

Reporte N°10: Vigilancia activa de variantes de SARS-COV-2 en la ciudad de Buenos Aires, Gran Buenos Aires y ciudad de Santa Fe.

03/01/2021

La emergencia de variantes virales es un proceso natural de la evolución de los virus. Sin embargo, cuando éstas se presentan con cambios genéticos en regiones implicadas en la interacción con el receptor celular o en el reconocimiento de anticuerpos específicos es necesario evaluar el posible impacto de esos cambios genéticos sobre la propagación viral, la capacidad de causar enfermedad más severa o la respuesta a la vacunación.

Durante las últimas semanas tres variantes virales del SARS-CoV-2 han llamado la atención de la comunidad científica y de los gobiernos nacionales:

- La **variante VOC 202012/01** (linaje B.1.1.7), cuya muestra más reciente fue detectada en el **Reino Unido** el 20/09/2020 (previamente nombrada “VUI 202012/01”, o informalmente como “nueva cepa”, “variante de Londres”, “variante UK”, “20B/501Y.V1 (UK variant)”) (*Rambaut y col., 2020*). Esta variante ya ha sido reportada al día 3 de enero de 2021 en 23 países incluidos Brasil, Chile, Canadá y Estados Unidos dentro de América.
- La **variante 501Y.V2** (linaje B.1.351), detectada en **Sudáfrica** desde el 08/10/2020, también conocida como “variante de Sudáfrica”, “variante SA” o “20C/501Y.V2 (South Africa variant)” (*Tegally y col., 2020*). Esta variante ha sido reportada primero en Sudáfrica, y luego en Suiza, Reino Unido y Finlandia.
- La **variante de Río de Janeiro** (derivada del linaje B.1.1.28), detectada Río de Janeiro, Brasil, desde octubre de 2020 (*Voloch y col., 2020*).

Es importante destacar que, si bien algunas variantes comparten cambios genéticos (como ser la mutación S_N501Y compartida entre las variantes VOC 202012/01 y 501Y.V2, o la mutación S_E484K compartida entre las variantes 501Y.V2 y la de Río de Janeiro), **estas variantes virales tienen orígenes distintos, es decir, esos cambios comunes ocurrieron en eventos evolutivos independientes.**

Para determinar la posible circulación de estas variantes en nuestro país, se requiere una vigilancia activa de las variantes genéticas del SARS-CoV-2, ya sea a través de la secuenciación del genoma completo, o mediante el análisis de secuencias parciales que incluyan marcadores genéticos de interés. Por lo tanto, el Consorcio Argentino Interinstitucional de Genómica de SARS-CoV-2, a través los Nodos de Secuenciación del IDICaL del INTA-CONICET de Rafaela (Provincia de Santa Fe) y del Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (CABA), realizó la secuenciación de 24 genomas completos de SARS-CoV-2 procedentes de virus detectados en la ciudad de Santa Fe (entre el 10 y el 22 de diciembre del 2020) y de 81 secuencias parciales de la región que codifica para la proteína S del SARS-CoV-2 procedentes de virus detectados en la CABA

PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2

y Gran Buenos Aires (GBA) (entre el 14 y el 26 de diciembre del 2020). Todas las muestras correspondieron a casos de circulación comunitaria y una descripción detallada de las mismas puede encontrarse en materiales y métodos. La relevancia del monitoreo de las mutaciones en regiones específicas del gen S radica en que el dominio de unión al receptor (RBD) es el principal blanco de los anticuerpos neutralizantes que aparecen durante la infección por SARS-CoV-2.

Resultados:

En ninguna de las 105 secuencias de SARS-CoV-2 (totales o parciales) se observó la mutación S_N501Y característica de las variantes VOC202012/01 de UK o 501Y.V2 de Sudáfrica. Tampoco se encontraron otros cambios propios de la variante VOC202012/01 en el gen S. Sin embargo, sí se observó la presencia de la mutación **S_E484K** en **una** de las **105 secuencias (muestra proveniente del GBA)**. La misma es una de las tres mutaciones marcadoras de la variante de Sudáfrica, y también se encuentra como única mutación del gen S en la variante de Río de Janeiro. Aunque el hallazgo es interesante, se requiere secuenciar el genoma completo del SARS-CoV-2 para determinar si el virus encontrado en GBA comparte un origen común con la variante de Río de Janeiro.

