



VALUTAZIONE DELL'ATTIVITA' NEUTRALIZZANTE DEGLI ANTICORPI PRODOTTI IN SEGUITO A SOMMINISTRAZIONE DELLA TERZA DOSE DEL VACCINO BNT162b2 IN SIERI DI OPERATORI SANITARI

Pace L., Poppa E., Rondinone V., Padalino I., Serrecchia L., Manzulli V., Tolve F., Aceti A., Iatarola M., Vitulano L., Bianco A., Del Sambro L., Lo Polito A., Galante D.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia, Italia

SUMMARY

On 5th May 2023, after more than three years, the World Health Organization (WHO) has declared the end of the global health emergency of the coronavirus disease 2019 (Covid-19). During the pandemic, many variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) have followed one another, differently contagious and worrying. Among these, one of the last was the Omicron variant (B.1.1.529), declared a variant of concern by WHO in November 2021. In this study we evaluated the immune response induced by vaccination against Delta, BA.1 and BA.2 variants, using a live virus micro-neutralization test. We found that Omicron sub-lineages show a substantial immune escape compared to the Delta variant. These results highlighted how spike protein mutations may affect the efficacy of current vaccines, showing the need for alternative vaccine therapies to reduce the risk of reinfection.

INTRODUZIONE

La variante "Omicron" (lineage B.1.1.529) è stata identificata per la prima volta a novembre 2021 in Botswana e successivamente in Sud Africa. Da un punto di vista molecolare la variante Omicron risulta essere molto differente dagli altri ceppi di SARS-CoV-2 (1). Dalla fine dell'anno 2021 ad oggi, si sono verificate alcune mutazioni del ceppo originale dovute a un "riasssemblaggio" dello stesso virus, le quali hanno dato origine a diversi sub-lineages tra cui BA.1 e BA.2 (fig. 1).

Anche in Italia, secondo l'indagine del 31 Marzo 2023 condotta dall'Istituto Superiore di Sanità e dal Ministero della Salute, la variante Omicron risulta ormai l'unica variante di SARS-CoV-2 circolante nel nostro Paese, con la sottovariante Kraken (XBB.1.5) predominante attualmente (2). Il presente studio ha avuto come scopo quello di valutare l'efficacia neutralizzante degli anticorpi prodotti in seguito alla terza dose del vaccino BNT162b2 (Pfizer-Biotech) nei confronti dei sub-lineages BA.1 e BA.2 della variante Omicron e della variante Delta, utilizzando un saggio di siero-neutralizzazione.

MATERIALI E METODI

L'attività neutralizzante degli anticorpi prodotti dopo 15 giorni dal completamento del ciclo vaccinale con tre dosi del vaccino BNT162b2, è stata valutata in campioni di siero ottenuti da 30 operatori sanitari senza evidenza di pregressa infezione da SARS-CoV-2.

Per il test di siero-neutralizzazione sono state utilizzate le seguenti varianti di SARS-CoV-2: B.1.617.2 (GSAID ID: EPI_ISL_1919755), BA.1 (GSAID ID: EPI_ISL_794755) e BA.2 (GSAID ID: EPI_ISL_10878350). I campioni di siero sono stati testati in triplicato, allestendo otto diluizioni scalari in base 2 (da 1:20 a 1:2560) in piastre da 96 pozzetti. Ad ogni diluizione d'interesse è stata aggiunta una quantità nota di virus per ciascuna variante (100 TCID₅₀), dopo di che sono state aggiunte 2 × 10⁴ cellule VERO E6 sensibili all'infezione virale (4).

Il titolo anticorpale neutralizzante è stato valutato come la diluizione sierica più alta alla quale non è stato osservato alcun effetto citopatico in nessun replicato. Per valutare le differenze statistiche nei titoli anticorpali, è stata utilizzato il test one-way ANOVA, seguito dal test post hoc di Tukey.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Come mostrato nella figura 2, BA.1 e BA.2 hanno dimostrato una riduzione di tre diluizioni del titolo anticorpale neutralizzante rispetto alla variante Delta in operatori sanitari vaccinati, mentre non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i due sub-lineages della variante Omicron.

La comparsa di nuove varianti nell'evoluzione del virus Sars-CoV-2 è un evento naturale, ma ha suscitato a lungo preoccupazioni in quanto le mutazioni possono determinare alterazioni delle caratteristiche biologiche del virus, tra cui una maggiore contagiosità, come nel caso della variante Omicron. Questa variante, infatti, presenta molteplici mutazioni nella proteina spike, migliorando l'affinità del virus di legarsi ai recettori ACE-2 e di infettare le cellule (5,6). Recenti studi hanno dimostrato come le mutazioni a carico della proteina spike di SARS-CoV-2 riducano l'effetto neutralizzante degli anticorpi sviluppati in seguito a vaccinazione e/o infezione (7).

