

Reporte N°15: Vigilancia de variantes de SARS-CoV-2 en la CABA y la PBA. Actualización al 12/02/2021.

RESUMEN

Con el objeto de estudiar las variantes circulantes del virus SARS-CoV-2, se realizó la secuenciación del genoma completo o la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike* en 156 muestras de CABA y PBA obtenidas en el período del 01/11/20 al 07/02/2021. En dos casos de secuenciación parcial se detectaron las mutaciones características de la variante 501Y.V1 (Reino Unido). Mientras que uno de ellos presenta antecedentes de viaje, el otro se asocia a un caso de circulación comunitaria. En ambos casos se está procediendo a la secuenciación del genoma completo para su caracterización. Otras 14 secuencias presentaron la mutación S_E484K característica de la variante P.2 (Río de Janeiro). No se detectaron mutaciones características de la variante 501Y.V2 (Sudáfrica) ni de la variante 501Y.V3 (Manaos).

Hasta el momento, sobre un total de 545 muestras analizadas a través de la vigilancia activa de variantes, la variante 501Y.V1 (Reino Unido) se identificó en 3 casos mientras que en el 5,1% de los casos se detectó la mutación S_E484K, compatible con la variante P.2 (Río de Janeiro). Siete de estos casos ya fueron confirmados por secuenciación del genoma completo.

Contexto epidemiológico

Desde el mes de diciembre de 2020, al menos cuatro variantes virales del SARS-CoV-2 han llamado la atención de la comunidad científica y de los gobiernos nacionales:

- La **variante VOC 202012/01** o **variante 501Y.V1 (linaje B.1.1.7)**, cuya muestra más antigua fue detectada en el Reino Unido el 20/09/2020 (Rambaut y col., 2020a). Esta variante ya ha sido reportada al día 12 de febrero de 2021 en 82 países, incluidos Argentina, Brasil, Chile, Ecuador, Perú y Uruguay, dentro de América del Sur. En nuestro país se reportó esta variante el 15 de enero con la descripción del caso de un argentino residente en Reino Unido con antecedentes de viaje a Austria y Alemania que arribó asintomático desde Frankfurt a finales de diciembre del 2020 (<http://pais.gb.fcen.uba.ar/files/reportes/pais-reporte12.pdf>).
- La **variante VOC 202012/02** o **variante 501Y.V2 (linaje B.1.351)**, detectada en Sudáfrica desde el 08/10/2020 (Tegally y col., 2020). Esta variante ha sido reportada en 40 países hasta 12 de febrero de 2021, sin reportes de su introducción a América

del Sur.

- La **variante VOC-202101/02 o variante 501Y.V3 (linaje P.1)**, derivado del linaje B.1.1.28), cuya muestra más temprana corresponde al día 04/12/2020, **detectada en Manaos, Brasil**, y en Japón (Faria y col., 2021) que ya ha sido detectada en 18 países, incluyendo Brasil, Colombia, Perú, Venezuela y Argentina. En nuestro país, el día 8 de febrero de 2021 se informó la detección de esta variante en dos muestras de viajeros provenientes de Brasil, por parte de la ANLIS “Dr. Carlos Malbrán”.
- La **variante VUI-202101/01 (linaje P.2)**, derivado del linaje B.1.1.28), detectada en **Río de Janeiro, Brasil**, principalmente desde octubre de 2020 (Voloch y col., 2020). Actualmente, esta variante ha sido detectada en 17 países, incluida la República Argentina, con circulación comunitaria.

Las variantes 501Y.V1 (Reino Unido), la 501Y.V2 (Sudáfrica) y 501Y.V3 (Manaos, Brasil) han sido recientemente asociadas a una mayor tasa de transmisión o a un drástico aumento de su prevalencia en corto tiempo (Volz y col. 2020; PHE, 2020; Farias y col, 2021, Tegally y col, 2020). Sólo en el caso de la variante 501Y.V1 (Reino Unido) se observó, en análisis preliminares, una posible asociación con mayor riesgo relativo de muerte (NERVTAG, 2021). Asimismo, existe evidencia que indicaría que la variante de Sudáfrica podría estar asociada a escape inmunológico y es posible que esta característica sea compartida por las variantes 501Y.V3 (Manaos) y eventualmente la P.2 (Río de Janeiro) dado que presentan mutaciones en común.

