

Reporte N°13: Vigilancia activa de variantes de SARS-CoV-2 en el AMBA. Actualización al 28/01/2021.

RESUMEN

Se realizó la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike* de 132 muestras del AMBA. En ninguna de ellas se detectó las mutaciones marcadoras de la variante VOC 202012/01 (UK), de la variante 501Y.V2 (Sudáfrica), ni de la variante 501Y.V3 (Manaos). Se detectó la mutación S_E484K, característica de la variante de Río de Janeiro (P.2), en siete muestras.

Hasta el momento, sobre un total de 322 muestras analizadas a través de la vigilancia activa de variantes, solo se ha detectado la presencia de la variante VOC 202012/01 (UK) en un caso importado procedente de UK, y otros 13 casos sospechosos de pertenecer a la variante de Río de Janeiro (P.2) por presentar la mutación S_E484K. Tanto el caso de la variante VOC 202012/01 como cuatro de los casos de la variante de Río de Janeiro fueron confirmados por secuenciación del genoma completo y tres más de este último grupo se encuentran en proceso de secuenciación. Por otro lado, no se ha detectado aún en nuestro país ni la variante 501Y.V2 (Sudáfrica), ni la 501Y.V3 (Manaos).

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

Dese el mes de diciembre cuatro variantes virales del SARS-CoV-2 han llamado la atención de la comunidad científica y de los gobiernos nacionales:

- La **variante 501Y.V1** (linaje B.1.1.7) o variante **VOC 202012/01**, que fuera detectada por primera vez en el **Reino Unido** el 20/09/2020 (previamente nombrada “VUI 202012/01”, o informalmente denominada “nueva cepa”, “variante de Londres”, “variante UK”) (*Rambaut y col., 2020*). Esta variante ya ha sido reportada, al día 26 de enero de 2021, en 63 países (26 con reportes de transmisión local), incluidos Argentina, Brasil, Chile, Ecuador y Perú dentro de América del Sur.

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

- La **variante 501Y.V2** (linaje B.1.351) o variante **VOC 202012/02**, detectada en **Sudáfrica** desde el 08/10/2020, también conocida como “variante de Sudáfrica”, “variante SA” o “20C/501Y.V2 (South Africa variant)” (*Tegally y col., 2020*). A la fecha, esta variante ha sido reportada en 26 países hasta el momento (7 con reportes de transmisión local), ninguno de América del Sur.
- La **variante 501Y.V3** (linaje P.1, derivado del linaje B.1.1.28) o variante **VOC 202101/02**, cuya muestra más temprana corresponde al día 04/12/2020, detectada en Brasil (Manaos, Estado de Amazonas) (*Faria y col., 2021*). Actualmente, esta variante ha sido reportada en 8 países, aunque solo Brasil detectó transmisión local y es el único con reportes dentro de América del Sur.
- La **variante de Río de Janeiro** o **variante P.2** (derivada del linaje B.1.1.28), detectada en Río de Janeiro, Brasil, desde octubre de 2020 (*Voloch y col., 2020*). Actualmente, esta variante ya ha sido reportada en 9 países, incluida la República Argentina.

