

**INFORME TÉCNICO ELABORADO POR:****Presidenta del Plan de Vigilancia Genómica del Virus SARS-CoV-2:**

- Dra. Lely Solari Zerpa

Responsable del Laboratorio de Referencia Nacional de Virus Respiratorio (LRNVR):

- Blgo. Joseph Huayra Niquén

Responsable del Equipo de Secuencia Genómica del LRNVR:

- Blgo. Carlos Patricio Padilla Rojas

Integrantes:

- Blga. Carmen Verónica Hurtado Vela
- Blgo. Orson Mestanza Millones
- Blga. Sandra Morales Ruiz
- Blgo. Iris Silva Molina
- Blgo. Luis Barcena Flores

- Blgo. Nancy Rojas Serrano
- Blgo. Omar Alberto Cáceres Rey
- Blgo. Henri Bailón Calderón
- Blgo. Marco Galarza Pérez
- Blgo. Steve Acedo Lazo

Centro Nacional de Salud Pública - INS



INFORME TÉCNICO

IDENTIFICACIÓN DE LINAJES CIRCULANTES DE SARS-CoV-2 EN EL PERÚ

ABRIL DE 2021

INTRODUCCIÓN

El virus SARS-CoV-2, causante de la enfermedad COVID-19 se ha diseminado rápidamente a todos los países del mundo, generando epidemias de distinto impacto y características, tanto desde el punto de vista social como sanitario. Es importante vigilar diversos aspectos del comportamiento de la epidemia en el país, incluyendo las líneas virales (linajes) que circulan en la comunidad y cómo éstos van variando a lo largo del tiempo.

Así, desde Diciembre del 2020, se ha evidenciado la emergencia de variantes virales del SARS-CoV-2 que tienen características particulares que las diferencian del virus originalmente aislado en Wuhan. Estas obedecen a las categorías de Variantes de Interés (Tabla 1) y Variantes de Preocupación (Tabla 2), de acuerdo a la evidencia científica que sustenta sus características epidemiológicas y clínicas diferenciadas con respecto al virus original.

En nuestro país, hasta la fecha se han identificado 62 linajes distintos cuya frecuencia ha ido cambiando con la evolución de la epidemia. En el 2020 el linaje más frecuente fue B.1.1.1, seguido por los linajes C.4 y C.14. La variante B.1.1.7, inicialmente identificada en el Reino Unido (UK) se ha reportado en Perú desde inicios de enero, en personas que estuvieron en contacto con viajeros provenientes de Gran Bretaña. La variante P.1 que ha emergido en Brasil, también se identificó circulando en Enero inicialmente en la frontera con Brasil y posteriormente en un caso autóctono de Lima (1,2). Hasta la fecha, no se ha detectado la variante B.1.351 (inicialmente reportada en Sudáfrica) en el país.

Ante la escasez de insumos para secuenciación genómica, en marzo el INS utilizó una prueba de PCR para identificación de variantes de preocupación, encontrando la presencia de la variante P.1 en 10 regiones del país y la de la variante B.1.1.7 en 3 regiones, quedando pendiente la implementación de la secuenciación genómica a gran escala.

Finalmente, en Abril del 2021, investigadores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia detectaron el linaje C.37 en 20 pacientes de Lima. Este linaje ya había sido reportado en un paciente en Lima en noviembre del 2020, pero el reporte de Cayetano incrementó el número de pacientes con este linaje. Hasta entonces, los casos se habían concentrado en la ciudad de Lima (3). Este linaje también ha sido identificado Estados Unidos, Chile, Brasil, Argentina, Ecuador, México, España y Alemania.

Desde este mes de Mayo, se ha implementado una nueva plataforma de análisis genómico para realizar la vigilancia genómica de las variantes circulantes en el país, en un promedio de 1200 muestras por mes, las cuales serán seleccionadas de acuerdo al Protocolo de Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2 en el Perú. El objetivo de este informe es presentar los resultados de las primeras 354 muestras secuenciadas con esta plataforma.





