

Reporte nº8 – Provincias de La Pampa, Neuquén y Río Negro –23 de diciembre de 2020

Consorcio interinstitucional para la Secuenciación del genoma y estudios genómicos de SARS-CoV-2 (Proyecto PAIS)

Este informe analiza la circulación de SARS-CoV-2 en tres provincias argentinas patagónicas que se encontraban en distintas situaciones epidemiológicas por lo que abarcan distintos períodos de tiempo. Para el caso de la provincia de La Pampa, el período de análisis comprende desde el 24/7/2020 al 12/10/2020 (SE 30 a 42). Para el caso de las provincias de Río Negro y Neuquén, el período abarca desde el 24/04/2020 al 30/08/2020 (SE 16 a 36).

Debido a la disparidad epidemiológica de cada provincia, los objetivos de este informe son amplios. En el caso de la provincia de La Pampa, la circulación viral solo se presentaba en conglomerados, por lo que el objetivo en esa provincia fue identificar la introducción de linajes genéticos desde otras provincias que ya mostraban circulación comunitaria sostenida.

En el caso de las provincias de Río Negro y Neuquén, durante ese período hubo un paso de circulación en conglomerados a circulación comunitaria, por lo que los objetivos fueron Identificar el establecimiento de *clusters* genéticos de transmisión local y analizar su distribución con respecto a las distintas regiones de esas provincias; así como analizar la relación interprovincial, dado que ambas comparten límites y vías terrestres. Como el Consorcio ya posee datos de secuenciación de meses previos para estas provincias, también se buscó analizar si las nuevas secuencias se relacionaban con las previas y tratar de establecer la interrelación de cada *cluster* con las distintas regiones del país.

Situación epidemiológica durante el período de análisis:

Respecto de la situación epidemiológica de la Nación, durante el período de análisis de este informe, la circulación entre provincias se encontraba restringida. En el siguiente texto se listan algunos de los decretos nacionales que implicaban la prohibición del ingreso desde el exterior, y la disposición del DISPO.

- **16/8/2020** DNU 677/20 Prórroga vigencia DNU N° 297/20, N° 325/20, N° 355/20, N° 408/20, N° 459/20, N° 493/20, N° 520/20, N° 576/20 y N° 605/20 hasta el 30 de agosto inclusive. **Prórroga prohibición ingreso al país hasta el 30 de agosto inclusive (DNU N° 274/20, N° 331/20, N° 356/20, N° 409/20, N° 459/20, N° 493/20, N°520/20, N°576/20, N°605/20 y N° 641/20).** Reitera el Distanciamiento Social Preventivo y Obligatorio para todos los departamentos de la provincia de Neuquén.

- **30/8/2020** DNU 714/20 Prórroga hasta el 20 de septiembre de 2020 inclusive: (i) la vigencia del “DSPO” y el régimen aplicable para el “ASPO”, (ii) cierre de fronteras dispuesta por el Decreto N° 331/20; (iii) la vigencia del Decreto N° 274/20 que dispone la prohibición de ingreso al territorio nacional de personas extranjeras no residentes.

Situación epidemiológica de la provincia de La Pampa durante el período de análisis y descripción del muestreo realizado.

Desde el 21/03/2020 hasta el 13/07/2020, La Pampa notificó la ocurrencia de 8 casos de COVID-19. A partir del mes de julio la notificación creció en forma acelerada. El día 29 de julio se registró un pico de 22 casos en la provincia con fecha de inicio de síntomas en ese día. A partir de allí se sucedieron una serie de brotes en conglomerados.

Al 12 de octubre del 2020, en la provincia hubo un total de 8431 casos notificados, de los cuales 1117 fueron casos confirmados con una positividad acumulada del 13,2%.

Figura 1. Curva epidémica según FIS. La Pampa hasta 13/10/2020

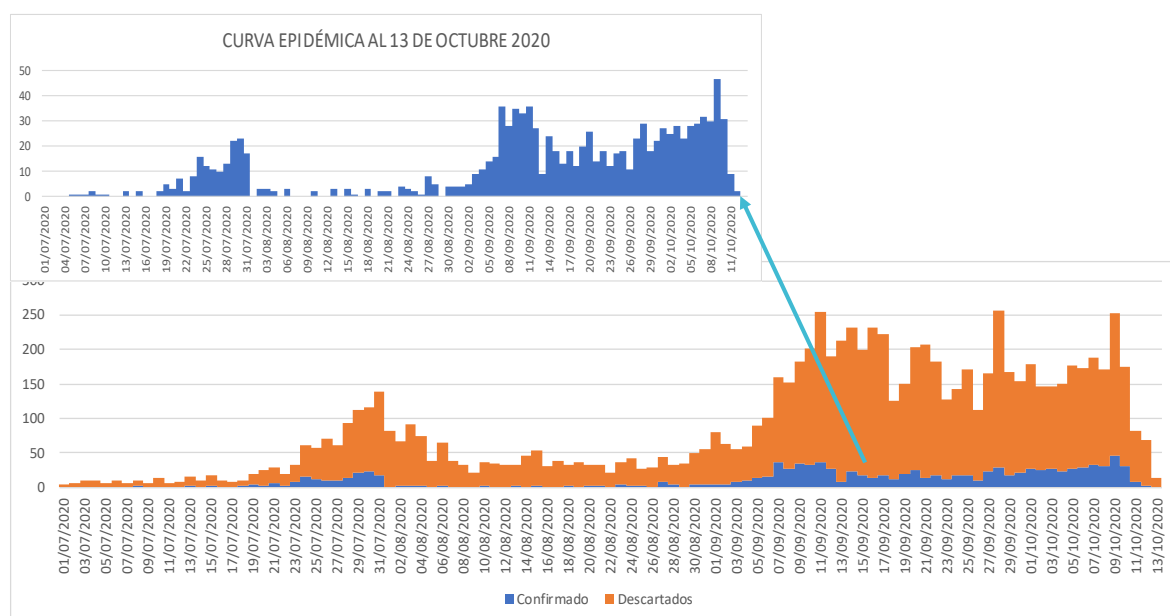


Tabla 1. Casos confirmados y fallecidos según localidad de residencia al 29 de septiembre de 2020. La Pampa.

LOCALIDAD DE RESIDENCIA	CONFIRMADOS	MUESTRAS REALIZADAS	%POSITIVIDAD	ACTIVOS	FALLECIDOS
INTENDENTE ALVEAR	187	714	26,2	13	3
SANTA ROSA	155	2311	6,7	43	1
GENERAL PICO	110	1231	8,9	45	
CATRILO	74	207	10,4		
BERNARDO LARROUDE	64	214	9,0	14	3
25 DE MAYO	61	175	8,5	28	
TOAY	55	400	13,8	15	
REALICO	23	348	6,6	11	
WINIFREDA	23	83	3,2	22	1
MACACHIN	13	68	1,8	2	
QUEMU QUEMU	13	115	1,8	8	
BERNASCONI	11	106	10,4	5	
GENERAL ACHA	9	163	5,5		1
GENERAL SAN MARTIN	7	57	1,0	7	
LA ADELA	6	32	0,8		
EMBAJADOR MARTINI	5	32	0,7	3	
GOBERNADOR DUVAL	3	5	60,0		
GUATRACHE	3	39	7,7		
ABRAMO	2	8	0,3	2	
LONQUIMAY	2	39	0,3	2	
PARERA	2	22	0,3	2	
RANCUL	2	72	2,8		
SARAH	2	11	18,2		
ALTA ITALIA	1	15	0,1		
CONHELO	1	20	0,1		
DOBLAS	1	31	0,1		
SANTA ISABEL	1	12	8,3		
VILLA MIRASOL	1	14	7,1		
RESTO LOC	0	587	0,0		
TOTAL	837	7131	117,2	222	9

Durante los últimos días del mes de julio y los primeros de agosto se desarrollaron brotes de la COVID-19 de distinta magnitud principalmente en las localidades de Catrillo, Santa Rosa, General Pico, General Acha y Macachín.

Al 10/08/2020 la provincia presentaba 177 casos confirmados, de los cuales el 41% tenían residencia en la localidad de Catrillo.

Las primeras muestras que se derivaron para secuenciar correspondieron a los brotes de **Catriló** (N=3) y de **Macachín** (N=2), que según la investigación epidemiológica tenían relación entre sí. El brote de Macachín se inició a partir de la visita a esa localidad de una persona de Catriló. De acuerdo con la investigación epidemiológica, el brote de Catriló se originó por un evento social realizado en un campo de la provincia de Buenos Aires que limita con La Pampa y del cual participaron algunos habitantes de Catriló. En esta misma fecha también comenzaron a aumentar los casos en otras localidades de la provincia. Los casos de Santa Rosa, que comenzaron a fines de julio, se detectaron a partir de contactos estrechos relacionados al brote de Catriló. También el brote en la localidad de General Pico tuvo relación con casos en esta localidad.

A partir del 07/09/2020 comenzaron a aumentar los casos en la localidad de **Intendente Alvear**, llegando a 173 casos confirmados al 21/09/2020; de este brote se seleccionaron un total de **4** muestras para secuenciar.

Intendente Alvear y Larroudé son dos localidades del norte de la provincia que se encuentran a una distancia de 20 km entre ellas. Los primeros casos aparecieron en Intendente Alvear y a los pocos días en **Larroudé**, de los cuales se seleccionaron **2** casos para secuenciar. Durante la investigación epidemiológica no pudo establecerse el nexa epidemiológico del primer caso confirmado en Intendente Alvear. Pero sí muchos de los casos que fueron apareciendo en Larroudé tenían nexa epidemiológico con Intendente Alvear.

La localidad de **Winifreda**, ubicada a 40 km de la capital, comenzó con un brote durante la última semana de septiembre que se extendió hasta mediados del mes de octubre. En la investigación epidemiológica del brote no surgió nexa con el brote de Intendente Alvear-Catriló. El primer caso confirmado en Winifreda fue un paciente masculino mayor de 60 años con comorbilidades, que finalmente fallece. Del estudio de sus contactos se confirma como positiva su cuidadora, que además era cuidadora de otros adultos mayores en la localidad. El nexa epidemiológico de esta mujer era su hijo, transportista que frecuentaba la localidad de Liniers en Buenos Aires, que nunca presentó síntomas y no fue confirmado como caso. De este brote se seleccionaron **3** muestras para secuenciar.

Con respecto a la ciudad de **Santa Rosa**, sólo se enviaron **2** muestras al azar seleccionadas únicamente por tener valores de Ct<30. Una de las muestras se corresponde con una persona de sexo masculino, contacto estrecho de un caso confirmado en la ciudad, y la otra, corresponde a un caso sin antecedentes epidemiológicos de ningún tipo.

