

Reporte N°16: Vigilancia de variantes de SARS-CoV-2 en la CABA y la PBA. Actualización al 01/03/2021.

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar las variantes circulantes del virus SARS-CoV-2 se realizó la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike* en 81 muestras de la CABA y PBA obtenidas en el período 27/01/2021 al 21/02/2021. Se detectó la combinación de mutaciones característica de la variante 501Y.V3 (Manaos) en dos muestras, y la de la variante 501Y.V1 (Reino Unido) en una muestra, mientras que también se detectó la mutación S_E484K -característica de la variante P.2 (Río de Janeiro)- en 15 muestras y la mutación S_E484Q en un caso. No se detectó la combinación de mutaciones característica de la variante 501Y.V2 (Sudáfrica). Uno de los casos que presentó la variante 501Y.V3 tuvo antecedente de viaje a Pipa, Brasil, y el otro habría sido contacto de otro viajero, también procedente de Brasil. En cambio, el caso de la variante 501Y.V1 (Reino Unido) habría sido adquirido en la comunidad. En todos los casos reportados de las variantes se procederá a la secuenciación del genoma completo.

Hasta el momento, sobre un total de 626 muestras analizadas a través de la vigilancia activa de variantes, la 501Y.V1 (Reino Unido) se identificó en cuatro casos (0,6 %), la 501Y.V3 (Manaos) en dos casos (0,3 %), y la mutación S_E484K en forma aislada -compatible con P.2 (Río de Janeiro)- en 43 casos (6,9 %) y la mutación S_L452R/Q/M en siete casos.

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 a nivel nacional e internacional:

- La **variante 501Y.V1 (linaje B.1.1.7) o VOC 202012/01**, cuya muestra más antigua fue detectada en el **Reino Unido** el 20/09/2020 (Rambaut y col., 2020). Esta variante ya ha sido reportada -al día 27/02/2021- en 94 países, incluidos Argentina, Brasil, Chile, Ecuador, Perú y Uruguay, dentro de América del Sur. En nuestro país se detectó esta variante por primera vez en una muestra de finales de diciembre de 2020, proveniente de un argentino residente en Reino Unido que resultó positivo para SARS-CoV-2 al arribar al aeropuerto de Ezeiza desde Frankfurt (<http://pais.gb.fcen.uba.ar/files/reportes/pais-reporte12.pdf>). Por otro lado, el 4 de febrero se identificó la presencia de esta variante en la comunidad: fue identificada

en un residente del Municipio de La Matanza sin antecedentes de viaje ni contactos con viajeros (<http://pais.qb.fcen.uba.ar/files/reportes/pais-reporte15.pdf>).

- La **variante 501Y.V2 (linaje B.1.351) o VOC 202012/02**, detectada inicialmente en **Sudáfrica** desde el 08/10/2020 (Tegally y col., 2020). Esta variante ha sido reportada en 48 países hasta 27/02/2021, sin reportes de su introducción a América del Sur.
- La **variante 501Y.V3 (linaje P.1, derivado del linaje B.1.1.28) o VOC 202101/02**, cuya muestra más temprana corresponde al día 04/12/2020, detectada inicialmente en **Manaos, Brasil**, y en Japón (Faria y col., 2021) que ya ha sido detectada en 25 países, incluyendo Brasil, Colombia, Perú, Venezuela y Argentina.
- 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 20 países, incluida la Argentina, con circulación comunitaria.

Las variantes 501Y.V1 (Reino Unido), 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 y 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), éstas 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 convalecientes (Weisblum y col., 2020; Liu y col., 2020, Greaney y col. 2021, Baum y col., 2020).

Por otro lado, 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

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

poseen, especialmente para la variante 501Y.V1 (Reino Unido) (Volz y col., 2021). La mutación D614G emergió a finales de enero de 2020, y rápidamente se diseminó por todo el mundo, incluyendo el 99% de las muestras argentinas.

A su vez, **mutaciones en la posición 452 de la proteína *Spike* se asociaron con disminución de neutralización por anticuerpos monoclonales y sueros de convalecientes** (Liu y col. 2020; Starr y col, 2021). Particularmente la mutación L452R se encuentra presente en los linajes B.1.427 y B.1.429 (variantes inicialmente detectadas en California), como así también en otros linajes de reciente expansión a nivel mundial.