Si bien algunas variantes comparten cambios genéticos (como ser la mutación S_N501Y observada en las variantes 501Y.V1, 501Y.V2 o 501Y.V3, o la mutación S_E484K observada en las variantes 501Y.V2, 501Y.V3 y la de Río de Janeiro (P.2) (Figura 1), **estas variantes virales tienen orígenes distintos, es decir, esos cambios comunes ocurrieron en eventos evolutivos independientes.**

Algunas de estas mutaciones pueden tener importancia biológica. En particular, el **residuo 484 de la proteína S** se encuentra localizado en el motivo de unión al receptor (RBM, por *receptor binding motif*) e interacciona directamente con el receptor humano hACE2 (Lan y col., 2020). La mutación **S_E484K** se asoció con resistencia a la neutralización por anticuerpos monoclonales neutralizantes y sueros policlonales de convalescientes (Weisblum y col., 2020; Liu y col., 2020, Greaney y col. 2021, Baum y col., 2020).

PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2

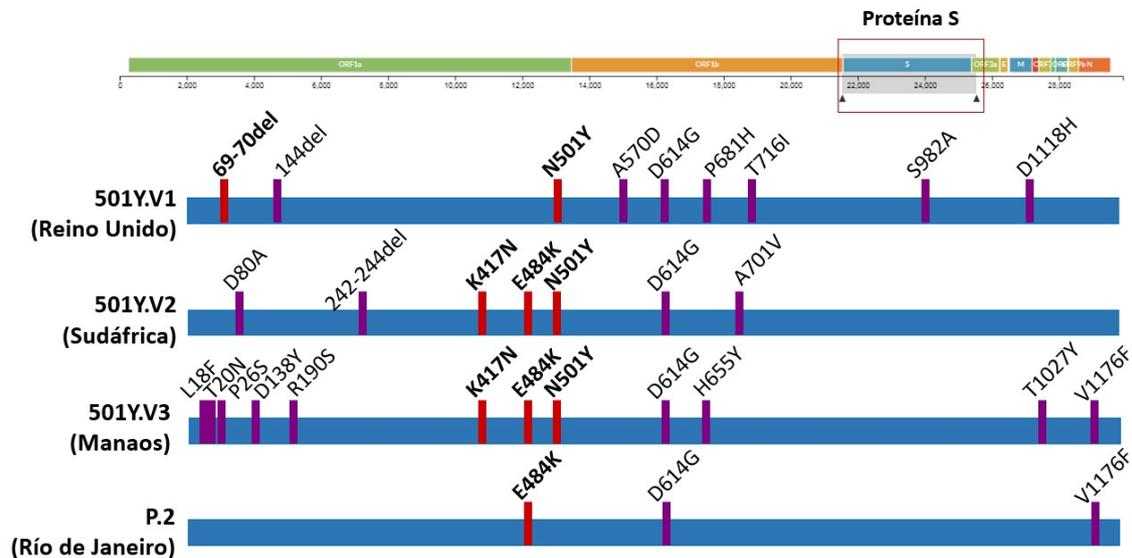


Figura 1. Representación de los cambios aminoacídicos en el gen S de SARS-CoV-2 característicos de las variantes de interés epidemiológico. Los cambios indicados en rojo corresponden a los de mayor impacto potencial sobre la biología viral o la neutralización por anticuerpos.

Por su parte, la mutación **S_N501Y** se asoció con un aumento en la afinidad de unión de la proteína Spike al receptor humano hACE2, lo que se propuso como parcialmente responsable por el aumento en la transmisibilidad observado para las variantes que la poseen, especialmente para la variante 501Y.V1 (Reino Unido) (Volz y col., 2021).

Con el **objetivo** de continuar con la vigilancia activa de estas variantes, el Consorcio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2, a través del nodo de secuenciación del Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG) (CABA) realizó la secuenciación parcial del gen de la proteína *Spike* del SARS-CoV-2 (en 122 muestras) o del genoma completo (en 34 muestras) de pacientes provenientes de la CABA y la PBA (entre el 01/11/2020 y el 07/02/2021).

Las muestras correspondieron a casos de circulación comunitaria y de viajeros internacionales. En la Sección “Materiales y métodos” se encuentra una descripción detallada de las mismas.