Situación epidemiológica de la provincia de Neuquén durante el período de análisis y descripción del muestreo realizado.

Al 31 de agosto de 2020 en la provincia de Neuquén se habían registrado un total de 9185 casos de los cuales, 3159 fueron confirmados, 5428 descartados, y 588 sospechosos. De los 3159 casos confirmados, 1417 correspondían a casos activos, 1689 eran recuperados y 53 habían fallecido.

Tabla 2. Número de casos sospechosos, confirmados, descartados al 31 de agosto de 2020. Neuquén. N= 9185

Casos Sospechosos (N)	Casos Confirmados (N)	Casos Descartados (N)	Total (N)
598	3159	5428	9185

La edad promedio de los casos confirmados 38,8 años (rango 21-98 años), mientras que la edad promedio de personas fallecidas 71,8 años (rango 47-98 años).

Figura 2. Tendencia temporal diaria de casos confirmados. Período 13 marzo al 31 agosto de 2020. Provincia del Neuquén. Fuente: Laboratorio Central en base a datos SISA.

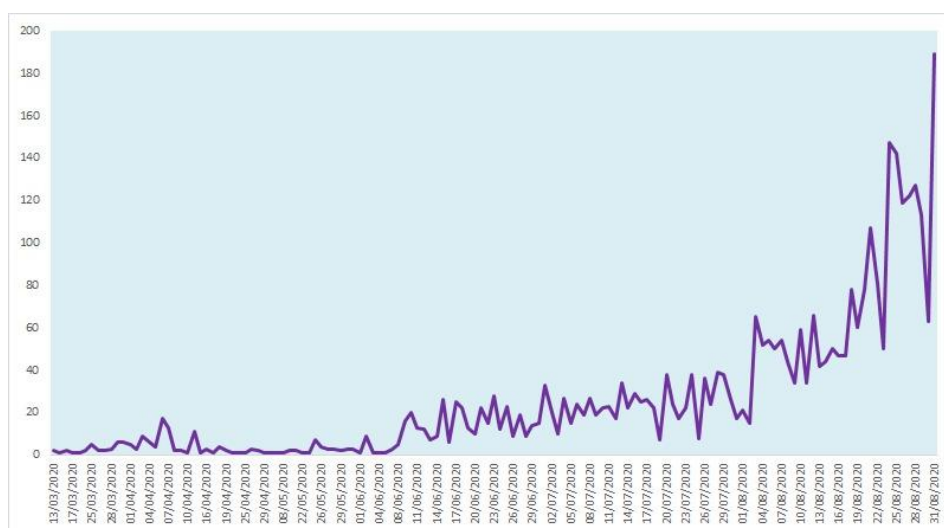
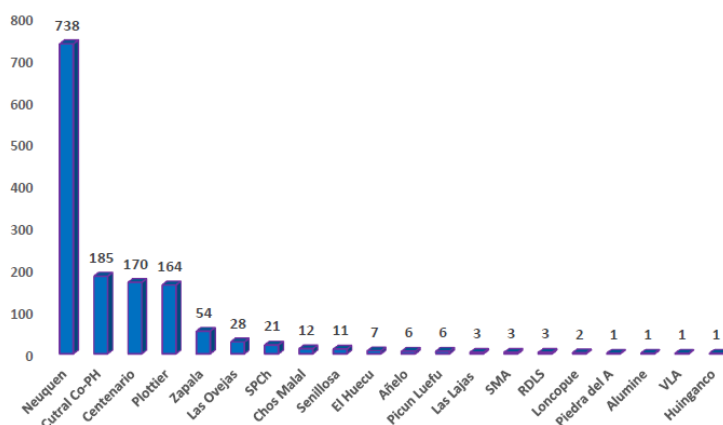


Figura 3. Casos confirmados activos según localidad de residencia al 31 de agosto de 2020. Neuquén. n=1417. Fuente: Comité de Emergencia provincial. Ministerio de Salud de la provincia del Neuquén



En cuanto a la situación de movimiento entre provincias afectadas y la determinación del pasaje de circulación en conglomerado a comunitaria en ciertas localidades de la provincia, se comenta lo siguiente:

Al 3 de junio de 2020 se establece la realización de un aislamiento obligatorio por 14 días para las personas que estuvieran regresando a sus domicilios y procedieran de áreas con circulación viral activa comunitaria (CABA, Provincia de Buenos Aires, Córdoba, Chaco, Río Negro y la Ciudad de Trelew) y cuyo destino final fuera la provincia del Neuquén. Así mismo, para las personas que, por motivos laborales, familiares y de salud, circularan transitoriamente entre las provincias de Neuquén y Río Negro, a solo estaban habilitados a realizar la actividad específica declarada.

A partir del 24 de junio se cambió la definición de caso sospechoso ante la categorización de transmisión por Conglomerado urbano Neuquén Capital, Centenario y Plottier a transmisión comunitaria. Por lo cual, las personas que regresaran de estas localidades y cuyo destino final fuera el resto de las localidades de la provincia del Neuquén debían hacer aislamiento social preventivo por 14 días.

Se seleccionaron **29 muestras** pertenecientes a personas con resultados de hisopados nasofaríngeos confirmados para la COVID-19 por Laboratorio Central de la provincia del Neuquén, con residencia en la provincia de Neuquén y Río Negro. Corresponden a personas cuyo diagnóstico confirmatorio se realizó en el período comprendido entre 24 de mayo y 31 de agosto de 2020.

El criterio de selección de muestras de la provincia para secuenciar consistió en:

- El análisis de diferentes brotes que se presentaron en dicho período:
 - ✓ Fines mayo 2020. Brote en Personal de Fuerzas de seguridad de la Comisaria 82. Balsa Las Perlas, Provincia de Río Negro.
 - ✓ 25/05/2020. Brote Oficina del Correo
 - ✓ 31/05/2020. Brote en Clínica privada de la Ciudad de Neuquén. Caso índice trabajador de salud de la institución, contacto estrecho de caso confirmado (su pareja) trabajador de Subcomisaria 82 de Balsa Las Perlas, provincia de Río Negro.
 - ✓ Julio 2020. Brote Mercado Central de la Ciudad de Neuquén
 - ✓ 24/07/2020. Brote Penal de Senillosa inicialmente en el personal penitenciario con residencia en las provincias de Río Negro y Neuquén y posteriormente en internos del Penal.
 - ✓ 11/08/2020. Residencia de larga estadía para personas mayores en la Ciudad de Neuquén.
 - ✓ 20/08/2020. Localidad de las Ovejas.
- Residentes de localidades con transmisión comunitaria.
- Mala evolución clínica/fallecimiento.

Se indica la siguiente distribución de muestras seleccionadas según localidad: **Neuquén, N=19; Centenario, N=1; Plottier, N=1; Senillosa, N=2; Cutral Có, N=3, Zapala, N=1 y Las Ovejas, N=1**

Situación epidemiológica de la provincia de Río Negro durante el período de análisis y descripción del muestreo realizado.

Al 27 de agosto del 2020, la provincia de Río Negro había analizado un total de 17701 casos sospechosos de la COVID-19, con 5264 casos confirmados, 11859 casos descartados, y el resto en estudio.

Figura 4. Casos confirmados y acumulados por semana epidemiológica al 27 de agosto del 2020.
Río Negro

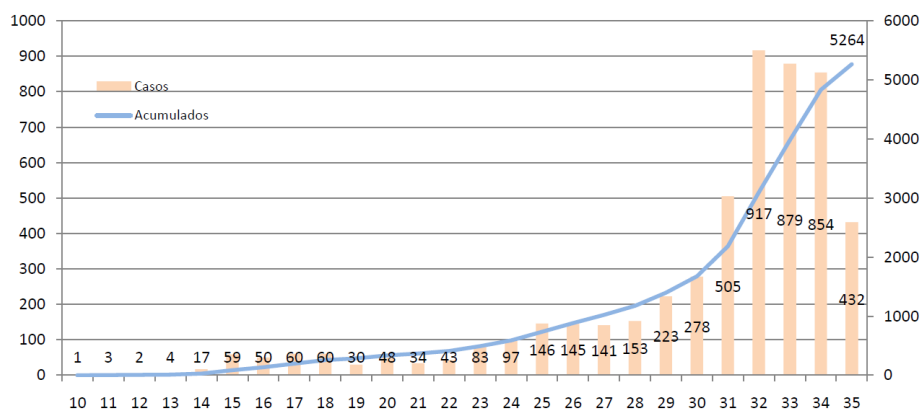


Tabla 3. Casos positivos acumulados, activos y fallecidos según localidad de residencia al 31 de agosto de 2020.

	Activos	No Activos	Positivos Acumulados	Fallecidos
Total Prov.	1781	3332	5264	151
Aguada Guzmán	0		1	1
Allen	81	101	191	9
Barda del Medio	3	1	4	
C. Grande	14	5	19	
Catriel	36	5	41	
Cervantes	22	94	122	6
Chichinales	14	8	22	
Chimpay	5	35	43	3
Choele Choel	8	38	54	8
Cinco Saltos	6	23	30	1
Cipolletti	280	228	527	19
Comallo	0	10	11	1
Cnel. Belisle	0	2	2	
Darwin	2		2	
Dina Huapi	20	53	75	2
El Bolson	2	14	17	1
Gral. Conesa	99	104	206	3
Gral. Enrique godoy	13	10	23	
Fernandez Oro	82	40	128	6
Gral. Roca	356	797	1188	35
G. MITRE	0	1	1	
Ing. Jacobacci	11	102	118	5
Ing. Huergo	74	215	295	6
Lamarque	17	32	49	
Los Menucos	1	2	4	1
L. Beltran	8	20	29	1
Mainque	35	21	57	1
Río Colorado	10	3	13	
San Antonio Oeste	55	30	87	2
S.C. Bariloche	378	1025	1430	27
Valle Azul	1		1	
Viedma	25	3	28	
Villa Regina	107	277	395	12
El Cuy	1		1	
Pomona	0	1	1	
Cerro Policia	1		1	
Arroyo quemquemtreu	12	29	42	1
Villa Manzano	2	3	5	
Colonia Julia y Echarren		1		1

Se seleccionaron un total de **28** muestras provenientes de distintos brotes de la provincia, algunos con circulación en conglomerados y otros con circulación comunitaria establecida, como Bariloche y las localidades del Alto Valle. De la ciudad de **Bariloche** (zona Andina) se seleccionaron un total de **8** casos, de **Jacobacci** (zona Sur) se seleccionaron **2** casos. De la zona del Alto Valle: **General Roca: 5** casos, **Cipolletti: 2** casos, **Villa Regina: 1** caso, **Ingeniero Huergo: 1** caso, **Allen: 1** caso, **Cinco Saltos: 1** caso, **Chinchinales: 1** caso y **Catriel: 1** caso. De la zona Atlántica: **Viedma: 2** casos, **Conesa: 1** caso, **San Antonio Oeste: 1** caso. También se agregó un caso de **Carmen de Patagones** por tener nexo con la ciudad de Viedma, ya que ambas se encuentran separadas sólo por el Río Negro, y las actividades de ambas ciudades están conectadas.