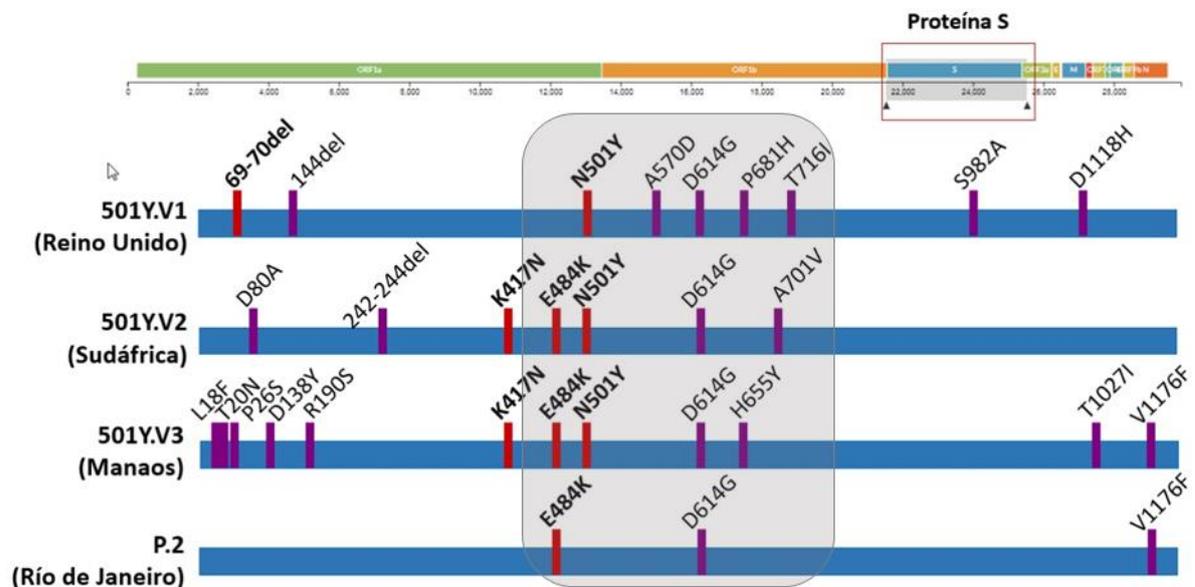


Figura 1. Representación de los cambios aminoacídicos en el gen S de SARS-CoV-2 característicos de las variantes de interés epidemiológico. Los cambios indicados en rojo corresponden a los de mayor impacto potencial sobre la biología viral o la neutralización por anticuerpos. Las mutaciones sombreadas corresponden a las abarcadas en el fragmento 29 del CDC (codones S_428 a S_750), utilizado para la vigilancia activa de variantes en el presente reporte.

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 81 muestras) de pacientes provenientes de la CABA y la PBA (**27/01/2021 al 21/02/2021**) correspondientes a casos de circulación comunitaria, viajeros internacionales o contactos de viajeros internacionales.

Resultados:

Se realizó la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike* (codones 428 a 750) en un total de **81 muestras de la CABA y la PBA**, viajeros internacionales o contactos de viajeros internacionales.

Detección de la variante 501Y.V3 (Manaos)

A través de la identificación conjunta de las mutaciones E484K, N501Y, D614G y H655Y, se detectó **la variante 501Y.V3 (Manaos)** en **dos** casos: El primero corresponde un individuo de nacionalidad argentina que ingresó al país el día 07/02/2021 proveniente de Brasil a través de un traslado sanitario dada su condición de salud. Luego del arribo al país, el paciente fue internado en un hospital de la ciudad de Buenos Aires en donde se realizó la toma de muestras para estudio de SARS-CoV-2 y posterior secuenciación por parte del equipo del Proyecto PAIS (nodo HNRG).

El segundo corresponde a un ciudadano brasilero residente en la ciudad de Buenos Aires que fue estudiado por un efector de salud de la red de atención del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires el día 16/02/2021 por haber sido contacto estrecho de un individuo con síntomas compatibles con la COVID-19 y con historia reciente de viaje a Brasil. La muestra fue procesada para diagnóstico en el laboratorio de virología del HNRG siendo seleccionada para su secuenciación como parte del muestreo semanal del 10% de casos positivos detectados en dicho laboratorio. La investigación epidemiológica y el rastreo de contactos permitió la identificación de otros tres casos confirmados que se encuentran aislados y con seguimiento diario de las autoridades sanitarias. Estos casos se encuentran en estudio para su secuenciación.

Detección de la variante 501Y.V1 (Reino Unido)

A través de la identificación conjunta de las mutaciones N501Y, A570D, D614G, P681H y T716I, se detectó **la variante 501Y.V1 (Reino Unido)** en **una** residente de la ciudad de Buenos Aires.

