). En los ovarios de primates no-humanos se ha detectado expresión de ACE2 y TMPRSS2 restringida a las células germinales; además, se observa que la expresión de ACE2 es mayor que la de TMPRSS2, lo que sugiere que este último puede actuar como factor limitante para la infección del ovocito. El grado de co-expresión de ACE2 y TMPRSS aumenta con la madurez del ovocito, siendo más elevada en los folículos antrales que en los folículos primordiales. En lo que respecta al ovario como tal, no hay evidencias sólidas que demuestren la presencia de partículas víricas de SARS-CoV-2. Los estudios publicados hasta la fecha no reportan diferencias significativas en la calidad del líquido folicular, niveles de hormonas y de AMH entre mujeres vacunadas y/o que habían superado la enfermedad en comparación con aquellas no infectadas y no vacunadas del mismo rango de edad (Bentov *et al.*, 2021,

Li, K. *et al.*, 2021). Sin embargo, dado que la aparición de esta patología es todavía relativamente reciente, no se han realizado estudios a largo plazo sobre cómo afecta a la fertilidad femenina. Se necesitan más estudios y en poblaciones más amplias para poder llegar a una conclusión justa sobre su impacto en la fertilidad femenina, aunque no se debe ignorar la posibilidad de que afecte a la reserva ovárica (Chandi and Jain, 2021)

En cuanto al útero, ACE2 desempeña un papel importante en los cambios endometriales, ya que es responsable de la escisión de la angiotensina II provocando la vasoconstricción de la arteria espiral, la proliferación endometrial y la renovación del tejido (Jing *et al.*, 2020, Shan *et al.*, 2015). La regulación a la baja de la expresión de ACE2 como consecuencia de la infección puede alterar el equilibrio endometrial. La expresión de ACE2 y TMPRSS2 aumenta desde la fase proliferativa a la fase secretora lo que implica un aumento de la expresión de ACE2 durante la ventana de implantación, aumentando el riesgo de infección en esta etapa del ciclo menstrual (Chadchan *et al.*, 2021); además, la expresión de genes relacionados con el virus aumenta con la edad, lo que indica que aquellas mujeres de edad materna avanzada que se realicen un tratamiento de Reproducción Asistida tienen más riesgo de contagio (Vaz-Silva *et al.*, 2009). Por último, y debido a la falta de evidencias directas relacionadas con la presencia/ausencia de partículas víricas en el tejido endometrial, los estudios posteriores deberían enfocarse en los efectos de la infección por Covid-19 sobre la receptividad endometrial para determinar si la transferencia de embriones durante este periodo puede afectar a los resultados clínicos en forma de tasa de gestación o de recién nacido vivo

Otro aspecto para tener en cuenta es el efecto de otras patologías ginecológicas en la enfermedad, ya que se ha observado que la endometriosis cursa con una sintomatología más aguda de la Covid-19 y que las mujeres con ovario poliquístico son más susceptibles a la infección por el virus (Morgante *et al.*, 2021).

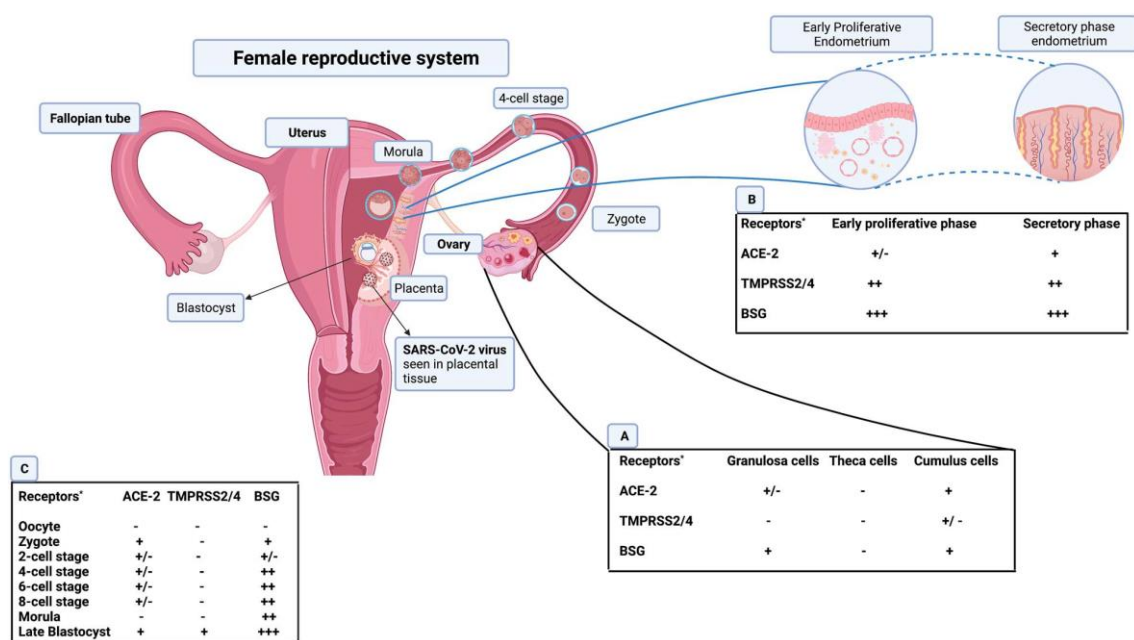


Figura 5. SARS-CoV-2 en el sistema reproductor femenino (Chandi and Jain, 2021)

Como podemos ver en la Figura 5, sólo las células de la granulosa de entre todas las líneas celulares expresan receptores de ACE2 y BSG. Por su parte, las células del cúmulo presentes en los folículos antrales expresan receptores de ACE2, TMPRSS2 y en menor medida de BSG, por lo que son susceptibles a la infección por Covid-19; por último, no se ha descrito presencia de SARS-CoV-2 en el ovario humano. En lo que respecta al endometrio, la expresión de ACE2 aumenta desde la fase proliferativa a la fase secretora del endometrio y la co-expresión de ACE2 y especialmente de TMPRSS2 lo hace susceptible a la infección por el virus durante la ventana de implantación. Los embriones en estadio de blastocisto expresan receptores de ACE2 y TMPRSS2 en las células citotrofoblásticas que luego forman la placenta

El Covid-19 ha supuesto un reto para la Medicina Reproductiva. Dado que aún quedan muchas preguntas sin respuesta, es importante que los profesionales estén alertas, modificando y ajustando los tratamiento y estrategias de acuerdo con la información cambiante y diaria y la experiencia publicada sobre el comportamiento de la enfermedad.

4.- Embarazo y Covid-19

Una pregunta común que nos solemos hacer después de la aparición de un nuevo patógeno es si el embarazo puede considerarse un factor de riesgo de la infección o de desarrollo de la forma severa de la enfermedad. Un embarazo requiere cambios en el sistema inmunológico de la gestante para tolerar a un feto genéticamente extraño. Comprender la susceptibilidad a la infección durante un embarazo es un reto constante, dado que la cantidad de contagios observados depende no solo de la susceptibilidad sino también del nivel de exposición al patógeno. Las mujeres embarazadas pueden ser más cautelosas con respecto al riesgo, lo que resulta en un menor nivel de exposición, y por tanto en una menor susceptibilidad (Kalafat *et al.*, 2022). Los datos de los que disponemos actualmente no respaldan una mayor susceptibilidad durante el embarazo, pero las conclusiones son difíciles debido a las posibles diferencias en los niveles de exposición entre las gestantes y las no gestantes.

Durante este periodo de pandemia, las mujeres embarazadas se han considerado un grupo de alto riesgo debido a las dudas sobre el efecto de la enfermedad en ellas durante y después del embarazo y en sus recién nacidos. La cuantificación de las tasas de Covid-19, sus factores de riesgo y manifestaciones clínicas y resultados ha sido clave para planificar la atención y cuidado materno en un escenario pandémico en continua evolución (Qiao, 2020).

Al principio, el conocimiento sobre los efectos de la infección en una mujer embarazada fue muy limitado; a medida que la pandemia avanzaba, la prevención y el control de la enfermedad entre las mujeres embarazadas y el riesgo potencial de transmisión vertical se convirtieron en una de las principales preocupaciones (Requena *et al.*, 2020). A lo largo de estos 2 últimos años, las publicaciones sobre Covid-19 y embarazo han aumentado considerablemente a través de informes de casos individuales,

series de casos, estudios observacionales y revisiones sistemáticas. Estas aproximaciones iniciales, aunque se quedaron obsoletas en poco tiempo, demostraron ser muy valiosas para la atención clínica y preventiva.

Una de las últimas revisiones sistemáticas que evaluó las manifestaciones clínicas, los factores de riesgo y los resultados maternos y perinatales de la Covid-19 durante el embarazo (Allotey *et al.*, 2020) encontró que las mujeres gestantes con Covid-19 parecen tener mayor riesgo de requerir ingreso en una unidad de cuidados intensivos; que la edad materna avanzada, un índice de masa corporal alto y la presencia de comorbilidades pueden estar asociados a una enfermedad grave; y que las mujeres embarazadas infectadas por Covid-19 corren un mayor riesgo de tener un parto prematuro y que sus hijos tengan que ser derivados a las unidades de cuidado neonatal.

Las variantes del virus también deben considerarse como otro factor de riesgo. La variante delta se relacionó con mayor mortalidad y morbilidad entre las personas embarazadas, aumentando el riesgo de que fuera necesario un soporte de ventilación mecánica. Por su parte, la variante ómicron se asoció con una forma más leve de la enfermedad, aunque en muchas ocasiones estos datos pueden confundirse por la elevada tasa de vacunación entre las cohortes informadas. Es importante abordar los conceptos erróneos sobre la disminución de la gravedad de la enfermedad con las nuevas variantes y enfatizar la necesidad de la vacunación entre todos los segmentos de la población.

Como acabamos de ver, se sabe que las adaptaciones fisiológicas maternas al embarazo aumentan el riesgo de desarrollar un grado severo de la enfermedad en respuesta a infecciones virales, ya que los datos sugieren que el pronóstico de la infección por Covid-19 también podría ser más grave en mujeres embarazadas (Savasi *et al.*, 2020). Con respecto a la transmisión vertical, ésta nunca fue descrita para otros virus como el SARS o el MERS. Sin embargo, en el contexto de la pandemia actual, se han desarrollado

criterios de evaluación de transmisión vertical que incluyen documentación de la infección materna, identificación del SARS-CoV-2 en las primeras 24 horas de vida y evidencia de la persistencia de la infección en el recién nacido (Garcia-Flores *et al.*, 2022, Smithgall *et al.*, 2020).

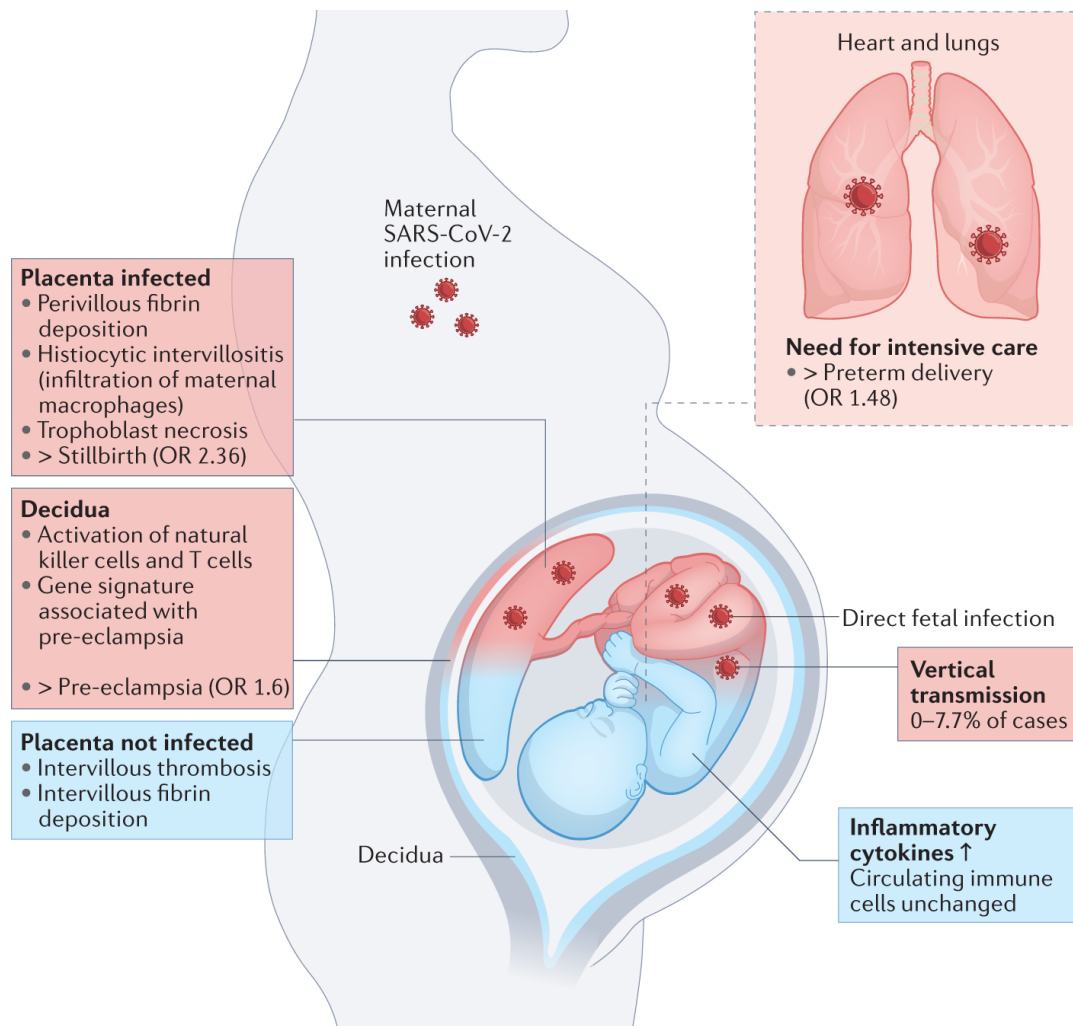


Figura 6. Efectos directos e indirectos de la infección por SARS-CoV-2 en el feto y la placenta (Male, 2022)

