

# Diagnóstico de SARS-CoV-2 y Variantes de interés en Salud Pública

*Jairo Méndez-Rico, PhD*

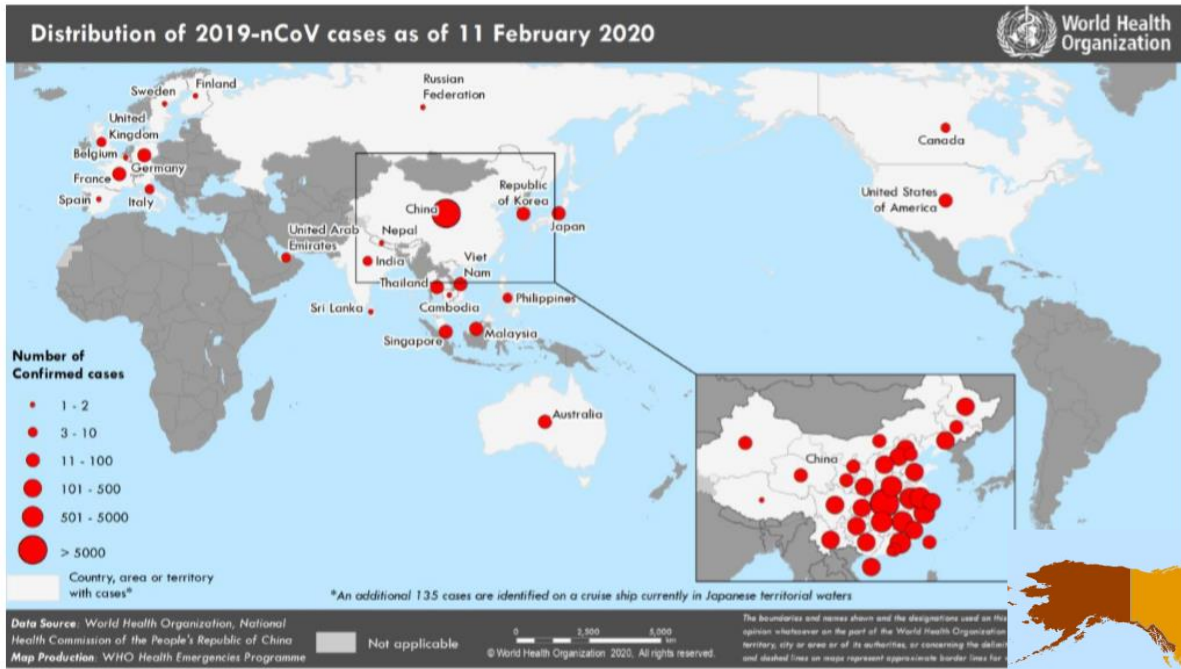
*Asesor Regional Enfermedades Virales*

Departamento de Emergencias en Salud

OPS/OMS

Washington, DC



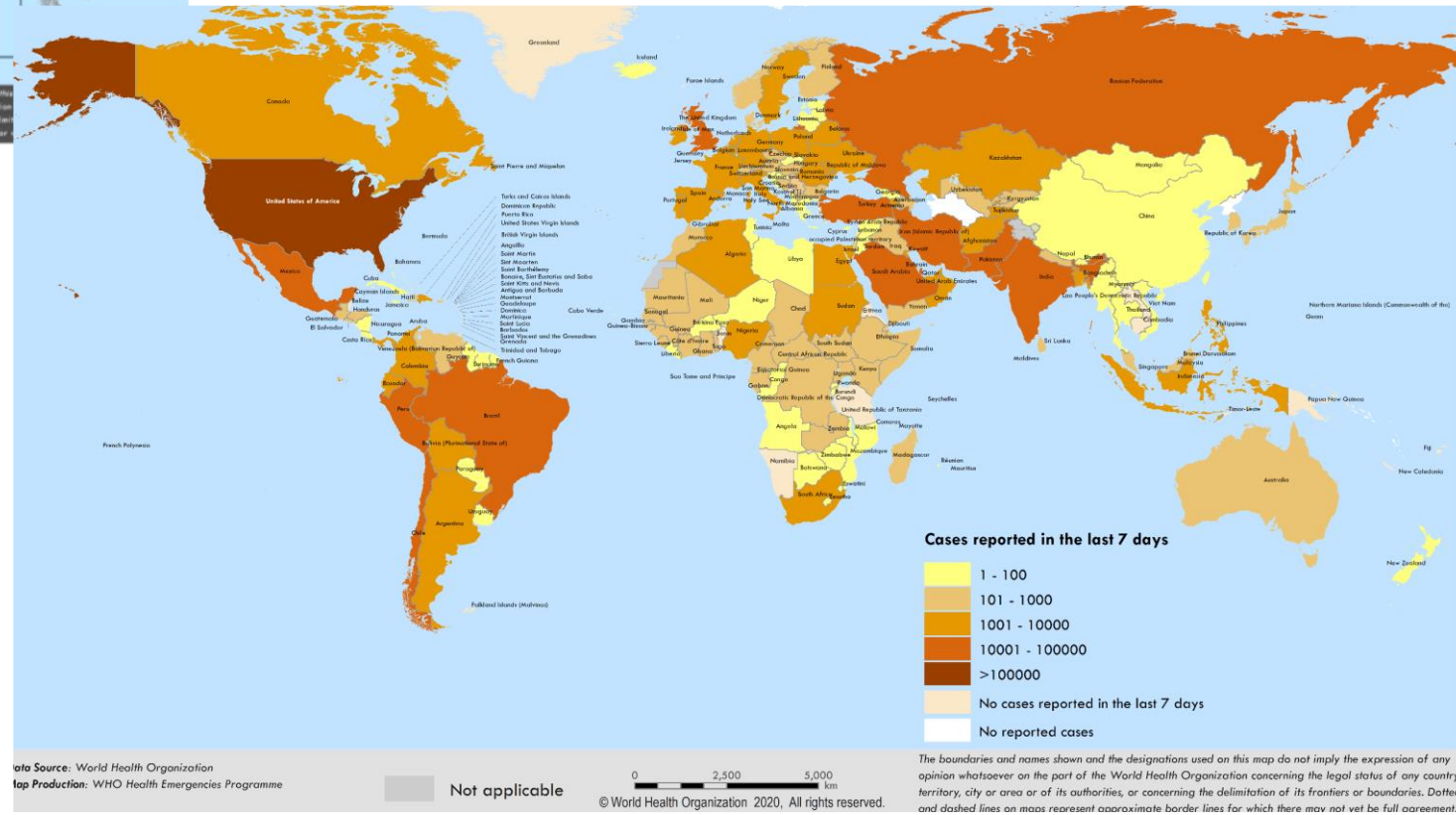


**Febrero 03 /2021**  
**103,570,336 casos**  
**2,250,632 muertes**

\*The situation report includes information provided by national authorities as of 10 AM Central European Time

