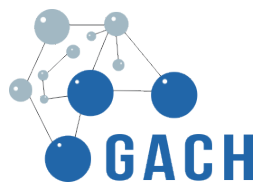


INFORME

VARIANTES P.1 Y P.2 DE SARS-COV2

5 de Abril de 2021





VARIANTES P.1 Y P.2 DE SARS-COV2

Fecha informe: 5/04/2021

1. Grupo Asesor Científico Honorario (GACH)

Participantes del informe: Lucía Alonso, Juan Arbiza, Henry Cohen, Rodney Colina, Maine Fariello, Julio Medina, Hugo Naya, Fernando Paganini, Mónica Pujadas

Coordinadores del informe: Gonzalo Bello (Invitado), Rafael Radi

2. Objetivo del informe

Analizar la evidencia existente sobre las variantes P.1 y P.2 de SARS-CoV-2 y su posible impacto sobre el curso epidemiológico de COVID-19 en Uruguay

3. Definición de Variantes de Interés (VOI) y Variante de Preocupación (VOC)

De acuerdo con el boletín epidemiológico de COVID-19 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 25 de febrero de 2021 (WHO 2021) se adoptan los siguientes criterios prácticos para definir las variantes de interés (VOI) y de preocupación (VOC) del SARS-CoV-2.

Un aislado de SARS-CoV-2 es una **variante de interés (VOI)** si tiene cambios fenotípicos en comparación con un aislado de referencia o tiene un genoma con mutaciones que conducen a cambios de aminoácidos asociados con implicaciones fenotípicas establecidas o sospechadas y además se ha identificado que causa transmisión comunitaria o se ha detectado en varios países.



Una VOI (como se define arriba) se transforma en una **variante de preocupación (VOC)** si, a través de una evaluación comparativa, se ha demostrado que está asociada con:

- Aumento de la transmisibilidad o cambio perjudicial en la epidemiología de COVID-19;
- Aumento de la virulencia o cambio en la presentación clínica de la enfermedad; o
- Disminución de la eficacia de las medidas sociales y de salud pública o de los diagnósticos, vacunas y/o métodos terapéuticos disponibles.

4. VOI y VOC que circulan en Uruguay

Actualmente en Uruguay existen evidencias de la circulación y transmisión comunitaria de la **VOC P.1** y de la **VOI P.2 (ver Anexos 1 y 2)**. Estos datos corresponden a muestras obtenidas y analizadas en marzo 2021.

Cuando comparadas a la cepa original de SARS-CoV-2 detectada en Wuhan en 2019, la VOC P.1 presenta 19 substituciones de aminoácidos y una delección de 3 aminoácidos, mientras que la VOI P.2 presenta 10 substituciones de aminoácidos. De esta constelación de mutaciones, las más relevantes por su impacto en la unión al receptor celular y en el reconocimiento de anticuerpos neutralizantes son las que se localizan en el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína de la espícula (S) viral. La VOC P.1 presenta las mutaciones **K417T, E484K y N501Y** en el RBD y la VOI P.2 la mutación **E484K**. Cabe destacar que mutaciones en estas mismas posiciones del RBD también han sido observadas en las otras dos VOCs reconocidas por la OMS: la variante B.1.1.7 (**N501Y**) inicialmente detectada en el Reino Unido y la variante B.1.351 (**K417N, E484K y N501Y**) inicialmente detectada en Sudáfrica.

4.1 Impacto fenotípico de las mutaciones en el dominio RBD de la proteína S en la unión al receptor celular y en la eficiencia de replicación viral

Fue observado que virus con la mutación **E484K** y en particular con la triple mutación **K417T/E484K/N501Y** presentan una afinidad por el receptor celular humano ACE2 hasta dos veces mayor cuando comparado al virus original (Hark Gan et al. 2021, Nelson et al. 2021, Vogel et al. 2021, Zahradník et al. 2021). A su vez variantes del SARS-CoV-2 con la mutación **N501Y** demostraron una capacidad de replicación hasta 5 veces mayor en células epiteliales primarias de las vías respiratorias humanas y hasta 2 veces mayor en las vías respiratorias superiores de un modelo



animal (Liu et al. 2021) cuando fueron colocadas en la misma proporción que variantes sin esa mutación. Fue observado también que individuos infectados con las VOCs P.1, B.1.1.7 y B.1.351 presentan valores de Ct en muestras de las vías respiratorias superiores más bajos que individuos infectados con variantes sin mutaciones de preocupación, lo que revela una mayor carga viral en las infecciones por VOCs (Naveca et al. 2021, Roquebert et al. 2021). Algunos estudios a su vez demuestran que valores de Ct más bajos y cargas virales más altas se asocian con un mayor riesgo de transmisión del SARS-CoV-2 (Cornelissen y Andre 2021, Lyngse et al. 2021). Este conjunto de evidencias demuestra que las mutaciones **K417T**, **E484K** y **N501Y** observadas en las variantes P.1 y P.2 aumentan la afinidad por el receptor celular humano ACE2 y la capacidad de replicación del virus en células de las vías respiratorias, lo que a su vez podría explicar el aumento de la carga viral observado en las infecciones por la VOC P.1 y su mayor transmisibilidad en la población cuando se compara con las variantes que circularon en 2020. No existen hasta el momento estudios que comparen la carga viral asociada a la infección por la VOI P.2.