La infección materna por SARS-CoV-2 puede afectar al embarazo de muchas maneras. La necesidad de cuidados intensivos asociada a la forma severa de la enfermedad puede obligar a adelantar el parto, con el consiguiente aumento en la tasa de partos prematuros. La infección placentaria puede estar asociada a una placentitis, que se

relaciona con un mayor riesgo de muerte fetal. Incluso en ausencia de infección placentaria, se observan cambios inflamatorios en la decidua y la placenta y que pueden asociarse a un mayor riesgo de preeclampsia. También se ha descrito transmisión vertical de la enfermedad, aunque esta es mucho menos común (Male, 2022)

Aunque se ha documentado la transmisión intrauterina de Covid-19 (Watkins *et al.*, 2021), ésta parece ser poco frecuente. Las razones de esta baja frecuencia no se conocen en profundidad, pero podrían estar relacionadas con los bajos niveles de viremia durante la infección (Shook *et al.*, 2022), y la falta de co-expresión placentaria de factores que facilitan la entrada del virus a las células (Schwartz *et al.*, 2022), aunque no todos los estudios publicados son consistentes en los resultados reportados.

La determinación de ácidos nucleicos del SARS-CoV-2 en placenta, feto y líquido amniótico de mujeres afectadas por la enfermedad demostró pocas evidencias de infección intrauterina. Recientemente (Hosier *et al.*, 2020) se ha publicado un caso de una mujer embarazada de 22 semanas diagnosticada de Covid-19, que sufrió un aborto y presentó una determinación positiva para el virus en placenta. Además, la paciente presentaba síntomas positivos de preeclampsia, acompañados de hipertensión severa y coagulación anormal; la patología placentaria mostró que el virus se encontraba fundamentalmente en el sincitiotrofoblasto, mientras que en el espacio intersticial se observaron depósitos de fibrina e infiltraciones de células mononucleares, consistentes con las lesiones observadas en la patología pulmonar.

Por último, las revisiones más recientes de resultados maternos y perinatales han demostrado un aumento significativo de mortinatos y muertes maternas durante la pandemia en comparación con el periodo previo a la misma (Chmielewska *et al.*, 2021); sin embargo, no se observó ningún efecto significativo en las complicaciones del embarazo como diabetes gestacional, hipertensión inducida por el embarazo y frecuencia

de partos prematuros. En resumen, los autores concluyen que, aunque la transmisibilidad del virus es realmente alta, el desarrollo fetal intrauterino es relativamente normal. Conocer cómo se comporta biológicamente el virus durante el embarazo es fundamental para definir el manejo obstétrico adecuado de las gestantes con Covid-19

5.- Efecto del Covid-19 en la salud reproductiva

Desarrollar estrategias de evaluación de riesgo frente al Covid-19 ha supuesto un reto único para los centros de Medicina Reproductiva. La propia naturaleza de los tratamientos de fertilidad implica la interacción con el paciente durante varias semanas, por lo que es necesario confirmar continuamente que la paciente no se encuentra en un episodio de infección activa, por lo que fue necesario desarrollar una herramienta de diagnóstico fiable y sensible para la Covid-19 que pudiera abordar estos desafíos de forma eficaz (Papathanasiou, 2020).

La adaptación de los servicios de Reproducción Asistida resultó en una reorganización completa del trabajo diario para garantizar que se estaban respetando las recomendaciones de los organismos oficiales sanitarios para evitar la transmisión del virus. Además, se comenzaron a realizar rutinariamente tareas de saneamiento en todas las áreas de actividad clínica y se implementaron procedimientos de antisepsia específicos para pacientes y/o miembros del personal que resultaron positivos para la infección (ESHRE COVID-19 Working Group *et al.*, 2020).

El principio clave establecido por las sociedades científicas para la reanudación de la actividad asistencial fue que toda persona que acudiera a un centro de Medicina Reproductiva tenía que haber dado negativo en el cribado previo de detección de sintomatología asociada a la enfermedad. El tiempo de incubación de la Covid-19 es variable (Sethuraman and Jeremiah, 2020), por lo que las personas asintomáticas podrían

potencialmente transmitir el virus a otros pacientes o miembros del personal; por esta razón, todas las sociedades científicas abogaron por la realización de un cribado, previo cumplimiento de un triaje de enfermedad para determinar el riesgo de exposición individual al virus. Este filtro inicial se reveló como un paso esencial en estos primeros momentos de la reanudación de la actividad clínica, ya que se diagnosticaron muy pocos casos con serología positiva después de haber establecido un triaje negativo.

Un régimen de pruebas regulares para el diagnóstico de la Covid-19 actúa como una especie de filtro al identificar y aislar a las personas con una infección activa, incluidas aquellas que son asintomáticas. Actualmente, las pruebas diagnósticas para la COvid-19 se dividen en dos categorías: PCR y pruebas de antígenos, que detectan la presencia de partes de virus; y pruebas serológicas, que registran la presencia de anticuerpos producidos cuando la persona ha sido contagiada de la enfermedad.

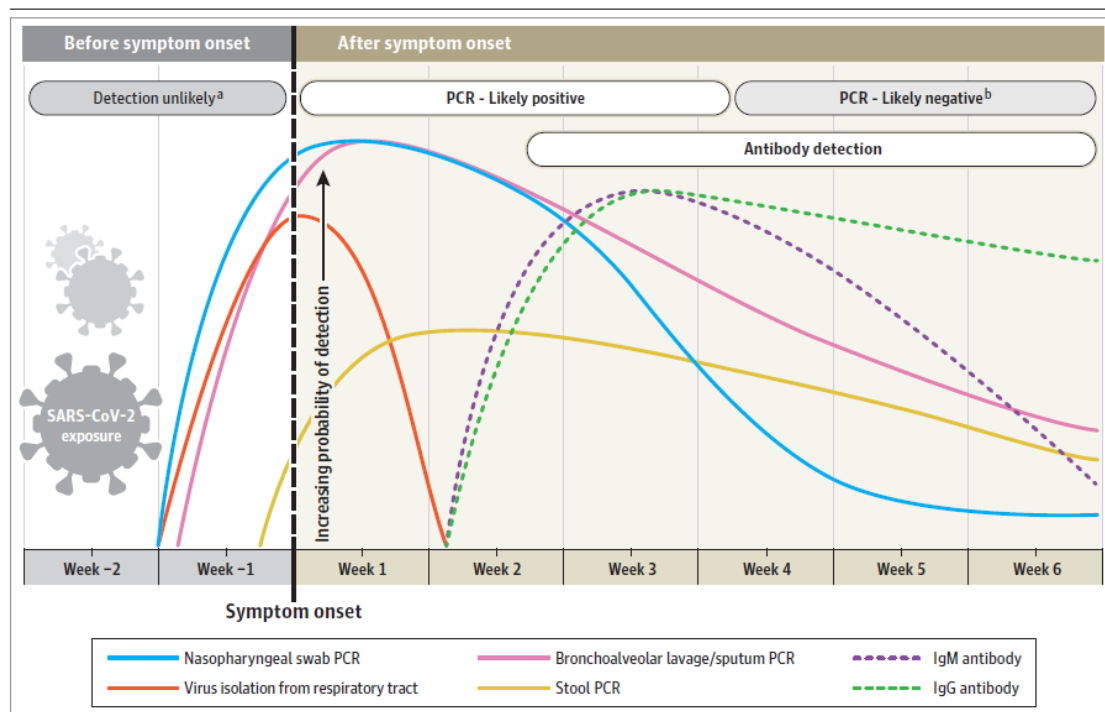


Figura 7. Los intervalos de tiempo estimados y las tasas de detección virales (Sethuraman and Jeremiah, 2020)

Los intervalos de tiempo estimados y las tasas de detección virales se basaron en datos de varios estudios publicados (Sethuraman and Jeremiah, 2020). Debido a la variabilidad de los valores entre los distintos estudios, los intervalos de tiempo estimados deben considerarse aproximaciones y la probabilidad de detección de la infección por SARS-CoV-2 se reporta cualitativamente.

Aunque la PCR es capaz de confirmar el grado de infectividad de una persona, también detecta a aquellos individuos que tienen el virus pero que no es probable que lo transmitan, al presentar una carga viral baja. Por el contrario, las pruebas basadas en antígenos ayudan a identificar rápidamente a las personas con cargas virales altas, es decir, aquéllas con más riesgo de infecciosidad para los demás, y aislarlas de la comunidad. La transmisión del SARS-CoV-2 parece ocurrir días después de la exposición, cuando la carga viral alcanza su punto máximo (He *et al.*, 2020); este momento, aumenta la importancia de la frecuencia de realización de las pruebas, ya que un diagnóstico a tiempo de la infección puede detener la propagación. Los tests de antígenos cumplen estas condiciones, ya que son capaces de revelar la presencia de proteínas virales y muestran resultados positivos cuando la persona se encuentra en su máximo nivel de infecciosidad al contar con una elevada carga de partículas virales (Mina *et al.*, 2020).

Como consecuencia de las ventajas que aportan las pruebas de antígenos en estrategias de vigilancia eficaces, el grupo IVI-RMA desarrolló un protocolo que se mantuvo vigente hasta septiembre 2020 y que incluye la realización de estos tests a todas las pacientes con triaje negativo que entraban a quirófano, se les realizaba una transferencia de embriones y/o se sometían a un procedimiento de inseminación artificial. En concreto, antes de realizar una prueba de antígenos, se hace un triaje sintomático en el que se pregunta telefónicamente a los pacientes si se encuentran en cuarentena o

aislamiento o si presentan algún síntoma compatible con la infección, según las directrices comunicadas por la ESHRE (ESHRE COVID-19 Working Group *et al.*, 2020); sólo los pacientes clasificados como negativos en el triaje, acuden a la clínica para la realización de más pruebas. Posteriormente, la primera prueba de antígenos se realiza antes de iniciar la estimulación ovárica o la preparación endometrial y la segunda, una vez programada la punción ovocitaria o 24-48 horas antes de la transferencia embrionaria en ciclos sustituidos.

En resumen, teniendo en cuenta que durante los últimos meses la edad media de los infectados por Covid-19 ha disminuido considerablemente, se puede suponer que un porcentaje cada vez mayor de parejas en tratamiento de Reproducción Asistida están infectadas, pero son asintomáticas. Detectarlos es de gran importancia, por lo que los centros de Medicina Reproductiva deben tener especial cuidado con los procedimientos de cribado y diagnóstico.

6.- Vacunas SARS-CoV-2 y Reproducción Asistida

Desde que estalló la pandemia hace más de un año, la búsqueda de una vacuna se ha convertido en una cuestión de máxima prioridad. El tiempo necesario para desarrollarla ha sido más corto de lo que se suele ver con otras vacunas y/o medicamentos (M. Blake Evans,); sin embargo, toda la sociedad esperaba este desenlace, siendo la alta inversión, los avances biotecnológicos y la logística los principales impulsores de este desarrollo

Actualmente en España se están administrando cuatro tipos de vacunas: Pfizer/BioNTech (BNT162b2), Moderna (mRNA-1273), AstraZeneca (ChAdOx) y Janssen Pharmaceuticals (Ad26.COV2.S). Cabe señalar que las vacunas de Pfizer y Moderna son vacunas basadas en mRNA que no contienen partículas virales vivas; en términos de desarrollo de vacunas, la implementación de esta nueva tecnología es

completamente innovadora, ya que toma prestada la maquinaria de traducción de la célula para producir la suficiente proteína S vírica para generar una respuesta inmunogénica. Por otro lado, las vacunas de AstraZeneca y Janssen se basan en la acción de adenovirus, los cuales no tienen actividad replicativa y pueden estimular la respuesta inmune sin la presencia de adyuvantes (Garcia-Montero *et al.*, 2021). El objetivo global de estas vacunas es la inducción de anticuerpos y células T dirigidas a la proteína S del SARS-CoV-2.

