

20 Agosto

Finalmente ! : durata degli anticorpi indotti dal vaccino mRNA-1273 contro le varianti SARS-CoV-2

Come raggiungere un traguardo?

Senza fretta ma senza sosta

Johann Wolfgang Goethe

Ammetto di essere perennemente inclinato sulla parte complicata delle cose, e ritengo che una informazione ti deve “completare”, non “complicare”. Adesso, che finalmente cominciamo a capire per quanto tempo funzioneranno gli anticorpi indotti dal vaccino, si materializza la difficoltà di spiegare quello che negli ultimi mesi è accaduto al nostro sistema immunitario nella speranza di non aumentare l’incertezza e la confusione. Tutto è più semplice di quanto *si possa pensare* e allo stesso tempo più complicato di quanto *si possa capire*.

Questo articolo è idealmente dedicato a tutti i miei amici vaccinati che si misurano ogni mese “gli anticorpi”. Bill Watterson, Il fumettista statunitense autore della striscia “Calvin & Hobbes” diceva che *Se una cosa è così complicata da non poter essere spiegata in dieci secondi, allora non vale la pena di saperla*. Temo che impiegherò inevitabilmente molto più tempo e un linguaggio tecnico a volte complicato e pertanto mi avvarrò della “facoltà di non confondere!

Il problema

Le mutazioni SARS-CoV-2 possono diminuire le risposte immunitarie protettive indotte dal vaccino, in particolare quando i titoli anticorpali diminuiscono nel tempo. Dopo risultati sporadici e confusi Il **12 agosto** NIH ha reso pubblicato un report del team di **Amarendra Pegu** (Science DOI: 10.1126/science.abj4176) che finalmente comincia a definire in maniera precisa ed esaustiva il problema. E’ stato valutato l’impatto delle varianti SARS-CoV-2 B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), P.1 (Gamma), B.1.429 (Epsilon), B.1.526 (Iota), e B.1.617.2 (Delta) sugli anticorpi leganti, neutralizzanti e ACE2-competitivi suscitati dal vaccino mRNA-1273 per sette mesi. Mentre le risposte neutralizzanti cross-reattive sono risultare “rare” dopo una singola dose, al picco della risposta alla seconda dose di vaccino, tutti gli individui hanno risposto a tutte le varianti. Gli anticorpi leganti e funzionali contro le varianti sono persistiti nella maggior parte dei soggetti, anche se a bassi livelli, per 6 mesi dopo la serie primaria del vaccino mRNA-1273. In tutti i test, B.1.351 ha presentato il riconoscimento anticorpale più basso.

Premessa

La combinazione dei tassi di mutazione, replicazione e ricombinazione del virus RNA, in un numero molto elevato di individui, favorisce l'emergere di varianti virali con una migliore capacità di replicazione e trasmissibilità, nonché la fuga dalla risposta immunitaria difensiva dell’ospite.

Di particolare interesse sono **le varianti di preoccupazione** B.1.1.7 (20I/501Y.V1 o Alpha), B.1.351 (20H/501Y.V2 o Beta), P.1 (Gamma; identificato per la prima volta in Brasile), B. 1.429 (Cal20 o Epsilon; identificato per la prima volta in California) e B.1.617.2 (Delta; identificato per la prima volta in India); e **Variante di interesse** B.1.526 (Iota; identificato per la prima volta a New York). In molteplici studi, B.1.351 è il più resistente alla neutralizzazione da parte di sieri convalescenti o vaccinati, con un'attività di neutralizzazione 6-15 volte inferiore per i sieri di individui immunizzati con vaccini basati sul ceppo virale descritto per la prima volta nel gennaio 2020.

Gli studi precedenti

La maggior parte degli studi precedenti ha valutato i sieri di individui vaccinati in momenti immediatamente successivi alla prima o alla seconda dose e disponeva di dati limitati sulla durata di tali risposte. Allo stesso modo, gli studi clinici hanno riportato un'efficacia e un'efficacia alquanto ridotte rispetto alle varianti **B.1.1.7**, **B.1.351** e **B.1.617.2**. Sebbene tali dati forniscano approfondimenti critici sulle prestazioni dei vaccini contro le varianti virali, non hanno affrontato completamente la durata del legame cross-reattivo e degli anticorpi funzionali.

Il team di Amarendra Pegu

Ha analizzato l'impatto delle varianti SARS-CoV-2 sul riconoscimento da parte dei sieri di individui che hanno ricevuto due dosi da **100 mcg del vaccino SARS-CoV-2 mRNA-1273**.

mRNA-1273 codifica per la proteina spike stabilizzata a tutta lunghezza del WA1 ed è stato somministrato come una serie di due dosi a 28 giorni di distanza.

