

“Análisis de la evolución de la “variante “variante india”” y posibles medidas anticipatorias para evitar su expansión en España y la UE.

El documento de “Estrategia de integración de la secuenciación en la vigilancia de SARS CoV-2”, aprobado por la Ponencia de Alertas y por la Comisión de Salud Pública, plantea la necesidad de incluir como parte de la vigilancia de la COVID-19, los datos generados mediante secuenciación genómica de SARS-CoV-2 para la detección e identificación de variantes virales en España. Para cumplir este objetivo se ha creado una Red Nacional de Laboratorios de Secuenciación Genómica que cubren las necesidades de generación de secuencias y, mediante su análisis, de conocimiento genómico de los virus. El Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III) (CNM-ISCIII) coordina dicha red y trabaja directamente con el ECDC y OMS.

1. Como coordinadores de la Red Nacional de Laboratorios de Secuenciación Genómica:
 - a. Se está recopilando los datos de secuenciación genómica y detección de variantes de los virus SARS-CoV2 a nivel nacional, en la proporción indicada por la Comisión Europea (según Orden del 19 de enero de 2021).
 - b. Todas las CCAA y las 2 Ciudades Autónomas participan en esta integración de la secuenciación genómica, vigilando la detección de cualquier virus asociado a esta nueva variante
 - c. Se ha generado un nuevo Metadata de integración de la Secuenciación genómica en la vigilancia de SARS-CoV2. Los Servicios de Salud pública de las CCAA ingresan los datos de las variantes a través de este sistema y coordinado con el Ministerio de Sanidad.
2. Como Laboratorio de Referencia e Investigación en Virus Respiratorios:
 - a. Secuenciación genómica de los virus SARS-CoV2 procedentes de cualquier CCAA que no tenga capacidad de secuenciación.
 - b. Generación de la espícula purificada de los virus de la “variante india” que corresponde al linaje B.1.617 y sublinajes B.1.617.1, B.1.617.2 y B.1.617.3. para comprobar que los sueros de los pacientes vacunados e infectados previamente neutralizan dicha espícula.

Potencial impacto de las mutaciones de la espícula características del linaje B.1.617.1. (E154K, E484Q, L452R, D614G, P681R, Q1071H)

1. Efecto sobre la transmisión e infectividad del virus
 - Capacidad de transmisión elevada ya que incorpora la sustitución L452R en la zona de unión al receptor celular y se ha comprobado que este cambio, en las variantes californianas B.1.429 y B.1.427, produce una mayor infectividad así como con una mayor afinidad por el receptor celular ACE2.
 - Asociado al cambio P681R, aumento del carácter básico del sitio de corte de la espícula facilitando su procesamiento imprescindible para la entrada del virus en la célula. La posición 681 se localiza de manera continua al sitio de unión de la espícula (RRAR) con el cofactor celular neuropilina-1, por lo que podría redundar también en una mayor transmisibilidad e infectividad del virus.



2. Impacto en la respuesta de anticuerpos

- Cierta resistencia a la acción de anticuerpos neutralizantes generados por una infección previa o tras la administración de una vacuna. Incorpora cambios drásticos en la superficie de la molécula que son la diana de anticuerpos neutralizantes, región RBD (L452R, E484Q) y región NTD (E154K) (Fig.1).
- Se dispone de datos que muestran una reducción de 2 veces para la “variante india” cuando se compara la actividad de los anticuerpos presentes en sueros de vacunados (Covaxin) frente al virus Wuhan+D614G.