Resultados:

Se realizó la secuenciación del genoma completo del SARS-CoV-2 o la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike* en un total de **156 muestras de la CABA y la PBA**. En **dos** de ellas se detectaron las **mutaciones características de la**

variante 501Y.V1 (Reino Unido). La primera muestra corresponde a un residente del Municipio de La Matanza, sin antecedentes de viaje ni de contacto estrecho directo con un caso importado, que presentó síntomas compatibles con la COVID-19 el 3 de febrero y con diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 el 4 de febrero. La segunda muestra pertenece a un residente de la ciudad de Mercedes, provincia de Buenos Aires, que regresó de un viaje a los Estados Unidos el 15 de enero. Se realizó el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 el día 18 de enero por test rápido de antígeno y el 21 de enero por PCR. El individuo se mantuvo en aislamiento por 14 días sin generar casos por contacto estrecho y fue dado de alta el 28 de enero. A ambas muestras se le realizará la secuenciación de genoma completo en los próximos días para su caracterización completa.

En otras 14 secuencias, todas del AMBA, se detectó la mutación **S_E484K**, característica de la variante de Río de Janeiro (P.2). Como se mencionó previamente, es la única mutación del gen S en la variante de linaje P.2 y es una de las tres mutaciones marcadoras de las variantes 501Y.V2 (Sudáfrica) o 501Y.V3 (Manaos). En uno de estos casos se realizó la secuenciación del genoma completo que confirmó la identificación de la variante de linaje P.2 (Río de Janeiro), mientras que otras se encuentran en proceso de secuenciación. En el Gráfico 1 se observa el número de casos con y sin la mutación S_E484K por semana epidemiológica desde el inicio de la vigilancia molecular de variantes de SARS-CoV-2 y en la Tabla 1 se observa su frecuencia.

En ninguna de las 156 secuencias de SARS-CoV-2 se observaron las mutaciones características de las variantes 501Y.V2 (Sudáfrica) o 501Y.V3 (Manaos).

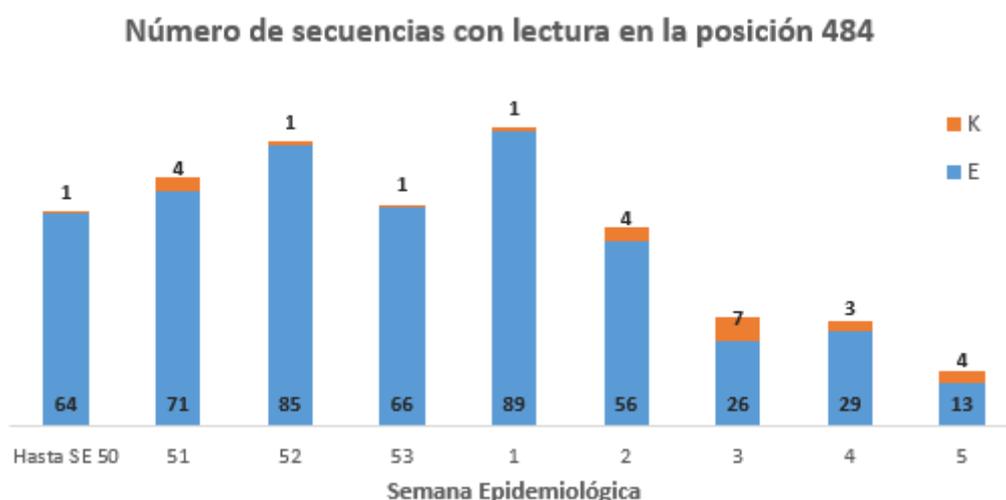


Gráfico 1. Número de casos por semana epidemiológica 2020-2021 desde el inicio de la vigilancia molecular de variantes de SARS-CoV-2.

Tabla 1. Frecuencia de la mutación E484K por semana epidemiológica.

| Semana epidemiológica | Frecuencia de la mutación E484K (%) | IC ajustado (95%) ¹ |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| hasta 50 | 1,5 | <0,01 - 9,0 |
| 51 | 5,3 | 1,7 - 13,3 |
| 52 | 1,2 | <0,01 - 6,9 |
| 53 | 1,5 | <0,01 - 8,8 |
| 1 | 1,1 | <0,01 - 6,6 |
| 2 | 6,7 | 2,2 - 16,4 |
| 3 | 21,2 | 10,4 - 38,1 |
| 4 | 9,4 | 2,5 - 25,0 |
| 5 | 23,5 | 9,1 - 55,5 |

¹El intervalo de confianza de la frecuencia se estimó mediante el método de Wald modificado (Agresti y Coull, 1998).