**Febrero 11 /2020**

**43,102 casos confirmados**  
**1,018 muertes notificadas**

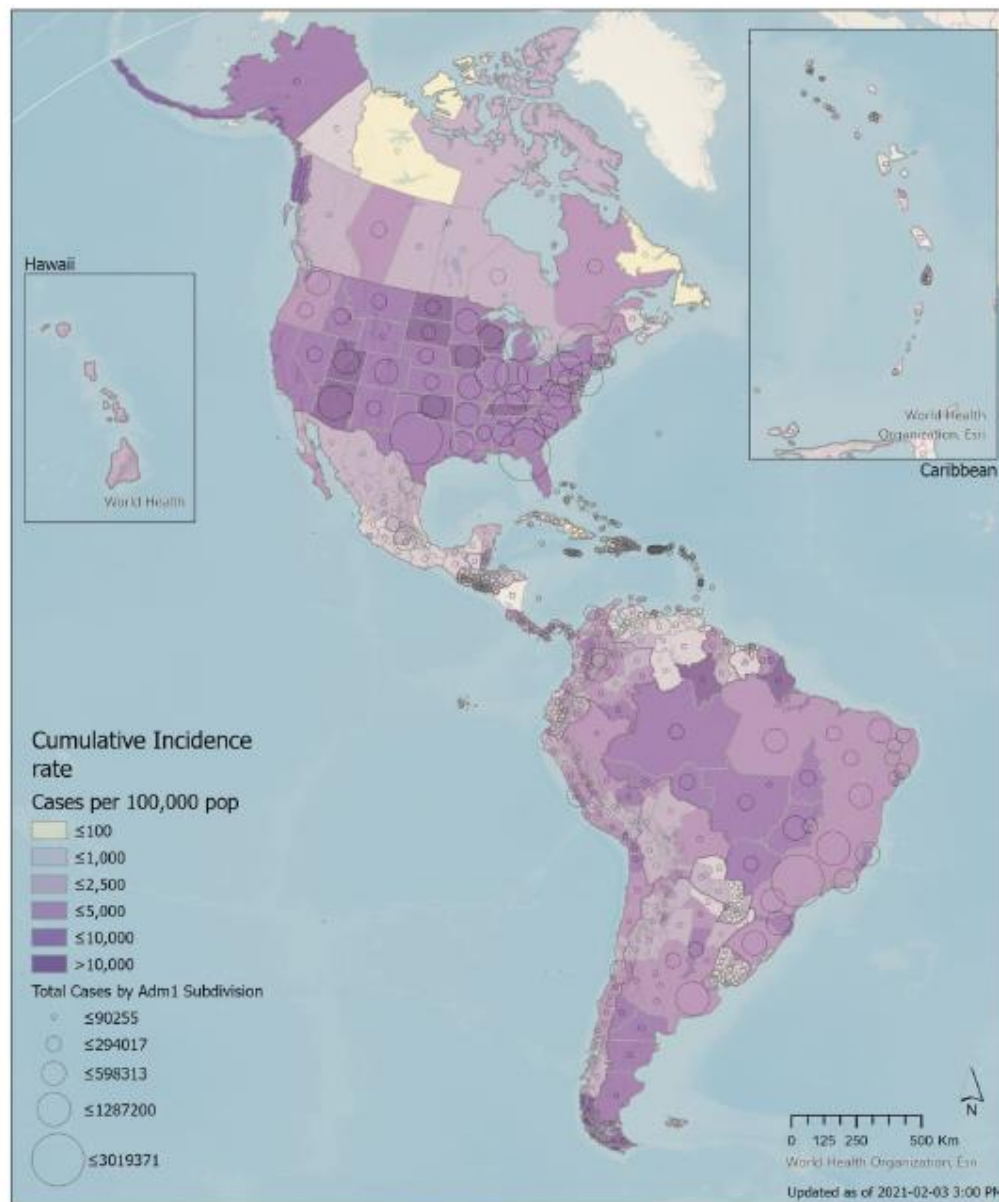


Map 1. Reported number of cumulative COVID-19 cases in the Region of the Americas and corresponding incidence rate (per 100,000 population) by country/territory. As of 3 February 2021