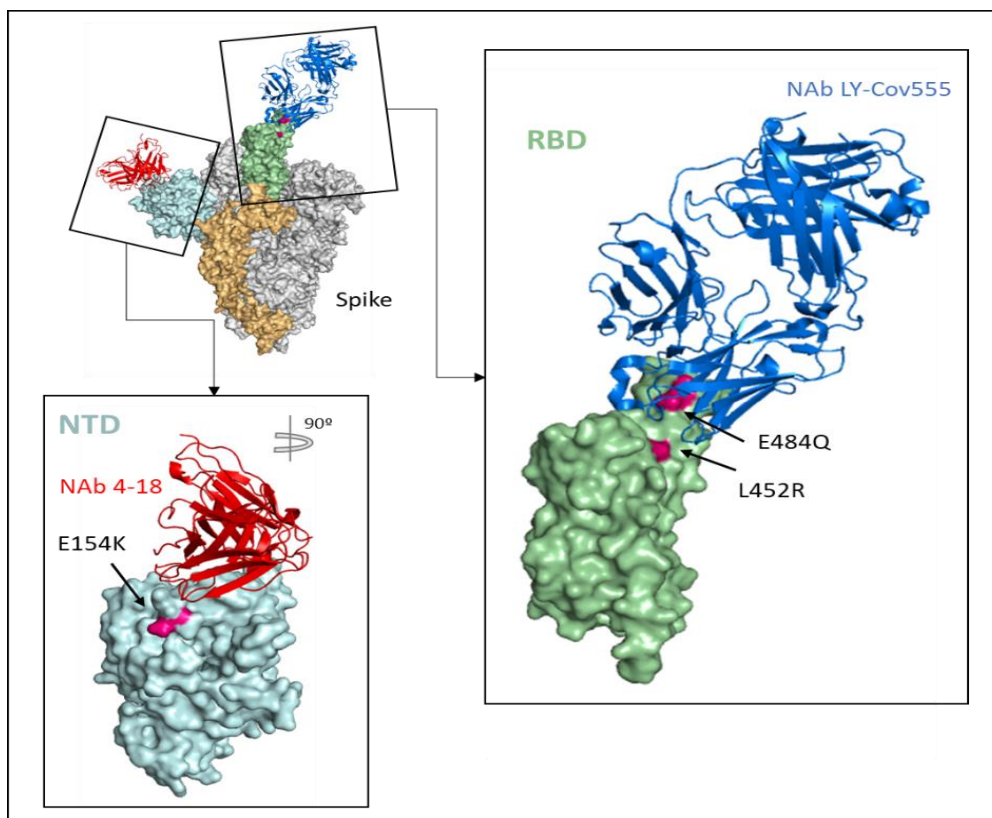


Fig1. Impacto sobre la respuesta de anticuerpos neutralizantes (NAb). Arriba a la izquierda se muestra una reconstrucción de los complejos de la espícula con el NAb 4.18 (específico del dominio NTD) y NAb LY-Cov555 (específico del dominio RBD). En los zooms del NTD y RBD se indican los cambios detectados en la “variante india”. Resaltar que se localizan en la zona de interacción de los NAb (representados en formato de estructura secundaria)

3. Efecto sobre la respuesta de celular

- Asociado al cambio L452R, evasión de la respuesta celular citotóxica por su situación en el epítipo inmunodominante NF9 (448-456) que media en esta actividad vía complejo mayor de histocompatibilidad HLA-A24.
- Teniendo en cuenta la frecuencia de alelos de la población española, la actividad celular citotóxica del 17% de los españoles podría estar parcialmente comprometida por la “variante india”, ya sea en el contexto de una infección primaria o tras la vacunación.

En base a lo anteriormente expuesto la “variante india” puede tener un impacto muy importante en el control de la pandemia en nuestro país y se hace necesario un seguimiento estrecho de los casos asociados a la misma que puedan surgir.

Caracterización “variante india”. Plan de trabajo

Las variantes con una capacidad mayor de transmisión (inglesa, sudafricana, brasileña, californiana), son claramente más eficientes a la hora de unirse al receptor celular. Esta optimización se produce por dos vías: 1. cambios en el RBD que mejoran la afinidad por el receptor; 2. cambios en otros dominios de la proteína que desplazan el equilibrio de conformaciones hacia la conformación profusión abierta de unión al receptor.

En el LRI de Virus Respiratorios, en colaboración con Microscopia Electrónica (CNM), se ha desarrollado la tecnología necesaria para valorar el impacto de mutaciones sobre estas propiedades de la espícula.