Secuenciación

Los laboratorios y centros de salud y dirección de epidemiología que aportaron las muestras y los datos clínico-epidemiológicos de los pacientes, así como aportaron a la discusión de los resultados aquí presentados son:

1. Laboratorio de la Dirección de Epidemiología (Santa Rosa; provincia de La Pampa): Claudia Rechimont; José Carlos Usero; Matías Villasana.
2. Laboratorio Central de Neuquén, Ministerio de Salud (Neuquén, provincia de Neuquén): Luis Pianciola; Melina Mazzeo; Beatriz Carolina Pintos; María Cecilia Ziehm; María Julio Ousset; Ailén Fernández.
3. Laboratorio Central Sección Virología. Hospital Regional Artemides Zatti (Viedma, provincia de Río Negro): Darío Fabián di Prátula; Antonela De Fino.
4. Laboratorio MICROBIOM (General Roca; provincia de Río Negro): Silvana Cecchi.
5. Hospital Zonal Dr. Ramón Carrillo (San Carlos De Bariloche; provincia de Río Negro): María Laura Álvarez; Yesica Espasandín; Patricia Valeria Blanco.
6. Dirección epidemiología Río Negro: Liliana Fonseca, Marcela Nóbile.
7. Dirección epidemiología La Pampa: Ana Gabriela Bertone.
8. Laboratorio Central de Neuquén-Nodo epidemiológico: María Cecilia Ziehm

Todas las muestras que se analizaron corresponden a extractos de ARN obtenidos de hisopados nasofaríngeos confirmados para la COVID-19 por la técnica de referencia de RT-PCR en tiempo real y que cumplieran con una carga viral medida en valores de Ct que debían estar por debajo de 30. Esto deja abierta la posibilidad de una subestimación de la diversidad de linajes, sobre todo de los casos que son independientes entre sí y no tienen ningún nexo con *clusters* epidemiológicos identificados.

Secuenciación

Los nodos de secuenciación del Consorcio Interinstitucional para la secuenciación de SARS-CoV-2 implicados en este reporte fueron:

1. Laboratorio Central de Neuquén (Ministerio de Salud) (Provincia de Neuquén). Secuenciador Illumina MiSeq. Equipo de trabajo: Melina Mazzeo; Luis Pianciola.
2. Laboratorio de Virología HNRG (CABA). Secuenciador: Illumina NextSeq (Unidad de Investigación Traslacional, HNRG). Equipo de trabajo: Laura Valinotto; Mercedes Nabaes; Stephanie Goya; Mónica Natale; Silvina Lusso; Mariana Viegas, Dolores Acuña, Sofía Alexay.

Se realizaron los controles necesarios para asegurar calidad en cada una de las corridas siguiendo el SOP “Validación de método de secuenciación de muestras de SARS-CoV-2”.

RESULTADOS OBTENIDOS

Resultados obtenidos

Se obtuvieron un total **74** secuencias de SARS-CoV-2 (profundidad promedio ~700X) provenientes de muestras clínicas de pacientes con la Covid-19 distribuidos en tres provincias de la República Argentina: 29 secuencias de Neuquén, 28 de Río Negro y 17 de La Pampa.

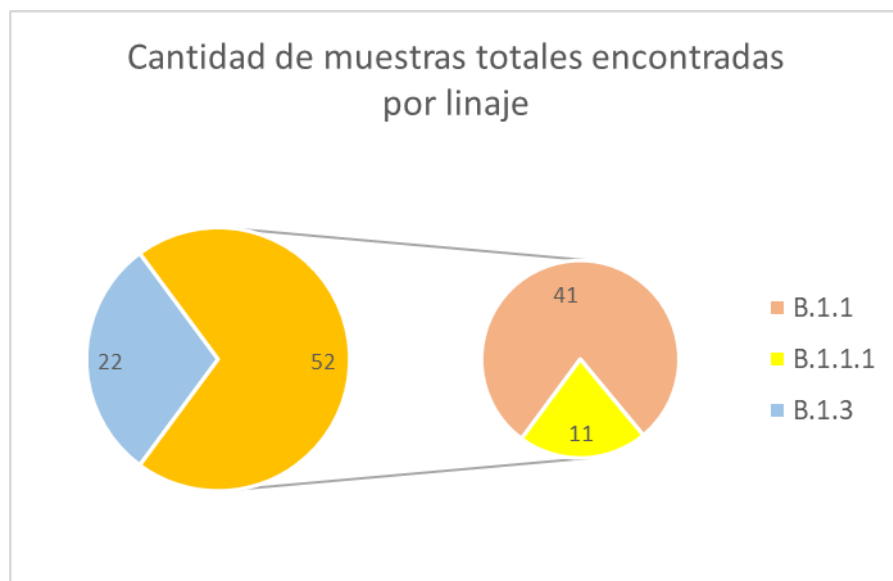
Estas secuencias serán subidas a la base de datos internacional GISAID una vez concluidos los análisis pertinentes relativos a esta etapa, mientras tanto estarán disponibles en un repositorio local al cuál se puede acceder con autorización del proyecto PAIS.

Linajes

Las secuencias del genoma de SARS-CoV-2 obtenidas a partir de individuos infectados de distintos países han sido clasificadas, de acuerdo con cambios nucleotídicos y su agrupamiento filogenético, en dos linajes principales (denominados con letras A y B) y varios linajes internos según la actualización de la clasificación (Lineages versión actualizada al 2020-08-29) (Rambaut y col., 2020; <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.046086>).

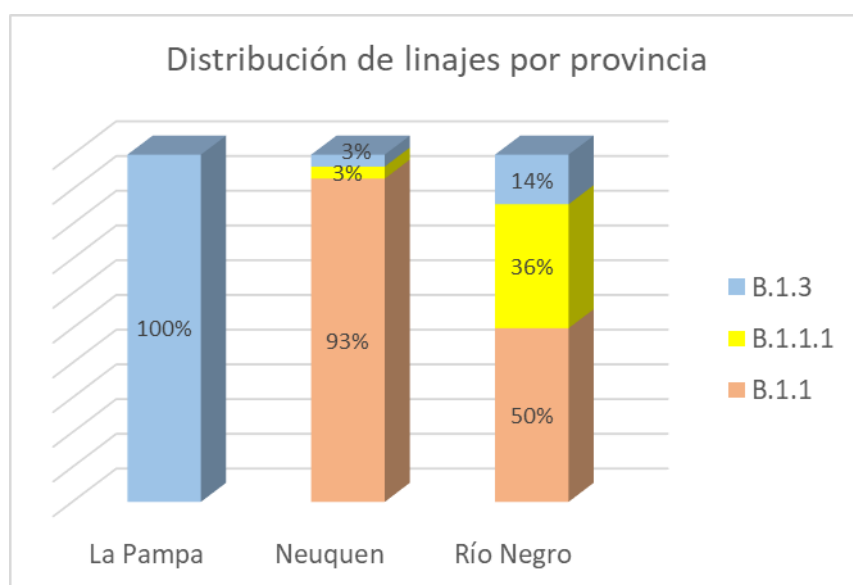
Se realizó la asignación de linajes a través del análisis filogenético descrito en Anexo 1- y el análisis e interpretación de los resultados fueron analizados por los integrantes del Nodo de Evolución y los grupos de trabajo de las provincias implicadas. En la figura 5, se muestra el árbol de asignación de linajes obtenido.

En el total de las muestras, se encontraron representantes de los linajes B.1.1 (52 secuencias – 70%) y B.1.3 (22 – 30%). En particular, de las 52 secuencias del linaje B.1.1, 11 fueron asignadas al linaje derivado B.1.1.1.



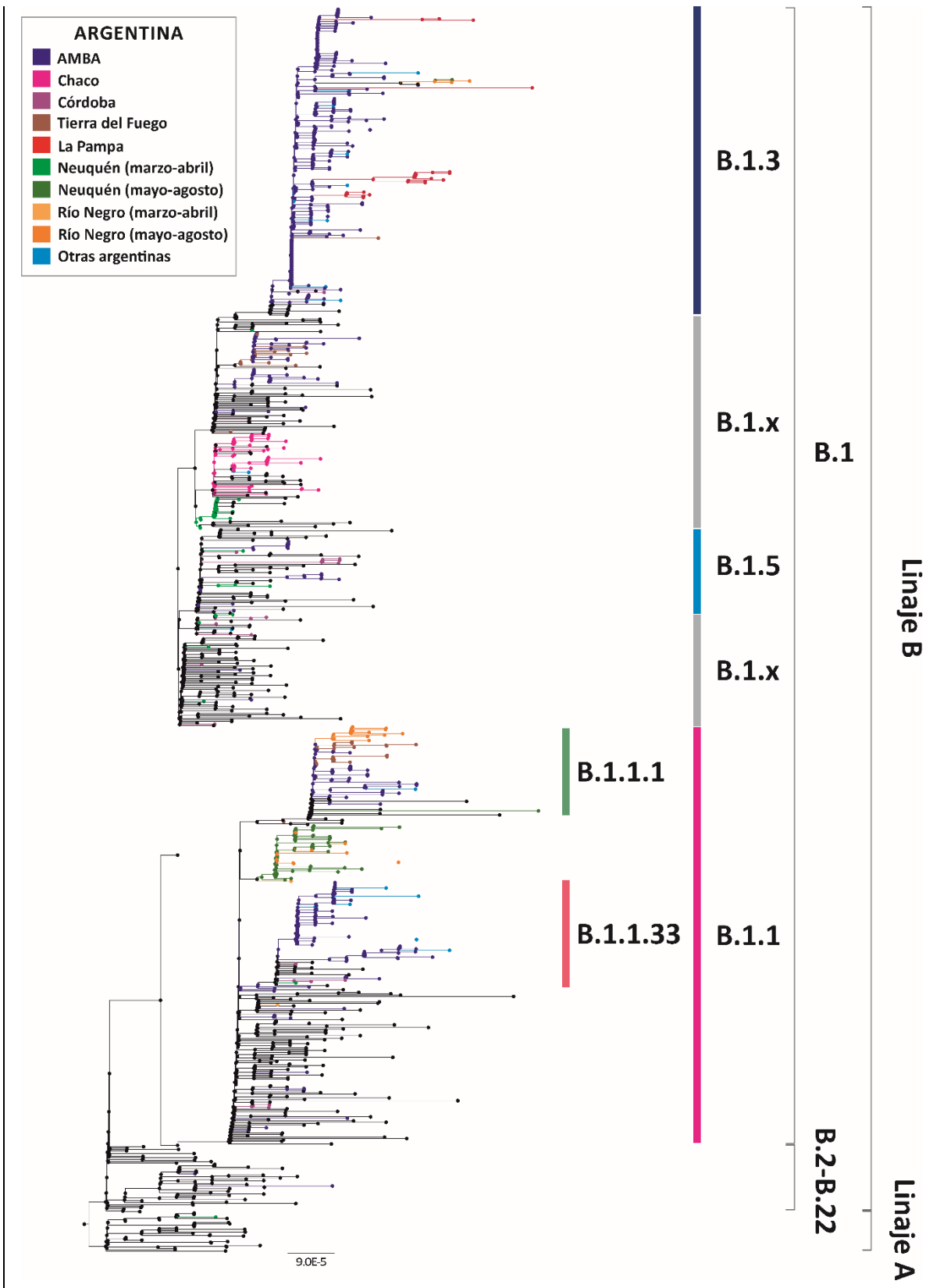
La distribución de los linajes fue particular para cada provincia estudiada. En el caso de La Pampa, la totalidad de las muestras fueron B.1.3. En Neuquén y Río Negro, en cambio, predominó el linaje B.1.1, aunque el linaje derivado B.1.1.1 tuvo mayor presencia en esta última.