A tal proposito, il nostro lavoro ha dimostrato come gli anticorpi neutralizzanti generati dal vaccino BNT162b2 sono molto meno efficaci nei confronti della variante Omicron rispetto alla variante Delta, che a sua volta aveva mostrato un notevole effetto "immuno-escape" rispetto alle precedenti VOC in individui vaccinati o guariti (8). Alla luce di questi dati, la variante Omicron potrebbe essere associata ad un rischio più elevato di reinfezione, evidenziando la necessità di misure di controllo più rigide per prevenirne l'ulteriore diffusione, tra cui la progettazione di vaccini di nuova generazione.

In conclusione, l'approccio One Health descritto nel presente lavoro potrebbe rappresentare un buon modello sperimentale, da utilizzare anche per studi futuri, per la valutazione dell'attività anticorpale neutralizzante dei vaccini contro le attuali e future varianti di SARS-CoV-2.

BIBLIOGRAFIA

- Viana R, Moyo S, Amoako DG, et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. *Nature*. 2022 Mar;603(7902):679-686.
- Comunicato Stampa N°57/2022 Covid19. Available online: <https://www.iss.it/web/guest/-/comunicato-stampa-n°57-2022-covid19-fresh-survey-iss-#2-2022-08-30/08/2022>.
- Hoffmann M, Krüger N, Schulz S, et al. The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: implications for control of the COVID-19 pandemic. *Cell* 185, 447-456 (2022).
- Rondinone V, Pace L, Fasanella A, et al. VOC 202012/01 Variant is Effectively Neutralized by Antibodies Produced by Patients Infected before its Diffusion in Italy. *Viruses*. 2021 Feb 11;13(2):276.
- Cele S, Jackson L, Khoury DS, et al. SARS-CoV-2 Omicron has extensive but incomplete escape of Pfizer BNT162b2 elicited neutralization and requires ACE2 for infection. *medRxiv* [Preprint]. 2021 Dec 17:2021.12.08.21267417. doi: 10.1101/2021.12.08.21267417. Update in: *Nature*. 2021 Dec 23.
- Qusail Abbas, Alexey Kuskin, Kinda Sharrouf, Susan Jykhwo, Aleksey S Komissarov. Follow-up investigation and detailed mutational characterization of the SARS-CoV-2 Omicron variant lineages (BA.1, BA.2, BA.3 and BA.1.1). *bioRxiv* 2022.02.25.481941; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.02.25.481941>
- Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Jul;19(7):409-424. doi: 10.1038/s41579-021-00573-0.
- Trabace L, Pace L, Morgese MG, et al. SARS-CoV-2 Gamma and Delta Variants of Concern Might Undermine Neutralizing Activity Generated in Response to BNT162b2 mRNA Vaccination. *Viruses*. 2022 Apr 15;14(4):814.

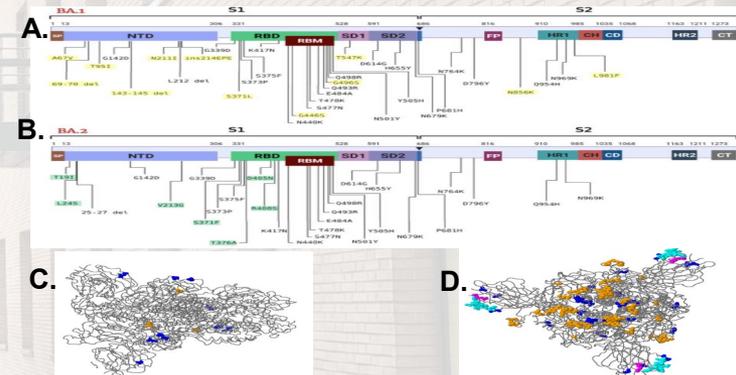


Fig.1 A) Rappresentazione schematica delle mutazioni della proteina Spike identificate nel genoma della variante Omicron BA.1 (6); B) Rappresentazione schematica delle mutazioni della proteina Spike identificate nel genoma della variante Omicron BA.2 (6); C) Visualizzazione strutturale 3D della glicoproteina spike di BA.1 con evidenziate le mutazioni aminoacidiche; D) Visualizzazione strutturale 3D della glicoproteina spike di BA.2 con evidenziate le mutazioni aminoacidiche

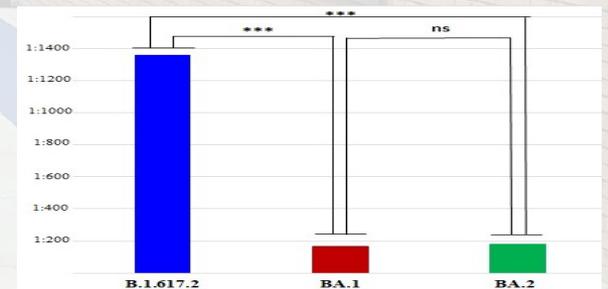


Fig.2 Media del titolo anticorpale ± deviazione standard di 30 sieri di operatori sanitari nei confronti di 3 varianti di SARS-CoV-2. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; n.s=non significativo