

Informe

Caracterización Genómica del Virus Respiratorio Sincitial (VRS) en España. Temporada 2023-2024

Laboratorio de Referencia e Investigación de Virus Respiratorios, Laboratorios colaboradores y RELECOV, Unidad de Genómica ISCIII, Unidad de Bioinformática ISCIII y miembros de la red RELECOV

Instituto de Salud Carlos III



Parcialmente financiado con fondos Europeos del Programa EU4Health
Número de proyecto 101113109 — RELECOV 2.0

Autorías

Laboratorio de Referencia e Investigación de Virus Respiratorios

María Iglesias-Caballero*	Noelia Reyes
Vicente Mas	Vanessa Montero
Albert Campoy	Mar Molinero
Sara Camarero Serrano	Jose Antonio Infantes
Silvia Moreno	Sonia Vázquez
Olga Cano	Francisco Pozo
Mónica Vazquez	Inmaculada Casas *

Laboratorios colaboradores y RELECOV

Autores con contribución intelectual directa y activa en la elaboración del informe:

Cristina Calvo	Ana Navascués
María Luz García	Ana Lameiras
Nuria Iglesias Nuñez	Jordi Reina
Jose Antonio Lepe	Santiago Melón
María Lara	Laura Moreno Parrado

Autores con contribución de soporte con secuencias depositadas en GISAID:

Andrés Antón	Matilde Trigo
María Piñana	Laura Sante
Cristina Andrés	Germán Bou
Sonia Pérez Castro	Julia Alcoba
Carlos Daviña	Carlos Flores
Xosé Costa	Carmen González
María Luisa Pérez del Molino	Cristina Gaona
Ana Fernández González	Fernando Lázaro
Pablo Camacho	Elie Dahdou

Unidad de Genómica ISCIII

M ^a Luisa Navarro	Pilar Jiménez
Joanna Luczkowiak	Ángel Zaballos

Unidad de Bioinformática ISCIII

Sarai Varona	Palo Mata
Sara Monzón	Emilia Arjona
Juan Ledesma	Isabel Cuesta
Víctor López	

* Autoras responsables del informe y contacto:

M. Iglesias (miglesias@isciii.es) / I. Casas (icasas@isciii.es)

Índice

INTRODUCCIÓN	4
METODOLOGÍA.....	5
RESULTADOS.....	6
CONCLUSIONES	16
BIBLIOGRAFÍA	17
ANEXO	19

INTRODUCCIÓN

El virus respiratorio sincitial (VRS) es la principal causa de infección en el tracto respiratorio inferior en la población pediátrica menor de un año y en la población adulta mayor de 65 años (1). Dada la repercusión de este virus en la población, organismos internacionales de salud pública, como el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2,3), recomiendan su inclusión en los sistemas de vigilancia desarrollados para el control de la infección respiratoria viral. Siguiendo las recomendaciones de ambos organismos, en España se inició la implementación del Sistema de Vigilancia de Infección Respiratoria Aguda (SiVIRA) en la temporada 2020-2021, tanto en el ámbito de la atención primaria como la hospitalaria para la vigilancia de infección respiratoria aguda leve (IRAs), y grave (IRAG) respectivamente (4). El objetivo de este sistema de vigilancia de infección respiratoria integral es doble. Por una parte, pretende monitorizar la evolución de las IRAs e IRAG (componente sindrómico), y por otra pretende vigilar específicamente la circulación de gripe, de COVID-19 y de las infecciones por VRS mediante la selección sistemática de una muestra de pacientes para el diagnóstico microbiológico de los tres virus (componente sistemático). Por otro lado, la OMS insta a estandarizar la nomenclatura y clasificación del VRS con el fin de integrar información virológica y epidemiológica útil en los sistemas de vigilancia (5).

En España, la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud aprobó el uso de Nirsevimab para la temporada 2023-2024 en la población infantil con alto riesgo de enfermedad grave por VRS, así como en los menores de 6 meses, es decir, aquellos nacidos entre el 1 de abril de 2023 y el 31 de marzo de 2024 (6). La implementación de medidas de prevención frente al VRS, como son los anticuerpos monoclonales de vida media y las vacunas aprobadas, o en vías de ser aprobadas, por la Agencia Europea del Medicamento (7), conlleva la necesidad de implementar métodos de vigilancia virológica robustos, entre ellos la secuenciación del genoma del virus, que permiten la monitorización de la evolución de los VRS tras las medidas de control.

El VRS es un virus envuelto perteneciente al género *Orthopneumovirus* dentro de la familia *Pneumoviridae*. Su genoma está compuesto por una hebra de ARN no segmentada, de polaridad negativa, con un tamaño aproximado de 15 kb, que codifica para 11 proteínas. De particular relevancia para la vigilancia son las dos principales glicoproteínas de superficie, G y F, necesarias para la clasificación taxonómica. La proteína F es la diana de los anticuerpos monoclonales y de las vacunas desarrolladas hasta el momento (8) siendo su caracterización virológica imprescindible en el escenario actual. En concreto, la caracterización genómica del sitio antigénico Ø, sitio de unión del anticuerpo monoclonal Nirsevimab, es imprescindible para la vigilancia genómica del virus y se ha realizado a lo largo de toda la temporada 2023-2024.

El 17 de febrero de 2021, la Comisión Europea lanzó una de las acciones clave para la preparación y respuesta ante amenazas y emergencias transfronterizas graves, de origen natural o deliberado, creando un programa de preparación frente a la circulación de variantes del SARS-CoV-2 (9). En colaboración con el ECDC, la Comisión Europea estableció el Programa HERA-Incubator para apoyar las infraestructuras nacionales de detección viral y secuenciación en los estados miembros. En España, mediante el proyecto

Grant/2021/PHF/23776, se creó la Red Nacional de Laboratorios Españoles de Secuenciación Genómica de SARS-CoV-2 (RELECOV) (10). En 2023, a través del programa EU4Health (EU4H), esta actividad se está consolidando mediante el marco del proyecto 101113109-RELECOV 2.0, que amplía la secuenciación genómica integrándola a la vigilancia virológica de infecciones respiratorias asociadas a SARS-CoV-2, gripe y VRS.