4.2 Impacto fenotípico de las mutaciones en el dominio RBD de la proteína S en la resistencia a la neutralización

La mayor parte de los anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2 están dirigidos contra los dominios RBD y amino-terminal de la proteína S. Las mutaciones K417T, E484K y N501Y interfieren en la capacidad de neutralización por diversos anticuerpos monoclonales (Baum et al. 2020) y sueros policlonales de individuos convalecientes (Greaney et al. 2021). Algunos estudios de sueros de individuos que recibieron dos dosis de las vacunas Pfizer (BNT162b2) o Moderna (mRNA-1273) demuestran una reducción modesta (<3 veces), aunque significativa, en la capacidad de neutralización de variantes con la mutación E484K o con la combinación de las mutaciones **K417N/E484K/N501Y** (Jangra et al. 2021, Wang Z et al. 2021, Xie et al. 2021, Liu et al 2021). Otros estudios que utilizan proteínas S idénticas a la VOC P.1 demuestran una reducción más importante en la capacidad de neutralización por sueros de individuos convalecientes (4,0-6,5 veces) respecto a sueros de individuos que recibieron dos dosis de las vacunas Pfizer (BNT162b2) (2,2 - 4,4 veces) o Moderna (mRNA-1273) (2,8 veces) (Wang Z et al. 2021, Wang P et al. 2021). Un estudio más reciente con sueros de individuos vacunados sugiere una reducción de la neutralización más importante tanto de la VOC P.1 (6,7 veces para BNT162b2 y 4,5 veces para mRNA-1273) como de la VOI P.2 (5,8 veces para BNT162b2 y 2,9 veces para mRNA-1273) (García-Beltrán et al. 2021). El único estudio realizado hasta el momento con suero de individuos que recibieron 2 dosis de



la CoronaVac no aporta datos concluyentes acerca de que los anticuerpos generados tengan disminuida su capacidad de neutralizar la VOC P.1, dado que el número de individuos analizados fue muy pequeño ($n = 8$) (Souza et al. 2021). Estos resultados indican que las variantes P.1 y P.2 pueden evadir la respuesta humoral inducidas por una infección previa y, en menor medida, por la inmunización, particularmente después de una sola dosis. Es posible, sin embargo, que la capacidad de neutralización residual inducida por las vacunas sea suficiente para prevenir el desarrollo de formas graves de la COVID-19. Otro aspecto importante es que la inmunidad celular aportada por los linfocitos citotóxicos parece estar principalmente dirigida a epítomos conservados entre las variantes y por lo tanto puede también mitigar formas graves de la COVID-19 (Donal et al. 2021).

En relación con aspectos de la respuesta terapéutica obtenida a propósito de la variante de preocupación P.1, se destacan dos tipos de intervenciones:

- **Anticuerpos monoclonales:** Hay tres que han recibido la autorización de emergencia de la FDA entre noviembre de 2020 y febrero de 2021 (Ref. FDA): a) Bamlanivimab, b) Casirivimab + Imdevimab y c) Etesevimab (solo autorizado para uso combinado con Bamlanivimab). En estos momentos estos anticuerpos monoclonales no están disponibles en Uruguay.

Los resultados *in vitro* obtenidos a partir de cultivos celulares expuestos a anticuerpos monoclonales han mostrado que la neutralización frente a P.1 sigue siendo completa con Casirivimab + Imdevimab, neutralización incompleta con Casirivimab solo y no se logra neutralización con Bamlivimab y Etesevimab (Gottlieb RL et al. 2021). Esto agrega un desafío adicional a estrategias terapéuticas emergentes y que aún están siendo evaluadas (Hoffmann, H. et al. 2021).

- **Plasma de convalecientes:** El plasma de convalecientes (i.e. plasma extraído de donantes que contiene anticuerpos por haber presentado la enfermedad por COVID-19) cuando es administrado en etapas precoces de la enfermedad ha mostrado su eficacia en poblaciones seleccionadas disminuyendo la progresión de la enfermedad a formas severas. En un trabajo (Dejnirattisai W, et al. 2021) se analizó una cohorte de voluntarios que habían sufrido la infección/enfermedad por SARS-CoV-2 evidenciada por una PCR diagnóstica positiva. Estudios usando cultivos de células Vero infectadas con P.1 y indican que el plasma convaleciente logra neutralizar P1 *in vitro* aunque con menos eficiencia que para algunas otras variantes (ej. variante Victoria, circulante local), lo



cual deja abierta la necesidad de que durante el uso de plasma de convaleciente in vivo se evalúe en forma comparativa la respuesta terapéutica de portadores de la variante P1 frente a otras variantes.

5. Impacto de la VOC P.1 en la epidemiología de COVID-19

Las variantes P.1 y P.2 se han transformado en las variantes de SARS-CoV-2 predominantes en todas las regiones brasileras en 2021 (FIOCRUZ 2021) y algunas evidencias indican cambios en la epidemiología de COVID-19 asociados a la diseminación de la VOC P.1 .

1) Estudios filogenómicos y epidemiológicos que analizaron la epidemia en Manaus (capital del estado de Amazonas y epicentro de la VOC P.1) indican que la VOC P.1 fue 1.4-2.8 veces más transmisible que otras variantes que co-circularon con la P.1 (Coutinho et al. 2021, Faria et al. 2021, Naveca et al. 2021). El aumento de la transmisibilidad podría ser explicada por el aumento de la carga viral en las vías respiratorias superiores y por una mayor capacidad de evasión de la inmunidad humoral.

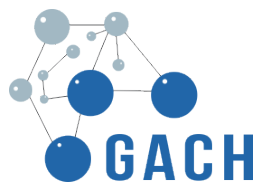
2) Un estudio realizado en el estado de Amazonas describe que la VOC P.1 está asociada a una mayor carga viral (medida a partir del Ct) en las vías respiratorias de individuos adultos de 18-59 años cuando comparados con individuos infectados por otras variantes, mientras que las diferencias en individuos con 60 o más años no serían significativas (Naveca et al. 2021). Es decir, la VOC P.1 consigue cargas virales igualmente altas en individuos adultos independientemente de su edad.

3) La reciente diseminación de la VOC. P.1 ha estado asociada a un aumento abrupto en el número de hospitalizaciones y muertes que ha llevado a una ocupación de los CTIs superior al 80% en la mayoría de los estados brasileros y al subsecuente colapso de todo el sistema de salud (FIOCRUZ 2021).