El residuo 484 de la proteína S se encuentra localizado en el motivo de unión al receptor (RBM) e interacciona directamente con el receptor humano hACE2 (Lan y col., 2020). **La mutación S_E484K está presente en la variante 501Y.V2 (Sudáfrica) y en la de Río de Janeiro, pero es poco común a nivel mundial y mostró indicios de relacionarse con adaptación al hospedador** (Tegally y col., 2020). Esta mutación también se asoció con resistencia a la neutralización por anticuerpos monoclonales neutralizantes y sueros policlonales de convalecientes (Weisblum y col., 2020; Liu y col., 2020, Baum y col., 2020).

Conclusión:

Desde que comenzó la vigilancia activa de las variantes de interés de SARS-CoV-2 (14/12/20 al 26/12/20), sobre un total de 144 muestras secuenciadas de la CABA, GBA y ciudad de Santa Fe (39 del reporte N°9 y 105 del actual), no se ha detectado aún ninguno de los cambios marcadores de la proteína S de la variante VOC202012/01 (UK), mientras que en cinco muestras se detectó el cambio S_E484K (procedentes de CABA y GBA). Esta mutación está presente tanto en la variante 501Y.V2 (Sudáfrica) -junto a otras dos mutaciones marcadoras en Spike- y en la variante de Río de Janeiro -como única mutación marcadora en Spike-.

Consideramos que el aumento de positividad de casos que se está dando en diferentes regiones del país requiere continuar vigilando activamente estas variantes y otras que pudieran surgir. Asimismo, el mantenimiento de las medidas de distanciamiento social, el uso de tapabocas, la ventilación correcta de los ambientes, y el lavado de manos frecuente, debe cumplirse, independientemente de qué variante este circulando en la población, tomando en cuenta que estas medidas disminuirán la circulación viral,

evitarán infecciones y muertes y, a nivel molecular, disminuirán la posibilidad de emergencia de nuevas variantes.

El Consorcio Argentino Interinstitucional de Genómica de SARS-CoV-2 continuará realizando la vigilancia molecular en tiempo real sobre los casos de circulación comunitaria con la estrategia planteada, a la par que seguirá caracterizando los genomas de SARS-CoV-2 que circulan en diferentes regiones del país a fin de determinar si estas variantes ingresaron antes de las medidas restrictivas tomadas en las últimas semanas del 2020, o si han emergido nuevas variantes virales locales.

Materiales y Métodos

Muestras seleccionadas para este análisis:

Para el caso del análisis realizado en la **ciudad de Santa Fe**, durante el periodo de tiempo comprendido entre el 10/12/20 y el 22/12/20, en el Laboratorio Central de la ciudad de Santa Fe se analizaron un total de 1.248 casos sospechosos de la COVID-19, de los cuales 393 resultaron positivos por qRT-PCR. De estos se seleccionaron al azar un total de 24 muestras, entre aquellas que poseían carga viral traducida en valores de Ct menor a 30, para secuenciar su genoma completo en el nodo de secuenciación del IDICaL del INTA-CONICET de Rafaela.