# Casos confirmados en las Américas 03 de febrero, 2021

Mayor número de casos reportados durante las últimas 24 hrs:

- USA
- Brazil
- Colombia
- Argentina
- Peru
- Mexico
- Canada
- Chile
- Bolivia
- Dominican Rep.



Region of the Americas

46,197,580 cases

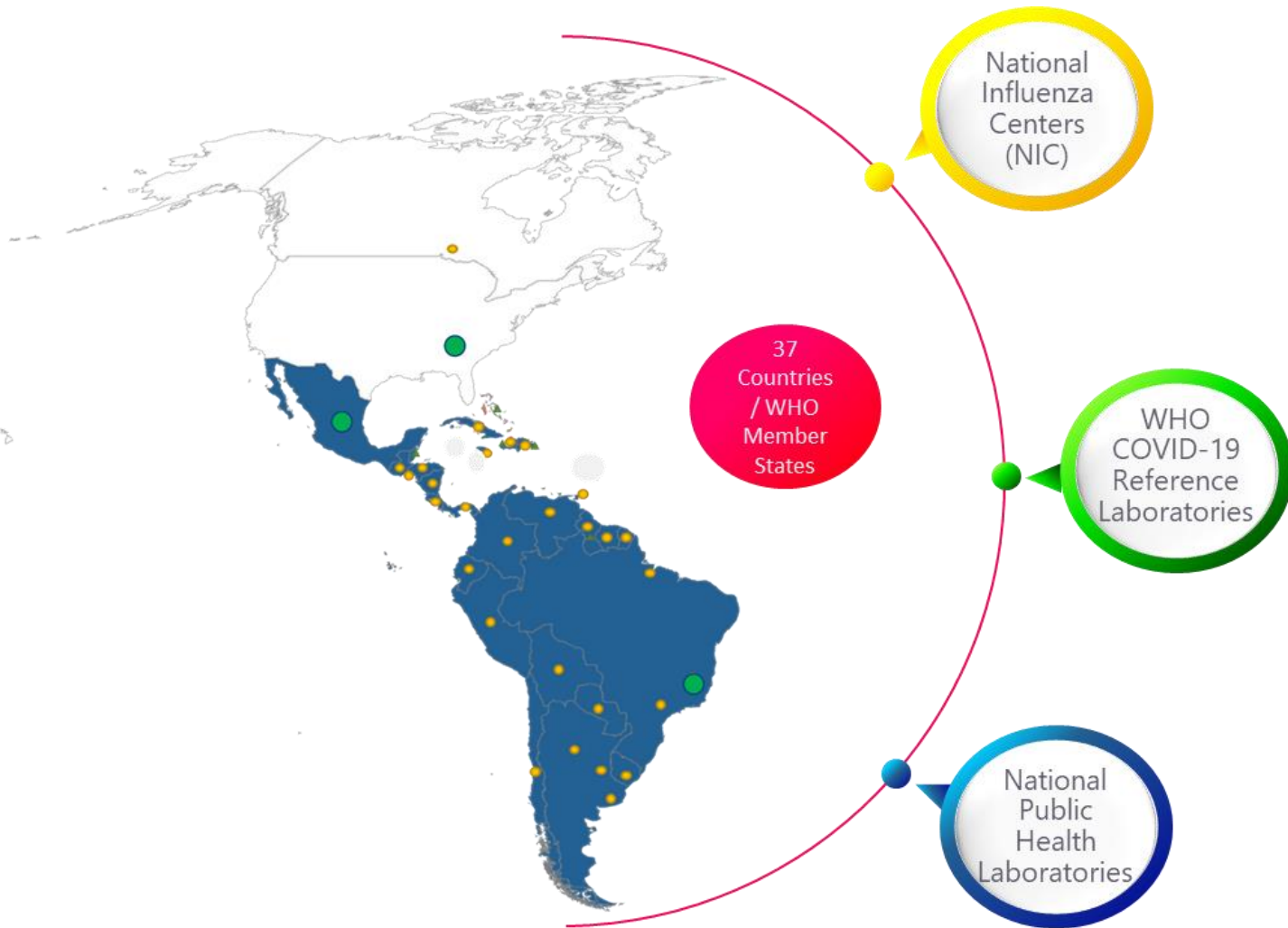
1,068,110 deaths

56 countries/areas/territories affected.