El linaje B.1.3 es el único presente en las tres provincias.



Con respecto a la provincia de Neuquén, comparado con el período estudiado en el reporte anterior (10 de marzo – 28 de abril), se puede observar que las secuencias del linaje B.1.1 siguen siendo mayoritarias y se observa una menor cantidad y proporción de linajes minoritarios. Esta observación es congruente con una situación de consolidación de algunos grupos filogenéticos virales en detrimento de otros, a medida que avanza la epidemia.

Figura 5. Árbol filogenético de linajes de SARS-CoV-2, construido como se indica en el texto del Anexo 1. El árbol se enraizó entre los linajes A y B. Con corchetes y barras se indican los linajes derivados del linaje B.



Análisis filogenéticos

La Pampa

Si bien todas las secuencias de la provincia pertenecen al **linaje B.1.3**, se encuentran agrupadas en tres clados (I, II y III) y una muestra aislada (figura 6). Este hecho indica que se produjeron, al menos, cuatro introducciones independientes del virus a La Pampa.

El **clado I (Figura 6.a)** está compuesto por dos muestras de Santa Rosa (A0327 y A0342) provenientes de dos pacientes sin nexo epidemiológico entre ellos, mostrando la posibilidad de transmisión comunitaria en esa ciudad. A su vez éstas comparten un antecesor con muestras de la Provincia de Buenos Aires (PBA) y de la Ciudad de Buenos Aires (CABA), señalando un posible origen para la introducción de este virus, que es concordante con la información epidemiológica reportada. Esta asociación muestra como los linajes que ya estaban establecidos con circulación comunitaria en la primera parte de la pandemia en Argentina pueden haber sido los originantes de los brotes en el interior del país.

El **clado II (Figura 6.b)** está formado por nueve muestras de la provincia, que a su vez se dividen en dos subclados. Uno congrega a seis muestras (A0332-7) de las localidades de Intendente Alvear y Larroudé, ratificando el nexo epidemiológico entre ambas. El otro agrupa tres muestras (A0338-40) de la localidad de Winifreda. Aunque no hay nexo epidemiológico confirmado entre los dos subgrupos, el árbol filogenético muestra que sí tendrían un origen común. Más muestras y estudios más profundos se requieren para determinar el origen geográfico del grupo. De todas formas, sí se puede afirmar que todo el grupo, al igual que el clado I, se relaciona en forma basal con dos muestras localizadas en PBA y CABA.

Cinco secuencias comprenden el **clado III (A0328-31 y A0341)** (Figura 6.b), tres pertenecientes a la localidad de Catrilo y un subgrupo de dos muestras de Macachín. Estos agrupamientos confirman el nexo epidemiológico entre las dos localidades e inclusive también es compatible con la direccionalidad de la transmisión del virus desde Catrilo hacia Macachín. Este clado también comparte un antecesor común con una muestra de CABA, proveniente del barrio 31.

Cabe destacar que la muestra A0341 (Figura 6.d) no se relaciona estrechamente con ninguna de las otras seleccionadas para este estudio, aunque comparte, como los demás clados de la provincia, ancestros comunes con otras muestras de CABA de meses anteriores.

Río Negro – Neuquén

El estudio de estas provincias se realizó en conjunto debido a que muchas de las secuencias de los virus estudiados se encuentran relacionadas. En ambas provincias se encontraron representantes de los tres linajes (B.1.1, B.1.1.1 y B.1.3), aunque el mayoritario fue el B.1.1.

Linaje B.1.1

En este caso, se puede observar un ancestro común para todas las muestras clasificados en este grupo con moderado soporte estadístico (Figura 7), por lo que todas estas muestras podrían estar relacionadas con un único ingreso del virus a las provincias. Para su mejor estudio, dentro de este grupo se caracterizaron seis clados (I-VI) distribuidos en ambas provincias con un soporte estadístico más robusto. Además, puede observarse como cerca del origen del grupo se encuentra una secuencia perteneciente a

una muestra tomada el 20 abril (D0059 – Gral. Roca, Río Negro), en la fase anterior del proyecto e informada en el Reporte PAIS N°2. Este hecho permite afirmar que es uno de los pocos virus detectados en el período anterior que pudo establecerse en estas provincias y que continuó circulando en el período siguiente. Según la investigación epidemiológica, la muestra D0059 corresponde a un trabajador de seguridad caminera de la Ruta Nacional 22 (RN22).

El **clado I** se compone de 12 muestras (F0001, 04, 08, 09, 12, 19, 20, 22, 25, 26, 30 y 54), diez de la provincia de Neuquén y dos de Río Negro. Estos virus se tomaron en cinco localidades, Cutral-Có, Zapala y Neuquén (Neuquén), y Gral. Conesa y Cinco Saltos (Río Negro), que se encuentran conectadas a través de la RN22. El primer caso de este clado se encontró en la ciudad de Neuquén a fines de mayo. A su vez, también se observó diversificación interna con dos subclados con muestras exclusivamente de la provincia de Neuquén. En el caso de F0012 y 19 establece una conexión entre infecciones relacionadas entre distintos centros de salud.

El **clado II** está formado por 6 muestras (F0007, 13, 14, 24, 28 y 52) también pertenecientes a ambas provincias. Estas muestras pertenecían a localidades de Senillosa, Neuquén (Neuquén) e Ingeniero Huergo (Río Negro), e indican la relación de los brotes entre ellas. Las mismas también se conectan a través de la RN22. Las muestras de este clado son contemporáneas con las del clado anterior.

El resto de los clados corresponden a pares de secuencias que en tres de los cuatro casos pertenecen a una sola provincia.

El **clado III** (F0027 y 29) corresponde a las muestras de las localidades de Cutral-Có y Neuquén.

El **clado IV** (F0038 y 57) comprende secuencias de Gral. Roca y Catriel (Río Negro).

El **clado V** (F0006 y 56) es el único de los cuatro pares que está en ambas provincias en las ciudades de Neuquén y San Antonio Oeste (Río Negro). Estas localidades se encuentran a más de 500 km y las muestras fueron tomadas con 80 días de diferencia, por lo que es muy probable que haya eslabones intermedios de la cadena de transmisión no muestreados. Además, la muestra F0006 fue relacionada epidemiológicamente a un brote de la Comisaría de Las Perlas, sin embargo, se encuentra filogenéticamente alejada del resto de los aislamientos virales de ese brote (F0002-5).

El **clado VI** (F0035-6) se encontró en las cercanas localidades de Cipolletti y Gral. Roca (Río Negro).

Linaje B.1.1.1

Con respecto a este linaje, once de las doce muestras pertenecen a un único clado y todas ellas se localizan en Río Negro (figura 8). Además, una muestra única de este linaje se ubica en Neuquén. Esta información indica que, al menos, se produjo una introducción independiente en cada provincia.

Las once muestras del clado (F0041-49) fueron tomadas en las localidades de Bariloche, Jacobacci y Allen. Dos de estas ciudades, Bariloche y Jacobacci, están conectadas por la Ruta Nacional 23, se encuentran distantes entre sí por al menos 200 km y la actividad entre ellas está muy relacionada debido a que desde Jacobacci la población se dirige a Bariloche tanto por razones de salud (estudios complejos, derivaciones médicas) como comerciales. El grupo, es compartido con una secuencia ubicada cerca del origen perteneciente a una muestra tomada el 3 de abril (A0017 – Bariloche, Río Negro), analizada en la fase anterior del proyecto e informada en el Reporte PAIS N°2. Si se observa las fechas en las que fueron

tomadas las muestras secuenciadas, comprenden el periodo desde abril a agosto, por lo que aquí se observa nuevamente continuidad de uno de los virus detectados en el período anterior que pudo establecerse y continuar circulando en el siguiente. Según la investigación epidemiológica, la muestra A0017 pertenece a un agente de la PSA (Policía Aeroportuaria) que habría adquirido la infección en el aeropuerto de Bariloche, brote que fue registrado a principios del mes de abril en esa localidad.

Un subclado interno de moderado soporte, con seis muestras de Bariloche y una de Ingeniero Jacobacci es indicativo de la conexión entre estas ciudades, como fue mencionado previamente.

Por último, la presencia de la secuencia F0023 (Las Ovejas) perteneciente a la provincia de Neuquén, marca la introducción del linaje a esta provincia en forma aislada, y por su localización geográfica, podría sospecharse de un origen distinto a las descritas previamente, como Chile o Mendoza. Cuando se realice la secuenciación correspondiente a la provincia de Mendoza podrá confirmarse o rechazarse esta hipótesis.

Linaje B.1.3

Se identificó un único clado en Río Negro (RN) y Neuquén (Nqn) (clado IV) y está formado por cinco muestras (F0005, 33, 50, 51 y 58) (Figura 6.c). Este, a su vez, presenta dos subclados, uno con secuencias provenientes de Viedma (RN) y Patagones (PBA) y otro con muestras de Viedma y Villa Regina (RN) y Neuquén (Nqn). En este caso es de destacar la relación directa que existe entre las ciudades de Viedma y Patagones, separadas por el Río Negro pero que se comportan como una misma ciudad en cuanto a las actividades comerciales, laborales, sociales, etc. Las ciudades de Villa Regina y Neuquén encuentran relativamente próximas (menos de 100 km) entre sí a través la RN22.