Conclusión:

La vigilancia activa de las variantes de SARS-CoV-2 realizada sobre un total de 545 muestras de la CABA, Provincia de Buenos Aires, Córdoba y la Ciudad de Santa Fe (reportes N° 9 a 15) obtenidas entre el 01/11/2020 y el 07/02/2021 permitió determinar la presencia de dos de las cuatro variantes de interés epidemiológico mundial: la variante 501Y.V1 (Reino Unido) y la variante P.2 (Río de Janeiro).

Hasta el momento, la variante 501Y.V1 (Reino Unido) fue identificada en un total de tres casos, de los cuales sólo dos presentaron antecedente de viaje, mientras que el restante se trata del primer caso de circulación comunitaria de la variante 501Y.V1 reportado en nuestro país.

Con relación al linaje P.2 (Río de Janeiro), en este reporte se describen 14 casos con la mutación S_E484K y en uno de ellos, se confirmó su asignación al linaje P.2 por secuenciación del genoma completo. Desde el inicio de la vigilancia activa de las variantes, se detectó la mutación S_E484K en 27 casos, y en siete de ellos se confirmó la identificación de la variante de P.2 (Río de Janeiro), mientras que otros se encuentran en proceso de secuenciación. Todos los casos correspondieron a circulación comunitaria en AMBA, posiblemente a partir de distintas introducciones al país.

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 completos de SARS-CoV-2 que han circulado desde el inicio de la epidemia

en diferentes regiones del país. Asimismo, la vigilancia molecular en tiempo real permitirá determinar la posible emergencia de nuevas variantes virales locales.

Materiales y Métodos

Muestras seleccionadas para este análisis:

En el Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (CABA), durante el periodo comprendido entre 19/01/2021 y el 5/02/2021 se procesaron 5102 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 Autónoma de Buenos Aires (CABA). Del total de las muestras, 844 resultaron positivas para SARS-CoV-2 a través de qRT-PCR para los genes N1 y N2 (CDC). Se seleccionaron un total de 77 muestras positivas en base a sus cargas virales traducidas en valores de Ct menores a 30 para la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína S de SARS CoV-2. Las mismas, correspondieron a pacientes residentes de la CABA y Gran Buenos Aires.

Además, se analizaron 2 muestras provenientes del Laboratorio de Virología Molecular – Hospital Blas L. Dubarry (Mercedes, Provincia de Buenos Aires), ambas pertenecientes a personas con antecedente de viaje a Estados Unidos. Caso N°1 (presentó la variante del Reino Unido 501.V1): argentino con residencia en la ciudad de Mercedes, viaja hacia la Argentina (entrando por el aeropuerto de Ezeiza) el día 15/01/2021. Permanece en aislamiento, no genera contactos estrechos ni aparecen casos positivos con nexo epidemiológico con este paciente. Dado de alta. Caso N°2: argentino con residencia en la ciudad de Mercedes, el día 27/12/2020 se realiza en EEUU un análisis de qRT-PCR para diagnóstico de SARS-CoV-2 que resulta negativo. Viaja hacia Argentina (Ezeiza) el día 29/12/2020. El día 03/01/2021 comienza con síntomas compatibles con la COVID-19 por lo que concurre al Hospital Blas L. Dubarry, donde a partir de un análisis de PCR para diagnóstico de SARS-CoV-2 se confirma la infección. Permanece en aislamiento, no genera contactos estrechos ni aparecen casos positivos con nexo epidemiológico con este paciente.

En el caso de los Laboratorios de Diagnóstico de la Provincia de Buenos Aires, se analizaron 3 situaciones particulares dado que, a partir de la observación realizada por los Laboratorios, se detectó un aumento en el porcentaje de positividad en las regiones analizadas:

- El Laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Cs. Exactas (La Plata) tuvo desde el 26/11/2020 al 19/12/2020 un porcentaje de positividad diaria en promedio del 26% y a partir de las semanas comprendidas entre el 27/12/2020 y el 08/01/2021 ese porcentaje subió en promedio al 45%. Debido a esto, se decidió hacer una selección de casos positivos en este último periodo. Sobre un total de 1371 casos sospechosos para la COVID-19 analizados en ese periodo, 423 resultaron positivos, de los mismos

se seleccionaron 15 muestras que poseían carga viral traducida en valores de Ct menores a 30.