4) Información preliminar sugiere que la emergencia de la variante P1 se asocia a un cambio en el perfil de mortalidad en jóvenes. Estos estudios refieren a la epidemia en Brasil y se elaboraron en bases a datos de la ciudad de Manaus (Freitas et al 2021) y el estado de Paraná (de Oliveira et al 2021).



En efecto, Freitas et al realizaron una investigación en una población del estado de Amazonas, Brasil. Entre los hallazgos más destacados surge que la tasa de incidencia de COVID-19 fue significativamente mayor en la segunda ola respecto a la primera y que la letalidad fue proporcionalmente mayor en jóvenes en dicho periodo en relación a la primera ola. Asimismo, se indica que la proporción de casos de Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG) fue proporcionalmente mayor en mujeres durante la segunda ola, en relación a la primera. Los autores concluyen a partir de estos resultados que los cambios observados en los patrones de virulencia y patogenicidad (en relación a sexo y edad) coinciden temporalmente con la emergencia de la nueva variante P.1 en la región Amazónica. Más allá de la asociación establecida y que esta constituye un motivo de alerta, consideraciones metodológicas impiden asignar causalidad y los propios autores explicitan que se requieren estudios adicionales para comprender mejor qué impacto pueden tener estas variantes a nivel poblacional. Por otra parte, el estudio de De Oliveira et al explora cambios en el comportamiento de la epidemia en términos de letalidad en dos períodos temporales distintos, caracterizados por prevalencias de VOC P.1 distintas. El estudio incluyó habitantes, de ambos sexos y diversas franjas etarias, de la ciudad de Paraná, Brasil, en dos períodos distintos. Los investigadores presentan resultados que expresan que la letalidad fue significativamente superior en un período determinado en relación a uno anterior y que dichos períodos temporales se caracterizaron por prevalencias de VOC P.1 significativamente diferentes. Los autores indican que sus resultados preliminares sugieren que la letalidad en jóvenes y adultos jóvenes se incrementa significativamente luego de la introducción de nuevas variantes del SARS-CoV-2. En relación a los principales hallazgos del trabajo de De Oliveira et al, existen aspectos metodológicos relevantes a la hora de interpretar estos hallazgos y en este punto el estudio permite proponer una hipótesis de trabajo que deberá ser ratificada o eventualmente rectificada por nueva evidencia y la constatación de consistencia en el hallazgo de resultados semejantes (bajo los preceptos básicos de la asignación de causalidad). Vale acotar que la hipótesis tiene sentido desde un punto de vista biológico dada la muy probable mayor transmisibilidad de P1 pero que debe ser confirmada en otros lugares donde P.1 es altamente prevalente, para el caso de Uruguay notoriamente en la zona de frontera y particularmente en Rivera. En suma, existe evidencia observacional que correlaciona temporalmente el incremento de la prevalencia relativa de P.1 con cambios en la incidencia, patogenicidad o virulencia (que no es homogéneo en términos de sub-grupos afectados, por ejemplo, sexo y edad). Esta evidencia permite proponer hipótesis de que estos cambios podrían ser causados por P.1 pero resta acumular evidencia. Aún asumiendo causalidad en los contextos



específico reportados, estos no son automáticamente extrapolables a otras realidades, donde los determinantes de transmisión pueden variar en su peso relativo. Será particularmente importante observar la situación de Rivera en comparación con otras zonas del territorio nacional dada su predominancia absoluta de P.1 (Anexos 1 y 2) y determinar si apareceren cambios en términos de letalidad y edades afectadas.

5) Cabe señalar que hasta el momento no se ha comunicado específicamente si hubo cambios en el comportamiento o en la presentación clínica en menores de 18 años.

6. Interpretación y limitaciones de la evidencia en epidemiología de las enfermedades transmisibles

A la luz de la evidencia presentada previamente, deben realizarse algunas consideraciones y puntualizaciones respecto a las implicancias que estos resultados tienen potencialmente a nivel población (Sanderson et al 2007, Richiardi et al 2013), expresado a través:

- Eventuales cambios en la propia epidemiología del evento, que impliquen:
 - cambios en la dinámica de transmisión – velocidad, tendencia, temporalidad, distribución de grupos afectados, infectividad, transmisibilidad, patogenicidad y virulencia, entre otros parámetros). Es importante indicar que los cambios observados, por ejemplo, en transmisibilidad, pueden también ser influidos por artefactos de la vigilancia o sesgos/limitaciones de las investigaciones que producen dicha información.
 - modificaciones en la información obtenida a partir de la vigilancia epidemiológica que surgen de la introducción de sesgos inducidos por la aparición de una VOC (por ej. si se introducen modificaciones a la estrategia de vigilancia que sesgan los resultados inadvertidamente). Este es un fenómeno frecuente en eventos emergentes en que nueva evidencia surge vertiginosamente y se introducen numerosas modificaciones a los criterios de identificación, búsqueda, testeo y confirmación formal de casos. Un ejemplo común es advertir que los sistemas de vigilancia, los servicios de salud y la propia población, se vuelven más “sensibles” frente a la detección de una amenaza potencial, modificando su comportamiento. Estos factores pueden impactar directamente en los resultados y subsecuente interpretación.

- Eventuales cambios en los determinantes de transmisión, que pueden estar dados por:



- cambios en el impacto de las medidas de prevención y control
- cambios en el comportamiento de la población frente a la modificación de la percepción de riesgo (aceptación del concepto de que las VOC y VOI detectadas “causan” mayor riesgo de enfermar y morir por COVID-19
- cambios en el impacto de la vacunación, por motivos varios, entre ellos, la eventualidad del incremento de fallos vacunales primarios, o reducción de la duración de protección, o eventualmente por factores comportamentales, vinculados a la vacilación o rechazo vacunal en general, agravados por la percepción pública de que la efectividad vacunal se ve afectada por la circulación de nuevas variantes.