Las mujeres en edad reproductiva son consideradas una población con características muy particulares, por lo que muchas veces son excluidas de los ensayos clínicos. Esto ha dado lugar a muchas preguntas sin respuesta sobre la seguridad de las vacunas, especialmente de las basadas en mRNA, para la fertilidad (Safrai M, 2021). La reticencia para vacunarse ha sido un grave problema para erradicar la enfermedad; todo esto se ha visto intensificado por la actitud de las redes sociales, que han fomentado el miedo y la incertidumbre sobre la vacunación a amplios sectores de la población. Por lo tanto, el impacto de la vacuna sobre la fertilidad es objeto de numerosos rumores e información contradictoria. Estas dudas también se han extendido a las mujeres embarazadas donde, a pesar de un reciente respaldo de organismo oficiales y profesionales que recomiendan inequívocamente la vacunación contra el SARS-CoV-2, la indecisión sigue siendo alta (Kalafat *et al.*, 2022).

TABLE 1 Vaccine types and recommendations for booster shots					
Vaccine type	Brands	US FDA approved	Recommended for pregnant people in the United States	Booster needed? ^a	Data on pregnancy outcomes
mRNA	Pfizer-BioNTech Moderna	Yes (Pfizer-BioNTech, Moderna)	Yes	At least 5 mo after completing primary COVID-19 vaccination series	Available
Viral vector	J&J Janssen AstraZeneca Gamaleya Research Institute	Yes (J&J Janssen)	Yes with reservations ^b	At least 2 mo after receiving J&J Janssen COVID-19 vaccination. mRNA booster is preferred	Limited availability
Inactivated	SinoPharm, Sinovac, Bharat Biotech	No	No	No recommendation	Limited availability
Protein subunit	Novavax	Under consideration	No	No recommendation	N/A

FDA, Food and Drug administration; mRNA, messenger RNA; N/A, not applicable.

^a Centre for Disease Control and Prevention recommendation; ^b Individuals who had a severe reaction after an mRNA vaccine dose or who have a severe allergy to an ingredient of Pfizer-BioNTech or Moderna. Possibility of vaccine-induced thrombosis and thrombocytopenia should be disclosed.

Kalafat. COVID-19 vaccination in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2022.

Actualmente, los especialistas que aconsejan a sus pacientes se enfrentan a la escasez de datos sobre el impacto de la vacunación en las tasas de éxito de los tratamientos de Reproducción Asistida (Bentov *et al.*, 2021). Aunque se ha planteado la posibilidad de que la infección pueda afectar a la fertilidad, no existe ningún estudio que haya proporcionado evidencias sólidas sobre un efecto genital directo de la vacuna o la enfermedad

La evidencia actual de la vacuna SARS-CoV-2 sobre la fertilidad humana es muy limitada. Considerando los resultados publicados hasta la fecha, la vacuna no parece afectar a la fertilidad de las mujeres. En concreto, no se han encontrado diferencias significativas en los tratamientos a los que se sometió cada paciente antes y después de la vacunación (Bentov *et al.*, 2021, Orvieto *et al.*, 2021, Safrai M, 2021) en los que se afirma unánimemente que la vacunación no produce ningún efecto perjudicial sobre la fisiología reproductiva femenina. La vacuna no tiene efecto sobre los resultados del tratamiento de Reproducción Asistida ni sobre la tasa de gestación. No se ha informado de pérdida de fertilidad entre los millones de personas vacunas vacunadas desde su autorización y no se registraron signos de infertilidad en los ensayos clínicos con

humanos, por lo que se puede concluir que la pérdida de fertilidad es científicamente improbable (Safrai M, 2021)

Uno de los argumentos no probados que pretenden relacionar a la vacuna de mRNA con la infertilidad es que algunos autores han descrito concordancias estructurales entre la proteína S del virus y una proteína implicada en la formación de la placenta (sincitina-1); si este fuera el caso, habría una reacción cruzada entre los anticuerpos producidos por la vacuna y esta proteína, lo que supondría un fallo de implantación o un aborto. Sin embargo, esta reacción cruzada no se ha podido demostrar (Chen *et al.*, 2021)

Otra posible causa que vincula la vacuna con la infertilidad es que el receptor funcional del SARS-CoV-2 es ACE2; existía la preocupación de que la vacuna que imita al virus también pudiera reducir la fertilidad por el mismo mecanismo (Reis *et al.*, 2011). Este planteamiento no se ha podido demostrar y, además, la vacuna de mRNA no tiene los receptores ACE2 que puedan desembocar en tal infertilidad (Madjunkov *et al.*, 2020).

En cuanto al efecto de la vacunación en mujeres embarazadas, en un principio no se dio prioridad a estas mujeres con respecto a las de su misma edad que no lo estaban, ya que la recomendación de las autoridades era que “la vacunación era una elección personal”. Posteriormente, la OMS recomendó vacunar a las mujeres embarazadas cuando “los beneficios superaran a los riesgos”, hasta que la acumulación de datos de seguridad y la creciente evidencia de que la infección por Covid-19 entrañaba más riesgos para las gestantes llevó a muchas organizaciones a fortalecer su postura y recomendar inequívocamente la vacunación en las mujeres embarazadas (Kalafat *et al.*, 2022). Los datos disponibles de las vacunas contra la Covid-19 en el embarazo sugieren que estas son seguras y eficaces y que la vacunación materna incluso aporta cierto grado de protección al lactante (Blakeway *et al.*, 2022). Sin embargo, las tasas de cobertura entre las personas embarazadas seguían siendo bajas a finales de 2021, ya que los datos

disponibles sugieren que las preocupaciones sobre la seguridad de la vacuna en el feto son clave para la reticencia a vacunarse durante el embarazo

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

1.- Análisis retrospectivo para evaluar la utilidad del triaje frente a determinaciones serológicas y moleculares en el diagnóstico del SARS-CoV-2.

El objetivo principal de esta fase del trabajo fue determinar la utilidad del triaje como prueba de descarte para la infección por el virus del SARS-CoV-2 frente a las pruebas serológicas y de RT/PCR

Entre los objetivos secundarios, podemos destacar los siguientes:

- Establecer la proporción de pacientes IgM positivas con triaje negativo
- Establecer la proporción de pacientes IgG positivas con triaje negativo
- Establecer la proporción de pacientes RT/PCR positivas con triaje e IgM negativos
- Cálculo del riesgo relativo (RR) para evaluar la asociación de cada factor con la positividad de la prueba.

2.- Variación de la reserva ovárica tras infección con SARS-CoV-2

El objetivo principal fue determinar la presencia de variaciones en los niveles de AMH como marcador de reserva ovárica en mujeres que han superado una infección por SARS-CoV-2.

Como objetivo secundario se estableció la evaluación de la reserva ovárica en mujeres sometidas a un tratamiento de Reproducción Asistida y que han superado la infección por SARS-CoV-2 en términos de número de ovocitos aspirados y maduros entre el ciclo previo y el actual

3.- Influencia de los diferentes tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2 en los tratamientos de Reproducción Asistida

El objetivo principal es evaluar el posible impacto de la vacuna contra el SARS-CoV-2 en los resultados de un tratamiento de Reproducción Asistida y ver si podía haber diferencias según el tipo de vacuna empleada.

Como objetivos secundarios se determinan los siguientes

- Determinar si hay diferencias entre un tratamiento de Reproducción Asistida previo y otro posterior a haber recibido la pauta de vacunación completa en términos de variables clínicas y de laboratorio
- Determinar si hay diferencias en los resultados clínicos derivados de un tratamiento de Reproducción Asistida en función del tipo de vacuna recibida.
- Identificar los factores que pueden influir de forma significativa en el número de ovocitos obtenidos en aquellos tratamientos de Reproducción Asistida realizados después de haber recibido la vacuna.

MATERIAL Y METODOS

1.- Análisis retrospectivo para evaluar la utilidad del triaje frente a determinaciones serológicas y moleculares en el diagnóstico del SARS-CoV-2.

En esta primera fase del trabajo se realizó un estudio retrospectivo de cohortes, multicéntrico, no intervencionista de pacientes a las que se le realizaron pruebas serológicas o moleculares como parte de un protocolo de seguridad diseñado una vez que se reanudaron los tratamientos de Reproducción Asistida tras el confinamiento estricto decretado al inicio de la pandemia de SARS-CoV-2. El protocolo de investigación fue aprobado por el comité ético correspondiente (1905-MAD-057-AR) y cumple con los requisitos legales que aplican a la Ley Española de Reproducción Asistida (14/2006).

Los criterios de inclusión aplicaban a todas las pacientes que acudieran a cualquiera de nuestros centros del grupo IVIRMA en España con el objetivo de realizarse un tratamiento de Reproducción Asistida durante abril-junio de 2020 y que fueran clasificadas como negativas para el triaje telefónico previo.

Durante el periodo de estudio previamente mencionado acudieron 6140 personas a cualquiera de los centros del grupo IVIRMA en España y a todas se les realizó una prueba diagnóstica contra el SARS-CoV-2. Previamente a la realización de estas pruebas, se les había realizado un cuestionario de triaje sintomático en el que se preguntaba telefónicamente a las pacientes si se encontraban en cuarentena o aislamiento, si presentaban algún síntoma compatible con la infección por SARS-CoV-2 y si habían estado en contacto con cualquier persona sospechosa de haber contraído la enfermedad, todo ello de acuerdo con las guías de la ESHRE (ESHRE, 2020). Si no superaban este paso de validación, se les recomendaba coger cita para consulta 2 semanas después. Sólo los pacientes clasificados como negativos en este paso de cribado inicial acudieron físicamente a la clínica para visita médica.

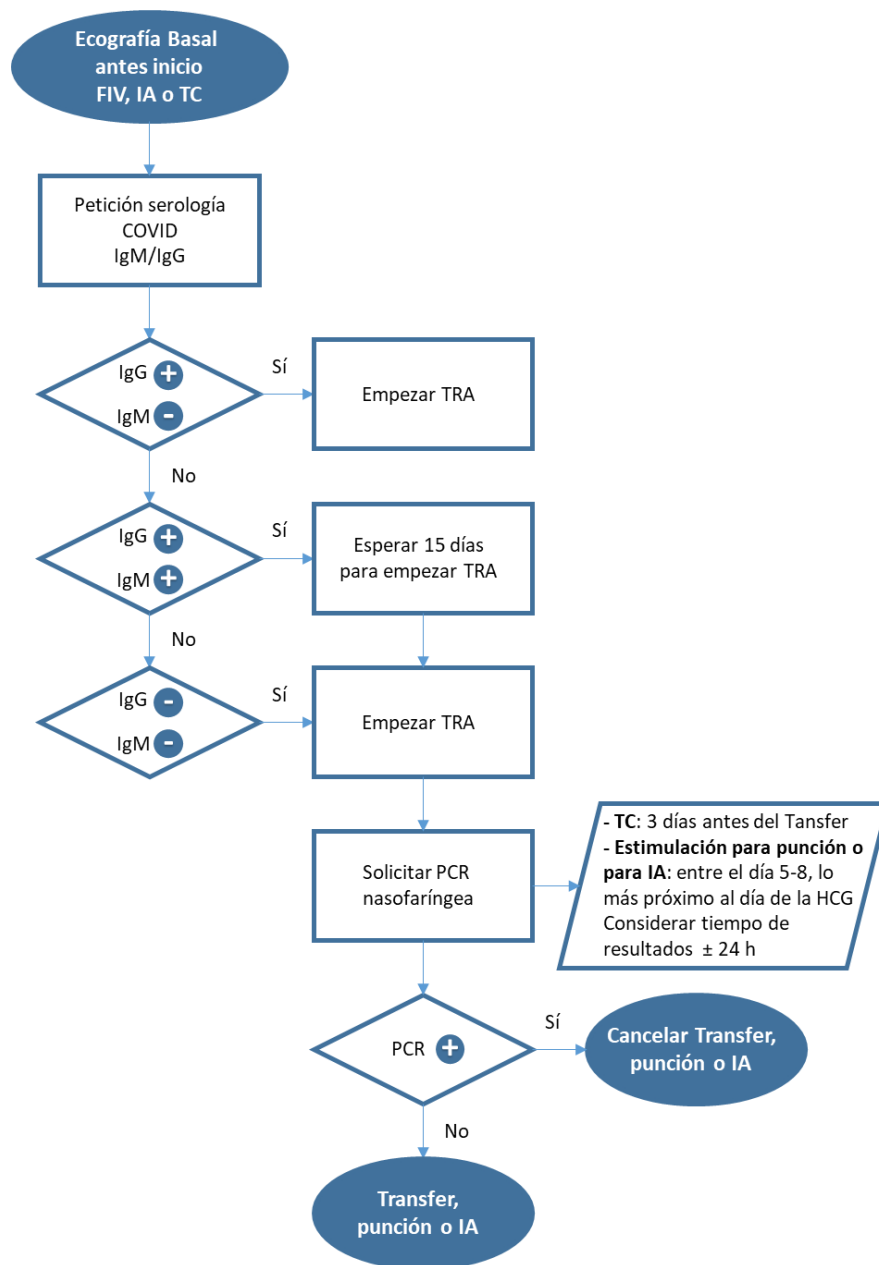


Figura 8. Flujo de trabajo para la realización de pruebas serológicas y moleculares

Se realizaron pruebas serológicas de anticuerpos IgG e IgM específicos del SARS-CoV-2 en suero antes de comenzar el tratamiento utilizando un kit EDI Novel Coronavirus Covid-19 ELISA (Epitope Diagnostics, EEUU) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Estas pruebas dirigidas a la proteína S del SARS-CoV-2 tienen una sensibilidad del 100% y una especificidad del 88% (Sethuraman and Jeremiah, 2020); los coeficientes de variación intra-ensayo e inter-ensayo fueron inferiores al 20%.