Muestras y diagnóstico virológico

# Respuesta de Laboratorio para COVID-19 en Las Américas



- Red de laboratorios de salud pública con una sólida capacidad para detección molecular
- Desde febrero 2020, OPS generó lineamientos de laboratorio y recomendaciones para la implementación de los ensayos y protocolos

# COVID-19: Respuesta de laboratorio

- OPS ha puesto a disposición lineamientos de laboratorio y recomendaciones para la implementación de los protocolos



## Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19

8 de julio del 2020

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID-19200038\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID-19200038_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- **Tipos de muestra**
- **Diagnóstico virológico**
- **Serología**
- **Bioseguridad**
- **Vigilancia genómica**



# COVID-19: Respuesta de laboratorio

- OPS ha puesto a disposición lineamientos de laboratorio y recomendaciones para la implementación de los protocolos



## Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19

8 de julio del 2020

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID-19200038\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52471/OPSIMSPHECOVID-19200038_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

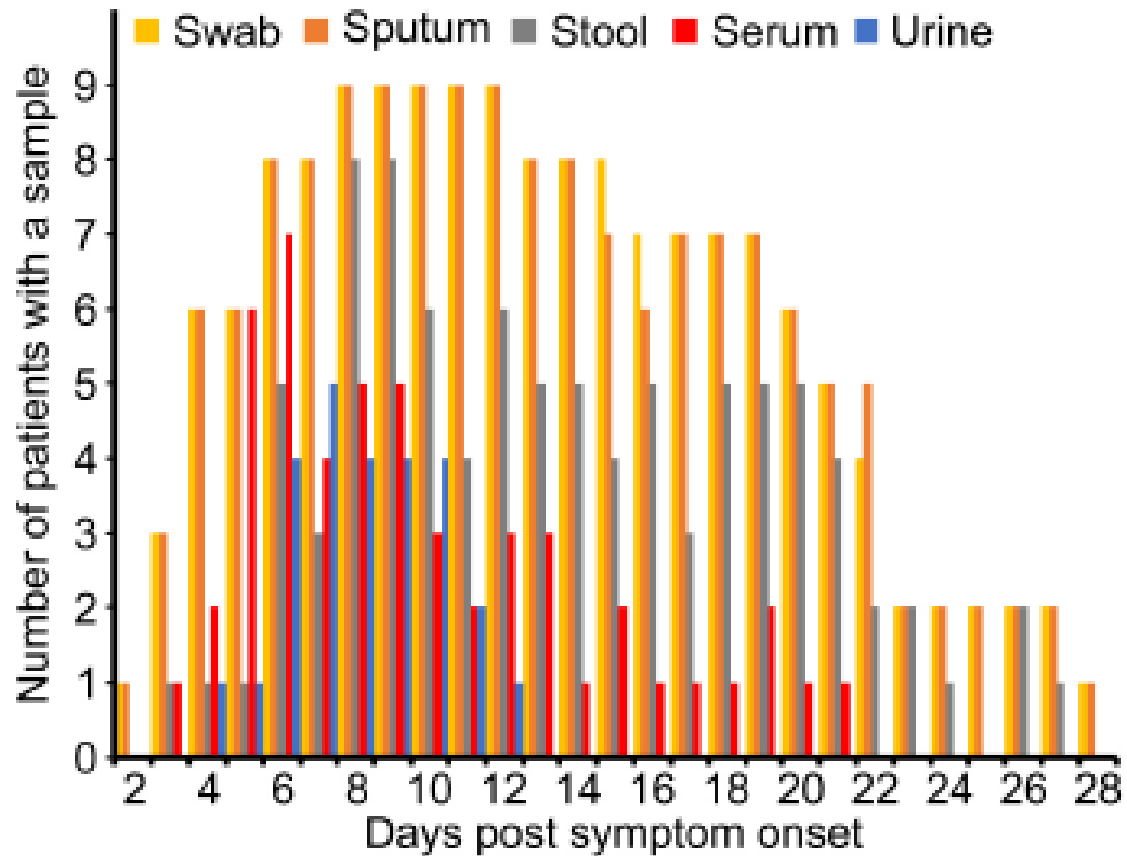
- **Tipos de muestra**
- **Diagnóstico virológico**
- **Serología**
- **Bioseguridad**
- **Vigilancia genómica**



Muestras y diagnóstico virológico



# Muestras recomendadas



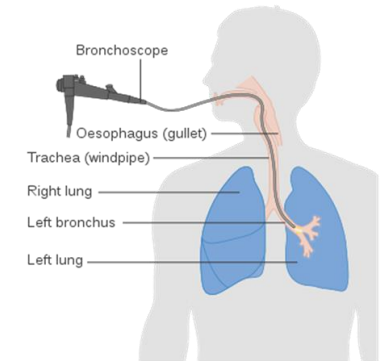
## Tracto Respiratorio Alto:

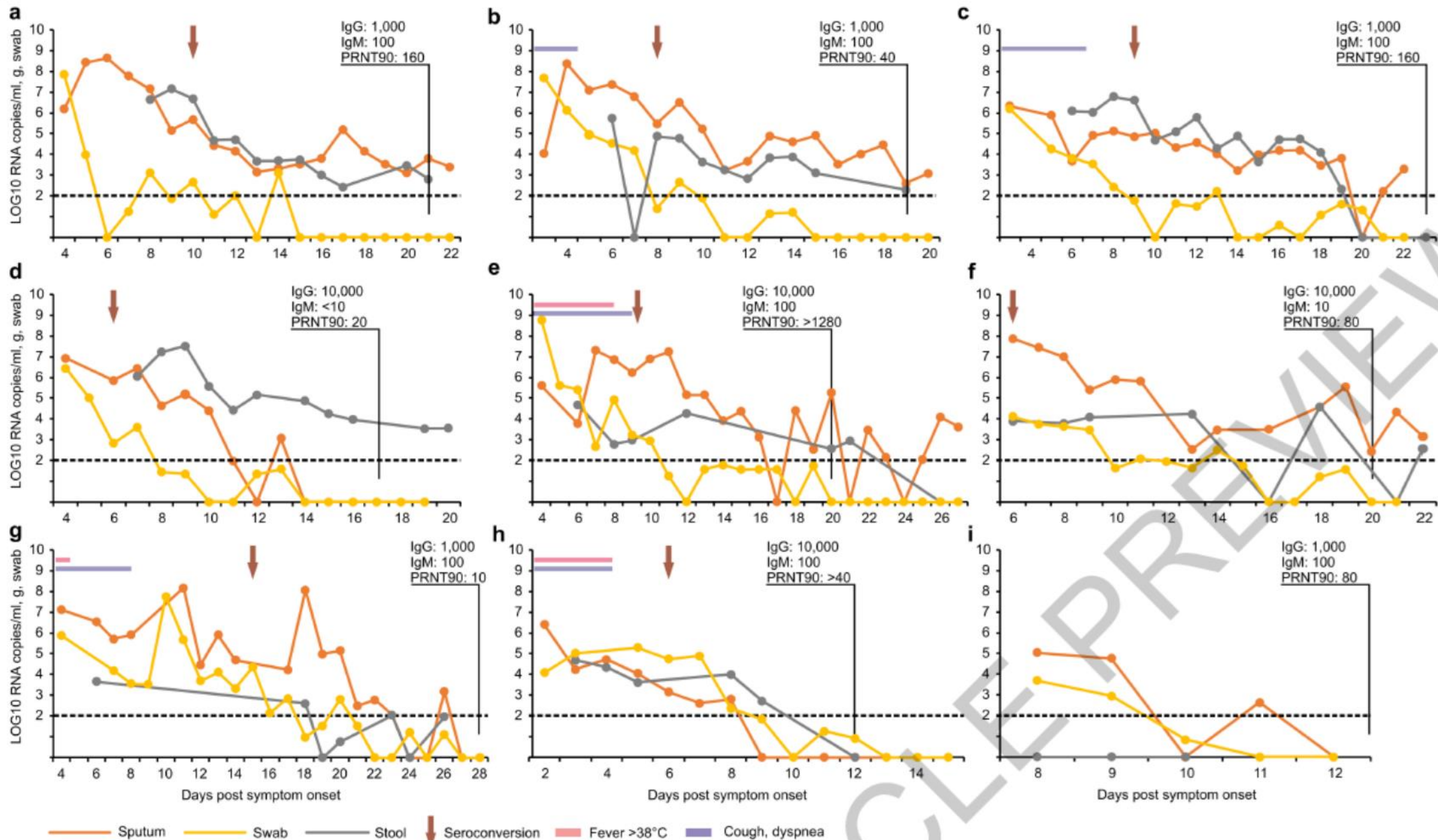
- Hisopado Nasofaríngeo
- Hisopado Orofaringeo



## Tracto Respiratorio Bajo:

- Lavado Broncoalveolar
- Aspirado traqueal
- Esputo





Wölfel, R. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x> (2020).

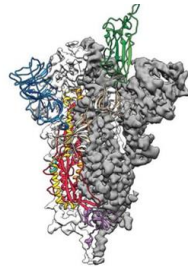
# Ensayos disponibles

Tipo de ensayo

Ensayos virológicos



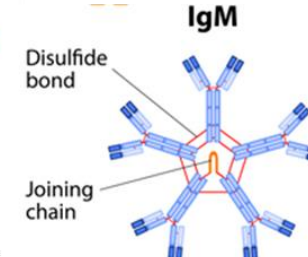
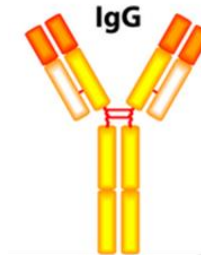
Material genético