El caso fue asistido en un efector hospitalario de la red de atención del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires el día 16/02/2021 al cual consultó debido a la presencia de síntomas compatibles con infección por SARS-CoV-2. En tal sentido, las muestras clínicas fueron derivadas para su estudio al laboratorio de virología del Hospital de Niños R. Gutiérrez, realizándose la posterior secuenciación por el parte del equipo del Proyecto PAIS (nodo HNRG). En los días subsiguientes, se llevó adelante el rastreo y estudio de contactos identificándose otros casos positivos dentro del grupo familiar los que

cumplieron el aislamiento domiciliario con seguimiento diario por parte de profesionales médicos y de las autoridades sanitarias. De acuerdo a la investigación epidemiológica realizada, la paciente no manifestó antecedentes de viaje al exterior ni a otra región del país como tampoco declaró haber tenido contacto estrecho conocido con otras personas que hubieren frecuentado las zonas afectadas. Estos hallazgos permiten su identificación como un caso de origen comunitario.

Detección de la mutación S_E484K/Q

La mutación **S_E484K únicamente en combinación con D614G** se detectó en 15 muestras (18,5 %), lo que sugiere que éstas pueden corresponder a casos de infección por la **variante P.2 (Río de Janeiro)** - en circulación comunitaria en nuestro país- que deberán confirmarse por secuenciación y análisis del genoma completo.

De los casos con la mutación E484K, once corresponden a casos del Municipio de la Matanza, provincia de Buenos Aires, y cuatro a muestras provienen de la CABA. Además, se observó un caso con la mutación S_E484Q, proveniente de la CABA.

Continuando con el análisis de la frecuencia de esta mutación desde el inicio de la vigilancia molecular de variantes de SARS-CoV-2, el gráfico 1 muestra el número de casos evaluados por semana epidemiológica y su residuo aminoacídico en la posición 484. Además, la frecuencia de la mutación E484K/Q se muestra en la Tabla 1.

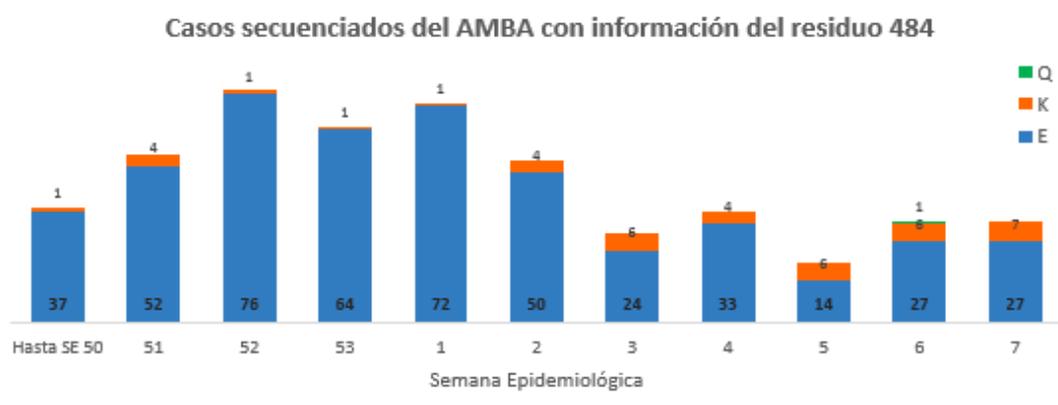


Gráfico 1. Número de casos por semana epidemiológica 2020-2021 desde el inicio de la vigilancia molecular de variantes de SARS-CoV-2.

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

Semana epidemiológica	Frecuencia de la mutación E484K/Q (%)	IC ajustado (95%) ¹
hasta 50	2,6	<0,01 – 14,7
51	7,1	2,3 – 17,5
52	1,3	<0,01 – 7,7
53	1,5	<0,01 – 9,0
1	1,4	<0,01 – 8,1
2	7,4	2,4 – 18,1
3	20,0	9,1 – 37,7
4	10,8	3,7 – 25,3
5	30,0	14,3 – 52,1
6	20,6	10,1 – 37,1
7	20,6	10,1 – 37,1

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

Detección de la mutación S_L452R/M/Q

En un grupo de siete muestras correspondientes al periodo comprendido entre el 04/01/2021 y el 19/02/2021 se detectó la **mutación S_L452R/Q/M**. En **cuatro** de ellas el cambio fue **S_L452R**, en **dos** el cambio fue **S_L452Q** y en **una** **S_L452M**. Todos estos casos no tienen relación entre sí y corresponderían a casos de circulación comunitaria.

Por último, en ninguna de las 81 secuencias de SARS-CoV-2 analizadas en este reporte se observó la combinación de mutaciones característica de la variante 501Y.V2 (Sudáfrica).

Conclusión:

La **vigilancia activa de las variantes de SARS-CoV-2** realizada sobre un total de 626 muestras de la CABA, provincia de Buenos Aires, Córdoba y la ciudad de Santa Fe (reportes N° 9 a 16) obtenidas entre el 01/11/2020 al 21/02/2021 permitió determinar la presencia de tres variantes de interés epidemiológico mundial en nuestro país: la

variante 501Y.V1 (Reino Unido), la variante 501Y.V3 (linaje P.1, Manaos), y la variante P.2 (Río de Janeiro).