Cabe destacar que este clado, como otros anteriormente reportados en el informe, tiene un origen común con una muestra de la Ciudad de Buenos Aires (A0180).

Figura 6. Árbol filogenético del linaje B.1.3 de SARS-CoV-2.

Linaje B.1.3

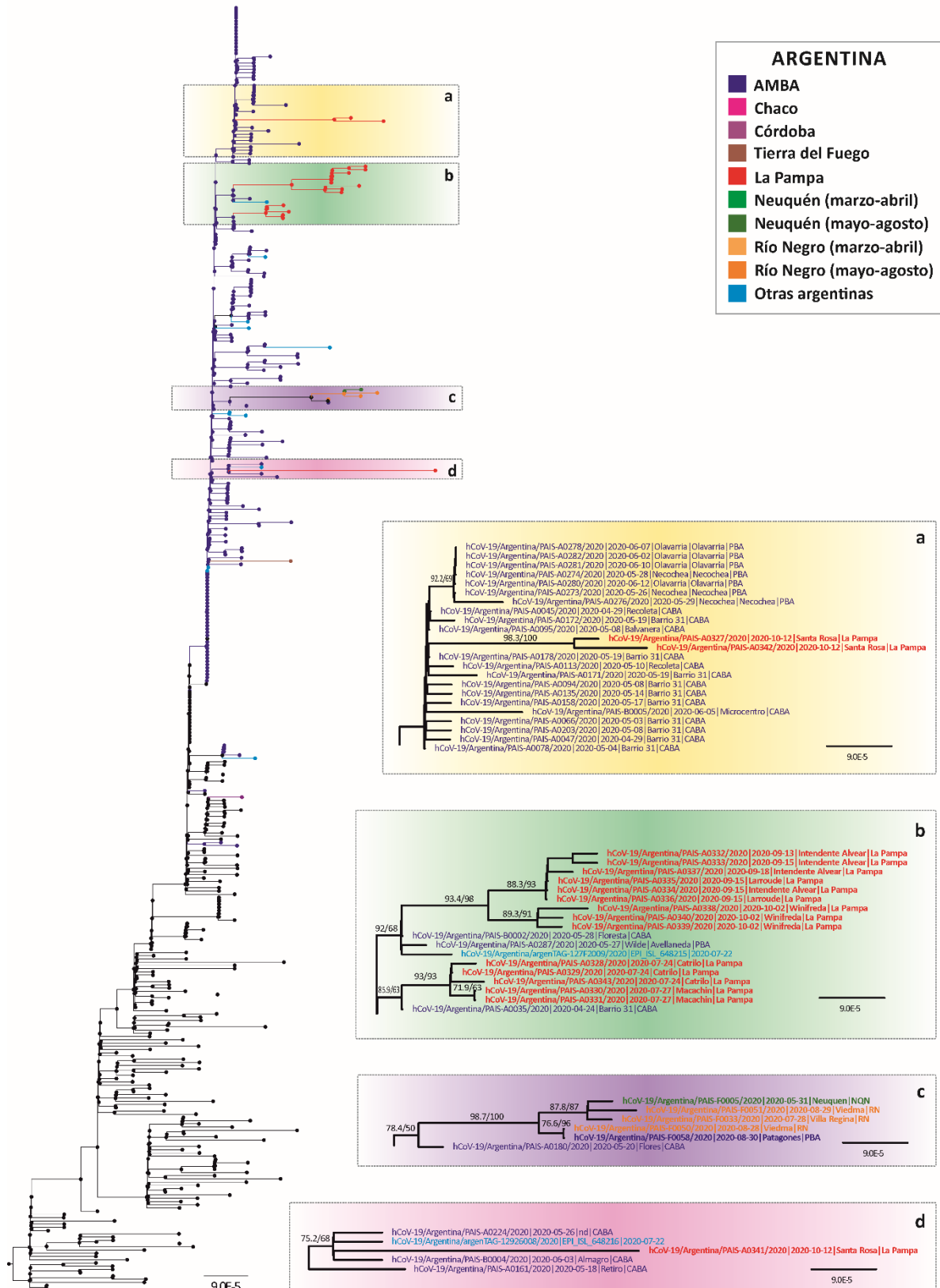


Figura 7. Árbol filogenético del linaje B.1.1 de SARS-CoV-2.

Linaje B.1.1

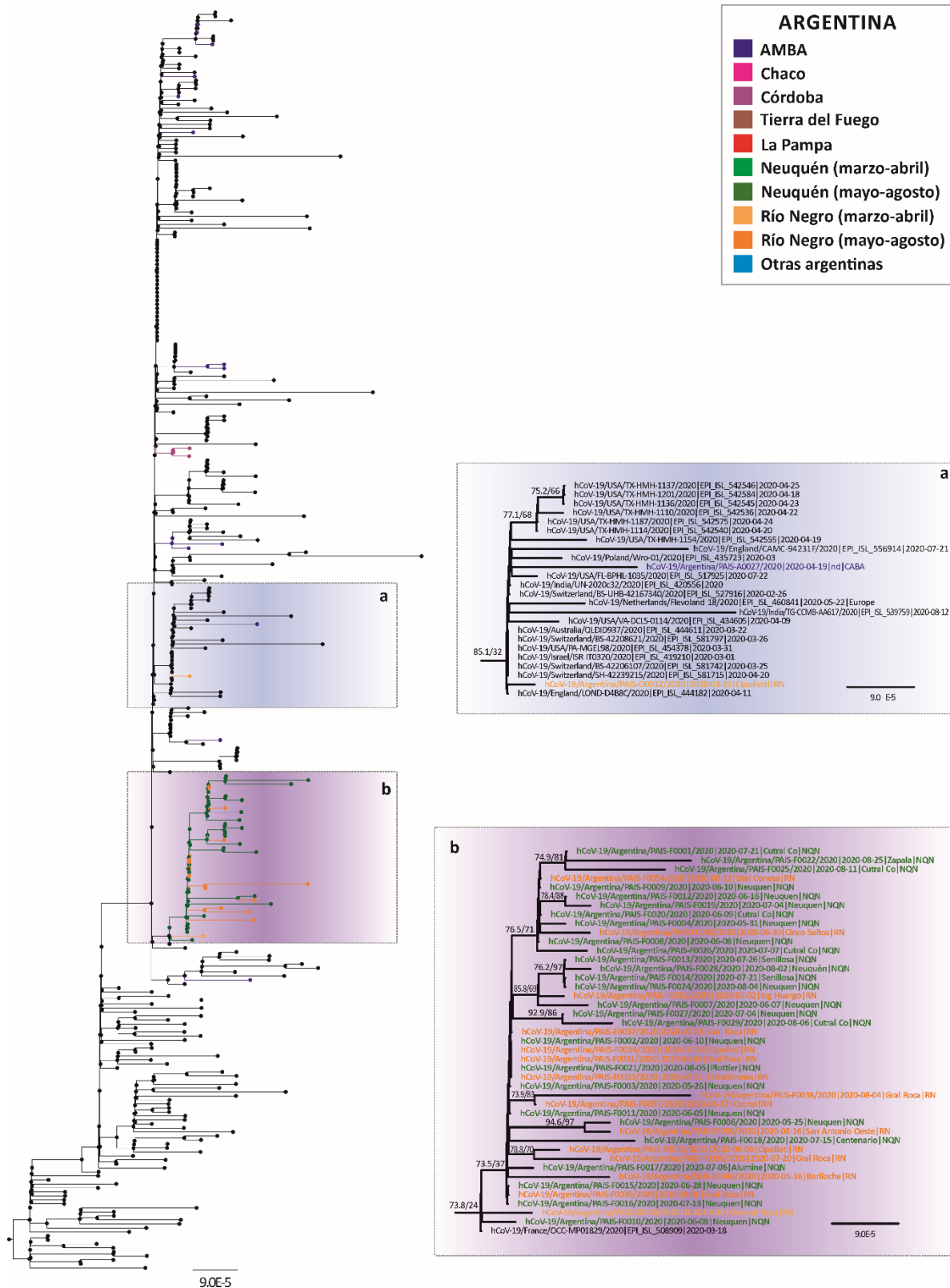
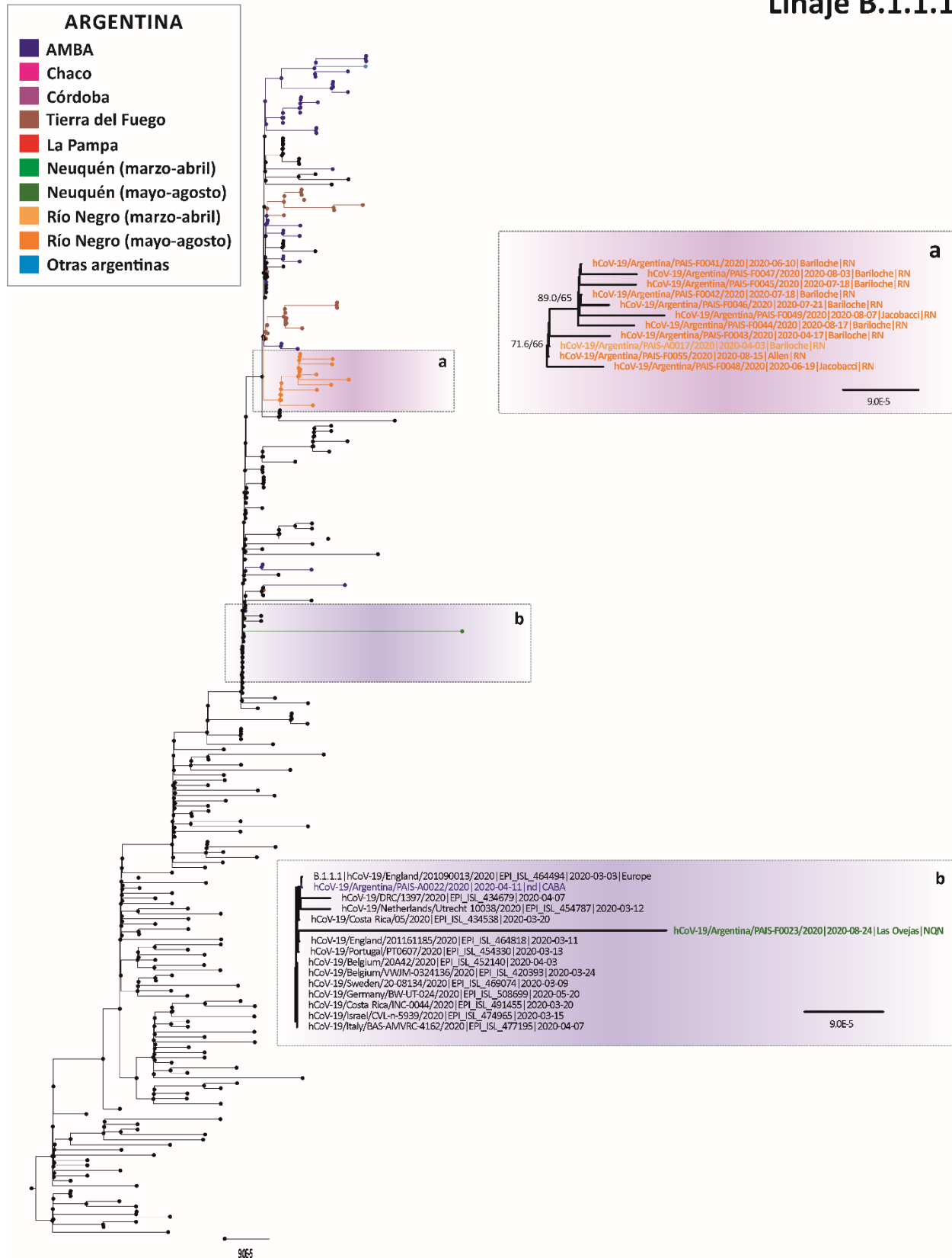