Con posterioridad, una vez se tuvo la posibilidad de realizar pruebas de RT-PCR, las pruebas moleculares mediante RT-PCR se realizaron el día 5-8 del correspondiente protocolo de estimulación antes de la punción ovocitaria, y entre los días 3-5 en el caso de una transferencia de embriones congelados y/o inseminación artificial, con el objetivo de evitar realizar el tratamiento en el caso de encontrarnos ante una infección activa.

La variable principal del estudio fue la utilidad de las pruebas serológicas y/o moleculares después de un triaje sintomático negativo. Otras variables de respuesta identificadas fueron:

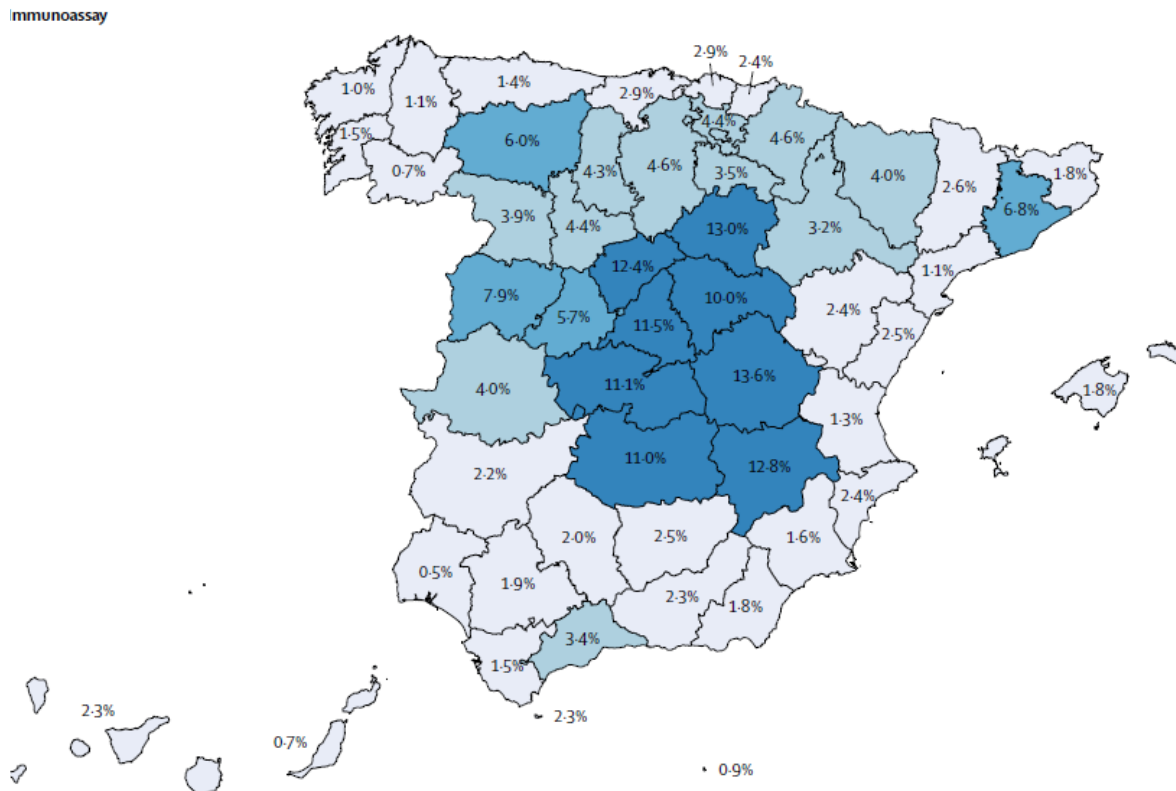
- Porcentaje de pacientes positivos para IgG
- Porcentaje de pacientes positivos para IgM
- Porcentaje de pacientes positivo para RT-PCR

Variables explicativas

- Género

Para estimar geográficamente la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y evaluar su evolución temporal, tomamos como referencia el estudio seroepidemiológico nacional (Pollan *et al.*, 2020), con el objetivo de evaluar si en una población de estudio tan específica como las parejas infértiles, los resultados se correlacionaban con los obtenidos a nivel nacional; por otra parte, conocer los resultados de este estudio podría ayudar en la toma de decisiones en función de la localización de los centros IVI en el territorio nacional. Los resultados de este estudio indicaban que la prevalencia estimada de anticuerpos era del 5% durante abril-mayo de 2020. Teniendo en cuenta este valor de referencia, dividimos nuestras clínicas en dos áreas geográficas diferentes: región 0 (seroprevalencia inferior al 5%) y región 1 (seroprevalencia superior al 5%), con base en los resultados obtenidos en nuestra población. Once centros quedaron incluidos en la región 0 y 2 centros en la región 1

Se calculó la prevalencia de pacientes inmunes (IgG positivas) y activos (IgM/PCR positivas) estratificados por diferentes factores. También se realizó un cálculo del riesgo relativo (RR) para evaluar la asociación de cada factor con la positividad de la prueba, junto con el intervalo de confianza al 95%; se seleccionó la proporción más baja como categoría de referencia en el cálculo del riesgo relativo.



previas de hormona antimülleriana (AMH); se contactó con ellas por teléfono y se les pidió autorización para realizar una nueva determinación de la hormona.

El periodo de estudio incluye mayo-junio de 2020 y se incluyeron todas aquellas mujeres con serología positiva (IgG positiva) para el SARS-CoV-2 y una determinación previa de AMH no superior a 6 meses. Una vez que tuvimos identificada a nuestra población de estudio, se realizó una nueva determinación de AMH para evaluar si la infección hubiera afectado a los niveles hormonales, y, por tanto, a la reserva ovárica. Ambas determinaciones se realizaron con el dispositivo Elecsys® (AMH, Roche Diagnostics). Por último, las participantes en el estudio se estratificaron en dos grupos de estudio de acuerdo con sus niveles previos de AMH: baja reserva ovárica ($AMH < 1$ ng/ml) y normo/alta reserva ovárica ($AMH \geq 1$ ng/ml).

En este caso, la variable principal del estudio fue la determinación de los niveles de AMH en mujeres con serología positiva a la infección por SARS-CoV-2. Otras variables de respuesta fueron:

- Dosis de gonadotropinas administradas en los dos ciclos realizados (pre/post-enfermedad)
- Días de estimulación en los dos ciclos realizados (pre/post-enfermedad)
- Número de ovocitos aspirados en los dos ciclos realizados (pre/post-enfermedad)
- Número de ovocitos maduros en los dos ciclos realizados (pre/post-enfermedad)

Como variables de control se identificaron las siguientes variables:

- Edad de la paciente (años)
- Índice de masa corporal (kg/m²)

3.- Influencia de los diferentes tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2 en los tratamientos de Reproducción Asistida

Estudio retrospectivo y observacional realizado entre enero-octubre 2021 en mujeres vacunadas frente al SARS-CoV-2 y que se sometieron a un tratamiento de Reproducción Asistida pre- y post-vacuna en cualquiera de los centros del grupo IVI-RMA en España. El grupo con un estatus de no vacunación incluyó pacientes que se realizaron un tratamiento en el mismo periodo de estudio pero que aún no habían sido vacunadas. Este estudio contó con la aprobación del correspondiente comité ético (2109-MAD-084-AR; no fue necesario el consentimiento informado, ya que el estudio se basó en registros no identificables, según lo aprobado por el comité ético. Al igual que en el resto de los estudios que comprenden este trabajo, este cumple con los requisitos de la Ley Española de Reproducción Asistida (14/2006).

Se realizó una revisión retrospectiva de las historias clínicas de pacientes que habían recibido la pauta de vacunación completa y se identificaron los tratamientos previo y posterior a la vacunación. La segunda dosis de la vacuna se administró según recomendaciones de las autoridades sanitarias españolas.

Para minimizar el sesgo, cada mujer actuó como control de sí misma antes y después de la vacunación. Se excluyeron los casos de factor masculino severo. Todas las participantes del estudio, incluidas las que habían recibido la pauta de vacunación completa independientemente del tipo de vacuna administrada (ARN mensajero o viral) y las no vacunadas presentaron el mismo protocolo de estimulación. Por último, en todos los casos el tratamiento de Reproducción Asistida se realizó con los propios gametos de las participantes en el estudio.

Se realizaron dos análisis complementarios para establecer el efecto, si lo hubiera, de la vacunación contra el SARS-CoV-2 sobre la función ovárica. En un primer análisis,

se estableció una comparación entre el tratamiento previo y el tratamiento posterior para evaluar los posibles efectos de las vacunas en diferentes resultados reproductivos; posteriormente, y con el mismo objetivo, comparamos diferentes parámetros de respuesta ovárica y de resultados clínicos entre mujeres vacunadas y no vacunadas en el tratamiento realizado después de la vacunación.

La variable principal del estudio fue el número de ovocitos recuperados tanto en el tratamiento previo como en el posterior a la administración de la vacuna. Otras variables de respuesta identificadas fueron las siguientes:

- Días de estimulación
- Dosis de gonadotropinas
- Niveles de estradiol el día de la inducción de la ovulación
- Número de ovocitos metafase II
- Tasa de desarrollo a blastocisto; número de embriones que alcanzan el estadio de blastocisto con relación al total de ovocitos fecundados
- Número de embriones congelados

Variables de control

- Edad de la paciente (años)
- Índice de masa corporal (kg/m²)
- Tipo de vacuna recibida
- Niveles previos de AMH
- Recuento folículos antrales

Puesto que se trata de un estudio de casos-contrroles, los análisis comparativos entre el tratamiento previo y el posterior a la vacunación se realizaron a través de pruebas t pareadas para el caso de las variables continuas y un test de McNemar para las variables

categorías. Por último, se realizó una regresión lineal para cuantificar el efecto de la edad y del estado de vacunación sobre el número de ovocitos obtenidos en punción.

En todos los casos, la base de datos se definió rigurosamente con las variables destinadas a ser analizadas en función de los objetivos planteados.

En el análisis descriptivo se presentaron las características descriptivas de la muestra. Las variables cualitativas mediante tablas de frecuencia y representación en gráfica de barras y las variables cuantitativas con la media, desviación típica y descriptivos básicos de localización

En cuanto al análisis de homogeneidad, y aunque los criterios de inclusión y diseño tienden a preservar la homogeneidad de los grupos de estudio, es recomendable asegurar que no existen efectos poblacionales ajenos. Por tanto, las variables de control antes mencionadas se contrastaron con el objeto de valorar la comparabilidad entre grupos. Las variables categóricas se compararon mediante una prueba Chi-cuadrado, y para las variables cualitativas una prueba ANOVA (asumiendo normalidad) y si no fue posible asumirla, se aplicó una prueba Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

1.- Análisis retrospectivo para evaluar la utilidad del triaje frente a determinaciones serológicas y moleculares en el diagnóstico del SARS-CoV-2.

Desde el 27 de abril hasta el 26 de junio de 2020 se analizaron a 6140 personas para SARS-CoV-2; de estos, 72.8% (n=4470) fueron mujeres y 27.2% (n=1670) fueron hombres.

En el transcurso de este estudio, un 3.3% (n=202) fueron positivos para anticuerpos IgG contra el virus. El análisis detallado de estos resultados mostró que la seropositividad no variaba significativamente con la edad (Tabla 1); estos resultados se encuentran dentro de lo esperado, ya que se trata de una población muy específica de pacientes infértiles, con un rango de edad más estrecho que la población general. También se observó que el riesgo de seropositividad fue similar entre hombres y mujeres (Tabla 2). Sin embargo, se encontró que los individuos con factor Rhesus (Rh) negativo presentaban mayor riesgo de ser seropositivos (RR 1,7 [1,22-2,44]) que aquellos que eran Rh positivos. Por último, como era esperable, se encontró que la personas que vivían en las zonas de mayor prevalencia de la enfermedad, también presentaron el mayor porcentaje de seropositividad (RR 4,0 [3,01-5,41]).

