

Reporte N°9: Vigilancia activa de variantes de SARS-COV-2 en la ciudad de Buenos Aires.

26/12/2020

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

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

- La **variante VOC 202012/01** (linaje B.1.1.7), cuya muestra más reciente fue detectada en el **Reino Unido** el 20/09/2020 (previamente nombrada “VUI 202012/01”, o informalmente como “nueva cepa”, “variante de Londres”, “variante UK”, “20B/501Y.V1 (UK variant)”) (*Rambaut y col., 2020*). Esta variante ya ha sido reportada en Reino Unido, Dinamarca, Singapur, Australia, Países Bajos, Suecia, España, Suiza, Líbano, Francia, Israel, Italia, Japón, Islandia, Bélgica y Alemania.
- La **variante 501Y.V2** (linaje B.1.351), detectada en **Sudáfrica** desde el 08/10/2020, también conocida como “variante de Sudáfrica”, “variante SA” o “20C/501Y.V2 (South Africa variant)” (*Tegally y col., 2020*). Esta variante ha sido reportada en Sudáfrica y Reino Unido.
- La **variante de Río de Janeiro** (derivada del linaje B.1.1.28), detectada en Río de Janeiro, Brasil, desde octubre de 2020 (*Voloch y col., 2020*).

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

Para determinar la posible circulación de estas variantes en nuestro país, se requiere una vigilancia activa de las variantes genéticas del SARS-CoV-2, ya sea a través de la secuenciación del genoma completo, o mediante el análisis de secuencias parciales que incluyan marcadores genéticos de interés. Por lo tanto, el Consorcio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2 a través del Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG) (Nodo Secuenciación HNRG), realizó la secuenciación parcial de la región que codifica para la proteína S del SARS-CoV-2 a partir de una selección de 39 muestras positivas para SARS-CoV2 en el Laboratorio de Virología del HNRG entre el

PROYECTO ARGENTINO INTERINSTITUCIONAL DE GENÓMICA
DE SARS-CoV-2

14/12/2020 y el 18/12/2020, correspondientes a casos de circulación comunitaria en la CABA y de turismo.

En ninguna de las 39 secuencias parciales de SARS-CoV-2 se observó la mutación S_N501Y característica de las variantes VOC202012/01 de UK o 501Y.V2 de Sudáfrica. Tampoco se encontraron otros cambios propios de la variante VOC202012/01 en el gen S. Es importante mencionar, que en **cuatro** de las **39 secuencias** se observó presencia de la mutación **S_E484K**. La misma es una de las tres mutaciones marcadoras de la variante de Sudáfrica, y también se encuentra como única mutación del gen S en la variante de Río de Janeiro. Aunque el hallazgo es interesante, se requiere secuenciar el genoma completo del SARS-CoV-2 para determinar si se trata de variantes con el mismo origen. Por otro lado, el Consorcio Argentino continuará con la vigilancia activa aumentando el número de secuencias parciales de SARS-CoV-2, especialmente en virus de circulación comunitaria de distintas regiones del país, a fin de identificar mutaciones de relevancia que den indicios de la circulación de alguna de estas tres nuevas variantes.

La relevancia del monitoreo de las mutaciones en regiones específicas del gen S radica en que el dominio de unión al receptor (RBD) es el principal blanco de los anticuerpos neutralizantes que aparecen durante la infección por SARS-CoV-2. El residuo 484 de la proteína S se encuentra localizado en el motivo de unión al receptor (RBM) e interacciona directamente con el receptor humano hACE2 (Lan y col., 2020). **La mutación S_E484K está presente en la variante 501Y.V2 (Sudáfrica) y en la de Río de Janeiro, pero es poco común a nivel mundial y mostró indicios de relacionarse con adaptación al hospedador (Tegally y col., 2020).** Esta mutación también se asoció con resistencia a la neutralización por anticuerpos monoclonales neutralizantes y sueros policlonales de convalecientes (Weisblum y col., 2020; Liu y col., 2020, Baum y col., 2020).