Figura 8. Árbol filogenético del linaje B.1.1.1 de SARS-CoV-2.

Linaje B.1.1.1



Análisis de mutaciones en los genomas virales de SARS-CoV-2 reportadas en este informe que podrían afectar la detección de los métodos diagnósticos moleculares disponibles en el mercado.

Dado que existe gran diversidad de métodos moleculares disponibles en el país para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, cada uno con sondas y cebadores específicos localizados en diferentes regiones del genoma, se analizó la presencia de mutaciones en dichas regiones. Este análisis se pudo realizar sólo para aquellos métodos que tienen la información disponible.

Se analizaron los cebadores y sondas de los siguientes test:

- Protocolo de Charité, Berlín. Genes reconocidos: E, N y RdRp
(https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2)
- Protocolo de The University of Hong Kong. Genes reconocidos: N y RdRp.
(https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf?sfvrsn=af1aac73_4)
- Protocolo de CDC Estados Unidos. Gen reconocido: N (regiones N1 y N2)
(<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>)
- Protocolo de CDC China. Genes reconocidos: ORF1ab y N
(http://ivdc.chinacdc.cn/kyjz/202001/t20200121_211337.html)
- Protocolo de Ministry of Public Health, Tailandia. Gen reconocido: N
(https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/conventional-rt-pcr-followed-by-sequencing-for-detection-of-ncov-rirl-nat-inst-health-t.pdf?sfvrsn=42271c6d_4)
- Protocolo de National Institute of Infectious Diseases, Tokio, Japón. Gen reconocido: N
(https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/method-niid-20200123-2.pdf?sfvrsn=fbf75320_7)
- Protocolo de Institut Pasteur, Paris. Genes reconocidos: E y RdRp.
(https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)
- Protocolo de KiCqStart de Sigma-Aldrich. Gen reconocido: S
(<https://www.sigmaaldrich.com/covid-19/main-es.html>)

Se reconocieron las secuencias nucleotídicas de los cebadores y sondas utilizando el algoritmo BLASTn a través de la aplicación de un script desarrollado en el nodo bioinformático del Consorcio. Se registraron las mutaciones encontradas en los genomas argentinos, cuya ubicación es reportada en este informe con respecto a la cepa de referencia hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019:

- La Pampa:
 - Se detectaron dos genomas con la mutación a29182g, donde se ubican la región de detección del cebador sentido de N2 del protocolo del CDC Estados Unidos y la región de detección de la sonda del gen N del protocolo de la Universidad de Hong Kong.
 - Se detectaron tres genomas con la mutación c29218t, donde se ubica la región de detección de la sonda de N2 del protocolo del CDC Estados Unidos.
 - Se detectó un genoma con la mutación g29240a, donde se ubican la región de detección del cebador anti sentido del gen N del protocolo de la Universidad de Hong Kong y también la región de detección de la sonda del gen N del protocolo de Japón.

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

- Se detectaron dos genomas con la mutación g14186a, donde se ubica la región de detección del cebador anti sentido del gen RdRp del protocolo del Instituto Pasteur.
- Neuquén y Río Negro:
 - Se detectó un genoma con la mutación c28310t, donde se ubica la región de detección de la sonda de N1 del protocolo del CDC de Estados Unidos.
 - Se detectaron cinco genomas con la mutación g28321t, donde se ubican la región de detección de la sonda de N1 del protocolo del CDC de Estados Unidos, y la región de detección del cebador sentido del gen N del protocolo de Tailandia.
 - Se detectaron 51 genomas con la mutación ggg28881aac, donde se ubica la región de detección del cebador sentido del gen N del protocolo del CDC de China.
 - Se detectó un genoma con la mutación t29164c, donde se ubica la región de detección del cebador sentido del gen F del protocolo de la Universidad de Hong Kong.

Cabe aclarar que la presencia de estas mutaciones no implica necesariamente una disminución en la sensibilidad de dichos métodos.

Detalle de las sustituciones no sinónimas (cambios aminoacídicos) en las proteínas codificadas en los genomas obtenidos a partir de las secuencias de La Pampa, RN y NQN

Para determinar las sustituciones no sinónimas en comparación con la cepa de referencia hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019 se utilizó un script desarrollado en conjunto por el Nodo Bioinformático, la herramienta CoV-surver y se corroboraron mediante inspección visual de las secuencias. Los cambios fueron comparados con los reportados en secuencias de SARS-CoV-2 a nivel mundial utilizando la herramienta COV-GLUE de GISAID. En concordancia con la presencia exclusiva del linaje B en las cepas virales estudiadas, todos los genomas de SARS-CoV-2 poseen la mutación Spike/D614G, asociada a mayor transmisibilidad tanto en modelos in vitro como en hamsters infectados experimentalmente con las variantes virales 614G y 614D (Korber et al., BioRxiv April 30, 2020. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.05.20.104885>; Plante, J.A., Liu, Y., Liu, J. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2895-3>). Asimismo, todas las secuencias poseen la mutación NSP12 (RdRp)/P323L -previamente asociada con un potencial poder mutagénico mayor del SARS-CoV-2 por estudios bioinformáticos- (Eskier, D. et al. PeerJ vol. 8 e10181. 12 Oct. 2020, doi:[10.7717/peerj.10181](https://doi.org/10.7717/peerj.10181); Chand, G.B. Et. al. PeerJ vol. 8 e9492. 3 Jul. 2020, doi:[10.7717/peerj.9492](https://doi.org/10.7717/peerj.9492))

La Pampa

La proteína de superficie Spike (S) del SARS-CoV-2 es considerada el blanco principal en las inmunoterapias para el tratamiento de COVID-19, y para el diseño de vacunas (Salvatori, G. et al, *J Transl Med* 18, 222 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02392-y>). En 10 de las 17 secuencias de La Pampa se observaron los siguientes cambios en Spike: H49Y (1), E654Q (9), T1027I (6). En 6 secuencias relacionadas de Intendente Alvear y Larroudé, se observó co-ocurrencia de las mutaciones Spike_E654Q y Spike_T1027I. Estos cambios se habían observado previamente en forma individual en secuencias de SARS-CoV-2 a nivel mundial, pero es la primera vez que se observan juntos en los mismos genomas. En los análisis filogenéticos, se observa que las secuencias de SARS-CoV-2 aisladas en Winifreda están relacionadas con las de Intendente Alvear y Larroudé. Siendo las secuencias de Winifreda las más recientes, podría pensarse en la introducción de una cepa viral en Intendente Alvear/ Larroudé y posterior diseminación hacia Winifreda, con pérdida de la mutación Spike_T1027I durante el proceso de evolución viral en esa región.

Cambio	Gen / Posición	Número de secuencias	Región
MUTACION	Spike_E654Q	3	Winifreda
MUTACION	Spike_E654Q + Spike_T1027I	6	Intendente Alvear y Larroudé
MUTACION	Spike_H49Y	1	Santa Rosa
MUTACION	Spike_D614G	17	todas
MUTACION	NSP12 (RdRp)_P323L	17	todas

Río Negro y Neuquén

La proteína de superficie Spike (S) del SARS-CoV-2 es considerada el blanco principal en las inmunoterapias para el tratamiento de COVID-19, y para el diseño de vacunas (Salvatori, G. et al, *J Transl Med* 18, 222 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02392-y>). En 9 secuencias de NQN y RN se observaron los siguientes cambios en Spike: A626S, R21T, G75V, Q957L y N925D. El cambio más frecuente fue Spike_A626S, presente en 5 secuencias filogenéticamente relacionadas obtenidas de individuos residentes en Viedma, Carmen de Patagones, Villa Regina o Neuquén. Los otros cambios en Spike se observaron en secuencias aisladas.

Otros cambios de interés son las inserciones o deleciones en proteínas virales, las cuales podrían afectar la función de las mismas. En 40 de las 56 secuencias analizadas se observó una deleción de 30 nucleótidos en la región codificante para la proteína NSP3 que resulta en la pérdida de 10 aminoácidos (NSP3_del387-396). Esta “huella molecular” demuestra que a partir de un primer caso identificado en Genral Roca el 20 de abril se propagó la infección en forma comunitaria a lo largo de toda la región patagónica estudiada.

Cambio	Gen / Posición	Número de secuencias	Región
DELECIÓN	NSP3_del387-396	40	múltiples
INSERCIÓN	NSP6_ins36F	1	Neuquén
MUTACION	NSP3_Y1595STOP	1	Gral Roca
MUTACION	Spike_A626S	5	Viedma, Carmen de Patagones, Villa Regina, Neuquén
MUTACION	Spike_R21T	1	Cutral Có
MUTACION	Spike_G75V	1	Centenario
MUTACION	Spike_Q957L	1	Las Ovejas
MUTACION	Spike_N925D	1	Jacobacci
MUTACION	Spike_D614G	56	todas
MUTACION	NSP12 (RdRp)_P323L	56	todas

CONCLUSIONES GENERALES

En este informe se reportan **74** secuencias de SARS-CoV-2 provenientes de muestras clínicas de pacientes con la COVID-19 distribuidos en tres provincias de la República Argentina: 29 secuencias de Neuquén, 28 de Río Negro y 17 de La Pampa.