METODOLOGÍA

Se han recolectado 1800 muestras de hisopado nasal y faríngeo, procedentes de pacientes diagnosticados mediante RT-PCR durante el mes de abril del 2021 en 19 regiones del Perú (Arequipa, Amazonas, Ayacucho, Apurímac, Arequipa, Huánuco, Junín, Ica, Lambayeque, La Libertad, Lima, Cajamarca, Cusco, Moquegua, Pasco, Piura, San Martín, Tacna y Tumbes). Estas muestras procedieron tanto de pacientes ambulatorios como hospitalizados diagnosticados desde el primero de abril, que tenían un Ct <30 (correspondiente a una presencia alta del virus en las muestras), lo cual es adecuado para secuenciación genómica.

A partir de estas muestras, se eligió al azar 16 muestras de cada región y 50 muestras de Lima Metropolitana (n=354) para realizar secuenciación genómica masiva usando la plataforma COVIDSeq de Illumina y el secuenciador NextSeq 550. El procesamiento de los archivos fastq generados por el secuenciador fue realizado en el entorno BaseSpace de Illumina utilizando el algoritmo DRAGEN v05.021.

Se realizó un análisis de linajes en las 354 muestras incluidas y de manera adicional, se realizó un análisis filogenético en un subgrupo de 102 genomas que presentaban una cobertura de lectura adecuada.

RESULTADOS

En las 354 muestras analizadas, el linaje predominante es el C.37 en 82.7%, seguido por el linaje P.1 en 9.3%, y el linaje B.1.1.7 en 1.8% (Figura 1).

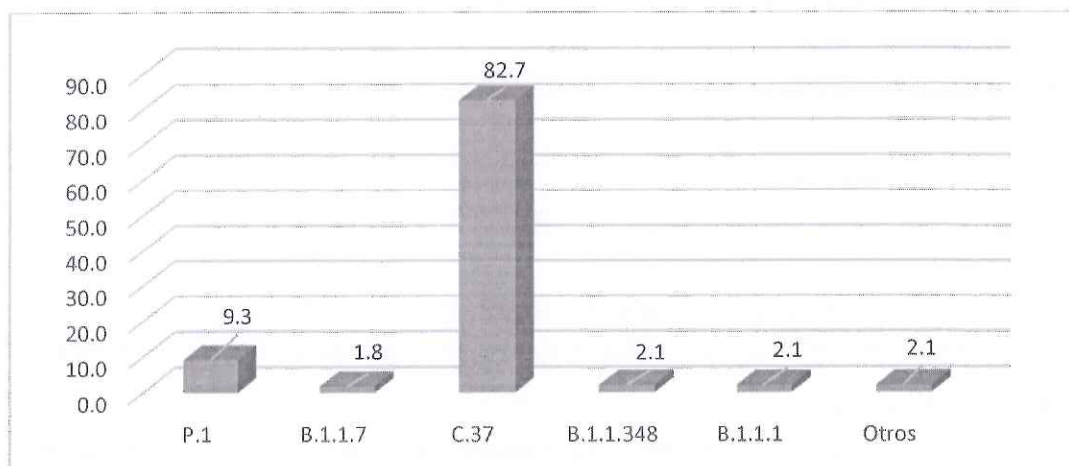


Figura 1. Frecuencia relativa de los principales linajes detectados en Perú en el mes de abril del 2021.

Los resultados indican una diseminación del linaje C.37, mientras que los otros linajes de preocupación como P.1 y B.1.1.7 se encuentran en proporciones menores. El linaje P.1 aún se encuentra circulando en los departamentos de Amazonas, Apurímac, Cajamarca, Huánuco, Ica,





Junín, La Libertad, Lambayeque, Moquegua, San Martín, Tacna, y Tumbes. Mientras que el linaje B.1.1.7 está circulando en Ayacucho, Junín, Tumbes. Tanto el linaje P.1 y B.1.1.7 presentan las mutaciones características correspondientes.

En cuanto al linaje C.37, éste se encuentra presente en las 19 regiones del país que se incluyeron en el análisis: Arequipa, Amazonas, Ayacucho, Apurímac, Arequipa, Huánuco, Junín, Ica, Lambayeque, La Libertad, Lima, Cajamarca, Cusco, Moquegua, Pasco, Piura, San Martín, Tacna y Tumbes.