Del GBA se tomó un caso particular que llamó la atención por su aumento abrupto de positividad en un periodo de tiempo corto, tal es el caso del Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos “Evita” de **Lanús**, que venía teniendo desde el 1/12/20 al 17/12/20 un porcentaje de positividad diaria en promedio del 29%, y a partir del día 18/12/20 hasta el 26/12/20 ese porcentaje subió en promedio al 63%. Por lo tanto, se decidió hacer una selección de casos positivos en ese periodo de tiempo. Sobre un total de 707 casos sospechosos para la COVID-19 analizados entre el 17/12/20 y el 26/12/20, 420 resultaron positivos, de los mismos se seleccionaron al azar 10 muestras entre aquellas que poseían carga viral traducida en valores de Ct menor a 30. Las muestras, provenientes de las localidades de Almirante Brown (6), de Lomas de Zamora (2), de Avellaneda (1) y de Lanús (1), fueron enviadas al nodo de secuenciación HNRG para la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína S.

Para el caso de las muestras diagnosticadas en el Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG), durante el periodo comprendido entre 14/12/2020 y el 27/12/2020 se procesaron 3.967 muestras de hisopados nasofaríngeos (HNF) provenientes de personas con sospecha de la COVID-19 atendidas en distintas Unidades Febriles de Urgencia (UFU) de la Ciudad de Buenos Aires. Del total de las muestras, 446 resultaron positivas para SARS-CoV-2 a través de qRT-PCR para los genes N1 y N2 (CDC). Se seleccionaron un total de 71 muestras positivas en base a sus cargas virales traducidas

**PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2**

en valores de Ct menores a 30 para la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína S. De las mismas, 48 correspondieron a pacientes residentes de la **CABA** (barrios de Almagro, Balvanera, Belgrano, Caballito, Constitución, Monserrat, Monte Castro, Nueva Pompeya, Nuñez, Palermo, Parque Chas, Recoleta, Retiro, Saavedra, San Cristóbal, San Nicolás, Villa Crespo, Villa Devoto y Villa Urquiza) y 23 muestras correspondieron a pacientes residentes del **GBA** (localidades de Berazategui, José C Paz, La Matanza, Lanús, Lomas de Zamora, Merlo, Moreno, Pilar, Quilmes, San Fernando, San Isidro, San Justo, Tigre, Tres de Febrero, Varela y Villa Domingo).

Estrategia de secuenciación empleada:

Para el caso de la secuenciación de genomas completos en el Nodo del IDICaL del INTA-CONICET de Rafaela, se utilizó el protocolo de amplificación y secuenciación de ARTIC para Minlon modificado (<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bbmuik6w>).

Para el caso del nodo de secuenciación del HNRG, debido a que las variantes buscadas presentan cambios no sinónimos marcadores en la proteína S (Spike), se decidió realizar la secuenciación parcial del gen que codifica para dicha proteína a través del método tradicional de Sanger, utilizando el protocolo de secuenciación recomendado por el CDC (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing/blob/master/protocols/CDC-Comprehensive/CDC_SARS-CoV-2_Sequencing_200325-2.pdf).

Los cambios en la proteína S marcadores de la variante de UK (**VOC 202012/01**) son: S_69-70del, S_144del, S_N501Y, S_A570D, S_D614G, S_P681H, S_T716I, S_S982A, S_D1118H.

Las mutaciones en la proteína S marcadoras de la variante de Sudáfrica (**variante 501Y.V2**) son: S_K417N, S_E484K y S_N501Y.

La mutación en la proteína S marcadora de la **variante de Río de Janeiro** es S_E484K.

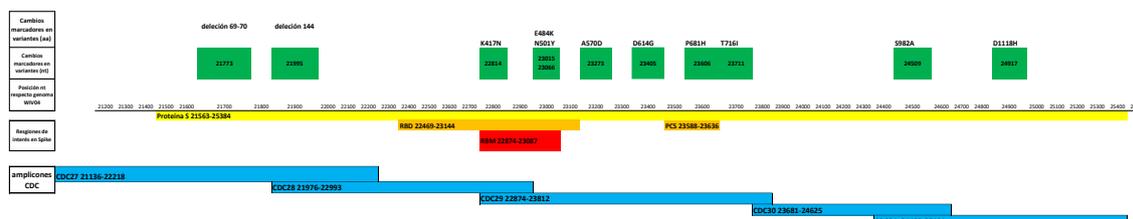
Todas las variantes presentan cambios nucleotídicos en otras regiones del genoma, no alcanzados con esta estrategia.