1. Se expresa y purifica el ectodominio de la espícula altamente estabilizada así como el receptor celular ACE2. Mediante técnicas de “Surface Plasmon Resonance” y Microscopía Electrónica se valora las afinidades y relación de conformaciones abiertas y cerradas en los trímeros aislados (Fig.2).
2. Se ha comprobado que la variante británica en comparación con el virus de referencia Wuhan presenta una afinidad 10 veces mayor por el receptor celular y un mayor número de moléculas en la conformación abierta.
3. Incorporación de este sistema para estudio de la “variante india” (B.1.617) para definir su capacidad de unión al receptor celular en comparación con la variante británica (B.1.1.7).

Objetivos a corto plazo:

- Predecir si la nueva “variante india” pasaría a ser la predominante.
- Incorporar los cambios de la “variante india” sobre los de la variante británica, para estudiar el impacto sobre la transmisión de una hipotética convergencia de ambos linajes.
- Valorar la estabilidad de la espícula de la “variante india” y su mayor transmisibilidad.
- Valorar el impacto sobre la respuesta de anticuerpos tras vacunación o infección, y una hipotética variante convergente que incorpore cambios de las variantes británica e india.

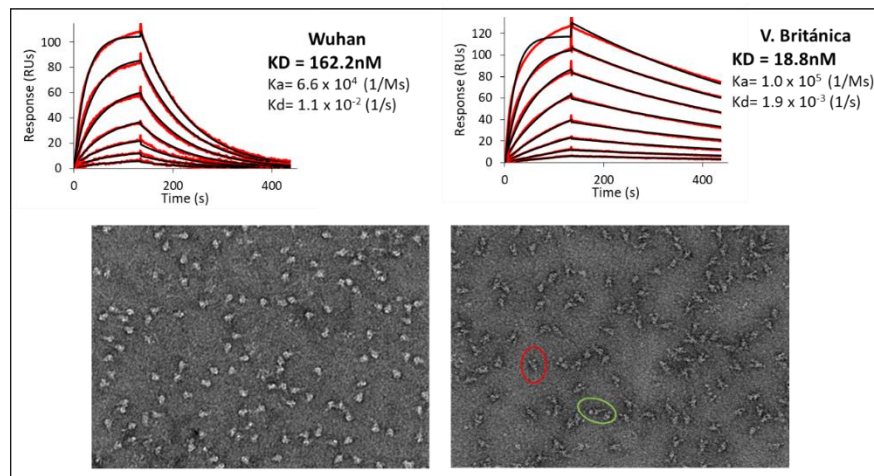


Fig2. Arriba, valoraciones de afinidades de la interacción entre las espículas y el receptor celular ACE2 mediante la técnica SPR (Biacore X100). La constante de afinidad KD se reduce del orden de 10 veces en el caso de la variante británica, indicativo de una mayor afinidad de esta espícula por el receptor. Abajo a la izquierda imagen de ME de las espículas purificadas. Abajo a la derecha imagen de complejos que forman las espículas con el receptor celular. En rojo una espícula con 2 moléculas de receptor unidas. En verde una espícula con 1 molécula de receptor unida Comparativamente con la variante británica se detectan un mayor número de moléculas con 2 dominios RBD abiertos que en el caso del virus Wuhan.



EQUIPO IMPLICADO EN EL ESTUDIO:

LRI en Virus Respiratorios CNM-ISCI

Maria Iglesias Caballero
Vicente Mas
Concepción Palomo
Sonia Vazquez
Virginia Sandonís
Francisco Pozo
Sara Camarero
Mónica Gonzalez-Esguevillas
Mar Molinero
Olga Cano
Mónica Vazquez
Teresa Delgado
Noelia Reyes
Vanesa Montero
Diana K Santos

Unidad de Bioinformática ISCI

Isabel Cuesta
Sara Monzón
Sarai Varona

Unidad de Genómica ISCI

Angel Zaballos
Pilar Jimenez
Mercedes Jimenez

Unidad de Microscopia Electrónica CNM-ISCI

Daniel Luque
Carmen Terrón
Dunia Sanchez

Inmaculada Casas
Responsable Laboratorio de Virus Respiratorios y Gripe
Coordinadora de la Red Nacional de Laboratorios de Secuenciación Genómica
CNM-ISCI