Dopo aver descritto l'attività di legame e neutralizzazione contro il picco WA1 SARS-CoV-2 longitudinalmente *per 7 mesi dalla prima vaccinazione* in volontari dello studio di fase 1 del vaccino mRNA-1273. In questo studio, è stata dimostrata l'utilità dell'utilizzo *di più metodologie* per valutare l'immunità umorale provocata dal vaccino SARS-CoV-2 ai virus varianti nel tempo.

Il campione

Sono stati testati i sieri di un campione casuale di **8 volontari** in ciascuno dei tre gruppi di età: 18-55, 55-70 e 71+ anni, tutti con campioni disponibili da quattro punti temporali: 4 settimane dopo la prima dose e due settimane, 3 mesi e 6 mesi dopo la seconda dose (giorni 29, 43, 119 e 209 dopo la prima dose, rispettivamente).

Test eseguiti

Sono stati utilizzati **tre saggi funzionali e due saggi di legame** per valutare la risposta immunitaria umorale alla proteina spike SARS-CoV-2.

La neutralizzazione di SARS-CoV-2 è stata misurata utilizzando:

1-un test di pseudovirus basato su lentivirus

2-un test di neutralizzazione della riduzione del fuoco del virus vivo (FRNT)

3-un test di competizione ACE2 basato su MSD-ECLIA (Meso Scale Discovery-Electrochemiluminescence immunoassay).

Questo metodo in particolare ha misurato la capacità degli anticorpi provocati dal vaccino mRNA-1273 di competere con l'ACE2 solubile marcato per il legame allo specifico RBD (WA1 o variante) individuato sulla piastra MSD. Il legame dell'anticorpo al picco a lunghezza intera espresso sulla superficie cellulare è stato analizzato mediante citometria a flusso. Il legame alla proteina solubile è stato misurato mediante interferometria nella piattaforma MSD-ECLIA.

Varianti testate

Tutti i campioni sono stati valutati rispetto a WA1 e alle varianti B.1.1.7 e B.1.351 in ciascuno di questi test sierologici ortogonali. Inoltre, tutti i campioni sono stati testati contro WA1 contenente la mutazione D614G in entrambi i saggi di neutralizzazione, oltre al legame nel saggio sulla superficie cellulare.

Ulteriori varianti sono state testate in saggi di legame come segue:

-legame S-2P e RBD, P.1 contro tutti i campioni

-legame del picco alla superficie cellulare, P.1, B.1.429, B.1.526 e B.1.617.2 contro tutti i campioni.

Un sottoinsieme di campioni - **Giorno 43** per acquisire la risposta di picco e **Giorno 209** per esaminare la durabilità è stato valutato mediante neutralizzazione dello pseudovirus contro P.1, B.1.429, B.1.526 e B.1.617.2.

Modelli di attività anticorpale nel tempo.

Coerentemente tra i saggi, è stato osservato un riconoscimento di basso livello di tutte le varianti dopo una singola dose (**giorno 29**)

L'attività contro tutte le varianti ha raggiunto il picco due settimane dopo la seconda dose (**Giorno 43**) con cali moderati nel tempo fino al **Giorno 209**.

In particolare, i valori ottenuti per ciascun saggio su base per campione sono correlati tra loro. Successivamente è stato valutato l'impatto relativo di ciascuna variante, considerando tutti i momenti insieme. Impiegando il test dello pseudovirus, l'attività neutralizzante era più alta contro D614G e più bassa contro B.1.351, con valori per tutte le altre varianti testate che rientravano tra queste due varianti

Simile ai precedenti riscontri presenti in letteratura gli **ID50** di neutralizzazione dello pseudovirus a D614G erano 3 volte superiori a quelli di WA1.

Al contrario, utilizzando il saggio di neutralizzazione della FRNT del virus vivo, i titoli di WA1 erano superiori a quelli di D614G, coerentemente con i precedenti rapporti per quel saggio. Per tutte le altre varianti, l'impatto nei saggi di neutralizzazione del virus vivo e dello pseudovirus è stato concordante: i titoli contro B.1.1.7 erano simili a D614G e inferiori contro B.1.351. La competizione ACE2 era più alta per WA1 RBD, intermedia per B.1.1.7 e più bassa per B.1.351

Anticorpi anti spike

Gli **anticorpi anti-spike** sono stati misurati utilizzando due diverse metodologie.

Nel saggio di legame con la superficie cellulare, gli anticorpi sierici sono stati legati allo spike a tutta lunghezza, incorporato nella membrana sulla superficie delle cellule trasfettate e misurati mediante citometria a flusso

In questo test WA1 e D614G erano quasi indistinguibili, con un legame ridotto di circa 1,5 volte a B.1.1.7, B.1.526, B.1.617.2 e da 2,4 a 3,0 volte legame ridotto a P.1 e B.1.429 e B.1.351.