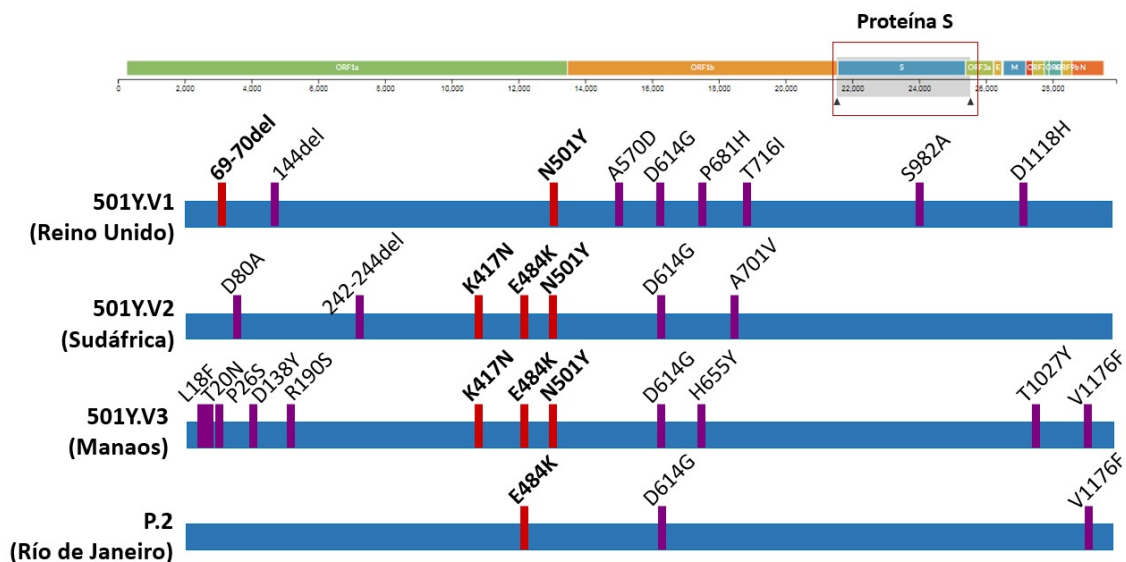


Figura 1: Representación esquemática de los cambios aminoacídicos en el gen de la proteína *Spike* de SARS-CoV-2 que son característicos de las variantes de interés para la vigilancia epidemiológica.

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), **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

PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2

neutralización por anticuerpos monoclonales neutralizantes y sueros policlonales de convalecientes (*Weisblum y col., 2020; Liu y col., 2020, Greaney y col, Baum y col., 2020*).

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 de un total de 81 muestras del laboratorio de virología de diagnóstico del HNRG provenientes de pacientes del AMBA (tomadas entre el 05/01/2021 y el 18/01/2021); 28 muestras provenientes específicamente de los municipios de Hurlingham e Ituzaingó (del 28/11/2020 al 09/01/2021); y 20 muestras provenientes de los municipios del GBA sur (Lanús, Lomas de Zamora, Almirante Brown y Avellaneda, del 28/12/2020 al 14/01/2021). Todas las muestras correspondieron a casos de circulación comunitaria y en la sección “Materiales y métodos” se encuentra una descripción detallada de las mismas.

Se estudiaron además tres casos provenientes de individuos que habían regresado de viaje a través del aeropuerto de Ezeiza, dos provenían de Brasil y del tercero no se tiene información; estos casos correspondieron a la primera quincena de enero.

Resultados:

Se observó la presencia de la mutación **S_E484K en siete de 132 secuencias (cuatro de CABA, dos del GBA sur, y un viajero que regresó de Brasil)**. Tres de estas siete muestras se encuentran en proceso de secuenciación de su genoma completo. Esta mutación, como se mencionó previamente, es la única mutación del gen S en la variante de Río de Janeiro y es una de las tres mutaciones marcadoras de las variantes de 501Y.V2 (Sudáfrica) y de 501Y.V3 (Manaos). En ninguna de las 132 secuencias parciales de SARS-CoV-2 se observó la mutación S_N501Y característica de las variantes 501Y.V1 (Reino Unido), 501Y.V2 (Sudáfrica) y 501Y.V3 (Manaos).

Conclusión:

La vigilancia activa de las variantes de SARS-CoV-2 realizada entre el 14/12/2020 y el 18/01/2021, a través de la estrategia propuesta en nuestro Consorcio, permitió demostrar que sobre un total de 322 muestras secuenciadas de la CABA, GBA y ciudad de Santa Fe (reportes N° 9 al 13), no se ha detectado aún, en casos de circulación comunitaria, el conjunto de los cambios marcadores exclusivos de la proteína *Spike* de la variante VOC202012/01 (UK), ni de las variantes 501Y.V2 (Sudáfrica) o 501Y.V3 (Manaos). Solo se detectó la variante VOC202012/01 (UK) en un caso de un argentino residente en UK que ingresó al país el 21/12/2020, realizó la cuarentena correspondiente y se hizo la investigación epidemiológica del vuelo en el que ingreso desde el exterior. Por otro lado, en 13 muestras de la CABA o del GBA se detectó el cambio S_E484K compatible con la variante de Río de Janeiro (P.2), lo que muestra una frecuencia de aproximadamente el 4% en la población estudiada. La pertenencia

PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2

al grupo de esta variante ya fue confirmada a través de la secuenciación del genoma completo de cuatro de las muestras mencionadas y otras tres se encuentran en proceso. 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. Los resultados obtenidos permitirán determinar si estas variantes ingresaron antes de las medidas restrictivas de ingreso al país de individuos del extranjero. 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 (HNRG), durante el periodo comprendido entre 05/01/2021 y el 18/01/2021 se procesaron 4294 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, 775 resultaron positivas para SARS-CoV-2 a través de qRT-PCR para los genes N1 y N2 (CDC). Se seleccionaron un total de 81 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.