Cuando se analizó la tasa de seropositividad según el estado serológico de la pareja, los datos mostraron que la incidencia de IgG positiva fue aproximadamente 10 veces mayor en las parejas seropositivas que en la población aleatoria (Tabla 3); si uno de los miembros de la pareja estaba contagiado el riesgo de que su compañero también lo estuviera era mayor que en la población general.

Tabla 1.- Riesgo relativo de seropositividad en función de la edad

Edad (Años)	IgG positivo	IgM/PCR positivo
18–25	3.9% (10/257) ^a	0.0% (0/370) ^b
26–30	3.7% (11/301) ^a	1.7% (7/414) ^b
31	6.7% (9/135) ^a	0.0% (0/170) ^b
32	3.1% (9/187) ^a	0.0% (0/213) ^b
33	4.8% (9/187) ^a	0.0% (0/226) ^b
34	1.3% (3/223) ^a	0.0% (0/287) ^b
35	5.2% (15/286) ^a	0.3% (1/380) ^b
36	5.4% (17/318) ^a	1.3% (5/389) ^b
37	1.8% (6/333) ^a	0.5% (2/418) ^b
38	6.8% (25/366) ^a	1.5% (7/473) ^b
39	6.0% (24/398) ^a	1.0% (5/489) ^b
40	2.3% (8/350) ^a	0.4% (2/451) ^b
41	2.8% (10/363) ^a	0.9% (4/443) ^b
42	4.3% (12/278) ^a	0.3% (1/346) ^b
43	2.0% (5/245) ^a	0.7% (2/309) ^b
44	6.4% (12/187) ^a	1.6% (8/250) ^b
45	6.6% (9/136) ^a	0.6% (1/162) ^b
>45	2.7% (6/219) ^a	0.0% (0/260) ^b

^a $P = 0.914$

^b $P = 0.56$

Tabla 2.- Incidencia de IgG positiva y riesgo relativo de seropositividad por demografía y serología

	Positivo	Negativo	Riesgo relativo (95% CI)	P-valor
Género				
Femenino (n = 3548)	149 (4.2%)	3399 (95.8%)	1 (ref)	
Masculino (n = 1244)	53 (4.3%)	1191 (95.8%)	1.0 (0.74–1.37)	0.927
Grupo sanguíneo				
A (n = 1736)	72 (4.1%)	1664 (95.9%)	1.1 (0.81–1.58)	0.463
B (n = 361)	19 (5.3%)	342 (94.7%)	1.3 (0.67–2.82)	0.386
AB (n = 159)	8 (5.0%)	151 (95.0%)	1.4 (0.87–2.37)	0.156
O (n = 1667)	61 (3.7%)	1606 (96.3%)	1 (ref)	
Factor Rh				
Positivo (n = 3271)	119 (3.6%)	3152 (96.3%)	1 (ref)	
Negativo (n = 652)	41 (6.3%)	611 (93.7%)	1.7 (1.22–2.44)	0.002
Área geográfica				
0 (n = 3074)	62 (2.0%)	3012 (98.0%)	1 (ref)	
1 (n = 1718)	140 (8.1%)	1578 (91.9%)	4.0 (3.01–5.41)	<0.001

Tabla 3.- Seropositividad de acuerdo con el estatus de la pareja

	Parejas	Observados	Teóricas (96/1948)	Diferencia
Ambos miembros positivos	22	2.3% (44)	0.24%	9.6
Un miembro positivo, el otro negativo	52	5.3% (52)	4.9%	1.1
Ambos miembros negativos	929	92.4% (1858)	90.4%	1.0

En cuanto a los resultados de las pruebas que indicaban que el paciente se encontraba en una fase activa de la enfermedad y que obligó a cancelar el tratamiento en curso, se observó que $n=42$ (0.7%) individuos fueron positivos para anticuerpos IgM contra el SARS-CoV-2 o PCR positivas. Para optimizar el análisis, los resultados de ambas pruebas se consideraron juntos. Al igual que con los resultados de IgG, no se observaron diferencias significativas relacionadas con la edad en las tasas de IgM/PCR positivas. Las contribuciones de varios factores al riesgo relativo de seropositividad fueron similares a las observadas con IgG (Tabla 4), ya que no se observó mayor riesgo para un género o grupo sanguíneo específico. Sin embargo, en este caso no hubo diferencias en los porcentajes de personas en fase activa de la enfermedad en función de la zona geográfica ((RR 0,8 [0,43-1,52]), por lo que cuando se reanudó la actividad en las consultas de medicina reproductiva, se pudo asumir que el pico de la pandemia ya había pasado. En cuanto al factor Rh, y en línea con los datos anteriores, se registró que los individuos Rh negativos tenían mayor riesgo de contraer la enfermedad (RR 2,5 [1,29-5,13]).

El análisis de los datos por región geográfica y por semana indica que la incidencia de IgG positiva fue similar para todo el periodo de estudio en ambas áreas geográficas (Tabla 5). Aunque la prevalencia fue similar, se observó una marcada y obvia variabilidad geográfica en la prevalencia de anticuerpos: los centros de Reproducción Asistida dentro de la región 0 tenían una prevalencia de alrededor del 2,2%, mientras que los centros adscritos a la región 1 superaban el 8,5%. Para IgM/PCR, la tasa de positividad no varió durante el periodo de estudio en la región 0, mientras que en la región 1, la incidencia de IgM/PCR disminuyó significativamente desde la primera semana de estudio, lo que implicaba una disminución de la transmisión del virus con el tiempo.

Tabla 4.- Incidencia de IgM/PCR positiva y riesgo relativo de seropositividad por demografía y serología

	Positivo	Negativo	Riesgo relativo (95% CI)	P-valor
Género				
Femenino (n = 4447)	30 (0.7%)	4417 (99.3)	1 (ref)	
Masculino (n = 1667)	11 (0.7%)	1656 (99.3%)	1.0 (0.51–2.0)	0.950
Grupo sanguíneo				
A (n = 2188)	17 (0.8%)	2171 (99.2%)	1.4 (0.19–10.91)	0.710
B (n = 468)	3 (0.6%)	465 (99.4%)	1.2 (0.12–11.51)	0.871
AB (n = 188)	1 (0.5%)	187 (99.5%)	1 (ref)	
O (n = 2167)	15 (0.7%)	2152 (99.3%)	1.3 (0.17–9.79)	0.797
Factor Rh				
Positivo (n = 4195)	24 (0.6%)	4171 (99.4%)	1 (ref)	
Negativo (n = 814)	12 (1.5%)	802 (98.5%)	2.5 (1.29–5.13)	0.005
Área geográfica				
0 (n = 4021)	25 (0.6%)	3396 (99.4%)	1 (ref)	
1 (n = 2093)	16 (0.8%)	2077 (99.2%)	0.81 (0.43–1.52)	0.516

Table 5.- Resumen de resultados de seroprevalencia por semana y área geográfica

	IgG positiva		IgM positiva		PCR positiva	
	Área geográfica 0	Área geográfica 1	Área geográfica 0	Área geográfica 1	Área geográfica 0	Área geográfica 1
Semana 1	1.3% (3/225) ^a	8.7% (9/104) ^b	1.3% (3/227) ^c	3.7% (4/107) ^d	0.0% (0/28) ^e	0.6% (1/154) ^f
Semana 2	2.0% (9/454) ^a	10.2% (23/226) ^b	0.2% (1/455) ^c	0.9% (2/228) ^d	0.7% (1/143) ^e	1.8% (7/385) ^f
Semana 3	1.9% (12/632) ^a	7.3% (23/314) ^b	0.3% (2/632) ^c	0.3% (1/314) ^d	0.0% (0/242) ^e	0.2% (1/554) ^f
Semana 4	2.5% (16/651) ^a	9.9% (39/394) ^b	0.0% (0/648) ^c	0.5% (2/393) ^d	0.9% (3/339) ^e	0.2% (1/598) ^f
Semana 5	1.8% (9/502) ^a	6.5% (23/355) ^b	1.0% (5/499) ^c	0.0% (0/351) ^d	0.3% (1/291) ^e	0.2% (1/510) ^f
Semana 6	1.7% (6/353) ^a	5.8% (13/224) ^b	0.9% (3/351) ^c	0.4% (1/223) ^d	0.5% (1/187) ^e	0.4% (1/252) ^f
Semana 7	3.4% (4/117) ^a	9.2% (6/65) ^b	0.0% (0/118) ^c	0.0% (0/62) ^d	0.0% (0/113) ^e	0.0% (0/165) ^f
Semana 8	3.0% (3/101) ^a	12.5% (3/24) ^b	0.0% (0/100) ^c	0.0% (0/23) ^d	0.0% (0/51) ^e	0.0% (0/91) ^f
	^a <i>P</i> = 0.407	^b <i>P</i> = 0.312	^c <i>P</i> = 0.906	^d <i>P</i> = 0.003	^e <i>P</i> = 0.410	^f <i>P</i> = 0.009

2.- Variación de la reserva ovárica tras infección con SARS-CoV-2

En esta fase del estudio se incluyeron 46 pacientes; 16 mujeres fueron diagnosticadas con baja reserva ovárica ($AMH < 1$ ng/ml) con una edad media de 38.6 años, mientras que 30 fueron identificadas como de reserva ovárica normal, con una edad media de 34.7 años. En general, los datos obtenidos no mostraron una variación significativa en los niveles de AMH antes y después de la infección por SARS-CoV-2 (1.73 ng/ml vs. 1.61 ng/ml) respectivamente. Sin embargo, cuando se analizaron estas diferencias según los grupos de estudio (Tabla 6), los datos sugirieron que, en mujeres con reserva ovárica normal el nivel medio de AMH antes de la infección fue de 4.6 ng/ml, mientras que después de la infección disminuyó a 3.1 ng/ml. Para las mujeres con baja reserva ovárica, la AMH fue de 0.8 ng/ml antes de la infección y se mantuvo en valores similares después de la infección $AMH = 0.7$ ng/ml.

Según el recuento de folículos antrales, los resultados fueron similares para ambos grupos de estudio antes y después de la infección. Para una reserva ovárica normal con valores de $AMH \geq 1$ ng/ml, las mujeres pasaron de 13 folículos a 11.5 después de haber superado la infección, mientras que, en aquellos casos de baja reserva ovárica ($AMH < 1$ ng/ml), los valores obtenidos pasaron de 8 a 7 folículos respectivamente.

Los resultados sobre la respuesta ovárica se presentan en la Tabla 7. En este punto cabe destacar que el tratamiento posterior a la infección se realizó en un tiempo no mayor de 3 meses. Se observó que tanto la dosis de gonadotropinas administradas como los días de estimulación no variaban con respecto al tratamiento previo y posterior a la infección por SARS-CoV-2. En cuanto al número de ovocitos recuperados y ovocitos maduros en cada uno de los tratamientos realizados, los números fueron muy similares antes y después de la enfermedad; estos datos se mantuvieron cuando se analizó la tasa de

fecundación en la que apenas se encontraron diferencias en los dos ciclos consecutivos de tratamiento, únicamente interrumpidos por la infección

Tabla 6. Variación en los niveles de AMH tras infección con SARS-CoV-2

	Pre-SARS-CoV-2	Post-SARS-CoV-2	p-valor
General (n=46)	1.73 ng/ml	1.61 ng/ml	0.789
Normo-alta reserva (AMH$\geq$1 ng/ml)	4.6 ng/ml	3.8 ng/ml	0.125
Baja reserva (AMH<1 ng/ml)	0.8 ng/ml	0.7 ng/ml	0.654

Tabla 7. Resultados del ciclo tras infección con SARS-CoV-2

	Pre-SARS-CoV-2	Post-SARS-CoV-2	p-valor
Dosis de gonadotropinas (UI)	2053 ± 125	2035 ± 95	0.768
Días de estimulación	11.0 ± 1.1	10.7 ± 0.9	0.902
Ovocitos recuperados	11.0 ± 1.5	10.8 ± 1.2	0.875
Ovocitos metafase II	9.3 ± 0.8	8.3 ± 1.0	0.413
Tasa de fecundación	77.4%	74.7%	0.369

3.- Influencia de los diferentes tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2 en los tratamientos de Reproducción Asistida

Se incluyeron 510 pacientes, distribuidos de la siguiente manera: el 13.5% (n=69) recibió una vacuna con vector viral, ya sea con el adenovirus serotipo 26 (Ad26.CoV2.S; Janssen; n = 31) o con adenovirus de chimpancé (ChAdOx ; AstraZeneca; n = 38). El 86.5% restante (n=441) recibió una vacuna de ARN mensajero de Pfizer-BioNTech (n=336) o Moderna (n=105). El tamaño muestral de la población de mujeres no vacunadas fue de n=1190. Ninguna de las parejas presentaba una patología subyacente conocida. El intervalo entre la segunda vacuna de la pauta y la fecha del tratamiento posterior a la vacunación fue de aproximadamente 2 meses.