Il test di legame multiplex MSD-ECLIA per misurare simultaneamente il legame IgG contro la proteina spike solubile stabilizzata S-2P e proteine RBD derivate da WA1 e dalle varianti B.1.1.7, B.1.351 e P.1.

Il test ECLIA ha mostrato un legame leggermente ridotto alle proteine varianti S-2P e RBD con l'ordine di rango dal legame più alto a quello più basso come segue: WA1, B .1.1.7, P.1 e B.1.351.

L'effetto complessivo di ciascuna variante in ciascun saggio è tabulato e mostra la media geometrica dei rapporti tra i valori per WA1 e variante o D614G e variante.

In tutti i test, B.1.351 è stata la variante che ha causato la maggiore riduzione dei titoli rispetto a WA1 o D614G.

Quantificazione dell'ampiezza delle risposte

Per quantificare l'ampiezza delle risposte, è stato calcolato il numero di sieri che mantenevano titoli anticorpali rilevabili in ciascun dosaggio e punto temporale. Gli anticorpi che si legavano a S-2P e RBD delle sequenze WA1, B.1.1.7, B.1.351 e P.1 sono stati rilevati in tutti i soggetti a tutti i tempi. Allo stesso modo, è stato rilevato il legame al picco espresso della superficie cellulare a tutta lunghezza contro WA1, D614G e tutte e sei le varianti in tutti i momenti.

Al contrario, i test funzionali hanno rivelato deficit nel riconoscimento anticorpale delle varianti.

Nel saggio di neutralizzazione dello pseudovirus, coerentemente con un precedente rapporto il 25% dei sieri ha neutralizzato WA1 dopo 1 dose (Giorno 29). L'83% dei sieri del giorno 29 ha

neutralizzato D614G, che è più sensibile di WA1 in questo test come indicato sopra; ma il 33% ha neutralizzato B.1.1.7 e solo l'8% ha potuto neutralizzare B.1.351.

Allo stesso modo, *nel test del virus vivo*, la maggior parte dei sieri del giorno 29 ha neutralizzato WA1, D614G e B.1.1.7 ma solo l'8% ha neutralizzato B.1.351; e la competizione ACE2 di legame con B.1.351 RBD è stata rilevata nel 63% dei sieri.

Mentre una singola dose di vaccino mRNA-1273 fornisce una protezione parziale contro la malattia COVID-19 nell'intervallo precedente alla seconda vaccinazione e dati simili sono stati riportati per il vaccino mRNA BNT162b2 questa osservazione di entità e ampiezza neutralizzanti limitate dopo una dose sottolinea l'importanza del regime completo a due dosi di un vaccino mRNA.

I valori sono la percentuale di sieri (n=24 in ogni timepoint) per i quali sono stati rilevati anticorpi, per ciascuna variante. Per la neutralizzazione di pseudovirus e virus vivi, i campioni sono stati definiti rilevabili a ID50>20; per il blocco ACE2, con una diminuzione di 2 volte del segnale rispetto al controllo senza siero; per il legame S-2P e RBD, AUC>100; per il legame degli spike alla superficie cellulare, MFI>100.

Due settimane dopo la seconda dose

Due settimane dopo la seconda dose (**giorno 43**), tutti i sieri hanno neutralizzato tutti gli pseudovirus. Le risposte sono diminuite nel tempo: tutti i sieri da 6 mesi dopo la seconda dose (giorno 209) hanno neutralizzato D614G e B.1.429 in questo test, ma meno sieri hanno neutralizzato le altre varianti, con l'88%, 96%, 96%, 88%, 85% e 54% dei sieri che neutralizzano WA1, B.1.1.7, B.1.617.2, B.1.526, P.1 e B.1.351 rispettivamente. Allo stesso modo, utilizzando il test del virus vivo, tutti i sieri erano attivi contro WA1, D614G, B.1.1.7 e B.1.351 al giorno 43; e al Giorno 209, tutti i sieri neutralizzati WA1 e D614G, l'88% dei sieri neutralizzati B.1.1.7 e il 58% neutralizzati B.1.351. Inoltre, il test di competizione ACE2 ha mostrato un'attività ridotta contro B.1.351 nei tempi successivi.

Valutazione complessiva

Nel complesso, i test funzionali hanno rivelato *una ridotta frequenza di sieri con attività rilevabile contro B.1.351* e altre varianti dopo una singola dose o 6 mesi dopo la seconda dose. È importante sottolineare che tutti i soggetti avevano un'attività funzionale ampiamente cross-reattiva contro tutte le varianti al culmine della risposta.