La disponibilidad de la plataforma RELECOV ha permitido desarrollar metodologías propias de secuenciación (11–14) que han facilitado a un grupo de los laboratorios RELECOV la obtención de genomas de VRS, proporcionando información sobre las características de los virus circulantes, su evolución y el potencial impacto del anticuerpo monoclonal Nirsevimab.

Este informe recopila toda la información generada durante la temporada 2023-2024, presentando los resultados de la secuenciación del VRS en España, y destacando las características virológicas más relevantes que se han detectado.

METODOLOGÍA

Secuencias españolas

Se emplearon 1.284 secuencias de genoma completo españolas, publicadas entre las semanas epidemiológicas 40 de 2023 y 39 de 2024. De estas secuencias, 1.134 fueron descargadas desde la base internacional de secuencias genómicas GISAID (15), y 150 fueron obtenidas en el Laboratorio de Referencia e Investigación de Virus Respiratorios y Gripe del Centro Nacional de Microbiología (CNM). En el CNM no todas las secuencias publicadas fueron obtenidas en el marco de la red RELECOV.

El total de las secuencias provenían de 13 comunidades autónomas (Figura 1).

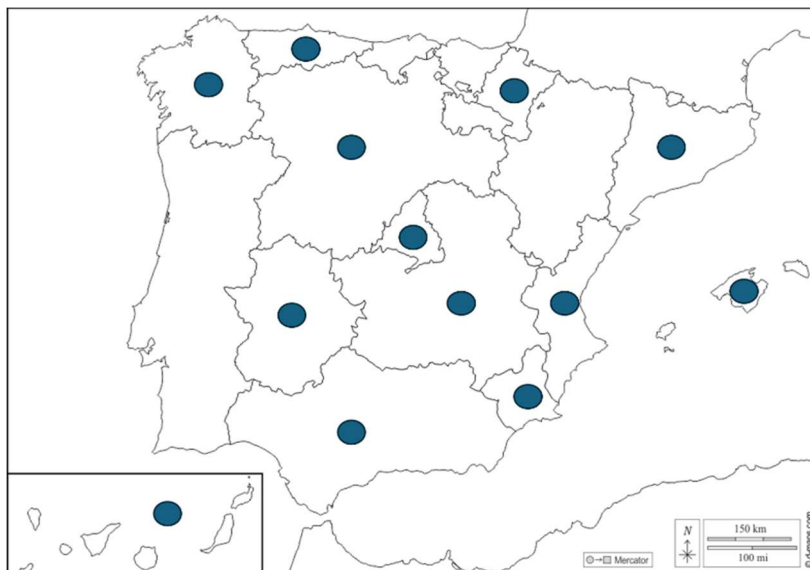


Figura 1: Comunidades autónomas que durante esta temporada han publicado secuencias completas de RSV en la base de datos GISAID.

Secuenciación en el CNM

Las secuencias obtenidas en el CNM fueron generadas utilizando el método publicado en la revista *Eurosurveillance* (11), actualizado y disponible en la plataforma protocols.io (dx.doi.org/10.17504/protocols.io.kqdg3xbzqg25/v4).

El pipeline utilizado para la generación de secuencias consenso fue nf-core/viralrecon v2.6.0 (16). En la aproximación de mapeo, todas las lecturas recortadas y filtradas por calidad, fueron alineadas frente a las referencias EPI_ISL_412866 para VRS A y EPI_ISL_1653999 para VRS B usando bowtie2 v2.4.4 (17). Se realizó la llamada a variantes empleando iVar variants v1.4 (18), quedándonos solo con aquellas variantes con una frecuencia alélica mínima del 75% y con una profundidad mínima de 10X. Estas variantes se emplearon en el software BCFtools v1.16 (19) para obtener el genoma consenso viral y se enmascararon las regiones genómicas con una profundidad de cobertura inferior a 10X con BEDtools v2.30.0 (18). La asignación de clados se realizó utilizando Nextclade v.3.9.0 (20).

Alineamientos y árboles filogenéticos

Todas las secuencias completas utilizadas se seleccionaron en base a un criterio de calidad definido por presentar una cobertura mínima del 80% y con los antígenos de superficie completos (proteínas G y F).

En el caso del análisis filogenético de las secuencias nacionales se emplearon 554 secuencias de VRS subgrupo A y 610 secuencias de VRS subgrupo B. En ambos casos usando como referencias las secuencias de Orthopneumovirus subgrupo A (código de GenBank NC_038235) y subgrupo B (NC_001781).

Para realizar un análisis global, se obtuvieron 1.850 secuencias para el VRS A y 2.020 para el VRS B, procedentes de 25 países diferentes y disponibles en la base de datos GISAID.

Para cada uno de los subgrupos de VRS, los alineamientos múltiples de secuencias se realizaron con MAFFT. Los árboles filogenéticos se generaron utilizando el software FastTreeMP (29), con un modelo GTR y un análisis de bootstrap con 1.000 réplicas. Las filogenias se enraizaron con la secuencia de referencia.

RESULTADOS

Análisis global de las secuencias españolas publicadas en GISAID

España ha sido pionera a nivel mundial durante la temporada 2023-2024, no solo por el desarrollo de una estrategia de prevención del VRS mediante el uso profiláctico del anticuerpo monoclonal Nirsevimab, sino también por su contribución técnica en el desarrollo de diversos enfoques para la secuenciación completa del virus. Este logro se refleja en el número de secuencias completas de estos virus disponibles en GISAID.

Durante la temporada 2023-2024 y a nivel mundial, se han publicado 4.517 secuencias completas de VRS, de las cuales 1.284 correspondían a España, representando el 20% de las secuencias disponibles en la base de datos GISAID (Figura 2a), lo que evidencia la

sólida capacidad de secuenciación genómica de virus respiratorios y en concreto de VRS en nuestro país.