Las características clínicas de las pacientes y de los ciclos previos y posteriores a la pauta completa de vacunación con una vacuna de adenovirus (Janssen o AstraZeneca) se muestran en la Tabla 8.

Los resultados no mostraron diferencias significativas para ninguna de las variables evaluadas; es decir, no se observaron cambios en la duración de la estimulación ovárica (10.7 (1.8) vs. 11.0 (1.7) días, $p = 0.815$), dosis de gonadotropina utilizada (2300 (720) vs. 2140 (0.125) UI, $p = 0.125$), o el número de ovocitos recuperados (7.6 (4.8) vs. 8.0 (5.2), $p=0.698$) entre el procedimiento previo y el posterior a la vacunación respectivamente. La diferencia de edad de los pacientes entre el primer y segundo ciclo fue de aproximadamente 1 año (36.8 (5.1) vs. 37.9 (5.0), $p=0.425$).

Posteriormente, realizamos el mismo análisis retrospectivo pero centrado en las pacientes que habían sido vacunadas con una vacuna de ARN mensajero (Tabla 9). En línea con lo observado anteriormente, no se encontraron diferencias relevantes entre ambos procedimientos para ninguna de las variables analizadas, incluyendo la duración de la estimulación ovárica (10.9 (2.1) vs. 11.2 (2.0) días, $p=0.561$), la dosis total de

gonadotropinas utilizadas (1980 (675) vs. 2005 (790) UI, $p=0.631$) o el número de ovocitos recuperados (12.8 (9.9) vs. 9.1 (9.0), $p=0.781$) entre el procedimiento previo y posterior a la vacunación, respectivamente. Como en el análisis anterior, el intervalo medio entre punciones de ovocitos fue de 1 año (33.7 (7.6) vs. 34.8 (7.7), $p=0.156$)

Para determinar si el tipo de vacuna recibida podía afectar al éxito de los tratamientos, se compararon los ciclos post-vacunación de cada tipo de vacuna con los resultados de tratamiento de mujeres que no habían sido vacunadas (Tabla 10). Los resultados mostraron que las mujeres vacunadas con Janssen eran de media mayores 39.7 (6.7) años, que las de los otros grupos, aunque no se observaron diferencias significativas ($p=0.072$). Las edades medias del resto de grupos fueron las siguientes: AstraZeneca 36.8 (3.5), Moderna 35.7 (6.7), 34.6 (7.9), y mujeres no vacunadas 37.8 (4.1) años. Esta circunstancia, no afectó a otros parámetros como los días de estimulación ($p=0.336$), dosis de FSH administradas ($p=0.392$) o número de ovocitos ($p=0.057$), donde no se registraron diferencias significativas entre ambos perfiles de pacientes

Por último, se realizó un análisis de regresión con el modelo de Poisson para evaluar el efecto de posibles factores de confusión sobre el número de ovocitos recuperados. Las variables incluidas en el modelo fueron la edad, por su reconocido impacto sobre los resultados de un tratamiento de Reproducción Asistida; y el estatus de vacunación (pre/post vacunación) al tratarse de la condición evaluada en este estudio. Los resultados de estos análisis indicaron, como era de esperar, que la edad influía notablemente en los resultados del ciclo (-0,52 [-0,054- -0,050], $p<0,001$), mientras que el hecho de estar vacunada o no era independiente de los datos obtenidos (-0,028 [-0,065 - 0,009], $p=0,143$). Además, y dado que cuando comparamos el grupo de mujeres vacunadas con las no vacunadas parecía que la vacuna de Janssen presentaba diferencias con respecto al resto de grupos de estudio, se realizó un nuevo análisis con el parámetro

vacunadas/no vacunadas como variable de exposición. Los resultados fueron similares a los obtenidos en el análisis anterior, teniendo la edad una influencia significativa sobre el número de ovocitos obtenidos (-0,68 [-0,053- -0,083], $p < 0,001$), mientras que el estatus de vacunación y/o el tipo de vacuna administrada no afectaba a los resultados obtenidos (-0.312[-1.485- 0.862], $p = 0.602$)

Tabla 8. Resultados pre/post-vacunación con vacunas de adenovirus

	Pre-vacuna (n=69)	Post-vacuna (n=69)	p
Edad	36.8 (5.1)	37.9 (5.0)	0.356
IMC (kg/m²)	24.2 (3.5)	23.9 (3.8)	0.759
Días de estimulación	10.7 (1.8)	11.0 (1.7)	0.815
Estradiol_hCG	1905 (350)	1655 (240)	0.510
P4_hCG	0.8 (0.6)	0.6 (0.5)	0.758
Recuento folículos antrales	10.3 (5.1)	10.1 (6.5)	0.847
Dosis FSH (IU)	2300 (720)	2140 ± 37 (735)	0.125
Dosis HMG (IU)	1260 (805)	1610 (1030)	0.369
Ovocitos	7.6 (4.8)	8.0 (5.2)	0.698
Metafase II	5.5 (4.9)	5.4 (4.1)	0.425
Tasa de fecundación (%)	71%	75%	0.600
Tasa de blastocisto útil	41.3%	44.5%	0.214

Tabla 9. Resultados pre/post-vacunación con vacunas de ARN mensajero

	Pre-vacuna (n=441)	Post-vacuna (n=441)	p
Edad	33.7 (7.6)	34.8 (7.7)	0.156
IMC (kg/m²)	23.9 (1.3)	23.2 (1.8)	0.695
Días de estimulación	10.9 (2.1)	11.2 (2.0)	0.561
Estradiol_hCG	2320 (1700)	2290 (1620)	0.847
P4_hCG	0.8 (0.9)	0.9 (0.8)	0.903
Recuento folículos antrales	16.0 (13.8)	15.4 (13.7)	0.632
Dosis FSH (IU)	1980 (675)	2000 (790)	0.697
Dosis HMG (IU)	1275 (775)	1255 (800)	0.863
Ovocitos	12.8 (9.9)	9.1 (9.0)	0.781
Metafase II	5.1 (5.5)	7.5 (5.6)	0.812
Tasa de fecundación (%)	79%	77%	0.895
Tasa de blastocisto útil	40.7%	41.1%	0.847

Tabla 10.- Resultados entre los diferentes tipos de vacuna vs. grupo no vacunado

	AstraZeneca (n=38)	Janssen (n=31)	Moderna (n=105)	Pfizer (n=336)	No vacunadas (n=1190)	p
Edad	36.8 (3.5)	39.7 (6.7)	35.7 (6.7)	34.6 (7.9)	37.8 (4.1)	0.072
IMC (kg/m²)	23.6 (4.1)	25.0 (2.4)	22.7 (3.5)	23.3 (3.8)	22.8 (3.3)	0.516
Días de estimulación	11.1 (2.1)	10.6 (1.1)	11.3 (2.8)	11.1 (3.2)	11.1 (2.6)	0.336
Estradiol_hCG	1793 (886)	1449 (1040)	2481 (900)	2250 (1540)	2218 (1250)	0.376
P4_hCG	0.8 (0.2)	0.4 (0.3)	0.75 (0.2)	0.8 (0.3)	0.8 (0.5)	0.764
Recuento folículos antrales	11.3 (7.3)	8.1 (4.2)	14.1 (10.1)	15.7 (12.1)	10.8 (9.3)	0.202
Dosis FSH (IU)	2283 (810)	1810 (450)	2098 (790)	1980 (790)	1800 (610)	0.392
Dosis HMG (IU)	1521 (1090)	1792 (960)	1211 (670)	1264 (830)	1330 (900)	0.229
Ovocitos	9.2 (5.3)	7.7 (4.4)	9.8 (9.1)	8.8 (9.1)	10.2 (9.3)	0.057
Metafase II	6.7 (5.7)	5.8 (4.8)	8.3 (5.6)	7.2 (5.6)	8.5 (7.2)	0.089
Tasa de fecundación (%)	80%	78%	70%	81%	75%	0.340
Tasa de blastocisto útil	41.1%	45.5%	40.9%	42.0%	45.2%	0.254

DISCUSSION

1.- Análisis retrospectivo para evaluar la utilidad del triaje frente a determinaciones serológicas y moleculares en el diagnóstico del SARS-CoV-2.

Una vez que se reinició la actividad en las clínicas y laboratorios de fecundación in vitro, las medidas de vigilancia y control se erigieron en elementos clave que ayudaron a garantizar una práctica segura minimizando los riesgos para los pacientes y el personal sanitario. Para cumplir con estas condiciones, el triaje junto con las pruebas serológicas y moleculares fueron esenciales para reiniciar la práctica clínica en Reproducción Asistida (ESHRE COVID-19 Working Group *et al.*, 2020). Los resultados derivados de estas pruebas tenían repercusiones importantes ya que, en el caso de un paciente asintomático IgG positivo, era posible iniciar un nuevo tratamiento con seguridad, mientras que en el caso de un paciente sintomático o asintomático IgM/PCR positiva, no se recomendaba iniciar un nuevo ciclo al encontrarnos en la fase activa de la enfermedad, evitando riesgos para otros pacientes y para los trabajadores del centro sanitario.

Tomando como referencia los hallazgos del informe de seroprevalencia español que indicaba que la prevalencia de anticuerpos IgG frente al SARS-CoV-2 se encontraba en torno al 5% durante el periodo de estudio (Pollan *et al.*, 2020), los resultados obtenidos en nuestra población de estudio demostraron una marcada variabilidad regional, que se manifestó específicamente en aquellas áreas con mayor incidencia de la enfermedad; sin embargo, nuestra incidencia total fue del 3%, cifra incluso inferior al porcentaje nacional. Los resultados para IgM/PCR fueron similares, con una mayor proporción de individuos en la fase activa de la enfermedad en la región más afectada

Los datos de las pruebas serológicas realizadas antes de iniciar los tratamientos mostraron que la edad no aumentaba el riesgo de ser seropositivos. Estos resultados no concordaban con los datos de seroprevalencia de otros estudios realizados a nivel nacional (Pollan *et al.*, 2020, Stringhini *et al.*, 2020), pero hay que tener en cuenta que nuestra

población de estudio comprendía un rango de edad más estrecho y considerablemente más bajo que la población general. En este punto, también fue necesario recalcar que el riesgo de transmisión viral entre miembros de una misma pareja cuando uno de ellos ya era seropositivo fue de casi 10 veces mayor que en la población aleatoria; estos resultados confirmaron que el contacto cercano con personas con SARS-CoV-2, y particularmente con aquellas en el mismo hogar, elevaba la transmisión viral (Stringhini *et al.*, 2020). Finalmente, cuando se analizaron algunos factores que podrían estar asociados con el riesgo de ser seropositivos, no se observaron diferencias relacionadas con el género o el grupo sanguíneo ni para la población inmunizada ni para aquella que se encontraba en una fase activa de la enfermedad, hecho que se demostró consistente con otros estudios nacionales de seroprevalencia (Pollan *et al.*, 2020, Stringhini *et al.*, 2020). En cambio, sí se observó que los individuos con un factor Rh negativo presentaban mayor riesgo de infección, aunque estos resultados se interpretaron con cautela debido al posible de otros factores de confusión no controlados en este estudio y que podrían influir en estas circunstancias, como es la elevada incidencia de individuos Rh negativos en poblaciones específicas y localizaciones geográficas.

Cabe señalar que la incidencia de IgM/PCR positiva fue similar en las dos áreas geográficas analizadas, excepto en el momento en el que comenzaron a realizarse las pruebas, cuando todavía nos encontrábamos en el pico de la epidemia. Estos resultados nos llevaron a reflexionar sobre el coste económico de estas pruebas y la incomodidad que suponía para las pacientes realizarse esta determinación cuando la incidencia de la enfermedad es baja. La estrategia diagnóstica tras el reinicio de la actividad debía basarse en obtener los resultados más fiables al menor coste tanto para los pacientes como para la empresa. Dependiendo de la inversión económica y de la amplitud de la detección, en

regiones y situaciones con baja prevalencia de la infección, el cribado diagnóstico por sí mismo se demostró como alternativa más que suficiente.

En resumen, en esta primera parte del trabajo fue posible concluir que la realización del triaje es más que suficiente para iniciar o suspender un tratamiento de Reproducción Asistida, con independencia de la incidencia de la enfermedad que hubiera en ese momento en una localización determinada, ya que el porcentaje de pacientes IgM/PCR positivas, y por tanto en una fase activa de la enfermedad, fue muy residual tras haber sido clasificadas como negativas tras el cribado.

2.- Variación de la reserva ovárica tras infección con SARS-CoV-2

Actualmente, la infección por SARS-CoV-2 sigue planteando numerosos interrogantes en lo que respecta a los efectos a corto y largo plazo en la salud general. Las manifestaciones clínicas son muy heterogéneas y afectan a muchos órganos diferentes.