Pertanto, è probabile che gli individui che dimostrano una diminuzione delle risposte immunitarie nel tempo abbiano cellule B di memoria in grado di fornire una risposta anamnesticca a tali varianti in caso di esposizione al virus o potenzialmente con una dose aggiuntiva di vaccino.

Per comprendere i contributi delle singole mutazioni alla fuga immunitaria osservati nelle varianti di interesse, abbiamo analizzato i sieri del Giorno 43 contro pseudovirus recanti D614G più N501Y, presenti nelle varianti B.1.1.7, P.1 e B.1.351; Y453F, trovato nelle varianti del gruppo di visoni 5 e N439K, che è resistente ad alcuni anticorpi monoclonali terapeutici. Nessuna di queste mutazioni ha mostrato un impatto significativo sulla neutralizzazione da parte dei sieri del giorno 43. Al contrario, E484K, presente in B.1.351, P.1 e B.1.526, ha avuto un impatto significativo sulla sensibilità di neutralizzazione, con una media geometrica ID50 inferiore di 2,4 volte

Risposte in base all'età

Le risposte immunitarie alla vaccinazione sono spesso più deboli negli anziani.

In precedenza è stato dimostrato che la vaccinazione con mRNA-1273 ha suscitato anticorpi contro SARS-CoV-2 WA1 in soggetti di età compresa tra 56 e 70 e 71 anni e oltre che sono potenti) e durevoli come quelli suscitati negli adulti di età

L'attività anticorpale suscitata dall'mRNA-1273 contro le varianti SARS-CoV-2 è persistita sei mesi dopo la seconda dose, sebbene a livelli ridotti rispetto a WA1 e D614G, con più della metà dei soggetti che hanno mantenuto un'attività neutralizzante contro B.1.351 all'ultimo timepoint testato .

Alti livelli di anticorpi leganti che riconoscono tutte le varianti testate, inclusi B.1.351 e B.1.617.2, sono stati mantenuti in tutti i soggetti durante questo periodo di tempo. I risultati di queste diverse metodologie hanno mostrato anche dinamiche simili oltre 7 mesi dopo la prima vaccinazione.

Gli effetti sulla potenza anticorpale e sull'ampiezza di una terza dose di vaccino mRNA, che codifica per il picco WA1 (mRNA-1273) o il picco B.1.351 (mRNA-1273.351) o la co-somministrazione di entrambi, sono attualmente in fase di studio: Mentre saranno necessari ulteriori studi per affrontare l'impatto di nuove varianti che sicuramente sorgeranno in aree di intensa infezione virale, i nostri dati sono incoraggianti per l'uso di questo vaccino di fronte alla variazione virale.

Quanto manca alla vetta? Tu sali e non pensarci! (Friedrich Nietzsche)

A chi legge:

Il lavoro non è disponibile in rete, ma acquistabile (Science DOI: 10.1126/science.abj4176)

Riporta tutti i dati su riportati in grafici e tabelle con didascalie ricche di informazioni per gli addetti ai lavori

Utile consultare anche:

-Anderson EJ et al.

mRNA-1273 Study Group. Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults.

N Engl J Med. 2020 Dec 17;383(25):2427-2438.

-Widge AT et al.

mRNA-1273 Study Group. Durability of Responses after SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccination.

N Engl J Med. 2021 Jan 7;384(1):80-82.

Puoi rileggere da BAEDEKER

07.01.21: mRNA 12273, Benvenuto !

19.01.21: Illusioni immunitarie

21.01.21 : Avviso ai lettori di Baedeker: sono in arrivo le “varianti”

02.02.21: Opportunità e pericoli dei vaccini ad mRNA

16.02.21: Perché le varianti mi preoccupano

17.02.21: Perché la “variante britannica linea B.1.1.7” genera panico?

18.02.21: Un “dettaglio molecolare” consente di riconoscere le varianti inglesi ed africane

25.02.21: Le sei domande che le varianti ci pongono

23.03.21: Quando non puoi avere quello che ami....

06.04.21: La definizione di un titolo protettivo anticorpale per un vaccino anti Sars-cov2

28.04.21: Gli anticorpi specifici per il dominio di legame del recettore SARS-CoV-2 (RBD) sono cruciali per l'efficacia neutralizzante

29.00.21: Adda passà 'a nuttata : sindrome COVID-19 post-acuta

08.06.21: La variante Delta : much ado about nothing?

01.07.21: La grande fuga: le varianti che eludono le risposte neutralizzanti

02.07.21: La variante preoccupante