Conclusión:

A la par de seguir caracterizando los genomas de SARS-CoV-2 que circulan en diferentes regiones del país, consideramos importante seguir realizando la vigilancia molecular en tiempo real sobre los casos de circulación comunitaria con la estrategia planteada en este reporte dado que es factible que estas variantes hayan ingresado antes de las medidas restrictivas tomadas en los últimos días.

Materiales y Métodos

En el periodo de tiempo comprendido entre 14/12/2020 y el 18/12/2020 en el Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG) se procesaron 2.321 muestras de hisopados nasofaríngeos (HNF) provenientes de personas con sospecha de la COVID-19 atendidas en distintas Unidades Febriles de Urgencia (UFU) de la Ciudad de Buenos Aires. Del total de las muestras, 181 resultaron positivas para SARS-CoV-2 a través de qRT-PCR para los genes N1 y N2 (CDC). De las mismas, 71 corresponden a pacientes residentes de la CABA (barrios de Almagro, Barracas,

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

Balvanera, Caballito, Colegiales, Constitución, Monserrat, Palermo, Recoleta, San Cristóbal, Villa Devoto, Villa Soldati y Villa Urquiza).

Muestras seleccionadas para este análisis:

Se seleccionaron un total de 36 muestras de HNF sobre las 71 totales positivas de la CABA en base a sus cargas virales traducidas en valores de Ct menores a 30 para la caracterización genética de un segmento del gen de la proteína Spike (S).

Asimismo, se analizaron tres muestras de saliva positivas para SARS-CoV2 provenientes de individuos con antecedente de viaje denominados "TURISMO". De las mismas, una corresponde a individuo que ingresó al país por el aeropuerto de Ezeiza el día 17/12 y dos corresponden a individuos que se acercaron al CEC vehicular ubicado detrás de la Facultad de Derecho de la UBA y que corresponden a turismo local (del 17/12).

Estrategia de secuenciación empleada:

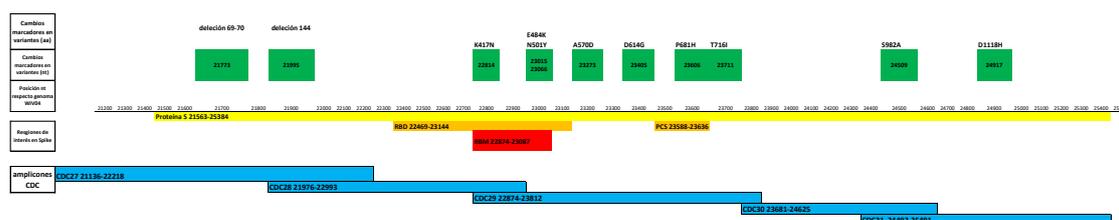
Debido a que las variantes buscadas presentan cambios no sinónimos marcadores en la proteína Spike, se decidió realizar la secuenciación parcial del gen que codifica para dicha proteína a través del método tradicional de Sanger, utilizando el protocolo de secuenciación recomendado por el CDC (https://github.com/CDCgov/SARS-CoV-2_Sequencing/blob/master/protocols/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

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

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

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

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



En la figura se muestra la secuencia del gen de la proteína Spike (amarillo), la estrategia

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

de secuenciación a través de los cebadores propuestos por el CDC que abarcan el genoma entero en fragmentos solapados (azul) y las mutaciones marcadoras de la variante **VOC 202012/01 (UK)**, **variante 501Y.V2 (SA)** y **la de Río de Janeiro** (verde). Para cubrir los cambios mencionados se seleccionaron los fragmentos CDC27, CDC29 y CDC31 que se amplificaron en todas las muestras seleccionadas. La secuenciación de los amplicones se realizó en ambas direcciones utilizando el método de secuenciación con dideoxinucleótidos marcados en un secuenciador capilar ABI3500.

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

Los aminoácidos marcadores de Spike mencionados que no están siendo estudiados con esta estrategia son S982A de **VOC 202012/01** y K417N de **501Y.V2**.

Participantes en este reporte:

Mercedes Nabaes, Sofía Alexay, Stephanie Goya, Mariana Viegas, Carolina Torres, Paula Aulicino, Guido König, Humberto Debat.

Referencias:

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

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

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)