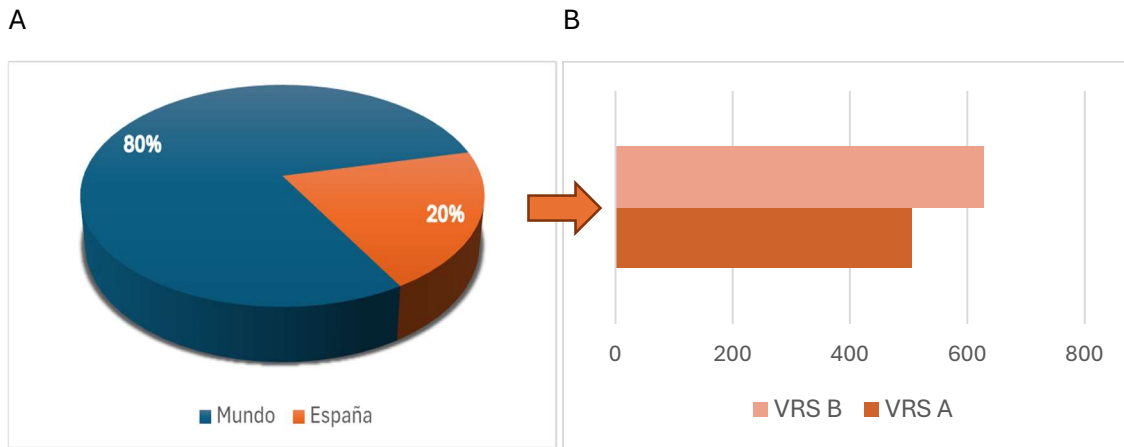


Figura 2: a) Porcentaje de secuencias completas españolas disponibles en GISAID con respecto al resto del mundo. b) Comparativa del número de secuencias completas de VRS A y B españolas disponibles en GISAID.

El porcentaje de secuencias depositadas de cada subtipo de VRS en GISAID a nivel nacional indica que el 45% correspondía al subtipo VRS A y el 55% a VRS B (Figura 2b). Aunque estos datos son similares a los obtenidos a través de la vigilancia centinela de la temporada 2023-2024, pueden presentar sesgos importantes que se hacen evidentes tras un análisis más detallado. Por ejemplo, algunos remitentes que depositan un número considerable de secuencias muestran desequilibrios notables entre los subgrupos publicados. Dado que carecemos de datos específicos de vigilancia centinela en algunas Comunidades Autónomas, la proporción de secuencias depositadas en GISAID no tiene necesariamente que reflejar con precisión la distribución de subgrupos de los virus circulantes. Podrían detectarse diferencias debidas a múltiples causas como son posibles problemas técnicos en la secuenciación de un determinado subtipo, por razones de investigación un enfoque mayor de un subtipo particular, o que no se hayan depositado secuencias por otros motivos particulares de los laboratorios. Estas razones, y otras, pueden generar sesgos en el análisis y en su interpretación cuando se utilizan los datos genómicos disponibles, por lo que se recomienda un uso cauteloso de los resultados obtenidos exclusivamente de la vigilancia genómica al utilizar datos procedentes de secuencias depositadas en la base de datos GISAID, recomendación que se aplica también en este informe.

Al analizar las secuencias de los diferentes subgrupos, se observan diferencias en el número de clados que se definen a lo largo de la temporada. En VRS A se ha detectado la circulación de 11 clados diferentes: A.D.1, A.D.1.4, A.D.1.5, A.D.1.7, A.D.1.8, A.D.3, A.D.3.1, A.D.4, A.D.5.1, A.D.5.2 y A.D.5.3 (Figura 3). En el caso de VRS B, se han definido dos clados principales durante esta temporada: B.D.4.1.1 y B.D.E.1 (Figura 5).

Para VRS A, los clados mayoritarios fueron A.D.1.5 (30%), A.D.3 (21%) y A.D.1 (15%), los cuales representan más de la mitad de las secuencias (Figura 3). En cuanto a la representación temporal de estos clados (Figura 4), se observa una mayor variabilidad hacia el final de 2023, con varios clados cocirculando. Algunos de ellos, como A.D.5.3, A.D.4 y A.D.1.4, dejaron de estar presentes al inicio de 2024, mientras que otros, como

A.D.5.2 y A.D.1.8, comenzaron a detectarse a comienzos del año. Los tres clados mayoritarios estuvieron representados a lo largo de toda la temporada, destacándose el aumento de A.D.1 y A.D.3 hacia el final.

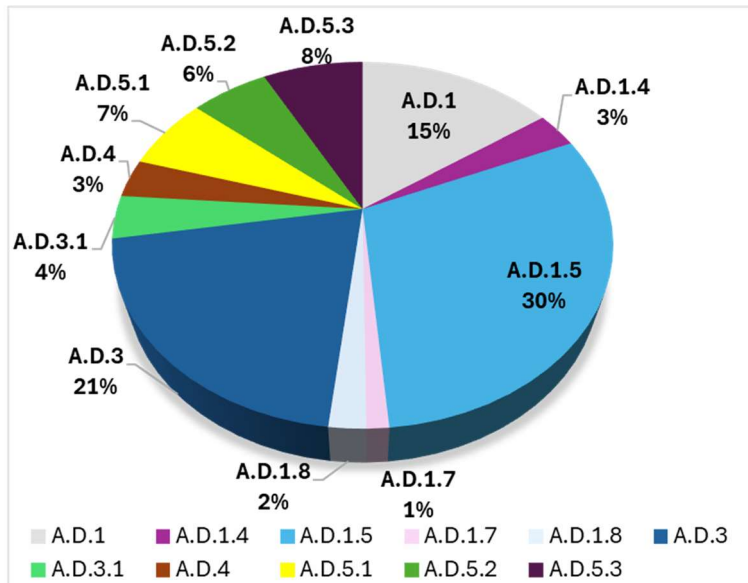


Figura 3: Porcentaje de los diferentes clados descritos para VRS A en las secuencias publicadas de la temporada 2023-2024.

Después de la semana 18 es habitual el fin de la temporada de circulación de VRS por lo que la disponibilidad de secuencias de VRS A fue escasa, observándose algunos virus A.D.1 entre las semanas epidemiológicas 22 y 26, y A.D.5.2 entre las semanas 29 y 31.