Proteínas/Antígenos

**Confirmatorio / Diagnóstico**

Ensayos serológicos



Anticuerpos

**NO Confirmatorio / investigación**

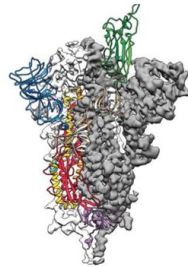
# Ensayos disponibles

Tipo de ensayo

Ensayos virológicos



Material genético



Proteínas/Antígenos

**Confirmatorio / Diagnóstico**

Ensayos serológicos



Anticuerpos

**NO Confirmatorio / Investigación**

# Ensayos disponibles

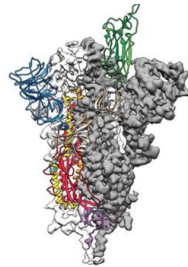
Tipo de ensayo



Ensayos virológicos



Material genético



Proteínas/Antígenos

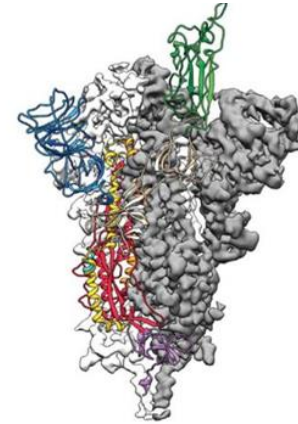
**Confirmatorio / Diagnóstico**

# Ensayos disponibles

## Ensayos virológicos



Material genético



Proteínas/Antígenos

## PCR

- Plataformas abiertas (manuales)
- Plataformas cerradas (automatizadas)
- Otros (LAMP)

- ELISA
- Prueba rápida *Point of Care* (PoC)

# Ensayos disponibles

## Ensayos virológicos

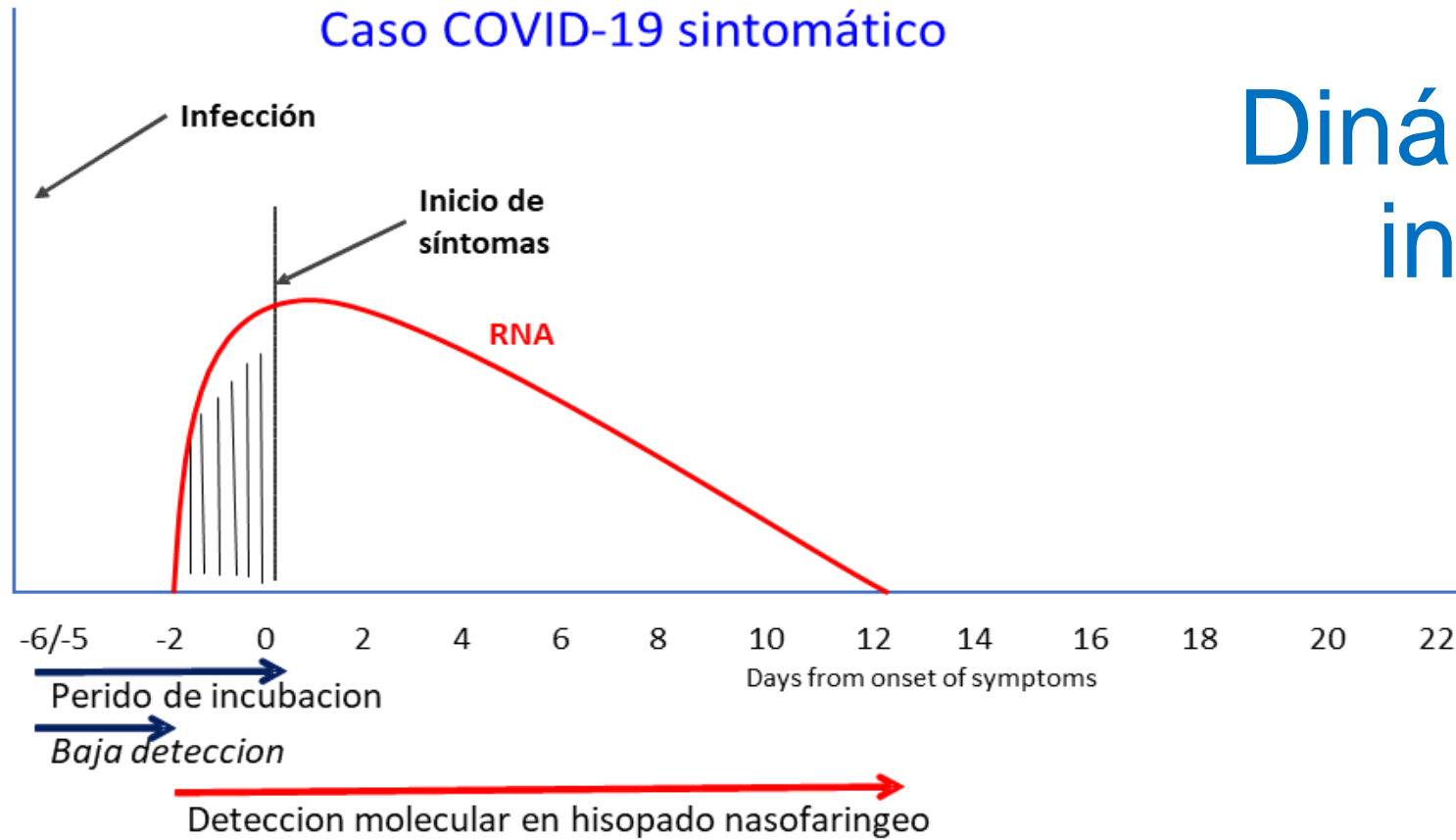


## Material genético

### PCR

- Plataformas abiertas (manuales)
- Plataformas cerradas (automatizadas)
- Otros (LAMP)