De modo general, la interpretación del impacto de las nuevas variantes debería ser considerada a la luz de un fenómeno emergente, con un cuerpo de evidencia aún limitado. La plausibilidad biológica de la detección de nuevas variantes (VOI y VOC) con mayor adaptación para la transmisión interhumana, es un fenómeno esperado luego de transcurrido más de un año de pandemia, y considerado tanto en su análisis, como en su comunicación al colectivo técnico-científico y a la población. Este hecho reafirma la necesidad de fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica (incluida la vigilancia genómica) y de efectividad vacunal, es de gran relevancia con fines de comunicación a la población y no debería asociarse linealmente a cambios en todos los parámetros previamente mencionados. En igual sentido, si bien las variantes mejor adaptadas tenderán a prevalecer, es difícil estimar la magnitud, extensión geográfica o temporal de dicha ventaja competitiva. Cabe acotar en este punto, que la mayoría de las investigaciones para evaluar modificaciones de la epidemiología de un evento en enfermedades transmisibles que afectan poblaciones humanas, corresponden a diseños observacionales, que cuentan a priori con limitaciones de su validez interna y externa (ECDC 2014). La validez externa de los resultados obtenidos en muchos casos no es linealmente extrapolable a Uruguay.

La asignación de causalidad (Kundi et al 2006) (por ejemplo, la presunción de aumento de letalidad o patogenicidad como consecuencia de las VOI y VOC circulantes) es por tanto compleja y difícil de lograr en la enorme mayoría de los casos, en tanto no es posible cumplir con la mayoría de los criterios requeridos para ello. Sin perjuicio de que el resultado de estas investigaciones podrá evaluar y medir la magnitud de la asociación entre dos fenómenos (por ej. incremento de % de virus correspondientes a VOC P.1 e incremento de las hospitalizaciones), es habitualmente difícil



asignar en forma definitiva una relación causal entre ambos fenómenos. No obstante lo cual, la acumulación de evidencia de este tipo puede contribuir significativamente a la elaboración de hipótesis robustas sobre VOI y VOC que fortalezcan los esfuerzos de investigación y generen alertas tempranas que de ese modo orienten a una mejor toma de decisión.

7. Conclusiones

La información presentada aporta evidencias que apoyan la posibilidad de una **mayor transmisibilidad** de la VOC P.1, y alertan de su presencia en Uruguay. La información disponible, sin embargo, no permite aún conocer en profundidad las implicancias que tendrá en el rumbo de la epidemia en Uruguay.

- No es posible afirmar, a la fecha de elaboración del presente informe, que produzca modificaciones significativas de la patogenicidad ni de la virulencia (en ningún grupo de edad específico). No obstante, dos estudios recientes realizados en Brasil (Freitas et al 2021; de Oliveira et al 2021) alertan acerca de la posibilidad de un aumento de la letalidad y de la incidencia en jóvenes por la variante P1, lo que deberá ser monitorizado en forma continua y acoplado los datos epidemiológicos y clínicos al secuenciado molecular.

-La evidencia disponible sugiere que las mutaciones observadas en las variantes P1 y P2 **podrían reducir la capacidad de neutralización por anticuerpos, pero aún así la respuesta en pacientes vacunados se muestra promisoria en relación con la prevención de los casos graves de COVID-19.**

- La acumulación de evidencia en este sentido permitirá caracterizar mejor el comportamiento de estas nuevas variantes y su potencial impacto en Uruguay, **recomendándose mientras tanto un criterio de mayor precaución basado en la evidencia preliminar de mayor transmisibilidad.**



8. Recomendaciones

- **Fortalecer la vigilancia epidemiológica integrada y genómica** de las VOC y VOI ya circulantes, así como la detección precoz de nuevas variantes.
- **Reforzar el concepto de mantenimiento de las medidas de intervención no farmacológicas**, más aún considerando la posibilidad de que individuos porten mayores cargas virales a punto de partida de las VOC, lo que podría favorecer la transmisibilidad
- **Identificar precozmente cambios en el comportamiento de la epidemia** a través de sus principales componentes y en términos de: dinámica de transmisión (afectación de subgrupos de población determinados), de velocidad de transmisión (curva epidémica, tasa de incidencia, número reproductivo efectivo), virulencia y patogenicidad (tasa de hospitalizaciones, letalidad, mortalidad). Estos indicadores ya forman parte del marco de monitoreo que fue sugerido el informe elevado el 7 de febrero de 2021 (GACH 2021), basados en la recomendación oficial de la Organización Mundial de la Salud (WHO 2021).
- **Efectivizar la vigilancia de efectividad y seguridad de vacunas**, a fin de monitorizar potenciales cambios que puedan asociarse a las VOI y VOC circulantes. Este esfuerzo debe coordinarse con el área de Epidemiología del MSP, en tanto forma parte de sus funciones rectoras y se monta sobre sitios centinelas previamente existentes para vigilancia de Enfermedad Tipo Influenza (ETI) e Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG).
- **Monitorizar el impacto potencial de las variaciones genéticas asociadas a las VOI y VOC circulantes en la eficiencia de los test de diagnóstico molecular** (tanto PCR como antigénicos) actualmente disponibles en Uruguay.
- **Resaltar la necesidad de incorporar a los estudios de las muestras a secuenciar, el análisis de la caracterización clínica de los casos**. Este es un elemento clave para avanzar en el conocimiento integral del comportamiento de estas variantes de SARS-CoV-2 en la población uruguaya.



- **Promover la investigación a nivel nacional del impacto potencial de las VOI y VOC circulantes**, a través de la articulación de actores científico-académicos relacionados a la temática en el Uruguay, así como en redes de vigilancia o investigación de la región.
- **Recomendar a las autoridades que la comunicación** de los contenidos del presente documento se realice con la mayor claridad posible, explicitando el carácter emergente del fenómeno y la existencia de evidencia limitada para comprenderlo completamente.