En la figura se muestra la secuencia del gen de la proteína Spike (amarillo), la estrategia de secuenciación a través de los cebadores propuestos por el CDC que abarcan la secuencia completa del gen de S en fragmentos solapados (azul) y las mutaciones marcadoras de la variante **VOC 202012/01 (UK)**, **variante 501Y.V2 (SA)** y la de **Río de Janeiro** (verde). Para cubrir los cambios marcadores se seleccionó el fragmento CDC29, se amplificó en todas las muestras seleccionadas. La secuenciación de los amplicones se realizó en ambas direcciones utilizando el método de secuenciación con dideoxinucleótidos marcados en un secuenciador capilar ABI3500.

Las secuencias fueron analizadas a través del programa SeqScape (Applied Biosystems) y comparadas con la cepa hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019 (EPI_ISL_402124-S).

**PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2**

Los aminoácidos marcadores de Spike mencionados que no están siendo estudiados con esta estrategia son: 69-70del, 144del, S982A y D1118H de **VOC 202012/01** y K417N de **501Y.V2**.



Participantes en este reporte:

Nodo de secuenciación del IDICaL (Instituto de Investigaciones en la Cadena Láctea) del INTA-CONICET de Rafaela (Provincia de Santa Fe): María Florencia Eberhardt; Cecilia Camussone; Matías Irazoqui; Ariel Amadio.

Nodos secuenciación HNRG (CABA): Mercedes Nabaes, Sofía Alexay, Stephanie Goya, Mariana Viegas.

Nodo evolución: Carolina Torres, Paula Aulicino, Guido König, Humberto Debat, Mariana Viegas.

Nodos de toma y procesamiento de muestras clínicas: Laboratorio Central ciudad de Santa Fe: Carlos Pastor, Guillermo Ojeda, Gabriela Rompató, Viviana Mugna. Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos “Evita” de Lanús: Isabel Desimone, Erica Luczak, Omar Grossi, Lorena Serrano, Alejandra Musto. Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez (CABA): Alicia Mistchenko, Erica Grandis, María Cristina Alvarez López, María Elina Acevedo, Oscar Jacquez, Sofía Alexay, Mariángeles Barreda Fink, María Emilia Villegas, Raquel Barquez, Estela Chascón, Jorgelina Caruso, Karina Zacarías, Cristian Díaz, Oscar Luna, Cristian Turchiaro, Julián Cipelli, Guillermo Thomas, Carla Medina, Natalia Labarta.

Fondos: Proyecto IP COVID-19 N°08 y COFECYT Federal SF-12 (ANPCyT).

Referencias:

Baum y col. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. Science. 2020;369(6506):1014-1018. DOI: [10.1126/science.abd0831](https://doi.org/10.1126/science.abd0831)

Lan y col. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. Nature. 2020;581(7807):215-220. DOI: [10.1038/s41586-020-2180-5](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5)

**PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2**

Liu y col. Landscape analysis of escape variants identifies SARS-CoV-2 spike mutations that attenuate monoclonal and serum antibody neutralization. bioRxiv. 2020:2020.2011.2006.372037. DOI: [10.1101/2020.11.06.372037](https://doi.org/10.1101/2020.11.06.372037)

Rambaut y col. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. Publicado: 18 de diciembre de 2020. <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-theuk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>

Tegally y col. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv 2020:2020.12.21.20248640. DOI: [10.1101/2020.12.21.20248640](https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640)

Voloch y col. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. medRxiv 2020.12.23.20248598. DOI: [10.1101/2020.12.23.20248598](https://doi.org/10.1101/2020.12.23.20248598)

Weisblum y col. Escape from neutralizing antibodies by SARSCoV-2 spike protein variants. Elife. 2020;9:e61312. DOI: [10.7554/eLife.61312](https://doi.org/10.7554/eLife.61312)