% frecuencia clados

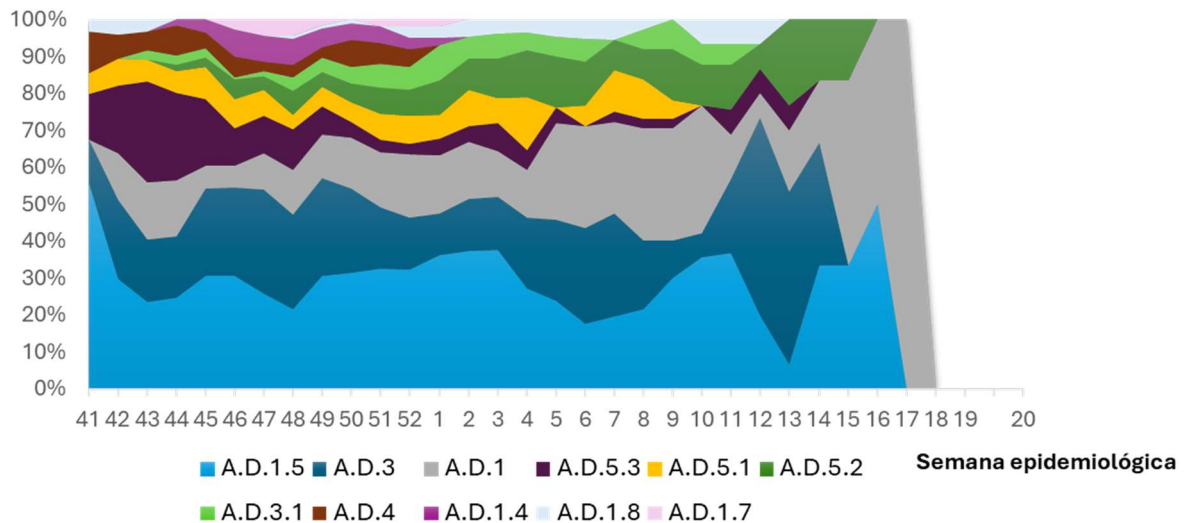


Figura 4: Evolución temporal de los clados de VRS A obtenidos en las secuencias españolas disponibles en GISAID en las semanas epidemiológicas de la temporada 2023-2024.

En cuanto a VRS B, el clado predominante en las secuencias de GISAID ha sido B.D.E.1, representando el 88% del total (Figura 5). En términos de representación temporal (Figura 6), se observa que el clado B.D.4.1.1, precursor de B.D.E.1, comenzó a incrementarse a principios de 2024. La representación temporal de este subtipo disminuye a partir de la semana epidemiológica 22, con algunas secuencias puntuales en semanas posteriores.

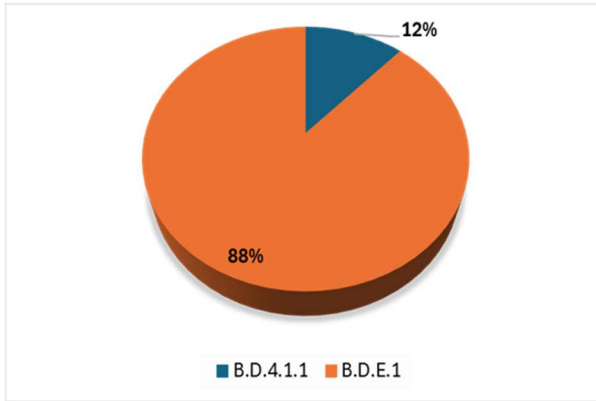


Figura 5: Porcentaje de los diferentes clados descritos para VRS B en las secuencias publicadas de la temporada 2023-2024.

% frecuencia clados

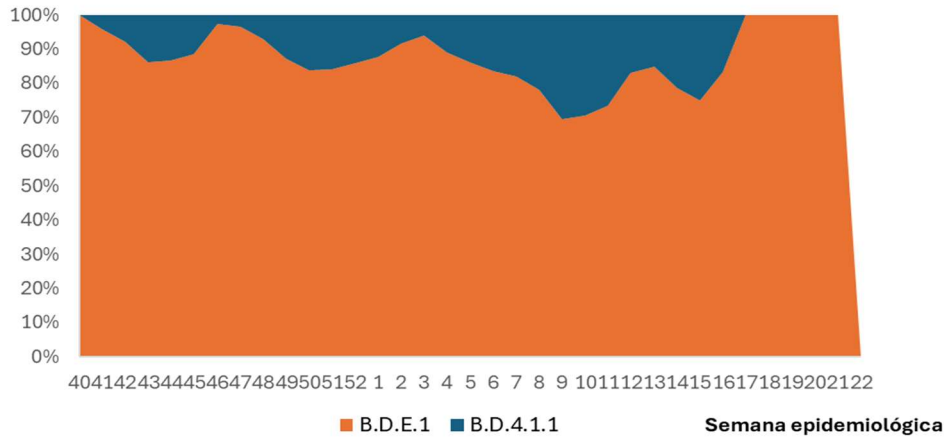


Figura 6: Evolución temporal de los clados de VRS B obtenidos en las secuencias españolas disponibles en GISAID en las semanas epidemiológicas de la temporada 2023-2024.

En términos de representación geográfica (Figura 7), la mayoría de los clados de VRS A y B estuvieron presentes en todos los territorios que realizan secuenciación, con la excepción de A.D.1.7 y A.D.4, que tuvieron una representación más limitada tanto temporalmente como geográficamente.

Clado	AN	AS	CM	CL	CT	EX	MC	MD	GA	IB	IC	NA	VC
A.D.1													
A.D.1.4													
A.D.1.5													
A.D.1.7													
A.D.1.8													
A.D.3													
A.D.3.1													
A.D.4													
A.D.5.1													
A.D.5.2													
A.D.5.3													
B.D.4.1.1													
B.D.E.1													

Figura 7: Comunidades Autónomas que han publicado secuencias de los clados descritos en los subgrupos A y B de VRS. AN: Andalucía; AS: Asturias; CM: Castilla la Mancha; CL: Castilla y León; CT: Cataluña; EX: Extremadura; MC: Región de Murcia; MD: Comunidad de Madrid; GA: Galicia; IB: Islas Baleares; IC: Islas Canarias; NA: Navarra y VC: Comunidad Valenciana.