9. Referencias

- Baum, A., B. O. Fulton, E. Wloga, R. Copin, K. E. Pascal, V. Russo, S. Giordano, K. Lanza, N. Negron, M. Ni, Y. Wei, G. S. Atwal, A. J. Murphy, N. Stahl, G. D. Yancopoulos and C. A. Kyratsous (2020). "Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies." *Science* 369(6506): 1014-1018.
- Cornelissen, L. and E. Andre (2021). "Understanding the drivers of transmission of SARS-CoV-2." *Lancet Infect Dis*. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00005-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00005-0)
- Coutinho, R. M., F. M. D. Marquitti, L. S. Ferreira, M. E. Borges, R. L. Paixão da Silva, O. Canton, T. P. Portella, S. Poloni, C. Franco, M. M. Plucinski, F. C. Lessa, A. A. Moura da Silva, R. A. Kraenkel, M. A. de Sousa Mascena Veras and P. Inácio Prado (2021). "Model-based estimation of transmissibility and reinfection of SARS-CoV-2 P.1 variant." *medRxiv*: 2021.2003.2003.21252706. <https://doi.org/10.1101/2021.03.03.21252706>.
- de Oliveira, M.H.S., Giuseppe Lippi, and Brandon Michael Henry. (2021) Sudden rise in COVID-19 case fatality among young and middle-aged adults in the south of Brazil after identification of the novel B.1.1.28.1 (P.1) SARS-CoV-2 strain: analysis of data from the state of Parana. *medRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2021.03.24.21254046>.
- Dejnirattisai W, et al. Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. *Cell* (2021), doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.055>
- Donal, T. S., et al (2021). "Vaccine-induced immunity provides more robust heterotypic immunity than natural infection to emerging SARS-CoV-2 variants of concern." *Research Square*. <https://www.researchsquare.com/article/rs-226857/v1>.
- ECDC. (2014). "Data Quality Monitoring and Surveillance System Evaluation." Retrieved 03 30,



2021, from <https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Data-quality-monitoring-surveillance-system-evaluation-Sept-2014.pdf>.

Faria, N. R., et al (2021). "Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil." medRxiv: 2021.2002.2026.21252554.

FDA (2021) <https://www.fda.gov/media/143603/download>. <https://www.fda.gov/media/145611/download>

FIOCRUZ. (2021). "Colapso do Sistema de Saúde." Retrieved 03 30, 2021, from https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/boletim_extraordinario_2021-marco-23-red-red.pdf.

FIOCRUZ. (2021). "Frequência das Principais Linhagens do SARS-CoV-2 por Mês de Amostragem." Retrieved 03 30, 2021, from <http://www.genomahcov.fiocruz.br/frequencia-das-principais-linhagens-do-sars-cov-2-por-mes-de-amostragem/>.

Freitas et al. (2021). A emergência da nova variante P.1 do SARS-CoV-2 no Amazonas (Brasil) foi temporalmente associada a uma mudança no perfil da mortalidade devido a COVID-19, segundo sexo e idade. <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.2030>.

GACH. (2021). "Situación de la epidemia de COVID-19 en Uruguay y recomendaciones." Retrieved 03 30, 2021, from https://medios.presidencia.gub.uy/lp_portal/2021/GACH/INFORMES/informe_situacion_epidemiaCovid19.pdf.

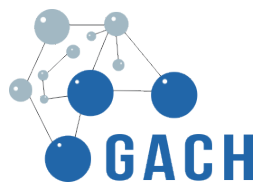
Garcia-Beltran, W. F., E. C. Lam, K. St Denis, A. D. Nitido, Z. H. Garcia, B. M. Hauser, J. Feldman, M. N. Pavlovic, D. J. Gregory, M. C. Poznansky, A. Sigal, A. G. Schmidt, A. J. Iafrate, V. Naranbhai and A. B. Balazs (2021). "Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity." *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.013>.

Greaney, A. J., A. N. Loes, K. H. D. Crawford, T. N. Starr, K. D. Malone, H. Y. Chu and J. D. Bloom (2021). "Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies." *Cell Host Microbe* 29(3): 463-476.e466.

Gottlieb RL et al. Effect of Bamlanivimab as Monotherapy or in Combination With Etesevimab on Viral Load in Patients With Mild to Moderate COVID-19 A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2021;325(7):632-644. doi:10.1001/jama.2021.0202

HarkGan,H.,A.Twaddle,B.MarchandandK.C.Gunsalus(2021)."StructuralmodelingoftheSARS-CoV-2 Spike/human ACE2 complex interface can identify high-affinity variants associated with increased transmissibility." bioRxiv: 2021.2003.2022.436454. <https://doi.org/10.1101/2021.03.22.436454>.

Hoffmann, H. et al. SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.248: Escape from therapeutic



antibodies and antibodies induced by infection and vaccination. 2021 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.11.430787v1.full.pdf+html>

Jangra, S., C. Ye, R. Rathnasinghe, D. Stadlbauer, F. Krammer, V. Simon, L. Martinez-Sobrido, A. García-Sastre and M. Schotsaert (2021). "The E484K mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces but does not abolish neutralizing activity of human convalescent and post-vaccination sera." medRxiv: 2021.2001.2026.21250543. <https://doi.org/10.1101/2021.01.26.21250543>

Kundi, M. (2006). "Causality and the interpretation of epidemiologic evidence." *Environ Health Perspect* 114(7): 969-974.

Liu, Y., J. Liu, K. S. Plante, J. A. Plante, X. Xie, X. Zhang, Z. Ku, Z. An, D. Scharon, C. Schindewolf, V. D. Menachery, P.-Y. Shi and S. C. Weaver (2021). "The N501Y spike substitution enhances SARS-CoV-2 transmission." bioRxiv: 2021.2003.2008.434499. <https://doi.org/10.1101/2021.03.08.434499>.

Liu Y, Liu J, Xia H, Zhang X, Fontes-Garfias CR, Swanson KA, Cai H, Sarkar R, Chen W, Cutler M, Cooper D, Weaver SC, Muik A, Sahin U, Jansen KU, Xie X, Dormitzer PR, Shi PY. *N Engl J Med*. 2021 Mar 8. doi: 10.1056/NEJMc2102017.