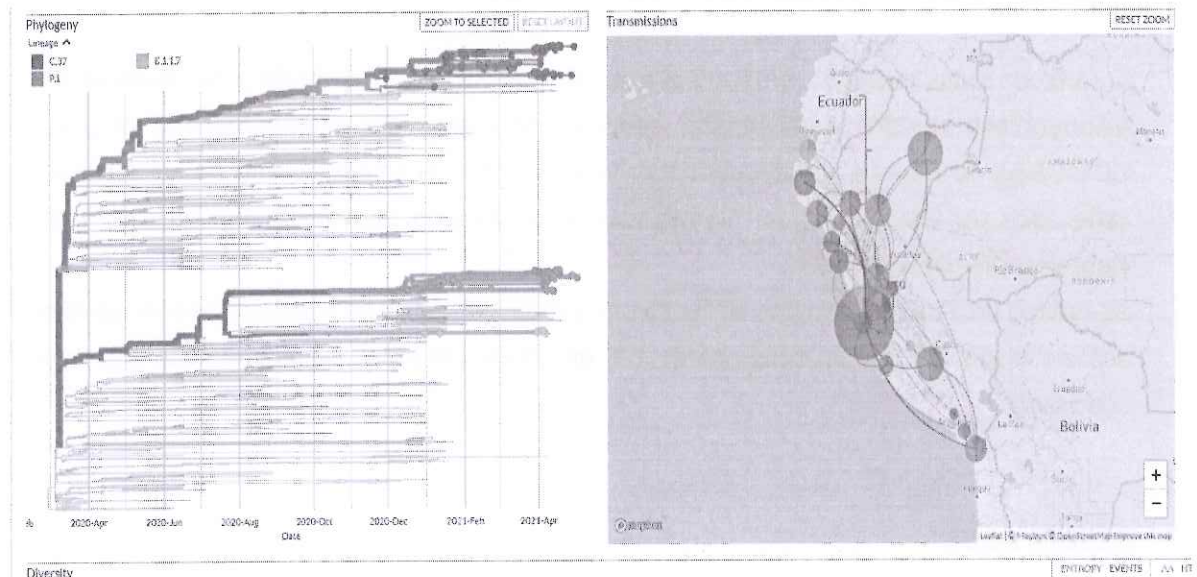


Figura 2. A la izquierda análisis filogenético de genomas de buena cobertura (n=102) detectados en Perú resaltan los linajes C.37, P.1 y B.1.1.7 en muestras de abril del 2021. A la derecha distribución de los linajes en las regiones de país.

Con respecto al análisis filogenético, éste agrupa los genomas C.37 de Perú en un clado filogenético con buen soporte (Figura 2).

Las principales mutaciones que caracterizan este linaje son:

Gen	Mutaciones
Gen N	P13L, R203K, G204R, y G214C
ORF1a	T1246I, P2287S, F2387V, L3201P, T3255I y G3278S
Gen ORF1b	P314L y una deleción de 3 aminoácidos SGF en las posiciones 3675-3677
Gen ORF9b	P10S
Gen S	G75V, T76I, R246N, una deleción de 7 aminoácidos SYLTPGD en las posiciones 247-253, L452Q, F490S, D614G y T859N

La mutación D614G está presente en todas las variantes de interés y de preocupación (Tabla 1 y 2, anexas).

Handwritten signature or mark.





La mutación L452Q no la hemos encontrado en otras variantes de interés o preocupación pero la mutación L452R está presente en las variantes B.1.526.1 (Nueva York), en las variantes B.1.617, B.1.617.1, B.1.617.2, B.1.617.3 (India) y en las variantes B.1427 y B.1429 (California). Estas variantes están asociadas a una disminución en la neutralización por anticuerpos monoclonales, sueros de pacientes convalecientes y/o sueros de post-vacunados.

La mutación T859N está presente en la variante B.1.526.1 (Nueva York), variante asociada a disminución en la neutralización por anticuerpos monoclonales, sueros de pacientes convalecientes y/o sueros de post-vacunados.