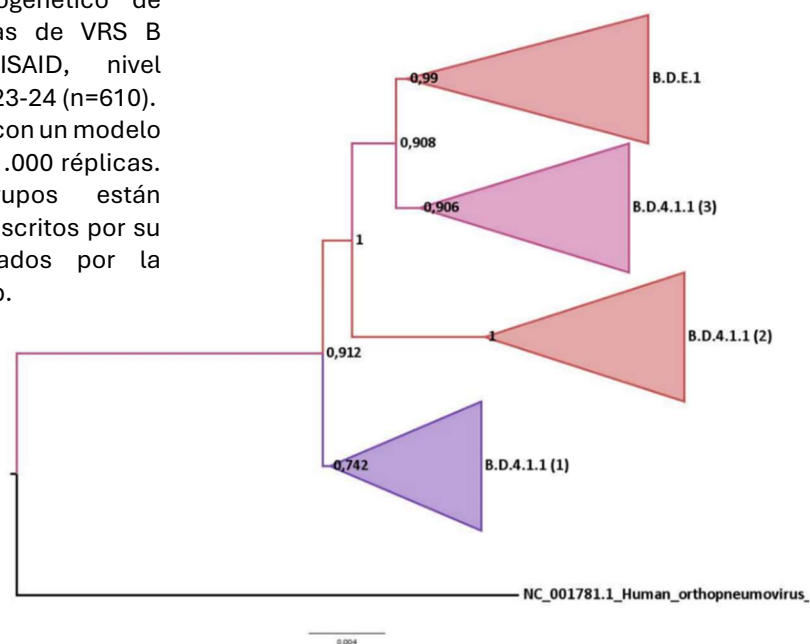
En el caso del VRS B, identificamos dos situaciones destacables que no se aprecian con la simple definición de clado (Figura 9). Durante esta temporada en España, se publicaron secuencias del clado B.D.4.1.1, que se organizan en tres grupos diferentes. Para discernir las diferencias entre estos grupos, realizamos un mapa colorimétrico que representa los cambios genéticos en los dos principales antígenos, G y F, comparados con las secuencias de referencia (Figura 10).

El grupo B.D.4.1.1 (1) (Figura 9) contiene las mutaciones definitorias del clado y actúa como parental tanto de los otros grupos de B.D.4.1.1 como del clado mayoritario B.D.E.1. El grupo B.D.4.1.1 (2) (Figura 9) presenta varias mutaciones propias en las proteínas G y F (Figura 10), como R8H, R98M, V99A en G, además de incorporar un codón stop tres aminoácidos antes que el grupo B.D.4.1.1 (1). Este patrón se mantiene en el grupo B.D.4.1.1 (3) y en el clado B.D.E.1. En la proteína F, las mutaciones distintivas son K65Q, localizada en el sitio antigénico Ø, y T529V. Estas mutaciones también están restringidas a un área geográfica concreta y a fechas similares, lo que sugiere un brote localizado.

El grupo B.D.4.1.1 (3) (Figura 9) presenta cambios específicos en la proteína G (Figura 10), como R98K, P150S y T245I, compartiendo algunos de ellos con el clado B.D.E.1 (R32K, S100G, P216S, T233L). Este grupo destaca por la incorporación de cambios en la proteína F que también están presentes en el clado B.D.E.1. Estos cambios, que comenzaron a detectarse globalmente en B.D.4.1.1 en 2023, ya estaban presentes en el clado B.D.E.1 en temporadas anteriores.

Los cambios relevantes en la proteína F incluyen S190N, Q209R, S211N y S389P, estando los cambios Q209R y S211N situados en el sitio antigénico Ø de la proteína.

Figura 9: Árbol filogenético de secuencias completas de VRS B disponibles en GISAID, nivel nacional, temporada 23-24 (n=610). La filogenia se realizó con un modelo GTR y bootstrap con 1.000 réplicas. Los diferentes grupos están colapsados siendo descritos por su anotación y coloreados por la robustez del bootstrap.



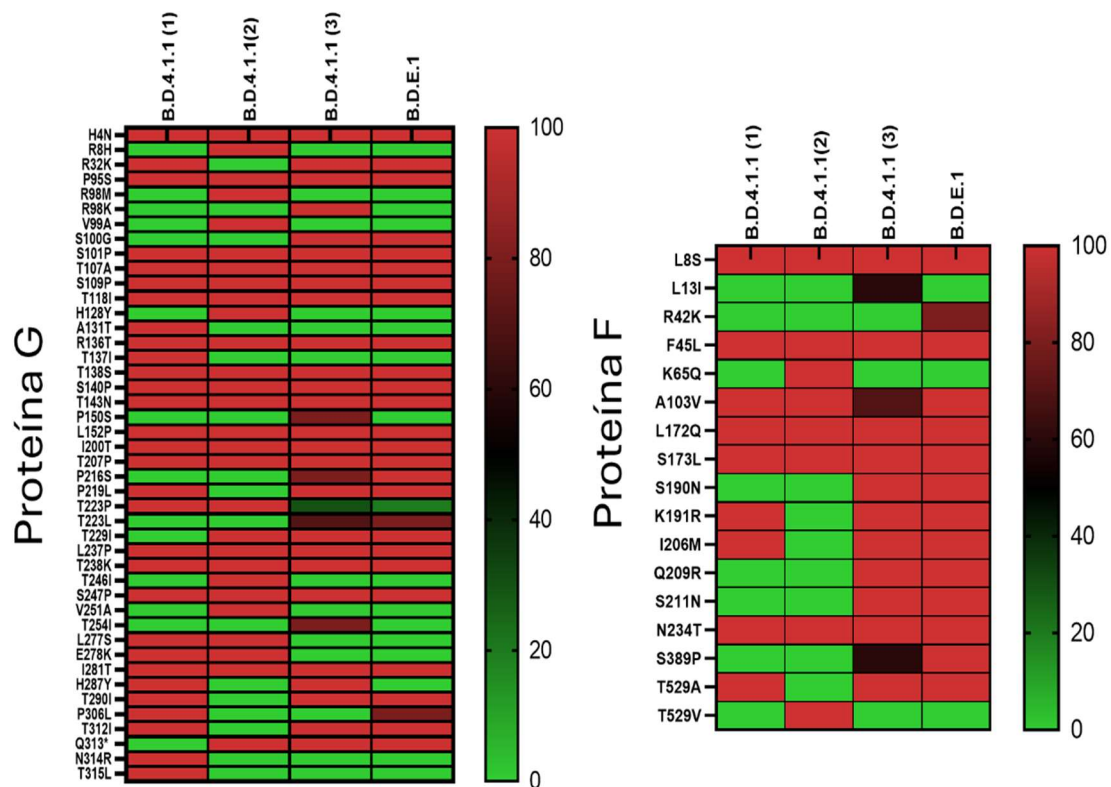


Figura 10: Mutaciones detectadas en las proteínas G y F de los clados B.D.4.1.1 y B.D.E.1 distribuidas según su porcentaje de detección

