

Análisis de la variante Omicron

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 las proteínas de la espícula purificada de los virus que puedan tener un interés epidemiológico y que se estén describiendo en tiempo real.

Potencial impacto de las mutaciones de la espícula características de la variante Omicron, linaje B.1.1.529.

Cambios en la proteína de la espícula: 30 cambios, 3 deleciones pequeñas, 1 inserción pequeña A67V, Δ69-70, T95I, G142D, Δ143-145, Δ211-212, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493K, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F

15 de estos cambios se localizan el dominio de unión al receptor (residuos 319-541)

Esta variante presenta otros cambios en diferentes regiones genómicas:

NSP3: K38R, V1069I, Δ1265, L1266I, A1892T; NSP4: T492I; NSP5: P132H; NSP6: Δ105-107, A189V; NSP12: P323L; NSP14: I42V; E: T9I; M: D3G, Q19E, A63T; N: P13L, Δ31-33, R203K, G204R

- La variante Omicron ha sido detectada en Botswana y Sudafrica y adquiere especial relevancia debido a la gran cantidad de cambios que ha adquirido su espícula.
- Se le relaciona con el incremento de casos en Sudáfrica, estimándose que el 90% de los casos detectados por PCR en la provincia de Gauteng pueden deberse a esta variante.
- De acuerdo a lo publicado por Tulio de Oliveira, director del Centro de Respuesta Epidémica e Innovación (CERI) en Durban, en menos de dos semanas se ha convertido en el linaje circulante dominante desbancando a la variante Delta mayoritaria hasta el momento en dicha provincia.

- En Europa han sido detectado casos causados por esta variante en Bélgica, Países Bajos, Dinamarca, Alemania, Italia y República Checa. La mayoría de los casos han sido asociados, por el momento, a introducciones de viajeros procedentes de diferentes puntos del continente africano.

La caracterización fenotípica de este conjunto de cambios en la espícula es muy importante, ya que entre los numerosos cambios descritos se encuentran:

1. cambios que pueden mejorar la afinidad por el receptor celular ACE2, como son los cambios N440K y S477N
2. cambios que pueden tener un impacto en la actividad de control de la infección mediada por los anticuerpos neutralizantes, como son los cambios E484A, T478K y Q493K
3. cambios que pueden afectar al procesamiento de la proteína mediante el corte para la generación de las subunidades S1 y S2 realizado por proteasas celulares y especialmente Furina, y como consecuencia afectación de su transmisión, como son los cambios N679K y P681H.
 - i. Wuhan: 679 NSPRRAR 685
 - ii. Alpha y Mu: 679 NSHRRAR 685
 - iii. Delta: 679 NSRRRAR 685
 - iv. **B.1.1.529:** 679 **K**SHRRAR 685
 - v. C.1.2: 679 **K**SPRRAR 685
4. sustitución N856K y otras cerca del azúcar (N343) que media que se abra la molécula.
5. La combinación de todos los cambios pueden a priori cerrar sustancialmente la molécula y por tanto iría muy protegido frente a la acción de los anticuerpos neutralizantes

Por tanto, son muy relevantes los estudios fenotípicos de esta combinación de cambios para conocer su impacto real.

Son necesarios estudios serológicos que muestren el impacto de esta variante en las personas vacunadas. De forma teórica, este conjunto de cambios tiene el potencial de afectar a la protección conferida por las vacunas.

Además, se ha descrito la infección por esta variante en algunos vacunados con pauta completa por Pfizer, Janssen y Astra Zeneca. La realidad es que por el momento la muestra estudiada es pequeña, por lo que no tenemos información completa al respecto.

Caracterización variante Omicron. Plan de trabajo

Las variantes con una capacidad mayor de transmisión (hasta ahora Alfa, Beta, Gamma y Delta) 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, se ha desarrollado la tecnología necesaria para valorar el impacto de mutaciones sobre estas propiedades de la espícula.

1. Se expresará y purificará el ectodominio de la espícula de la variante Omicron altamente estabilizada así como el receptor celular ACE2.
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. Estos experimentos se realizarán con la variante Omicron

Objetivos a corto plazo:

- Predecir si la nueva variante Omicron pasaría a ser la predominante.
- Incorporar los cambios de la variante Omicron sobre los de la variante Delta, para estudiar el impacto sobre la transmisión de una hipotética convergencia de ambos linajes.
- Valorar la estabilidad de la espícula de la variante Omicron 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 la variante Omicron.

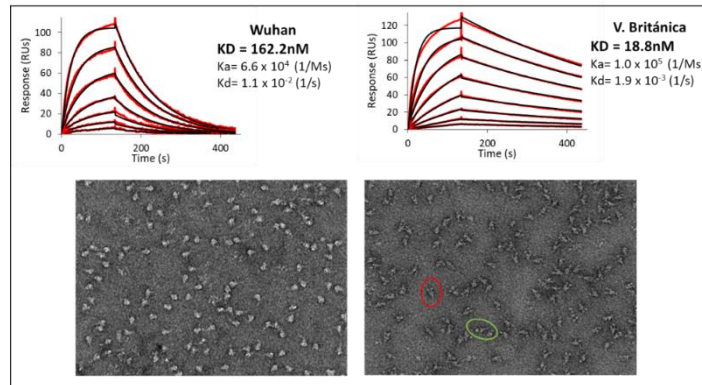


Fig2. Arriba, valoraciones de afinidades de la interacción entre las espículas y el receptor celular ACE2 mediante la técnica SPR (Biacore X100). La constante de afinidad KD se reduce del orden de 10 veces en el caso de la variante británica, indicativo de una mayor afinidad de esta espícula por el receptor. 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

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