La mutación **R246N** no ha sido reportada previamente.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, un linaje de SARS-CoV-2 es considerado una variante de interés si cambia fenotípicamente en comparación al virus original o tiene mutaciones que conducen a cambios de aminoácidos asociados a sospecha de implicancias fenotípicas y ha sido identificado como causante de transmisión comunitaria o múltiples casos. Nosotros consideramos que por haber logrado predominancia (incremento marcado en su prevalencia en nuestro país) a pesar de la presencia de Variantes de Preocupación circulando en la comunidad, como las P.1 y la B.1.1.7, y tener mutaciones que podrían originar cambios en aminoácidos que determinen un fenotipo diferenciado, este linaje cumple con criterios de clasificación de Variante de Interés, lo cual debe ser comunicado por el país a la comunidad internacional y a la OMS.

Es recomendable asimismo realizar otros estudios que evalúen si las mutaciones que presenta este linaje confieren alguna ventaja comparativa en la transmisión del virus o provocan el escape inmune a los anticuerpos generados por las vacunas que actualmente están disponibles, lo cual es posible dado el contexto epidemiológico en el que ocurrieron.

CONCLUSIONES

- El linaje predominante en Abril en todas las regiones estudiadas es el linaje C.37.
- Las variantes de preocupación P.1 y B.1.1.7 continúan circulando en el Perú en abril, aunque en menor proporción al linaje C.37.
- El análisis filogenético del linaje C.37 muestra que pertenecen a un clado filogenético, teniendo buen soporte.
- Dentro de las mutaciones encontradas, en este linaje, la mutación D614G y la T859N están presentes en otras variantes de interés, y la L452Q podría estar generando un cambio similar a la L452R, aunque amerita un análisis más profundo.
- Al tratarse de un linaje que ha logrado predominancia en pocos meses, a nivel nacional, a pesar de la circulación paralela de las variantes de preocupación P.1 y B.1.1.7, cumple con los criterios de variante de interés, por lo cual debe ser reportada como tal por el país a la comunidad internacional.
- Es importante realizar estudios de laboratorio (neutralización de sueros de pacientes con infecciones previas y vacunados), así como estudios observacionales del perfil clínico de estos pacientes y epidemiológicos para medir transmisibilidad e impacto en las reinfecciones, para completar la caracterización de este linaje/variante.





REFERENCIAS

1. Near-Complete Genome Sequence of a 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Strain Causing a COVID-19 Case in Peru. Padilla-Rojas C, Lope-Pari P, Vega-Chozo K, Balbuena-Torres J, Caceres-Rey O, Bailon-Calderon H, Huaranga-Núñez M, Rojas-Serrano N. Microbiol Resour Announc. 2020 May 7;9(19):e00303-20. doi: 10.1128/MRA.00303-20.
2. Near-Complete Genome Sequence of a SARS-CoV-2 VOC 202012/01 Strain in Peru. Padilla-Rojas C, Barcena-Flores L, Vega-Chozo K, Galarza-Perez M, Bailon-Calderon H, Lope-Pari P, Balbuena-Torres J, Huaranga-Núñez M, Caceres-Rey O, Rojas-Serrano N. Microbiol Resour Announc. 2021 Mar 25;10(12):e00069-21. doi: 10.1128/MRA.00069-21.
3. C.37: Novel lineage expanding in Peru and Chile, with a convergent deletion in the ORF1a gene (Δ 3675-3677) and a novel deletion in the Spike gene (Δ 246-252, G75V, T76I, L452Q, F490S, T859N). Pedro E. Romero¹, Alejandra Dávila-Barclay¹, Luis Gonzáles¹, Guillermo Salvatierra¹, Diego Cuicapuza¹, Luis Solis¹, Pool Marcos¹, Janet Huancachoque¹, Dennis Carhuaricra², Raúl Rosadio², Luis Luna², Lenin Maturrano², Pablo Tsukayama¹. <https://virological.org/t/novel-sublineage-within-b-1-1-1-currently-expanding-in-peru-and-chile-with-a-convergent-deletion-in-the-orf1a-gene-3675-3677-and-a-novel-deletion-in-the-spike-gene-246-252-g75v-t76i-l452q-f490s-t859n/685>