El período de análisis para el caso de la provincia de La Pampa, comprende desde el 24/7/2020 al 12/10/2020 (SE 30 a 42). Para el caso de las provincias de Río Negro y Neuquén, el período abarca desde el 24/04/2020 al 30/08/2020 (SE 16 a 36).

En la provincia de La Pampa se observó la circulación de un solo linaje (B.1.3) ampliamente distribuido en el AMBA, especialmente en la CABA, en el periodo de marzo-junio. Se observaron al menos cuatro introducciones independientes de este linaje a la provincia, con tres de ellas asociadas al desarrollo de *clusters* de transmisión viral en áreas circunscritas compatibles con la información epidemiológica registrada (circulación en conglomerados).

En la provincia de Neuquén se observó la presencia de tres linajes (B.1.1, B.1.3 y B.1.1.1) con fuerte predominio del B.1.1, cuya circulación está asociada posiblemente con una sola introducción, ya observada desde los primeros meses de pandemia (Reporte PAIS N°2), y que es compartida con ciertas ciudades de la provincia de Río Negro, pertenecientes al Alto Valle del Río Negro, y que se encuentran comunicadas por la RN 22. En este grupo se observaron varios eventos de diversificación compatibles con circulación sostenida y con la información epidemiológica registrada.

En la provincia de Río Negro se observó la presencia de tres linajes (B.1.1, B.1.3 y B.1.1.1) con una distribución geográfica particular para cada uno. Las muestras del linaje B.1.1 (provenientes de la zona del Alto Valle y zona Atlántica) se asociaron con secuencias de la provincia de Neuquén, mientras que las secuencias del linaje B.1.1.1 se encontraron principalmente en la zona Andina (Bariloche) y zona Sur (Jacobacci), se asociaron a un caso estudiado en el Reporte de PAIS N° 1 y mostraron circulación sostenida desde los primeros meses de la pandemia, y por su parte, las secuencias del linaje B.1.3 provinieron de las ciudades de Villa Regina, Viedma y Carmen de Patagones (PBA).

Cabe destacarse que el análisis comparativo con la primera etapa de estudio de secuencias de esta región del país permitió establecer que, en la mayoría de los casos, los *clusters* genéticos encontrados inicialmente no mostraron circulación en este período, por lo que se contuvo su circulación, como es el caso de las secuencias de la provincia de Neuquén analizadas en el Reporte PAIS N° 2. Sin embargo, en otros casos se observó que secuencias del período anterior se relacionaron en forma basal a las del nuevo período, lo que implica que esas introducciones sí se establecieron en la población y continuaron circulando en forma sostenida desde entonces.

Se detectaron algunos cambios nucleotídicos en zonas de reconocimiento de métodos de diagnóstico molecular de los que se dispone información, sin embargo, la presencia de estas mutaciones no implica necesariamente una disminución en la sensibilidad de dichos métodos.

Por último, se encontraron algunos cambios aminoacídicos en distintas regiones del genoma viral, algunos de ellos en la región que codifica para la proteína *Spike*, en secuencias provenientes de las tres provincias. A su vez, una secuencia de Neuquén mostró relación filogenética con secuencias de Viedma, Carmen de Patagones y Villa Regina a través de la presencia de una mutación compartida en la proteína Spike (Spike_A626S). Por otro lado, se encontró una delección en el genoma viral asociada a un cluster genético de circulación sostenida en las provincias de Río Negro y Neuquén (NSP3_del387-396), apoyando la idea de que todas tendrían un ancestro en común. Este cluster genético contiene en forma predominante a las

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

secuencias más recientes de estas localizaciones y resulta de especial interés para su seguimiento en posteriores periodos. Estos hallazgos, por el momento, resultan observaciones de vigilancia epidemiológica molecular y serán analizados en los siguientes períodos para estudiar su posible relevancia en nuestra población.

ANEXO 1

Análisis filogenéticos

Las secuencias de Argentina fueron analizadas junto con secuencias de referencia de distintos linajes (<https://github.com/hCoV-2019/pangolin>) y secuencias con mejor score de alineamiento por BLAST (entre 10 hits por secuencia query, contra la base de datos de GISAID al 21-10-2020). Los alineamientos se construyeron con el programa MAFFT (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) con parámetros por *default*. El modelo evolutivo apropiado se seleccionó con ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017, <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>) de acuerdo con criterio de Información Bayesiano y los análisis filogenéticos se realizaron por Máxima Verosimilitud con el programa IQ-TREE v.2.0.6 (Minh y col., 2020, <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>). Se utilizaron los métodos de Ultrafast bootstrap Approximation (10000 réplicas) (Hoang y col., 2018, <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>) y SH-like approximate likelihood ratio test (1000 réplicas) (Guindon et al., 2010, <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>) como métodos para evaluar la confiabilidad. En las ramas de los árboles (Figuras 2-6) se indican los valores de SH-like/UFB para los grupos relevantes.

Nota

Este informe no solo busca mostrar los resultados de las secuencias provenientes de una región de nuestro país, obtenidos por los Nodos de Secuenciación de la provincia de Neuquén y de la CABA, sino que intenta reflejar la forma de trabajo interdisciplinaria propuesta en el proyecto. Por lo que los datos reportados resultan de la interacción de distintos nodos como los de secuenciación, el bioinformático, de evolución y el invaluable aporte de los epidemiólogos de cada lugar. Intenta demostrar que las diferentes áreas se pueden enriquecer y complementar del trabajo interdisciplinario colaborativo. Asimismo, muestra la posibilidad de tener centros de secuenciación genómica descentralizados en distintas regiones del país que irán generando habilidades a través de la interacción mutua a medida que este proyecto avance.

A continuación, se listan todos los integrantes del mismo.

Consortio del Proyecto PAIS (Proyecto Argentino Interinstitucional de genómica de SARS-CoV2)

Nodo Central: grupo de investigación del Laboratorio de Virología Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG), dirigido por la Dra. Mariana Viegas, Investigador Responsable del proyecto.

Equipo de trabajo: Laura Valinotto; Mercedes Nabaes; Stephanie Goya; Mónica Natale; Silvina Lusso; Mariana Viegas.

Nodos de secuenciación:

- 1- Laboratorio de Virología HNRG (CABA). Secuenciadores Illumina NextSeq y Nanopore Minlon. Equipo de trabajo: Laura Valinotto; Mariana Viegas; Mercedes Nabaes; Stephanie Goya; Mónica Natale; Silvina Lusso, Sofía Alexay, Dolores Acuña.
- 2- Biocódices (CABA). Secuenciador Illumina MiSeq. Equipo de trabajo: Hernan Dopazo; Jeremias Zubrzycki; Tatiana Itzcovich; Juan Manuel Berros.
- 3- IABIMO-INTA Castelar (Provincia de Buenos Aires). Secuenciador Illumina MiSeq y Nanopore Minlon. Equipo de trabajo: Andrea Fabiana Puebla; Andrea Verónica Peralta; Marisa Diana Farber; Ana Julia Distéfano; Marianne Graziel Muñoz Hidalgo; Norma Paniego; Mónica Fass; Viviana Cecilia Pedroarias; Sebastián Asurmendi
- 4- HRU, UNTDF y CADIC-CONICET (Provincia de Tierra del Fuego). Secuenciador Illumina MiSeq. Equipo de trabajo: Santiago Ceballos; Ivan Gramundi; Cristina Nardi; Fernando Gallego.
- 5- EEA Rafaela del INTA-CONICET (Provincia de Santa Fe). Secuenciador Nanopore Minlon. Equipo de trabajo: María Florencia Eberhardt; Cecilia Camussone; Matías Irazoqui; Ariel Amadío.
- 6- Laboratorio Central de Neuquén (Ministerio de Salud) (Provincia de Neuquén). Secuenciador Illumina MiSeq. Equipo de trabajo: Melina Leonor Mazzeo; Luis Alfredo Pianciola.
- 7- IPAVE-CIAP-INTA (Provincia de Córdoba). Secuenciador Nanopore Minlon. Equipo de trabajo: Franco Fernández; Humberto Debat, Nathalie Marquez.
- 8- Laboratorio Mixto de Biotecnología Acuática (LMBA), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR) y Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de Santa Fe. Secuenciador Nanopore Minlon. Equipo de trabajo: Silvia Arranz; Vanina Villanova; Victoria Posner; Elizabeth Tapia; Pilar Bulacio; Joaquín Ezpeleta; Ignacio García Labari; Javier Murillo; Flavio Spetale; Laura Angelone; Agustina Cerri.

Nodos bioinformáticos:

1. Laboratorio de Virología HNRG (CABA). Equipo de trabajo: Stephanie Goya.
2. IQUIBICEN e IC - CONICET y Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Equipo de trabajo: Adrián Turjanski, Ezequiel Sosa, Jonathan Zaiat.
3. IABIMO-CICVyA-INTA-CONICET (Provincia de Buenos Aires). Equipo de trabajo: Maximo Rivarola, Sergio Gonzalez, Paula del Carmen Fernández, Sofia Bengoa Luoni, Diego Zavallo, Marco Cacciabue .
4. Biocódices (CABA). Equipo de trabajo: Hernán Dopazo, Jeremias Zubrzycki, Juan Manuel Berros
5. HRU, UNTDF y CADIC-CONICET (Provincia de Tierra del Fuego). Equipo de trabajo: Santiago Ceballos, Ivan Gramundi.
6. EEA Rafaela-INTA-CONICET (Provincia de Santa Fe). Equipo de trabajo: Ariel Amadio, Matías Irazoqui.
7. Instituto de Cálculo - CONICET y Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Equipo de trabajo: Darío Fernández Do Porto, Florencia Castello, Agustín Pardo, Federico Serral.
8. IQUIBICEN - CONICET y Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Equipo de trabajo: Marcelo Martí, Claudio Schuster.
9. EEA Rafaela-INTA-CONICET (Provincia de Santa Fe). Equipo de trabajo: Ariel Amadio, Matías Irazoqui.
10. Laboratorio Central de Neuquén (Ministerio de Salud, Provincia de Neuquén). Equipo de trabajo: Carolina Pintos.
11. Cátedra de Virología de Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA (CABA). Equipo de trabajo: Andrés Culasso.
12. CIFASIS-CONICET/UNR y Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura, UNR. Equipo de trabajo: Elizabeth Tapia.