Lyngse, F. P., K. Mølbak, K. Træholt Frank, C. Nielsen, R. L. Skov and C. T. Kirkeby (2021). "Association between SARS-CoV-2 Transmission Risk, Viral Load, and Age: A Nationwide Study in Danish Households." medRxiv: 2021.2002.2028.21252608. <https://doi.org/10.1101/2021.02.28.21252608>

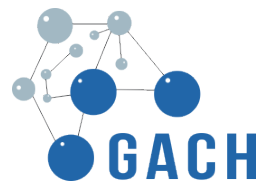
Naveca, F., N. et al (2021). "COVID-19 epidemic in the Brazilian state of Amazonas was driven by long-term persistence of endemic SARS-CoV-2 lineages and the recent emergence of the new Variant of Concern P.1." Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-275494/v1>.

Nelson, G., O. Buzko, P. Spilman, K. Niazi, S. Rabizadeh and P. Soon-Shiong (2021). "Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y.V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutant." bioRxiv: 2021.2001.2013.426558. <https://doi.org/10.1101/2021.01.13.426558>.

Richiardi, L., R. Bellocco and D. Zugna (2013). "Mediation analysis in epidemiology: methods, interpretation and bias." *Int J Epidemiol* 42(5): 1511-1519.

Roquebert, B., S. Haim-Boukobza, S. Trombert-Paolantoni, E. Lecorche, L. Verdurme, V. Foulongne, S. Burrel, S. Alizon and M. T. Sofonea (2021). "SARS-CoV-2 variants of concern are associated with lower RT-PCR amplification cycles between January and March 2021 in France." medRxiv: 2021.2003.2019.21253971. <https://doi.org/10.1101/2021.03.19.21253971>.

Sanderson, S., I. D. Tatt and J. P. Higgins (2007). "Tools for assessing quality and susceptibility to



bias in observational studies in epidemiology: a systematic review and annotated bibliography." *Int J Epidemiol* 36(3): 666-676.

Souza, W. M., et al (2021). "Levels of SARS-CoV-2 Lineage P.1 Neutralization by Antibodies Elicited after Natural Infection and Vaccination." *The Lancet*. https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3793486.

Vogel, M., X. Chang, G. Sousa Augusto, M. O. Mohsen, D. E. Speiser and M. F. Bachmann (2021). "SARS-CoV-2 variant with higher affinity to ACE2 shows reduced sera neutralization susceptibility." *bioRxiv*: 2021.2003.2004.433887. <https://doi.org/10.1101/2021.03.04.433887>.

Wang, P., M. Wang, J. Yu, G. Cerutti, M. S. Nair, Y. Huang, P. D. Kwong, L. Shapiro and D. D. Ho (2021). "Increased Resistance of SARS-CoV-2 Variant P.1 to Antibody Neutralization." *bioRxiv*: 2021.2003.2001.433466. <https://doi.org/10.1101/2021.03.01.433466>

Wang, Z., F. et al (2021). "mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants." *bioRxiv*: 2021.2001.2015.426911. <https://doi.org/10.1101/2021.01.15.426911>

WHO. (2021). "Considerations for implementing and adjusting public health and social measures in the context of COVID-19." Retrieved 03 30, 2021, from <https://www.who.int/publications/i/item/considerations-in-adjusting-public-health-and-social-measures-in-the-context-of-covid-19-interim-guidance>.

WHO. (2021). "COVID-19 Weekly Epidemiological Update - 25 February 2021." from <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-weekly-epidemiological-update>.

Xie, X., Y. Liu, J. Liu, X. Zhang, J. Zou, C. R. Fontes-Garfias, H. Xia, K. A. Swanson, M. Cutler, D. Cooper, V. D. Menachery, S. C. Weaver, P. R. Dormitzer and P.-Y. Shi (2021). "Neutralization of SARS-CoV-2 spike 69/70 deletion, E484K and N501Y variants by BNT162b2 vaccine-elicited sera." *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01270-4>

Zahradník, J., S. Marciano, M. Shemesh, E. Zoler, J. Chiaravalli, B. Meyer, Y. Rudich, O. Dym, N. Elad and G. Schreiber (2021). "SARS-CoV-2 RBD *in vitro* evolution follows contagious mutation spread, yet generates an able infection inhibitor." *bioRxiv*: 2021.2001.2006.425392. <https://doi.org/10.1101/2021.01.06.425392>.

ANEXOS



(ANEXO 1)

26/03/2020 - INFORME TÉCNICO

Grupo de Trabajo Interinstitucional de Vigilancia Genómica de SARS CoV2

1. Instituciones Participantes

Unidad de Bioinformática, Institut Pasteur de Montevideo.

Laboratorio de Genómica Microbiana, Institut Pasteur de Montevideo.

Laboratorio de Evolución Experimental de Virus, Institut Pasteur de Montevideo.

Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica, Institut Pasteur de Montevideo.

Laboratorio de Virología Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

Laboratorio de Virología Molecular, Centro Universitario Regional Norte, Salto.

Laboratorio de Ecología Microbiana, Centro Universitario Regional Este, Rocha.

Laboratorio Americano.

Ministerio de Salud Pública

2. Coordinadores

Pilar Moreno (Laboratorio de Virología Molecular)

Gregorio Iraola (Laboratorio de Genómica Microbiana)

Rodney Colina (Laboratorio de Virología Molecular – Salto)

Cecilia Alonso (Laboratorio de Ecología Microbiana-Rocha)

Verónica Noya (Laboratorio Americano)

Lucía Spangenberg (Unidad de Bioinformática)

Gonzalo Moratorio (Laboratorio de Evolución Experimental de Virus)

Julio Medina, Henry Albornoz (Ministerio de Salud Pública)

Lugar de Ejecución: Centro de Innovación en Vigilancia Epidemiológica (CIVE).