TABLA 1, VARIANTES DE INTERÉS DEL SARS-CoV-2 *

Nombre	Sustituciones en la proteína "Spike" o "Espícula"	Detectado por primera vez	ATRIBUTOS
B.1.526	(L5F*), T95I, D253G, (S477N*), (E484K*), D614G, (A701V*)	Estados Unidos (New York) – Noviembre 2020	Susceptibilidad reducida a la combinación de bamlanivimab y tratamiento con el anticuerpo monoclonal etesevimab; sin embargo, se desconocen las implicaciones clínicas de esto. Se dispone de tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales.
			Neutralización reducida por sueros convaleciente y post vacunación.
B.1.526.1	D80G, Δ144, F157S, L452R, D614G, (T791I*), (T859N*), D950H	Estados Unidos (New York) – Octubre 2020	Potencial reducción en la neutralización de algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Potencial reducción en neutralización por sueros convalecientes y post vacunados.
B.1.525	A67V, Δ69/70, Δ144, E484K, D614G, Q677H, F888L	Reino Unido/Nigeria – Diciembre 2020	Potencial reducción en la neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Potencial reducción en Neutralización por sueros convalecientes y post vacunados
P.2	E484K, (F565L*), D614G, V1176F	Brazil – Abril 2020	Potencial reducción en la neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Reducción en la neutralización por sueros post vacunación.
B.1.617	L452R, E484Q, D614G	India – Febrero 2021	Potencial reducción en la neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Leve reducción en la neutralización de sueros post vacunación.
B.1.617.1	(T95I), G142D, E154K, L452R, E484Q, D614G, P681R, Q1071H	India – Diciembre 2020	Potencial reducción en la neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Potencial reducción en neutralización por sueros post vacunados.
B.1.617.2	T19R, (G142D), Δ156, Δ157, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N	India – Diciembre 2020	Potencial reducción en neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso en Emergencia
			Potencial reducción en neutralización por sueros post vacunados.
B.1.617.3	T19R, G142D, L452R, E484Q, D614G, P681R, D950N	India – Octubre 2020	Potencial reducción en neutralización por algunos tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso en Emergencia
			Potencial reducción en neutralización por sueros post vacunados.

*Extraído del CDC de EEUU de América (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>)





TABLA 2, VARIANTES DE PREOCUPACIÓN DEL SARS-CoV-2 *

Nombre	Sustituciones en la proteína "Spike" o "Espiga"	Detectado por primera vez	ATRIBUTOS
B.1.1.7	Δ69/70, Δ144, (E484K*), (S494P*), N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H (K1191N*)	Reino Unido	Transmisión aumentada en aproximadamente 50%
			Potencial aumento de severidad, basado en hospitalizaciones y tasas de letalidad.
			No tiene impacto en la susceptibilidad de a tratamientos de anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso en Emergencia. Mínimo impacto sobre la neutralización por sueros convalecientes y post vacunación.
P.1	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I	Japón Brasil	Susceptibilidad reducida a la combinación de bamlanivimab y tratamiento con el anticuerpo monoclonal etesevimab, pero se dispone de tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
			Reduce la neutralización por sueros convalecientes y post vacunados
B.1.351	D80A, D215G, Δ241/242/243, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V	Sur África	Transmisión aumentada en aproximadamente 50%
			Susceptibilidad reducida a la combinación de bamlanivimab y tratamiento con el anticuerpo monoclonal etesevimab, pero se dispone de tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales con Autorización de Uso de Emergencia.
B.1.427	L452R, D614G	Estados Unidos- (California)	Reduce la neutralización por sueros convalecientes y post vacunados
			Disminución moderada a la combinación de bamlanivimab y etesevimab, sin embargo, se desconoce las implicancias clínicas de esta disminución. Se dispone de tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales.
B.1.429	S13I, W152C, L452R, D614G	Estados Unidos- (California)	Reduce Neutralización por sueros convalecientes y post vacunados
			Aumenta la transmisibilidad en aproximadamente 20%
B.1.1.7	Δ69/70, Δ144, (E484K*), (S494P*), N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H (K1191N*)	Reino Unido	Disminución moderada a la combinación de bamlanivimab y etesevimab, sin embargo, se desconoce las implicancias clínicas de esta disminución. Se dispone de tratamientos alternativos con anticuerpos monoclonales.
			Reduce neutralización en sueros convalecientes y post vacunación.
B.1.1.7	Δ69/70, Δ144, (E484K*), (S494P*), N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H (K1191N*)	Reino Unido	Transmisión aumentada en aproximadamente 50%

*Extraído del CDC de EEUU de América (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>)