Nodos de evolución:

1. Laboratorio de Virología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (CABA): Mariana Viegas, Stephanie Goya, Mercedes Nabaes.
2. Cátedra de Virología de Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA (CABA): Carolina Torres, Andrés Culasso, Laura Mojsiejczuk, María Dolores Blanco Fernandez, Débora Marccone, Viviana Mbayed, Rodolfo Campos, Lucia Vicenta Cavallaro.
3. Laboratorio de Biología Celular y Retrovirus, UVEM. Hospital Garrahan (CABA): Paula Aulicino.
4. INTA-IABIMO-Evolución (CABA): Guido König, Laura Lozano Calderón.
5. FCEN-UBA / IQUIBICEN CONICET (CABA): Darío Do Porto, Agustín Pardo, Claudio Schuster.
6. HRU, UNTDF y CADIC-CONICET (Provincia de Tierra del Fuego): Santiago Ceballos, Iván Gramundi.
7. Laboratorio Central de Neuquén (Ministerio de Salud) (Provincia de Neuquén): Carolina Pintos.
8. IPAVE-CIAP-INTA (Provincia de Córdoba): Humberto Debat.
9. IBR-CONICET/UNR y Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR: Adriana Giri

Nodos de análisis epidemiológico:

1. Dirección de epidemiología HNRG: Dra. Angela Gentile, Dra María Florencia Lución, Dra. María del Valle Juárez.
2. Laboratorio Central de Neuquén (Ministerio de Salud): María Cecilia Ziehm
3. Dirección epidemiología Rio Negro: Liliana Fonseca, Marcela Nobile.
4. Dirección epidemiología La Pampa: Ana Gabriela Bertone.
5. Dirección de epidemiología Chaco: Antonieta Cayre, Laura Lescano.

6. Dirección de epidemiología Mendoza: Andrea Falaschi, Carlos Espul.
7. Dirección de epidemiología Chubut: Teresa Estrella
8. Dirección de epidemiología Jujuy: Fabiana Vaca

Laboratorios y Centros de Salud de diagnóstico de COVID-19 y que aportan las muestras de los casos positivos, así como los datos clínico-epidemiológicos:

1. 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; Mariana Campal; Karina Zacarías; Cristian Díaz; Oscar Luna; Cristian Turchiaro; Julián Cipelli; Guillermo Thomas; Carla Medina; Natalia Labarta.
2. 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; Maria Lucia Gallo Vaulet; Analia Patricia Toledano.
3. Unidad de Virología, Centro de Educación Médica en Investigaciones Clínicas "CEMIC" (CABA): Marcela Echavarría.
4. Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, CONICET-UBA (CABA): Vanesa Seery; Federico Remes Lenicov; Horacio Salomón.
5. Hospital Alemán (CABA): Eugenia Ibañez; María Paula Della Latta; Natalia García Allende.
6. Laboratorio Swiss Medical Group (CABA): Silvia Vicario; Omar Sanchez; Darío Guevara.
7. Laboratorio de Hospital El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner (Florencio Varela, provincia de Buenos Aires): Martin Zubieta; Marilina Rahhal.
8. Plataforma de Servicios Biotecnológicos; UTTIPP/PSB (Bernal, provincia de Buenos Aires): Alejandro Castello; Hernán Farina; Sandra Goñi; Georgina Cardama; Norailys Lorenzo; Humberto Lamdan; Marcelo Mandile; Alejandra Zinni; Gustavo Bada.
9. Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos "Evita" (Lanús; provincia de Buenos Aires): Isabel Desimone; Erica Luczak; Omar Grossi; Lorena Serrano; Alejandra Musto.
10. Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos "Eva Perón" (San Martín, provincia de Buenos Aires): Claudia Kairiyama; Graciela Radczuk; Mariana Carulla; Claudia Pengue; Carolina Piñeyro; Cecilia Corigliano; Santiago Rampulla
11. Hospital Pedro Fiorito (Avellaneda, provincia de Buenos Aires): Estela Susana Outon; Gabriela Garcia; Mariana Cicero; Martina Belluchi; Yamila Martin; Noelia D'alessandro; Valeria Burani; Liliana Gomez; Renata De matteo; Dariana Pedrozza.
12. Laboratorio de genética y biología molecular Hospital de trauma y emergencia Dr. Federico Abete (Malvinas Argentinas, provincia de Buenos Aires): Ivana Primost; Maria Inés Gallino
13. Instituto de Virología, INTA Castelar (Castelar, provincia de Buenos Aires): Ariel Pereda; Karina Trono.
14. 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; Ramiro Agüero.
15. 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.

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

16. Unidad de Diagnóstico COVID-19, Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP, Provincia de Buenos Aires: Carolina Gabriela Aspitia; Nadia Analía Fuentealba; María Emilia Bravi; Carlos Javier Panei; Marco Tizzano; Gastón Andrés Moré; Magdalena Rambeaud; Javier Origlia; Gabriela Rudd; Carlos Golijow. Juan Manuel Unzaga; Marcelo ItaloPecoraro
17. Laboratorio Vacunas Salud (VacSal) del Instituto de Biotecnología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata-CONICET, Provincia de Buenos Aires: Nicolás Ambrosis; Pablo Martin Aispuro; Keila Belhart; Daniela Bottero; Magalí Gabrielli; Alejandra Giordano; Aníbal Lodeiro; Erika Rudi; Eugenia Zurita y Daniela Hozbor.
18. Instituto Nacional de Epidemiología "Dr. Jara" (Mar del Plata, provincia de Buenos Aires): Irene Pagano; Osvaldo Uez; Carlos Jose Cimmino.
19. Departamento de Biología y genética molecular; IACA Laboratorios (Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires): Estefanía Tittarelli; Ariel Suárez; Edgardo Raul Streitenberger; María Verónica Masciovecchio.
20. Laboratorio de Biología Molecular. Hospital Dr. Héctor Cura (Olavarría, provincia de Buenos Aires): Julieta Spina; Natalia Ghiano; María Belén Zaffanella; Rosario Turrina
21. Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas, UNNOBA (Junín, provincia de Buenos Aires): Carolina Cristina; Laura Alaniz; Virginia Pasquinelli; Laura Palumbo; Ina Sevic; Rodrigo Hernández del Pin; Fiorella Spinelli; Gianina Demarchi; Daiana Vitale; Antonella Icardi; Chiara Cassarini; Paolo Rosales; Sofia Perrone; Nadia Bonadeo; Sofia Valla; Agustina Chimento; Alejandro Moroni; Micaela Castro; Alejandra Fernández; Angela Barbero; Laureano Español; Lorenzo Morro; Natalia Menite; Gastón Villafañe; Lucía Romano; María Gracia Balbi; Alejandra Brandone y Natalí Bagnis.
22. Laboratorio del Hospital Zonal Especializado Materno Infantil "Argentina Diego" de Azul, Provincia de Buenos Aires: Guillermina; María Belén Arpaia; Farinella Bagnozzi y Santiago Hernán Gauna.
23. Laboratorio de Virología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires (UNCPBA): Guillermina Dolcini; Sandra Perez; Victoria Nieto Farias y Carolina Ceriani.
24. Laboratorio Central de Neuquén, Ministerio de Salud (Neuquén, provincia de Neuquén): Luis Pianciola; Melina Mazzeo; Beatriz Carolina Pintos; María Cecilia Ziehm; María Julio Ousset; Ailén Fernández.
25. Laboratorio Central Sección Virología. Hospital Regional Artemides Zatti (Viedma; provincia de Río Negro): Darío Fabián Di Prátula; Antonela De Fino
26. Laboratorio MICROBIOM (General Roca; provincia de Río Negro): Silvana Cecchi.
27. Hospital Zonal Dr. Ramón Carrillo (San Carlos De Bariloche; provincia de Río Negro): María Laura Álvarez; Yesica Espasandin; Patricia Valeria Blanco.
28. MEDLAB Laboratorios (Puerto Madryn; provincia de Chubut): Mariana Useglio; Conrado Arbeletche; Cecilia Calderón.
29. Laboratorio de Patologías Prevalentes y Epidemiología del Hospital de Trelew (Trelew, provincia de Chubut): Diana Berry.
30. Laboratorio de Salud Pública de Tierra del Fuego y Laboratorio de Hospital Regional (Ushuaia; provincia de Tierra del Fuego): IvanGramundi; Manuel M Boutureira; Gabriel A. Castro; Carina De Roccis.
31. Laboratorio de la Dirección de Epidemiología (Santa Rosa; provincia de La Pampa): Claudia Rechimont; José Carlos Usero; Matías Villasana.
32. Laboratorio Central (Santa Fe; provincia de Santa Fe): Carlos Pastor; Guillermo Ojeda; Gabriela Rompató; Viviana Mugna.

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

33. Centro de Tecnología en Salud Pública; Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Santa Fe. Responsables: Ana Laura Cavatorta; Julián Acosta; Eduardo Codino.
34. Laboratorio de Biología Molecular; Hospital-Escuela “Eva Perón”, Rosario, Santa Fe. Responsables: Pamela Cribb; Esteban Serra, Juan Rossi; Eduardo Gregorini).
35. Laboratorio de Análisis Clínicos, Sanatorio Adventista del Plata, Villa Gral San Martín, Entre Ríos: Gisela Dupertuis.
36. Laboratorios Nanni (Paraná; Entre Ríos): Luisina Riera; Raúl Azcoaga.
37. Laboratorio Central, Ministerio de Salud (Córdoba, provincia de Córdoba): Gabriela Barbas; Gonzalo Castro.
38. Instituto de Virología “Dr.J.M.Vanella” Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba (provincia de Córdoba): Viviana Ré, María Belen Pisano
39. Inmunología del Hospital Perrando e Instituto de Medicina Regional de la UNNE (Resistencia, provincia de Chaco): María Delia Foussal; Gerardo Deluca; Natalia Andrea Ayala; María Verónica Gómez; Gustavo Giusiano; Horacio Lucero y Marcelo Marin.
40. Laboratorio Central De Redes y Programas (Ministerio de Salud) (Corrientes, provincia de Corrientes): Natalia Ruiz Díaz; Gerardo Andino.
41. Laboratorio de Salud Pública (San Miguel de Tucumán, provincia de Tucumán): Mariana B. Salmerón; Ana Maria Zamora; Gustavo Ruiz de Huidobro; Dardo E. Costas; Graciela Alabarse.
42. Laboratorio Central de Salud Pública (San Salvador de Jujuy, provincia de Jujuy): Miguel Alejandro Charre; Ariel David Fridman; Claudia Mamani; Fabiana Vaca.
43. Laboratorio Nuestra Señora de Fátima, Palpalá, Provincia de Jujuy. Directora técnica: Liliana Beatriz Fellner, Julián Ortega Tolay; Nilda Carolina Rodríguez; Marcelo Isidro Figueroa; Nicolás Arturo Trigo.