3. Introducción

A lo largo de la pandemia, como parte de la evolución natural del virus, han ido emergiendo variantes genéticas de SARS CoV2. Algunas de estas variantes han evidenciado ventajas, como ser, mayor transmisibilidad, mayor virulencia, reducción significativa de la neutralización por anticuerpos generadas durante el proceso de infección o vacunación, así como una reducida efectividad al tratamiento. Estas son denominadas variantes de preocupación (en inglés VOCs). Al día de hoy hay identificadas 5 VOCs: la B.1.1.7 (Variante Británica), la B.1:351 (Variante sudafricana), la P.1 (Brasil) y las variantes B.1.427 y B.1.429 (USA). El monitoreo en tiempo real de estas variantes, así como el de la emergencia de nuevas variantes pasa a ser de fundamental importancia en el contexto actual de la pandemia en nuestro país.

Para fines de vigilancia, se debe secuenciar un subconjunto aleatorio de muestras positivas para monitorear mutaciones o variantes de interés. Por lo tanto, la vigilancia genómica de rutina requiere de fuertes interacciones entre: (1) laboratorios que realizan pruebas de diagnóstico de SARS-CoV-2; (2) laboratorios con experiencia, capacidad y recursos para llevar a cabo secuenciación a escala relativamente grande; y (3) grupos computacionales que pueden procesar y analizar datos genómicos. Rara vez todos estos requisitos se llevan a cabo en un solo laboratorio o incluso en una sola institución. Es por eso, que, con el fin de realizar la vigilancia genómica de SARS CoV2 hemos desarrollado el grupo de trabajo inter-institucional (GTi). La construcción de este grupo requiere de asociaciones entre instituciones públicas, laboratorios académicos y hospitales.

El modelo de trabajo del GTi se basa en el programa integral de vigilancia genómica del Consorcio "COVID-19 Genomics UK (COG-UK)" (www.cogconsortium.uk/). COG-UK es una colaboración entre instituciones gubernamentales, privadas y académicas de todo el Reino Unido, con un apoyo financiero sustancial para la secuenciación rutinaria de SARS-CoV-2 a gran escala. En nuestro caso los recursos financieros hasta la fecha han sido provistos por UdelaR e IPMon.

Nuestra innovación en este modelo es la aplicación de una nueva metodología One Step RT-qPCR

desarrollada por los Laboratorios de Evolución Experimental de Virus y de Virología Molecular la cual permite rápidamente tamizar las variantes de preocupación (VOC). Además, la misma permite una detección de variantes conocidas de forma más rápida, que igualmente son confirmadas posteriormente por secuenciación. Por otro lado un subconjunto de muestras son secuenciadas de forma aleatoria para descubrir posibles nuevas variantes

Es importante resaltar que ya esta tecnología se encuentra siendo descentralizada y transferida hacia el CENUR (Salto).

4. Flujo de Trabajo

El flujo de trabajo establecido dentro del GTi es el siguiente (Fig. 1)

- 1) Los laboratorios de Diagnóstico COVID-19 (Sanatorio Americano, CENUR Salto, CURE Rocha, IPmon) remiten al CIVE en Institut Pasteur muestras positivas para SARS CoV2 (n total semanal:150)
- 2) Estas muestras son tamizadas en una primera instancia utilizando la técnica de One Step qPCR específica para la detección de VOCs
- 3) Las muestras que fueron positivas para VOCs por la técnica de qPCR, son confirmadas posteriormente por secuenciación genómica.
- 4) Asimismo, se realiza secuenciación genómica de muestras aleatorias no VOCs, a fin de monitorear la emergencia de posibles nuevas variantes de interés que puedan derivar en variantes de preocupación. Actualmente se están secuenciando el 50% de las muestras recibidas.
- 5) Cada semana se reportarán nuevos informes de modo de monitorear la situación en Uruguay.