Hasta el momento, **la variante 501Y.V1 (Reino Unido)** fue identificada en un total de **cuatro casos**, de los cuales sólo **dos presentaron antecedente de viaje**, mientras que los restantes se tratan de **dos casos de infección adquirida en la comunidad**. **La variante 501Y.V3 (Manaos)** fue detectada en **dos casos** de los cuales **uno tiene antecedente de viaje** a Brasil y el **otro** resultó ser **contacto estrecho** de un caso importado de Brasil.

Con relación **al linaje P.2 (Río de Janeiro)**, hasta el momento **se confirmó su presencia en siete casos** que fueron reconocidos inicialmente a través de la mutación S_E484K y luego confirmados por secuenciación completa y análisis filogenético. **Los siete** correspondieron **a circulación comunitaria en AMBA**, a partir de varias introducciones al país.

La **mutación S_E484K/Q** -en ausencia de las mutaciones en Spike características de las otras variantes- **fue identificada en un total de 43 casos** (que incluyen a los siete casos de variante P.2 mencionados previamente). **Durante las últimas semanas epidemiológicas se observó un aumento de su frecuencia, lo que es indicativo de mayor dispersión en nuestra población.**

En un grupo de siete muestras se detectó la **mutación S_L452R/Q/M**, todas sin nexo epidemiológico entre sí, ni antecedentes de viaje por lo que corresponderían a casos de circulación comunitaria. Se ha observado que **mutaciones en esta posición se asociarían con posible escape inmunológico y pueden presentarse en diversos linajes de reciente emergencia a nivel mundial**, por lo que estos genomas se estudiarán más exhaustivamente en el próximo período de análisis.

El Consorcio Argentino Interinstitucional de Genómica de SARS-CoV-2 continuará realizando la vigilancia molecular sobre los casos de circulación comunitaria con la estrategia planteada, a fin de monitorear con rapidez la presencia de variantes de interés epidemiológico internacional y la emergencia de variantes virales locales. A la par, se seguirán caracterizando los genomas completos de SARS-CoV-2 que han circulado desde el inicio de la epidemia en diferentes regiones del país.

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 07/02/2021 y el 21/02/2021 se procesaron 3767 muestras de hisopados nasofaríngeos (HNF) provenientes de personas con sospecha de la COVID-19 atendidas en distintas Unidades Febriles de Urgencia (UFU) correspondientes al Hospital Rivadavia y Pirovano y Unidades Sanitarias Móviles de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Del total de las muestras, 550 resultaron

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

positivas para SARS-CoV-2 a través de qRT-PCR para los genes N y RdRP. Se seleccionaron un total de 50 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 del GBA.

Además, con el propósito de profundizar la situación epidemiológica del municipio de La Matanza, dado que en el Reporte N°15 de PAIS se había detectado un caso de la variante 501Y.V1 (Reino Unido) adquirido en la comunidad:

- Se seleccionaron 27 de 62 muestras positivas por qPCR en el laboratorio Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (**INBIRS**) pertenecientes al período comprendido entre el 27/01/2021 y 17/02/2021.

- Se seleccionaron 3 de 7 muestras positivas por Neokit, sobre un total de 14 muestras procesadas el día 19/02/2021 provenientes del **Hospital Teresa Germani** de la Matanza.

Asimismo, se analizó un caso particular de un viajero procedente de Brasil que fue derivado para su estudio al nodo de secuenciación HNRG.

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).

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.

Servicio de laboratorio del Hospital Teresa Germani Laferrere (La Matanza, provincia de Buenos Aires): Anabel Luzio, Gisela Sauco, Mauricio Spacaventto

Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, CONICET-UBA (CABA): Vanesa Seery; Federico Remes Lenicov; Horacio Salomón.

Laboratorio de Inmunología y Virología Clínica; Departamento de Bioquímica Clínica; FFyB y Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires (CABA): Marcelo Rodríguez Fermepin; María Lucía Gallo Vaulet; Analía Patricia Toledano

UFU Hospital Rivadavia (CABA): Andrea Lapeire, Mercedes Borghi, Daniela Naveira, Nelson Solari, María Inés Debas, Marta Ledesma, Larissa Cardoso, Silvia De La Torre, Claudia Brunetti, Juan Manuel Peyran Ponce, Alicia Acro, Marcela Balsarini.

COE COVID -Epidemiología, Ciudad de Buenos Aires: Paula Sujansky, Patricia Angeleri.

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).

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-manau-preliminary-findings/586/2>

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)

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>

Starr y col. 2021. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. *Cell*. 2020 Sep 3; 182(5): 1295–1310.e20. DOI: [10.1016/j.cell.2020.08.012](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.012).

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)