- Se analizaron 22 muestras provenientes del Laboratorio de Virología, HIEAyC "San Juan de Dios" (La Plata), correspondientes al período desde 1/12/2020 al 15/01/2021. Las mismas corresponden al período comprendido entre la SE-49 (2020) y SE-2 (2021), durante el cual se detectó un aumento en el porcentaje de casos positivos de 11,2% a 20,1%. Durante el período mencionado se procesaron 2029 muestras de las cuales 435 resultaron positivas.
- Se analizaron 8 muestras provenientes del Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Jara" (Mar del Plata), con fecha del 06/01/2021 también debido a un aumento inesperado de la positividad. La misma trepó desde un 17,5% en la SE-49 (2020) hasta un 40% en la SE-1 (2021). Durante el período mencionado se procesaron 11600 muestras de las cuales 3598 resultaron positivas. Las mismas seleccionadas pertenecen específicamente a los departamentos de Pinamar, Maipú, General Pueyrredón, Necochea, Villa Gesell y Lobería.

Estrategia de secuenciación empleada:

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). Amplificando el segmento 29 del protocolo mencionado (fragmento comprendido entre los aminoácidos S_428 y S_750).

Para el caso de la secuenciación de genomas completos se utilizó el protocolo de amplificación y secuenciación de ARTIC. (<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bbmuik6w>). El mismo fue llevado a cabo con el sistema Nextseq de Illumina.

Participantes en este reporte:

Nodo secuenciación HNRG: Mercedes Nabaes; Laura Valinotto; Stephanie Goya; Mónica Natale; Silvina Lusso, Sofía Alexay; Dolores Acuña; Mariana Viegas.

Nodo evolución: Carolina Torres, Paula Aulicino, Guido König, Laura Mojsiejczuk, Mariana Viegas.

Nodos de toma y procesamiento de muestras clínicas:

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.

Laboratorio de Virología, HIEAyC "San Juan de Dios" (La Plata, provincia de Buenos Aires): Regina Ercole; Martina Ferioli; Andrea Gatelli; Silvia Galvez; Maria Colmeiro; Karina Gil; Fancisco Echeverria; Luciano Malaissi; Ramiro Agüero.

Laboratorio de salud pública, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP (La Plata, Provincia de Buenos Aires): Rosana Isabel Toro; Andrés Angelletti; Victoria Cabassi; Victoria Nadalich; Andrés Cordero; Carina Tersigni; Laura Delaplace.

Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Jara" (Mar del Plata, provincia de Buenos Aires): Irene Pagano; Osvaldo Uez; Carlos Jose Cimmino.

Laboratorio de Virología Molecular – Hospital Blas L. Dubarry (Mercedes, BA): María Belén Mónaco; Sebastián Gabriel Zunino; José Jaramillo Ortiz; Carla Antonella Massone; Leandro García; Flavia Noelia Minutto; Gabriela Elena Zunino; Belén Ubaldo; Elizabeth Joyce Maleplate; Anna Belén Calloni; **Departamento de Ciencias Básicas – Universidad Nacional de Luján (provincia de Buenos Aires):** María Inés Gismondi.

Fondos:

Proyecto IP COVID-19 N°08, Focem COF 03/11 Covid-19.

Referencias:

Agresti, A., and Coull, B. A. (1998), Approximate is Better than "exact" for interval estimation of binomial proportions, *The American Statistician*, 52: 119-126.

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

Greaney y col. 2021. Complete Mapping of Mutations to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain that Escape Antibody Recognition. *Cell Host & Microbe* 29, 1–14, January 13, 2021. doi: [10.1016/j.chom.2020.11.007](https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.11.007). Epub 2020 Nov 19.

Lan y col. 2020. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. 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. 2020. 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)

NERVTAG note on B.1.1.7 severity. Publicado: 21 de enero de 2021. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/955239/NERVTAG_paper_on_variant_of_concern_VOC_B.1.1.7.pdf

Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: variant of concern 202012/01, technical briefing 3. London, United Kingdom: Public Health England; 2020. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/950823/Variant_of_Concern_VOC_202012_01_Technical_Briefing_3_-_England.pdf

Rambaut y col. 2020. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. <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. 2020. 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. 2020. 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)

Volz y col. 2020. Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. DOI: [10.1101/2020.12.30.20249034](https://doi.org/10.1101/2020.12.30.20249034)

Weisblum y col. 2020. 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)

Faria y col. 2021. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings. <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586/2>