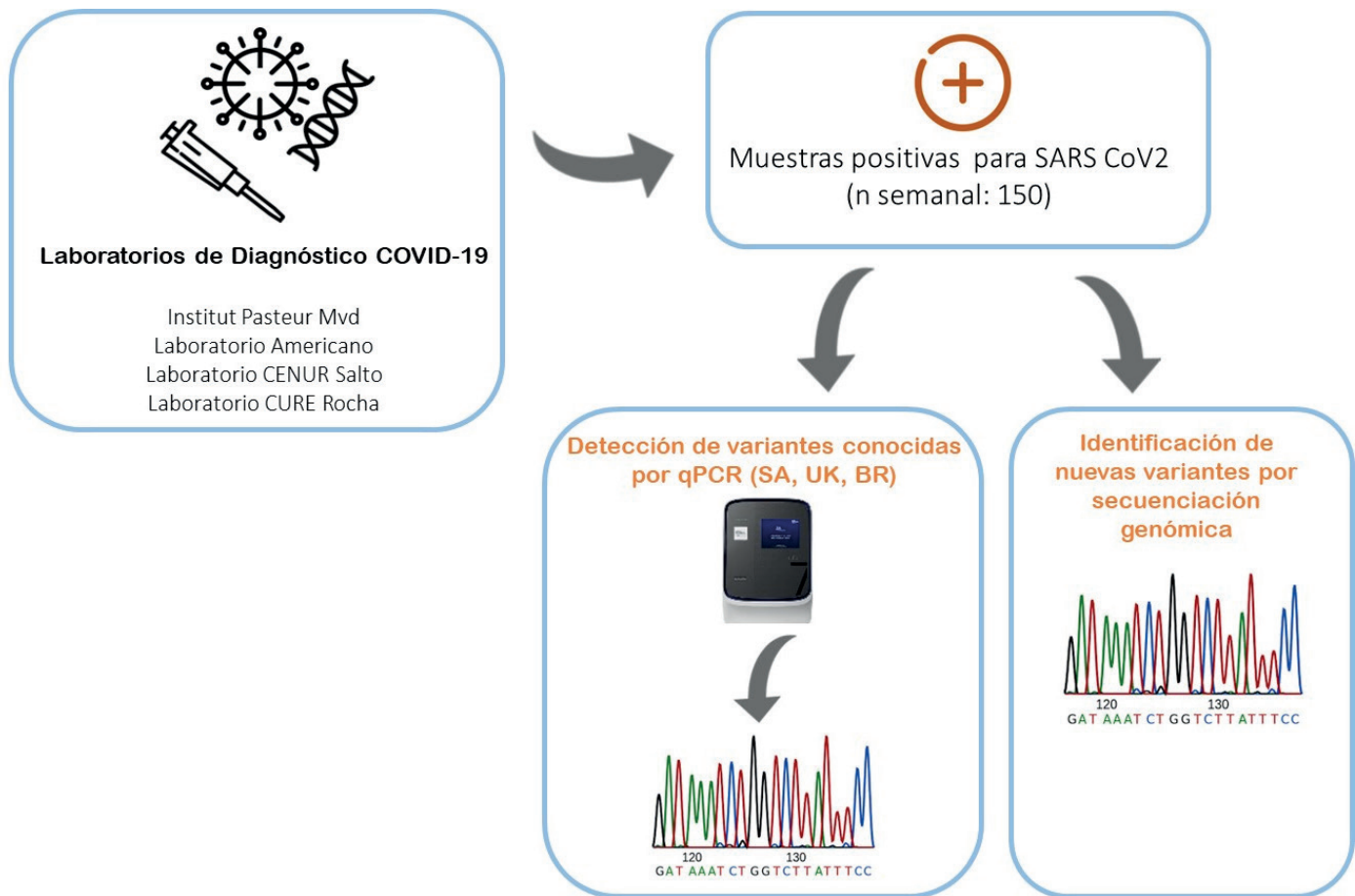


Figura 1. Flujo de Trabajo el GTi de Vigilancia Genómica de SARS CoV2

5. Resultados

A continuación, se pasan a detallar los resultados obtenidos en la semana comprendida entre el 16 y el 20 de marzo del corriente año.

1) Se recibieron un total de 175 muestras provenientes del Sanatorio Americano y del Laboratorio de Virología Molecular del CENUR Salto. Todas ellas previamente caracterizadas como positivas para SARS CoV2

2) Mediante Onestep qPCR se determinó que 24 de las mismas eran posibles variantes P.1

3) Se realizó la secuenciación de estas 24 muestras confirmándose la presencia de la variante P.1 en las mismas. Todas estas muestras corresponden a marzo del 2021.

4) Se secuenciaron además 20 muestras no VOCs correspondientes a diferentes departamentos del país.

6. Conclusiones

- Se observó que un 13% de las muestras analizadas eran P.1
- Se observó una concordancia del 100% entre la qPCR para VOCs y la secuenciación genómica
- Se observa una dispersión de la variante P.1 en 7 departamentos (Artigas, Salto, Rio Negro, Montevideo, Rocha, San José, Canelones).
- Esto muestra la importancia de continuar realizando estudios de vigilancia genómica en tiempo real para detectar estas y otras variantes que puedan surgir a lo largo del tiempo
- Asimismo, hacemos notar la importancia de descentralización de técnicas innovadoras para detectar variantes a los laboratorios COVID-19 de la Red Pública, proceso que ya comenzó con la descentralización de esta metodología al laboratorio del CENUR Salto.

DIRECCIÓN GENERAL DE LA SALUD
DIVISIÓN EPIDEMIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE LABORATORIO

(ANEXO 2)

Montevideo, 29 de marzo de 2021

INFORME DEL ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS DE FRAGMENTO DE GEN S (SPIKE) EN MUESTRAS PROCEDENTES DEL DEPARTAMENTO DE RIVERA .

A la fecha se llevan secuenciados 54 muestras del Depto. de Rivera obtenidas los días 11 y 12 de marzo del corriente año.

La distribución etaria de los casos estudiados fue de 3 a 80 años, agrupados de la siguiente manera:

- 19 menores de 25 años (13 menores de 15 años) y
- 32 mayores de 25 años.

La metodología aplicada, ya desde diciembre 2020, se siguió con la estrategia de amplificar una región del gen S (spike) del genoma de SARS CoV-2, e identificar a través de secuenciación las variantes en muestras de Uruguay. Las mismas fueron procesadas en el Departamento de Laboratorios de MSP y en las Secciones Virología y Genética evolutiva de Facultad de Ciencias.

De las secuencias obtenidas hasta el momento, se concluye que

1. 39 de las muestras correspondieron a la variante P1 (72,2%).
2. 12 muestras correspondieron a la variante P2, (22,2%).
3. 3 muestras correspondieron a no P1 no P2 (5,55%)
4. De los 13 menores de 15 años, 11 correspondieron a la P1 y 2 a la P2.

NOTA

Los estudios por secuenciación continúan, se ampliarán los resultados de otras muestras en proceso de secuenciarse en los próximos días, ampliando así el diagnóstico de situación de la circulación de las variantes en nuestro país.

Equipo Técnico de DLSP: Dra. Natalia Goñi, Dra. Viviana Ramas, Lic. Leticia Coppola, Mag. María Noelia Morel, Dra. María Rosa Flieller, Dra. Maria Noel Cortinas, Dr. Héctor Chiparelli, Dra. María C. Mogdasy.

Sección Genética evolutiva- Facultad de Ciencias: Dra. Yanina Panzera, Dra. Lucía Calleros, Dra. Ana Marandino, Dr. Gonzalo Tomás, Mag. Claudia Techera, Lic. Sofía Grecco, Lic. Eddie Fuques, Dr. Ruben Pérez.

Sección Virología-Facultad de Ciencias: Dra. Adriana Delfraro, Dra Sandra Frabasile, Dra Natalia Ramos, Dr. Juan Arbiza.

Av. Alfredo Navarro 3051 Instituto de Higiene acceso norte.
CP 11600 Telf. 1934 6240 email:consultasdlsp@msp.gub.uy