Durante la última década, la salud reproductiva de la mujer se ha vuelto cada vez más importante y desde el estallido de la pandemia, se ha puesto el foco sobre los efectos del SARS-CoV-2 sobre la función ovárica de las mujeres en edad reproductiva. Los datos relacionados con el efecto del virus sobre la fertilidad son escasos. Como sabemos, el SARS-CoV-2 ataca a las células humanas mediante la unión de la proteína S del virus al receptor ACE2; en el ovario, ACE2 desempeña un papel clave en la respuesta a las gonadotropinas, la regulación de la esteroidogénesis, angiogénesis y degeneración folicular (Kolanska *et al.*, 2021). Puesto que se ha descrito la presencia de receptores de ACE2 en los ovarios humanos y se ha detectado angiotensina en cantidades medibles en líquido folicular, no se ha podido descartar un posible impacto de la infección sobre la función ovárica (Horowitz *et al.*, 2022).

Desde un punto de vista general, se ha asumido que la infección por SARS-CoV-2 no afectaba a la reserva ovárica en una población de mujeres asintomáticas que se sometían a un tratamiento de Reproducción Asistida, ya que no se registraron diferencias significativas en los niveles de AMH antes y después de haber pasado la enfermedad. Estos resultados coinciden con los de otros estudios (Horowitz *et al.*, 2022, Li *et al.*, 2021, Mohr-Sasson *et al.*, 2022) que sugerían que ni el hecho de haber pasado la infección por SARS-CoV-2 ni la vacuna de mRNA tenían efectos perjudiciales a corto plazo sobre la reserva ovárica.

Como comentamos previamente, las pacientes con una reserva ovárica disminuida y valores de AMH inferiores a 1 ng/ml eran mayores (38,6 años) que las mujeres con una reserva ovárica normal y valores de AMH superiores a 1 ng/ml (34,7 años). Teniendo en cuenta esta estratificación, observamos que los valores de AMH eran notablemente más bajos en las mujeres de mayor edad con respecto a las más jóvenes antes y después de la infección; este hallazgo reflejaba una disminución ya conocida de la reserva ovárica asociada a la edad (Broer *et al.*, 2014). A pesar de las diferencias en los niveles basales de AMH en función de la edad de la paciente, los cambios en los niveles de AMH antes y después de la enfermedad no variaban significativamente según la edad.

Aunque la cantidad y calidad de la información sobre el efecto de la infección y/o vacuna contra el SARS-CoV-2 en la fertilidad es incompleta y fragmentaria, la literatura disponible hasta ahora es positiva y alentadora. En línea con los resultados de nuestro estudio, se ha observado que en las pacientes que realizaron un tratamiento de Reproducción Asistida, los niveles de AMH antes y 3 meses después de la vacunación no variaban significativamente, y que este hallazgo también era consistente después de analizar las diferencias por grupos de edad (Mohr-Sasson *et al.*, 2022); además, las diferencias de AMH entre dos determinaciones consecutivas no fueron significativamente

diferentes entre pacientes positivos y negativos para la enfermedad (Kolanska *et al.*, 2021)

Sin embargo, el efecto de la infección por SARS-CoV-2 en el sistema reproductor femenino no se ha esclarecido por completo. Los datos preliminares sugerían una potencial lesión ovárica durante el proceso de infección activa, lo que podría conducir a un efecto nocivo del SARS-CoV-2 sobre la reserva ovárica y la función endocrina reproductiva. Se ha observado que hay un porcentaje de mujeres que tras recuperarse de la infección activa por Covid-19 presentaron una disminución del volumen menstrual y/o una prolongación del ciclo, que sería consecuencia de cambios transitorios en las hormonas sexuales causados por una supresión profunda de la función ovárica que remite rápidamente después de la recuperación (Li *et al.*, 2021). A pesar de que no se observaron diferencias en la concentración de hormonas sexuales en pacientes afectados por la enfermedad con respecto a los controles, sí se detectó que algunas mujeres presentaban unas concentraciones inusualmente altas de FSH y LH en la fase folicular temprana. Ante una situación de estrés intenso, la función ovárica suele anularse para garantizar el funcionamiento de otros órganos esenciales de ahí la existencia de episodios de anovulación asociados a muchas enfermedades de carácter agudo. Por lo tanto, y teniendo en cuenta que los cambios en las concentraciones hormonales fueron temporales y transitorios, era posible asumir que la infección por SARS-CoV-2 parecía tener poco impacto sobre la respuesta ovárica.

En resumen, la ausencia de cambios interpersonales significativos en los niveles de AMH plasmáticos antes y después de la enfermedad, y el hecho de que los niveles hormonales se mantuvieran también estables en función de la edad nos permitía concluir que la infección por SARS-CoV-2 no afectaba negativamente a la reserva ovárica.

3.- Influencia de los diferentes tipos de vacunas contra el SARS-CoV-2 en los tratamientos de Reproducción Asistida

Nuestros resultados sugirieron que ni la vacunación ni el tipo de vacuna administrada afectaba a la función ovárica o a los resultados de fecundación in vitro en un tratamiento de Reproducción Asistida.

Durante mucho tiempo se ha especulado con la existencia de un hipotético vínculo entre la vacunación contra el SARS-CoV-2 y una posible condición de infertilidad, por lo que era comprensible que, en un primer momento, existiese cierto grado de preocupación entre la población femenina. Por lo general, la mayoría de los efectos secundarios relacionados con el desarrollo de una nueva vacuna se identifican en los ensayos clínicos asociados al desarrollo de esta, pero el poco tiempo transcurrido hasta su comercialización, sugería cierta dificultad a la hora de reconocerlos (Male, 2021). En este contexto, las dudas se centraron en la tecnología relativamente nueva asociada a la vacuna de ARN mensajero, pero en este punto es importante destacar, que los primeros ensayos realizados con estas vacunas proceden de hace 15 años, por lo que en el caso de que hubieran supuesto algún tipo de problema, este ya habría se habría manifestado. Uno de los argumentos que vinculaba negativamente a la vacuna de ARN mensajero con la infertilidad era la supuesta similitud entre la proteína S del SARS-CoV-2 y la sincitina-1, una proteína fundamental para la formación de la placenta durante el desarrollo embrionario (Morris, 2021). La hipótesis planteada sugería que los anticuerpos producidos contra esta proteína también podrían atacar a la placenta y provocar abortos espontáneos; sin embargo, estas afirmaciones fueron desmentidas al poco tiempo ya que se demostró que la vacuna contra el SARS-CoV-2 no contenía sincitina-1 o la secuencia de esta.

La evidencia actual sobre los efectos de la vacuna contra el SARS-CoV-2 en la fertilidad humana es todavía muy limitada. Según nuestros hallazgos, la vacuna no parece afectar a la fertilidad de las mujeres. En concreto, no se observaron diferencias significativas en los resultados de los tratamientos a los que se sometió cada paciente antes y después de haber recibido la vacuna. Estos datos coinciden con los de otros estudios publicados previamente (Edelmann *et al.*, 2022, Orvieto *et al.*, 2021, Schaler and Wingfield, 2022) en los que se concluía de forma unánime que la vacunación no producía ningún efecto perjudicial sobre la fisiología reproductiva de la mujer. Además, usando como modelo un tratamiento de transferencia de embriones congelados, no se observaron diferencias relevantes entre las tasas de implantación y de implantación sostenida, definida como la presencia de latido cardíaco fetal en dos registros ecográficos con al menos, una semana de diferencia, en mujeres vacunadas, aquellas que habían pasado la infección y las que nunca se habían infectado (Morris, 2021). Sin embargo, y aunque a priori los resultados obtenidos sugerían que las vacunas no parecían influir en la función ovárica, debemos ser cautos porque el tamaño muestral incluido en estos estudios es pequeño y existe variabilidad en el número de casos incluidos en cada tipo de vacuna.

Esta línea de argumentación se mantiene independientemente de la vacuna recibida. Como hemos comentado anteriormente, las vacunas de adenovirus implican la estimulación del sistema inmunitario para atacar el virus, mientras que las vacunas de ARN mensajero se basan en el principio de inocular ARN que codifica para la propia proteína S de virus, la cual, al expresarse en las células estimula al sistema inmunitario para producir anticuerpos (Chandi and Jain, 2021). Nuestros resultados indicaron que la exposición a cualquier tipo de vacuna parecía no afectar a la reserva ovárica y/o a las características de la estimulación ovárica. Incluso si nos enfocamos en el tiempo

transcurrido entre punciones, que fue de aproximadamente un año, podríamos esperar que la fertilidad cambie con el aumento de la edad de la paciente (Safrai M, 2021); sin embargo, no se observaron diferencias significativas en este aspecto, ya que no se observó ninguna regresión en el ciclo post-vacuna. En este punto nos gustaría destacar que la evaluación de la función ovárica se realizó en una población con dificultades intrínsecas para lograr un embarazo, pero que esta podría ser un buen punto de partida para obtener evidencias sólidas acerca de la seguridad de la vacuna contra el SARS-CoV-2 en los tratamientos de Reproducción Asistida

Tampoco se observaron diferencias relevantes cuando comparamos los ciclos posteriores a la vacunación entre los distintos tipos de vacuna y una población similar de mujeres no vacunadas, aunque las diferencias en el tamaño muestral entre grupos pueden afectar a los resultados. De acuerdo con los resultados derivados de otros estudios (Bentov *et al.*, 2021), la respuesta inmune desencadenada por la exposición al virus tanto por la infección como por la vacunación no afectaba al desarrollo folicular en comparación con una población similar de mujeres no vacunadas. Es importante recordar que las mujeres a las que se les administró la vacuna de Janssen eran de media mayores que las mujeres vacunadas con otro tipo comercial de vacunas; esta circunstancia podría explicar una reserva ovárica disminuida y peores resultados en cuanto al número de ovocitos obtenidos, aunque en ningún caso estas diferencias fueron significativas. Sin embargo, cuando analizamos el efecto de la edad y el estatus de vacunación (pre/post vacunación y vacunadas/no vacunadas) sobre el número de ovocitos obtenidos, observamos que la edad es un factor determinante en los resultados del ciclo. Como comentábamos anteriormente, las mujeres vacunadas con Janssen eran de mayor edad, por lo que un aumento del tamaño muestral podría poner más de manifiesto las diferencias observadas en los perfiles de vacunación (Farland *et al.*, 2016)

En cuanto a la influencia del estatus de vacunación en las mujeres que buscan un embarazo y/o ya lo están, los resultados derivados de los diferentes estudios observacionales publicados hasta ahora que comparan los resultados perinatales entre mujeres embarazadas vacunadas y no vacunadas presentan datos tranquilizadores y no han reportado ningún efecto perjudicial de la vacuna en el embarazo o en el recién nacido vivo (Dagan *et al.*, 2021, Kalafat *et al.*, 2022, Rottenstreich *et al.*, 2022). Estos resultados actúan como base para poder afirmar que las mujeres embarazadas deben ser prioritarias en los programas de vacunación, antes que una población similar, de la misma edad, pero no embarazada. De hecho, los últimos hallazgos publicados relacionados con el impacto de la vacuna sobre la fertilidad han reforzado el mensaje de que no se existe ninguna asociación negativa entre la vacuna contra el SARS-CoV-2 y la fertilidad (Wesselink *et al.*, 2022). Por último, y en base a las dudas planteadas por los cambios registrados en el ciclo menstrual, se ha observado que la vacunación podría estar asociada con cambios a corto plazo hacia una mayor duración del ciclo menstrual, pero que estas modificaciones son independientes del tipo de vacuna administrada (Lee *et al.*, 2022, Wang *et al.*, 2022). En ambos casos, esta información debería tenerse en cuenta en la toma de decisiones relacionadas con la administración de la vacuna contra el SARS-CoV-2 entre la población de mujeres en edad reproductiva, y particularmente entre aquellas que están buscando una gestación ahora o en futuro no muy lejano.

Entre las limitaciones de este estudio, hay que destacar que no es observacional y que es posible que no se hayan excluido todos los factores de confusión. Se necesitan más datos para sacar conclusiones firmes. Es fundamental aumentar el tamaño de la muestra para garantizar que los resultados observados en este trabajo sean también extrapolables a la población general.

En resumen, este estudio proporciona datos alentadores que muestran que es probable que ni la vacunación contra el SARS-CoV-2 ni el tipo de vacuna afecten a la fertilidad en mujeres. Los rumores y mitos sobre los efectos de las vacunas contra el SARS-CoV-2 se han generalizado, pero desde el punto de vista de la reproducción, las vacunas deben recomendarse porque no existe ningún riesgo teórico de que causen infertilidad

CONCLUSIONES

Los resultados de los diferentes trabajos recogidos en esta memoria han dado lugar a las siguientes conclusiones:

- 1.- Las pruebas serológicas tienen un valor limitado para detectar el SARS-CoV-2 una vez que el triaje ha sido negativo
- 2.- En el entorno y contexto epidemiológico en el que se realizó el estudio, el triaje se demuestra como una estrategia más que suficiente en la toma de decisiones de un tratamiento de Reproducción Asistida independientemente de la incidencia de la enfermedad.
- 3.- En base a la no variación de los niveles de AMH antes y después de la infección por SARS-CoV-2 podríamos aseverar que la infección por SARS-CoV-2 no afectó a la reserva ovárica
- 4.- Ni la vacunación ni el tipo de vacuna administrada frente al SARS-CoV-2, mRNA o vector viral, afecta a la función ovárica en los tratamientos de reproducción asistida.