Análisis de la proteína F en las secuencias de la temporada 2023-2024

Análisis genómico de la proteína F

Dado que la proteína F es la principal diana del anticuerpo monoclonal Nirsevimab, se ha realizado un análisis detallado de las mutaciones, centrado especialmente en su sitio Ø que es el ápice o extremo de la molécula más distal a la membrana viral, que constituye la diana principal de los anticuerpos neutralizantes frente al virus. Al comparar las secuencias con las referencias empleadas previamente descritas, se observa un fenómeno común en ambos subgrupos: un alto número de mutaciones únicas o presentes en muy baja proporción y descritas principalmente por el mismo remitente.

En VRS A, se detectaron 90 mutaciones en total, de las cuales 51 tienen una frecuencia inferior al 0,5%. En VRS B, se encontraron 70 mutaciones, de las cuales 50 tienen una frecuencia menor al 0,5%. El hecho de que más de la mitad de las mutaciones en ambos subgrupos sean minoritarias subraya la importancia de verificar cuidadosamente los resultados de los diferentes métodos de secuenciación, especialmente en regiones tan relevantes como la diana del anticuerpo monoclonal.

Centrando el análisis en VRS A, observamos 39 mutaciones con una frecuencia superior al 0,5% (Figura 11). Durante la temporada 2023-2024, solo se describieron dos mutaciones en el sitio Ø de la proteína F: N63S (3% de frecuencia) y K65R (3,6% de frecuencia). Todas

las mutaciones con frecuencias elevadas ya se habían descrito en linajes parentales de temporadas anteriores.

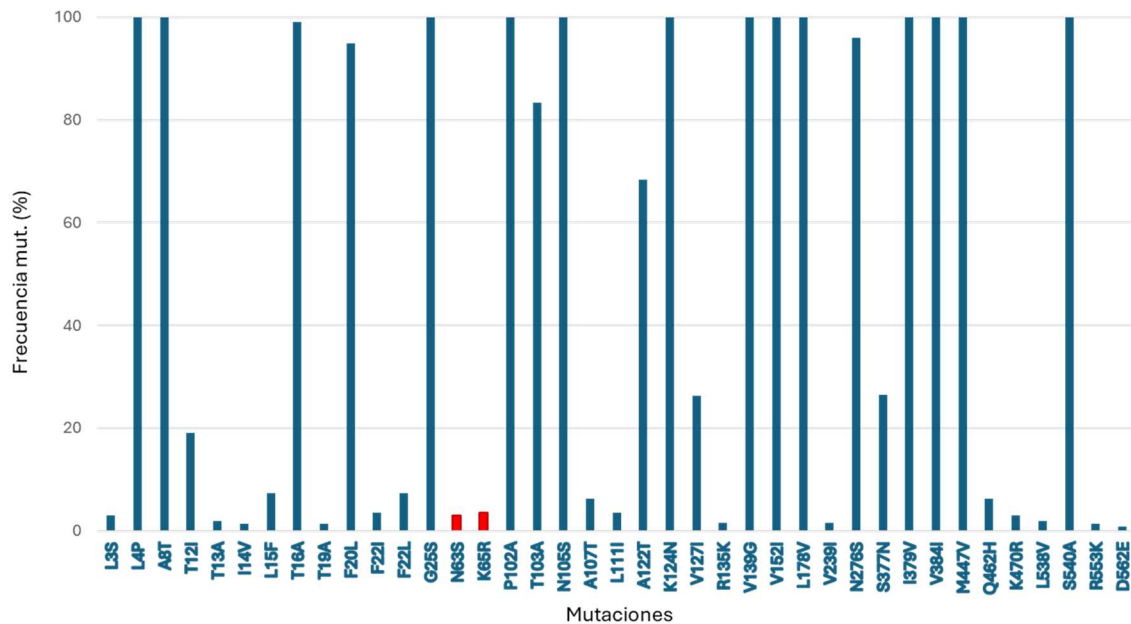


Figura 11: Frecuencia de aparición de mutaciones en proteína F de VRS A. Sólo se han representado aquella con una proporción superior al 0,5%. Las situadas en el sitio Ø de la proteína F están destacadas con la barra en rojo.

En VRS B, se identificaron 20 mutaciones con una frecuencia mayor del 0,5% (Figura 12). Una diferencia notable fue la presencia de tres mutaciones en casi el 100% de las secuencias en el sitio Ø de la proteína F: I206M, Q209R y S211N.

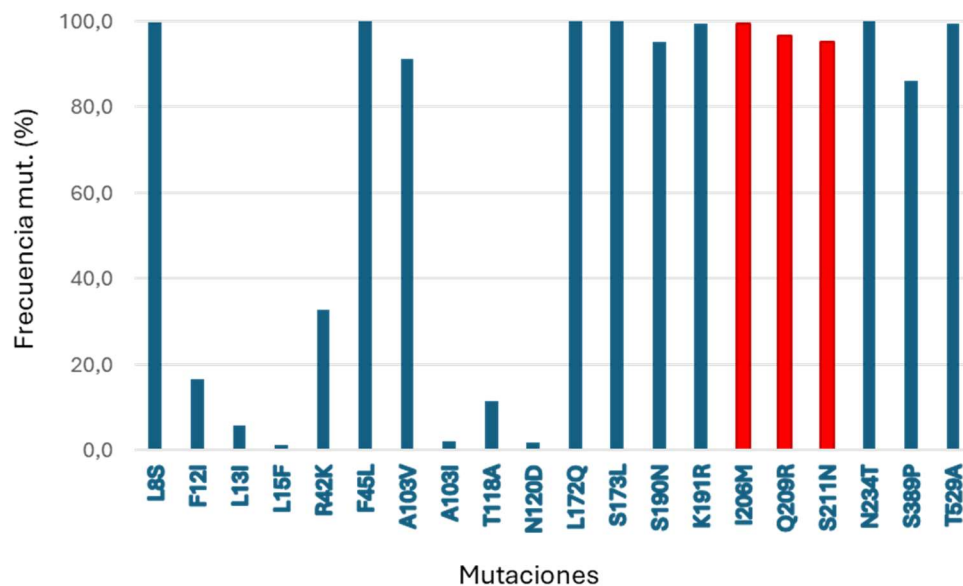


Figura 12: Frecuencia de aparición de mutaciones en proteína F de VRS B. Sólo se han representado aquella con una proporción superior al 0,5%. Las situadas en el sitio Ø de la proteína F están destacadas con la barra en rojo.