En el caso de laboratorios de diagnóstico del GBA, se tomó un caso particular a partir de la observación realizada por Laboratorio de Diagnóstico de la UNAHUR responsable de la vigilancia en la zona de Hurlingham e Ituzaingó, que tuvo desde el 22/11/2020 al 07/12/2020 un porcentaje de positividad diaria en promedio del 30% y a partir de las semanas comprendidas entre el 08/12/2020 y el 12/01/2021 ese porcentaje subió en promedio al 41%. Por lo tanto, se decidió hacer una selección de casos positivos en ese periodo de tiempo. Sobre un total de 2735 casos sospechosos para la COVID-19 analizados en ese periodo, 1076 resultaron positivos, de los mismos se seleccionaron 28 muestras que poseían carga viral traducida en valores de Ct menores a 30. Las muestras fueron enviadas al nodo de secuenciación HNRG para la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike*.

Se continuó estudiando el caso del Hospital Interzonal de Agudos “Evita” de Lanús que mantiene un promedio de positividad del 68% desde el 26/12/2021. En esta oportunidad, sobre un total de 1991 casos sospechosos para la COVID-19 analizados entre el 26/12/2021 y el 14/01/2021, 1341 resultaron positivos, de los mismos se seleccionaron al azar 20 muestras que poseían carga viral traducida en valores de Ct

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

menores a 30. Las muestras, provenientes de las localidades de Almirante Brown, de Lomas de Zamora, de Avellaneda y de Lanús, fueron enviadas al nodo de secuenciación HNRG para la secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína *Spike*.

Se analizaron tres casos de personas que habían ingresado al país a través del aeropuerto de Ezeiza. Uno fue un viajero residente en La Plata que regresó de Brasil durante la primera quincena de enero, **otro es un ciudadano brasilero que estaba de paso en Tandil donde presentó síntomas compatibles con COVID y se le realizó el diagnóstico en esa ciudad el 13 de enero.** Y el tercero es un argentino que ingresó a través del aeropuerto de Ezeiza, resultó positivo por el test de saliva y posteriormente fue confirmado en el Hospital Elizalde el 11 de enero.

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; 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 del Hospital Interzonal General de Agudos “Evita” (Lanús, Provincia de Buenos Aires):** Isabel Desimone, Erica Luczak, Omar Grossi, Lorena Serrano, Alejandra Musto. **Laboratorio de Diagnóstico de la UNAHUR (Universidad de Hurlingham, Hurlingham, provincia de Buenos Aires):** María José Dus Santos, Daniela Vega, Adriana Fernandez Souto, Marcela Pilloff, Marina Mozgovej, Maria Natalia Calienni, Maria del C Lorenzo, Angélica María Ramirez Londoño, David Ybarra, Aldana Trotta, Pablo Raies, Juan Manuel Velazquez, Blanc Daiana Sofia, Cristina Belén Serrano, Brenda Gimeno, Sabrina Amalfi, Vanina Saraullo, Camila Frydman, Luis Castillo, Valeria Marsal, Didier Garnham Mercedes, Boero Carolina Jazmín, Germán Albornoz, Angel German Arias. **Laboratorio de salud pública, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP (La Plata, provincia de Buenos Aires):** Rosana Isabel Toro; Andrés

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

Angelletti; V́ictoria Cabassi; Victoria Nadalich; Andŕes Cordero; Carina Tersigni; Laura Delaplace. **Laboratorio de Biología Molecular Hospital Pedro de Elizalde (CABA):** Javier Indart, Jaqueline Rocovich, Luciana Montoto Piazza, Gretel Wenk, Maŕa Eugenia Mart́n, Maŕa Florencia Sanchez, Paulina Marchetti, Franco Morandi, Maria Laura Sueiro, Aldana Claps, Laura Bressan, Federico Joś Torres, Julián Chamorro, Julieta Gondolessi, Marisa Lorena Ǵomez, Belen Carolina Diaz, Daiana Rosales, Florencia Alegre, Natalia Zamora, Emilce osaba, Eugenia Paez. **Laboratorio de Virología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires (UNCPBA) (Tandil, provincia de Buenos Aires):** Guillermina Dolcini; Sandra Perez; Victoria Nieto Farias y Carolina Ceriani.

Fondos:

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

Referencias:

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

Greaney y col. Comprehensive mapping of mutations to the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human serum antibodies. *bioRxiv* DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.12.31.425021>

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

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

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

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

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



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

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

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>