Bibliografia

The Novel Coronavirus Outbreak: What We Know and What We Don't. *Cell* 2020;**180**:1034-1036.

Allotey J, Stallings E, Bonet M, Yap M, Chatterjee S, Kew T, Debenham L, Llavall AC, Dixit A, Zhou D *et al.* Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2020;**370**:m3320.

Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, Taylor J, Spicer K, Bardossy AC, Oakley LP *et al.* Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med* 2020;**382**:2081-2090.

Bentov Y, Beharier O, Moav-Zafir A, Kabessa M, Godin M, Greenfield CS, Ketzinel-Gilad M, Ash Broder E, Holzer HEG, Wolf D *et al.* Ovarian follicular function is not altered by SARS-CoV-2 infection or BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination. *Hum Reprod* 2021;**36**:2506-2513.

Berger ZD, Evans NG, Phelan AL, Silverman RD. Covid-19: control measures must be equitable and inclusive. *BMJ* 2020;**368**:m1141.

Blakeway H, Prasad S, Kalafat E, Heath PT, Ladhani SN, Le Doare K, Magee LA, O'Brien P, Rezvani A, von Dadelszen P *et al.* COVID-19 vaccination during pregnancy: coverage and safety. *Am J Obstet Gynecol* 2022;**226**:236.e1-236.e14.

Chadchan SB, Popli P, Maurya VK, Kommagani R. The SARS-CoV-2 receptor, angiotensin-converting enzyme 2, is required for human endometrial stromal cell decidualization. *Biol Reprod* 2021;**104**:336-343.

Chandi A, Jain N. State of assisted reproduction technology in the coronavirus disease 2019 era and consequences on human reproductive system. *Biol Reprod* 2021;**105**:808-821.

Chen F, Zhu S, Dai Z, Hao L, Luan C, Guo Q, Meng C, Zhang Y. Effects of COVID-19 and mRNA vaccines on human fertility. *Hum Reprod* 2021;**37**:5-13.

Chmielewska B, Barratt I, Townsend R, Kalafat E, van der Meulen J, Gurol-Urganci I, O'Brien P, Morris E, Draycott T, Thangaratinam S *et al*. Effects of the COVID-19 pandemic on maternal and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2021;**9**:e759-e772.

ESHRE COVID-19 Working Group, Gianaroli L, Ata B, Lundin K, Rautakallio-Hokkanen S, Tapanainen JS, Vermeulen N, Veiga A, Mocanu E. The calm after the storm: re-starting ART treatments safely in the wake of the COVID-19 pandemic. *Hum Reprod* 2020;.

Fenizia C, Biasin M, Cetin I, Vergani P, Mileto D, Spinillo A, Gismondo MR, Perotti F, Callegari C, Mancon A *et al*. Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy. *Nat Commun* 2020;**11**:5128-020.

Garcia-Flores V, Romero R, Xu Y, Theis KR, Arenas-Hernandez M, Miller D, Peyvandipour A, Bhatti G, Galaz J, Gershater M *et al*. Maternal-fetal immune responses in pregnant women infected with SARS-CoV-2. *Nat Commun* 2022;**13**:320-021.

Garcia-Montero C, Fraile-Martinez O, Bravo C, Torres-Carranza D, Sanchez-Trujillo L, Gomez-Lahoz AM, Guijarro LG, Garcia-Honduvilla N, Asunsolo A, Bujan J *et al.* An Updated Review of SARS-CoV-2 Vaccines and the Importance of Effective Vaccination Programs in Pandemic Times. *Vaccines (Basel)* 2021;**9**:10.3390/vaccines9050433.

Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol* 2020;**41**:1100-1115.

He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, Lau YC, Wong JY, Guan Y, Tan X *et al.* Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* 2020;**26**:672-675.

Hosier H, Farhadian SF, Morotti RA, Deshmukh U, Lu-Culligan A, Campbell KH, Yasumoto Y, Vogels CB, Casanovas-Massana A, Vijayakumar P *et al.* SARS-CoV-2 infection of the placenta. *J Clin Invest* 2020;**130**:4947-4953.

Jing Y, Run-Qian L, Hao-Ran W, Hao-Ran C, Ya-Bin L, Yang G, Fei C. Potential influence of COVID-19/ACE2 on the female reproductive system. *Mol Hum Reprod* 2020;**26**:367-373.

Kalafat E, Heath P, Prasad S, O'Brien P, Khalil A. **COVID-19 vaccination in pregnancy.** *Am J Obstet Gynecol* 2022;**11**:S0002-9378(22)00364-7.C.

Kumar M, Al Khodor S. Pathophysiology and treatment strategies for COVID-19. *J Transl Med* 2020;**18**:353-020.

La Marca A, Niederberger C, Pellicer A, Nelson SM. COVID-19: lessons from the Italian reproductive medical experience. *Fertil Steril* 2020;**113**:920-922.

Li K, Chen G, Hou H, Liao Q, Chen J, Bai H, Lee S, Wang C, Li H, Cheng L *et al.* Analysis of sex hormones and menstruation in COVID-19 women of child-bearing age. *Reprod Biomed Online* 2021;**42**:260-267.

Li Y, Huang X, Yu ITS, Wong TW, Qian H. Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong. *Indoor Air* 2005;**15**:83-95.

Liao M, Liu Y, Yuan J, Wen Y, Xu G, Zhao J, Cheng L, Li J, Wang X, Wang F *et al.* Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat Med* 2020;**26**:842-844.

Lukassen S, Chua RL, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley T, Winter H, Meister M, Veith C, Boots AW *et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J* 2020;**39**:e105114.

M. Blake Evans DO. COVID-19 vaccine and infertility: baseless claims and unfounded social media panic. **2021**.

Madjunkov M, Dviri M, Librach C. A comprehensive review of the impact of COVID-19 on human reproductive biology, assisted reproduction care and pregnancy: a Canadian perspective. *J Ovarian Res* 2020;**13**:140-020.

Male V. SARS-CoV-2 infection and COVID-19 vaccination in pregnancy. *Nat Rev Immunol* 2022;**22**:277-282.

Mina MJ, Parker R, Larremore DB. Rethinking Covid-19 Test Sensitivity - A Strategy for Containment. *N Engl J Med* 2020;**383**:e120.

Morgante G, Troia L, De Leo V. Coronavirus Disease 2019 (SARS-CoV-2) and polycystic ovarian disease: Is there a higher risk for these women? *J Steroid Biochem Mol Biol* 2021;**205**:105770.

Ochani R, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, Sohail MR, Mahmood SF, Ochani R, Hussham Arshad M *et al.* COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. *Infez Med* 2021;**29**:20-36.

Orvieto R, Noach-Hirsh M, Segev-Zahav A, Haas J, Nahum R, Aizer A. Does mRNA SARS-CoV-2 vaccine influence patients' performance during IVF-ET cycle? *Reprod Biol Endocrinol* 2021;**19**:69-021.

Otter JA, Donskey C, Yezli S, Douthwaite S, Goldenberg SD, Weber DJ. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J Hosp Infect* 2016;**92**:235-250.

Papathanasiou A. COVID-19 screening during fertility treatment: how do guidelines compare against each other? *J Assist Reprod Genet* 2020;**37**:1831-1835.

Peng R, Wu L, Wang Q, Qi J, Gao GF. Cell entry by SARS-CoV-2. *Trends Biochem Sci* 2021;**46**:848-860.

Pollan M, Perez-Gomez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernan MA, Perez-Olmeda M, Sanmartin JL, Fernandez-Garcia A, Cruz I, Fernandez de Larrea N *et al.* Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet* 2020;.

Qiao J. What are the risks of COVID-19 infection in pregnant women? *Lancet* 2020;**395**:760-762.

Reis FM, Bouissou DR, Pereira VM, Camargos AF, dos Reis AM, Santos RA. Angiotensin-(1-7), its receptor Mas, and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human ovary. *Fertil Steril* 2011;**95**:176-181.

Requena A, Cruz M, Vergara V, Prados N, Galliano D, Pellicer A. A picture of the covid-19 impact on IVIRMA fertility treatment clinics in Spain and Italy. *Reprod Biomed Online* 2020;**41**:1-5.

Rodriguez-Wallberg KA, Wikander I. A global recommendation for restrictive provision of fertility treatments during the COVID-19 pandemic. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2020;**99**:569-570.

Romanski PA, Bortoletto P, Rosenwaks Z, Schattman GL. Delay in IVF treatment up to 180 days does not affect pregnancy outcomes in women with diminished ovarian reserve. *Hum Reprod* 2020;**35**:1630-1636.

Safrai M RA. Stopping the misinformation: BNT162b2 COVID-19 vaccines has no negative effect on women's fertility. **2022**.

Savasi VM, Parisi F, Patane L, Ferrazzi E, Frigerio L, Pellegrino A, Spinillo A, Tateo S, Ottoboni M, Veronese P *et al*. Clinical Findings and Disease Severity in Hospitalized Pregnant Women With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Obstet Gynecol* 2020;**136**:252-258.

Schwartz DA, Avvad-Portari E, Babal P, Baldewijns M, Blomberg M, Bouachba A, Camacho J, Collardeau-Frachon S, Colson A, Dehaene I *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**:660-676.

Sethuraman N, Jeremiah SS. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 2020;**323**:2249-2251.

Shan T, Shang W, Zhang L, Zhao C, Chen W, Zhang Y, Li G. Effect of angiotensin-(1-7) and angiotensin II on the proliferation and activation of human endometrial stromal cells in vitro. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;**8**:8948-8957.

Shook LL, Brigida S, Regan J, Flynn JP, Mohammadi A, Etemad B, Siegel MR, Clapp MA, Li JZ, Roberts DJ *et al.* SARS-CoV-2 Placentitis Associated With B.1.617.2 (Delta) Variant and Fetal Distress or Demise. *J Infect Dis* 2022;**225**:754-758.

Simopoulou M, Sfakianoudis K, Giannelou P, Rapani A, Siristatidis C, Bakas P, Vlahos N, Pantos K. Navigating assisted reproduction treatment in the time of COVID-19: concerns and considerations. *J Assist Reprod Genet* 2020;**37**:2663-2668.

Smithgall MC, Liu-Jarin X, Hamele-Bena D, Cimic A, Mourad M, Debelenko L, Chen X. Third-trimester placentas of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-positive women: histomorphology, including viral immunohistochemistry and in-situ hybridization. *Histopathology* 2020;**77**:994-999.

Stanley KE, Thomas E, Leaver M, Wells D. Coronavirus disease-19 and fertility: viral host entry protein expression in male and female reproductive tissues. *Fertil Steril* 2020;**114**:33-43.

The Lancet Respiratory M. COVID-19: delay, mitigate, and communicate. *Lancet Respir Med* 2020;**8**:321-2600(20)30128.

Vaiarelli A, Bulletti C, Cimadomo D, Borini A, Alviggi C, Ajossa S, Anserini P, Gennarelli G, Guido M, Levi-Setti PE *et al.* COVID-19 and ART: the view of the Italian Society of Fertility and Sterility and Reproductive Medicine. *Reprod Biomed Online* 2020;**40**:755-759.

Vaz-Silva J, Carneiro MM, Ferreira MC, Pinheiro SVB, Silva DA, Silva-Filho AL, Witz CA, Reis AM, Santos RA, Reis FM. The vasoactive peptide angiotensin-(1-7), its receptor Mas and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human endometrium. *Reprod Sci* 2009;**16**:247-256.

Wang M, Zhao R, Gao L, Gao X, Wang D, Cao J. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol* 2020;**10**:587269.

Watkins JC, Torous VF, Roberts DJ. Defining Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Placentitis. *Arch Pathol Lab Med* 2021;**145**:1341-1349.

Yu ITS, Li Y, Wong TW, Tam W, Chan AT, Lee JHW, Leung DY, Ho T. Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus. *N Engl J Med* 2004;**350**:1731-1739.

Zeng H, Xu C, Fan J, Tang Y, Deng Q, Zhang W, Long X. Antibodies in Infants Born to Mothers With COVID-19 Pneumonia. *JAMA* 2020;**323**:1848-1849.

Zou L, Ruan F, Liang L, Huang H, Hong Z, Yu J, Kang M, Song Y, Xia J, Guo Q *et al.* SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med* 2020;**382**:1177-1179.