La mutación I206M, como se muestra en la Figura 8, está presente en el linaje parental B.D.4.1.1 (grupo 1) y también en los grupos 3 de B.D.4.1.1 y B.D.E.1. Estudios previos han relacionado esta mutación, junto con la Q209R, con una mayor sensibilidad a Nirsevimab (22). Aunque la mutación S211N está en el sitio Ø, no se ha demostrado que reduzca la efectividad del anticuerpo (22). Lo destacable de esta mutación es su reincorporación al clado parental junto con S190N y S389P y el destacable aumento de su presencia a nivel global (Figura 13).



Figura 13: Aumento de la frecuencia de la combinación de los cambios S190N, S211N y S389P en VRS B a nivel global obtenidos de GISAID (EpiRSV/Emerging variants).

Análisis funcional de la proteína F

Para investigar las implicaciones antigénicas de los clados circulantes en VRS B, se ha iniciado un estudio sobre la susceptibilidad de los virus a la neutralización utilizando una colección de anticuerpos disponible en el laboratorio de Referencia e Investigación de Virus Respiratorios del ISCIII. Esta colección incluye anticuerpos dirigidos contra el sitio Ø, como el Nirsevimab, D25, AM22 y 7FP, así como anticuerpos dirigidos a otros sitios antigénicos relevantes para la neutralización, como el 101F y Clesrovimab (sitio IV), el Motavizumab y Palivizumab (sitio II), el ADI14442 y ADI15569 (sitio V), y el MPE8, ADI15614 y AM14 (sitio III)

Hasta la fecha en la que se elabora este informe, los resultados obtenidos tras ensayos de microneutralización en células HEp-2, principalmente con el clado B.D.4.1.1 (grupo 3), no han mostrado un impacto antigénico significativo. Cabe resaltar que frente a este clado y en consonancia con estudios previos (23) se ha observado una mayor susceptibilidad a la neutralización por el Nirsevimab en comparación con las cepas de referencia disponibles en el laboratorio.

Además, de forma complementaria a los ensayos de neutralización, se han realizado estudios de unión de los anticuerpos mencionados frente a ectodominios de la proteína F derivados de los virus de diferentes clados.

En la Figura 14 se muestra el sensograma obtenido mediante resonancia de plasmones de superficie (SPR), al evaluar la interacción entre la proteína F del clado B.D.E.1 y el fragmento de unión al antígeno (Fab) del Nirsevimab. El análisis cinético refleja una constante de disociación (KD) en el rango de nanomolar, similar a lo reportado en estudios previos con cepas de referencia de VRS B y anticuerpos frente al sitio Ø con alta capacidad neutralizante (22), lo que indica un impacto antigénico limitado también para este clado con respecto al Nirsevimab.

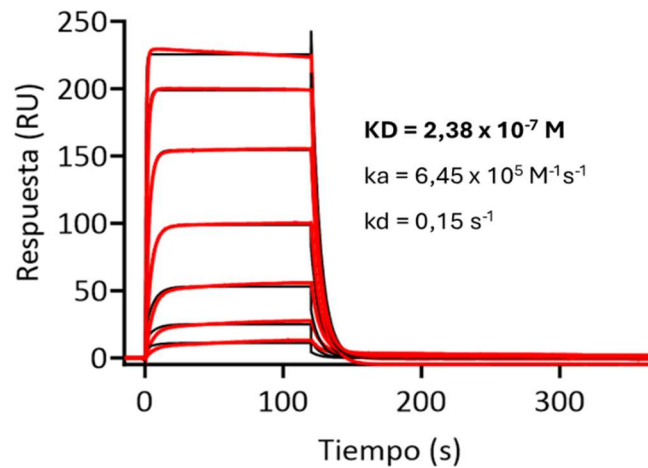


Figura 14: Grado de unión entre la proteína F del clado B.D.E.1 y el Fab del Nirsevimab evaluada mediante SPR

CONCLUSIONES

1. **Contribución destacada de España en la secuenciación de VRS.**

Durante la temporada 2023-2024, España ha demostrado una capacidad notable en la secuenciación del virus respiratorio sincitial (VRS), aportando el 20% de las secuencias globales disponibles en la base de datos GISAID. Este logro subraya el liderazgo del país en la implementación de nuevas estrategias tanto de prevención como de secuenciación viral.

2. **Distribución y diversidad de clados.**

En VRS A, se han identificado hasta 11 clados diferentes, presentando cocirculación a lo largo de la temporada entre ellos y con el subtipo B. En el caso de VRS B, el clado B.D.E.1 ha sido predominante, representando el 88% de las secuencias. Siendo destacable la aparición del clado parental B.D.4.1.1 con nuevas mutaciones coincidentes con las de B.D.E.1.

3. **Consideraciones sobre la precisión de los datos de GISAID.**

Se detectaron sesgos en la proporción de secuencias publicadas entre los subgrupos de VRS, lo que sugiere que las secuencias disponibles no reflejan la circulación real del virus en algunas comunidades autónomas. Esto destaca la importancia de utilizar estos datos con cautela a la hora de realizar conclusiones en cuanto a la circulación viral y complementar la vigilancia genómica con otras fuentes.

4. **Mutaciones relevantes en la proteína F.**

Se ha detectado un número significativo de mutaciones en la proteína F, diana del anticuerpo monoclonal Nirsevimab, tanto en VRS A como en VRS B. Aunque algunas mutaciones en VRS B (como I206M y Q209R) se han relacionado con mayor sensibilidad al tratamiento, otras mutaciones, especialmente en la región antigénica, no parecen reducir su efectividad, lo cual es un hallazgo relevante en esta primera temporada de aplicación del anticuerpo monoclonal.

5. **Importancia de la vigilancia continua y el análisis de la proteína F**

El análisis de la proteína F es crucial, especialmente ante el creciente número de mutaciones en los clados circulantes de VRS B. Es esencial mantener una secuenciación de alta calidad para detectar rápidamente nuevos cambios genómicos que puedan afectar la efectividad de los tratamientos, y correlacionarlos con sus posibles implicaciones antigénicas.

En resumen, los datos obtenidos durante esta temporada subrayan la necesidad de mantener una vigilancia genómica de VRS robusta, con especial atención en la evolución de los diferentes clados detectados y en las mutaciones concretas de la proteína F.

BIBLIOGRAFÍA

1. Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Walsh EE. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis.* 2003 Mar 1;187(5):785–90.
2. Operational considerations for respiratory virus surveillance in Europe [Internet]. 2022 [cited 2024 Sep 19]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/operational-considerations-respiratory-virus-surveillance-europe>
3. Maintaining surveillance of influenza and monitoring SARS-CoV-2 – adapting Global Influenza surveillance and Response System (GISRS) and sentinel systems during the COVID-19 pandemic [Internet]. [cited 2024 Sep 19]. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/maintaining-surveillance-of-influenza-and-monitoring-sars-cov-2-adapting-global-influenza-surveillance-and-response-system-\(gisrs\)-and-sentinel-systems-during-the-covid-19-pandemic](https://www.who.int/publications/i/item/maintaining-surveillance-of-influenza-and-monitoring-sars-cov-2-adapting-global-influenza-surveillance-and-response-system-(gisrs)-and-sentinel-systems-during-the-covid-19-pandemic)
4. Vigilancia centinela de Infección Respiratoria Aguda en Atención Primaria (IRAs) y en Hospitales (IRAG) Gripe, COVID-19 y VRS, temporada 2022-2023. España. Instituto de Salud Carlos III; 2023.
5. Williams T, Shang M, Motta F, Zambon M, Campbell H, Nair H, et al. Progress and future directions of WHO respiratory syncytial virus surveillance – Report from the WHO meeting in November 2022. *Wkly Epidemiol Rec Relevé Épidémiologique Hebd.* 98(15):159–66.
6. Comisión de Salud Pública del Consejo, Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Grupo de Trabajo utilización de nirsevimab frente a infección por virus respiratorio sincitial de la Ponencia de Programa y Registro de Vacunaciones. Ministerio de Sanidad; 2023.
7. Actualización de recomendaciones de utilización de nirsevimab para la temporada 2024-2025 en España [Internet]. 2024 Sep. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/comoTrabajamos/docs/NirsevimabActualizacion.pdf>
8. Schobel SA, Stucker KM, Moore ML, Anderson LJ, Larkin EK, Shankar J, et al. Respiratory Syncytial Virus whole-genome sequencing identifies convergent evolution of sequence duplication in the C-terminus of the G gene. *Sci Rep.* 2016 May 23;6:26311.
9. Commission to the European Parliament, the European Council and the Council. HERA Incubator: Anticipating together the threat of COVID-19 variants. 2021 Feb.
10. Vázquez-Morón S, Iglesias-Caballero M, Lepe JA, Garcia F, Melón S, Marimon JM, et al. Enhancing SARS-CoV-2 Surveillance through Regular Genomic Sequencing in Spain: The RELECOV Network. *Int J Mol Sci.* 2023 May 10;24(10):8573.
11. Iglesias-Caballero M, Camarero-Serrano S, Varona S, Mas V, Calvo C, García ML, et al. Genomic characterisation of respiratory syncytial virus: a novel system for whole

- genome sequencing and full-length G and F gene sequences. *Eurosurveillance*. 2023 Dec 7;28(49):2300637.
12. ITER. RSV repository of the Reference Laboratory for Epidemiological Surveillance of Pathogens in the Canary Islands. 2024.
 13. Piñana M, González-Sánchez A, Andrés C, Vila J, Creus-Costa A, Prats-Méndez I, et al. Genomic evolution of human respiratory syncytial virus during a decade (2013–2023): bridging the path to monoclonal antibody surveillance. *J Infect*. 2024 May 1;88(5):106153.
 14. Davina-Nunez C, Perez-Castro S, Cabrera-Alvargonzalez JJ, Montano-Barrientos J, Godoy-Diz M, Regueiro B. The Modification of the Illumina® CovidSeq™ Workflow for RSV Genomic Surveillance: The Genetic Variability of RSV during the 2022–2023 Season in Northwest Spain. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan;24(22):16055.
 15. Shu Y, McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data – from vision to reality. *Eurosurveillance*. 2017 Mar 30;22(13):30494.
 16. nf-core/viralrecon: nf-core/viralrecon v2.6.0 - Rhodium Raccoon. [cited 2023 Oct 16]; Available from: <https://zenodo.org/records/7764938>
 17. Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods*. 2012 Mar 4;9(4):357–9.
 18. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, Matteson NL, De Jesus JG, Main BJ, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol* [Internet]. 2019 Jan 8 [cited 2020 Oct 16];20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6325816/>
 19. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, Marshall J, Ohan V, Pollard MO, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*. 2021 Feb 16;10(2):giab008.
 20. Aksamentov I, Roemer C, Hodcroft EB, Neher RA. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *J Open Source Softw*. 2021 Nov 30;6(67):3773.
 21. Quinlan AR, Hall IM. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinforma Oxf Engl*. 2010 Mar 15;26(6):841–2.
 22. Ahani B, Tuffy KM, Aksyuk AA, Wilkins D, Abram ME, Dagan R, et al. Molecular and phenotypic characteristics of RSV infections in infants during two nirsevimab randomized clinical trials. *Nat Commun*. 2023 Jul 19;14(1):4347.
 23. Joyce MG, Bao A, Chen M, Georgiev IS, Ou L, Bylund T, et al. Crystal Structure and Immunogenicity of the DS-Cav1-Stabilized Fusion Glycoprotein From Respiratory Syncytial Virus Subtype B. *Pathog Immun*. 2019 Dec 11;4(2):294–323.

ANEXO

A)

10.01