# Dinámica de la infección



## Ensayo molecular (RT-PCR)

Detecta: material genético  
Alta sensibilidad  
Alta especificidad



# Protocolos RT-PCR

PAHO is working to implement the first protocol made available by WHO, developed by the **Charité Hospital, Berlin Germany**. This protocol has been published and can be accessed on the following link:

<https://www.eurosurveillance.org/docserver/fulltext/eurosurveillance/25/3/eurosurv-25-3-5.pdf?expires=1580420806&id=id&accname=guest&checksum=D2E250BE3914A24D9381FC9538EFF11D>

# Protocolos (RT-PCR)

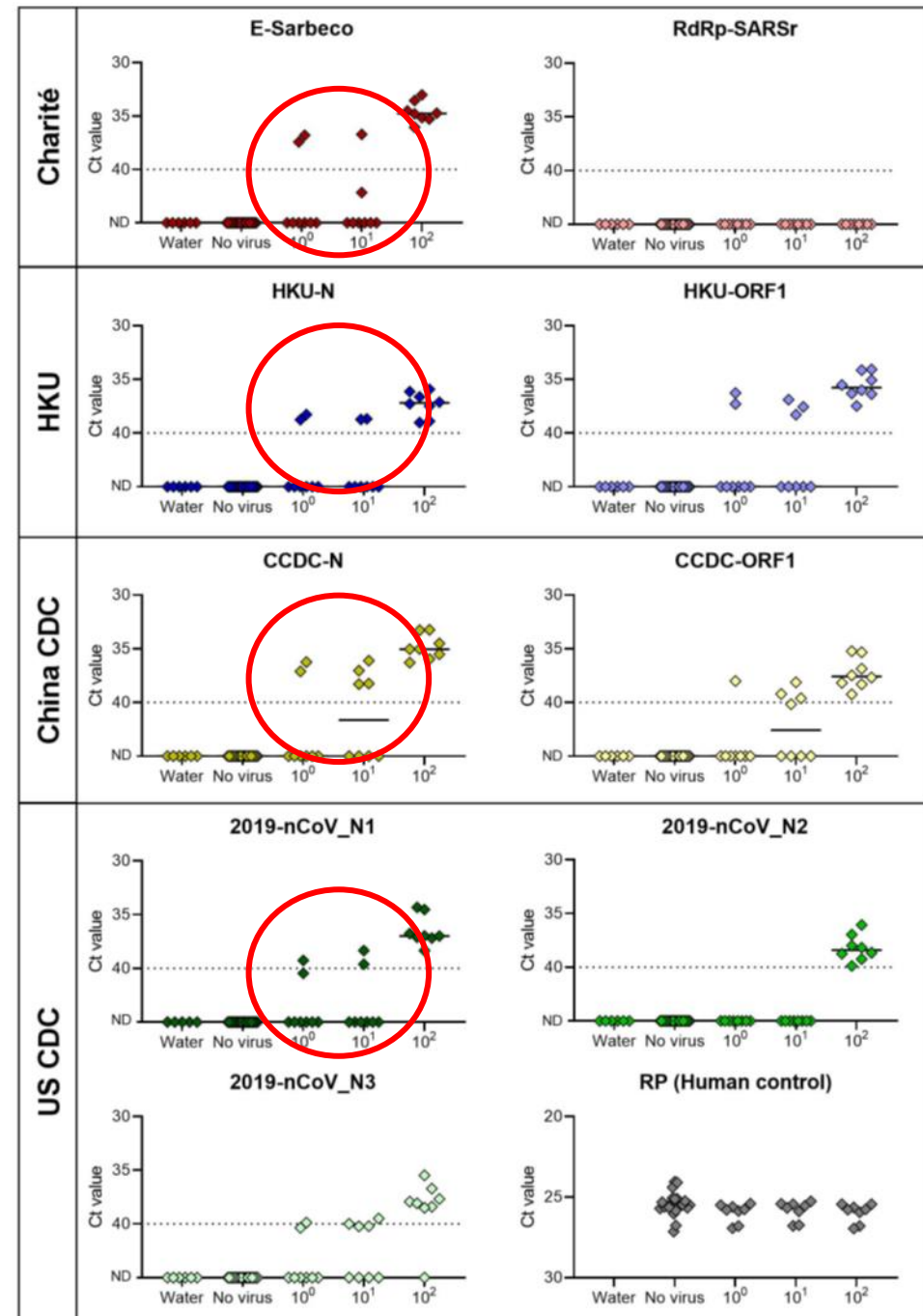
Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-COV-2 qRT-PCR primer-probe sets

4 protocolos (*in-house*) ofrecen la mayor sensibilidad:

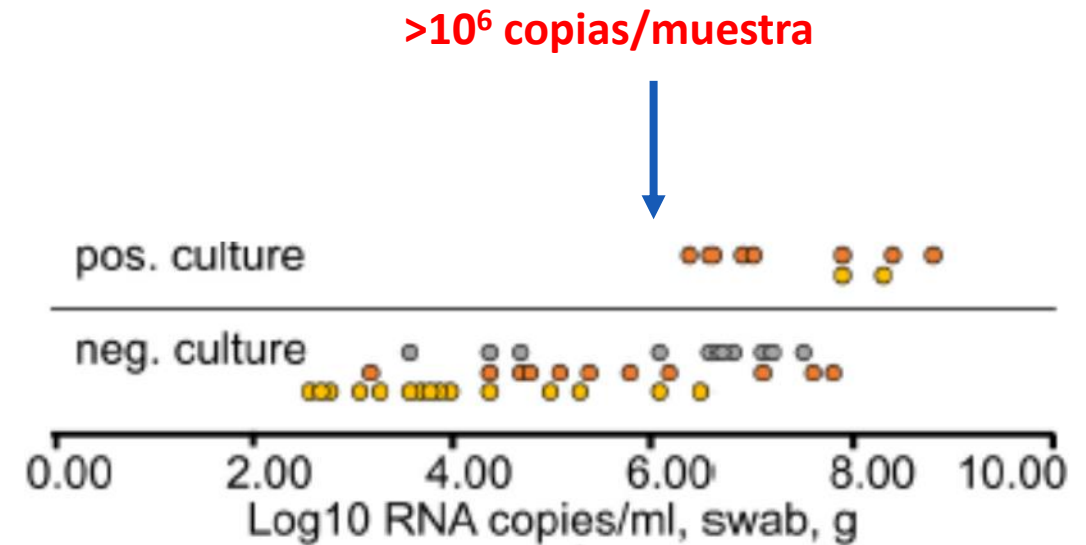
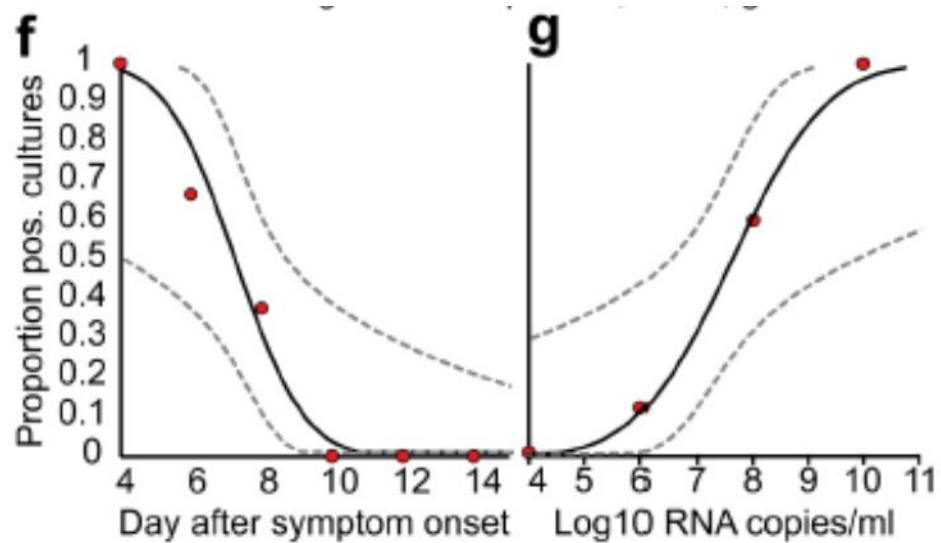
$10^0$ - $10^2$  viral RNA copies/ $\mu$ L

Es probable que se detecte durante mucho tiempo RNA, aun en personas que ya no son infecciosas

<https://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2020/04/26/2020.03.30.20048108.full.pdf>



# Protocolos (RT-PCR)



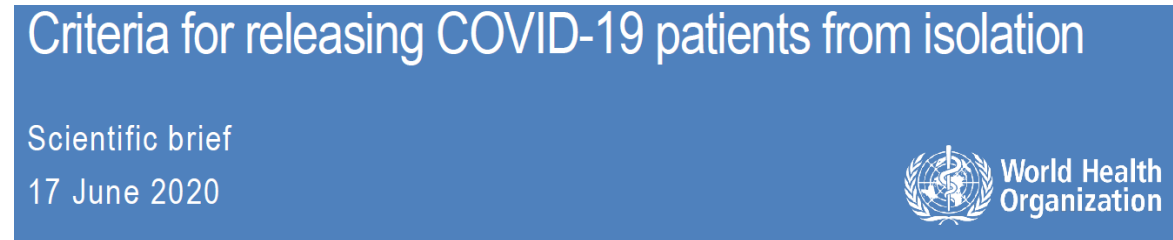
**Después de 10 días, es difícil (poco probable) aislar virus en cultivo;** posiblemente la carga viral es muy baja o se trata de RNAs subgenómicos o residuales (no virus viables/infecciosos)

Un ensayo de PCR con alta sensibilidad puede detectar estos RNAs o cargas virales muy bajas

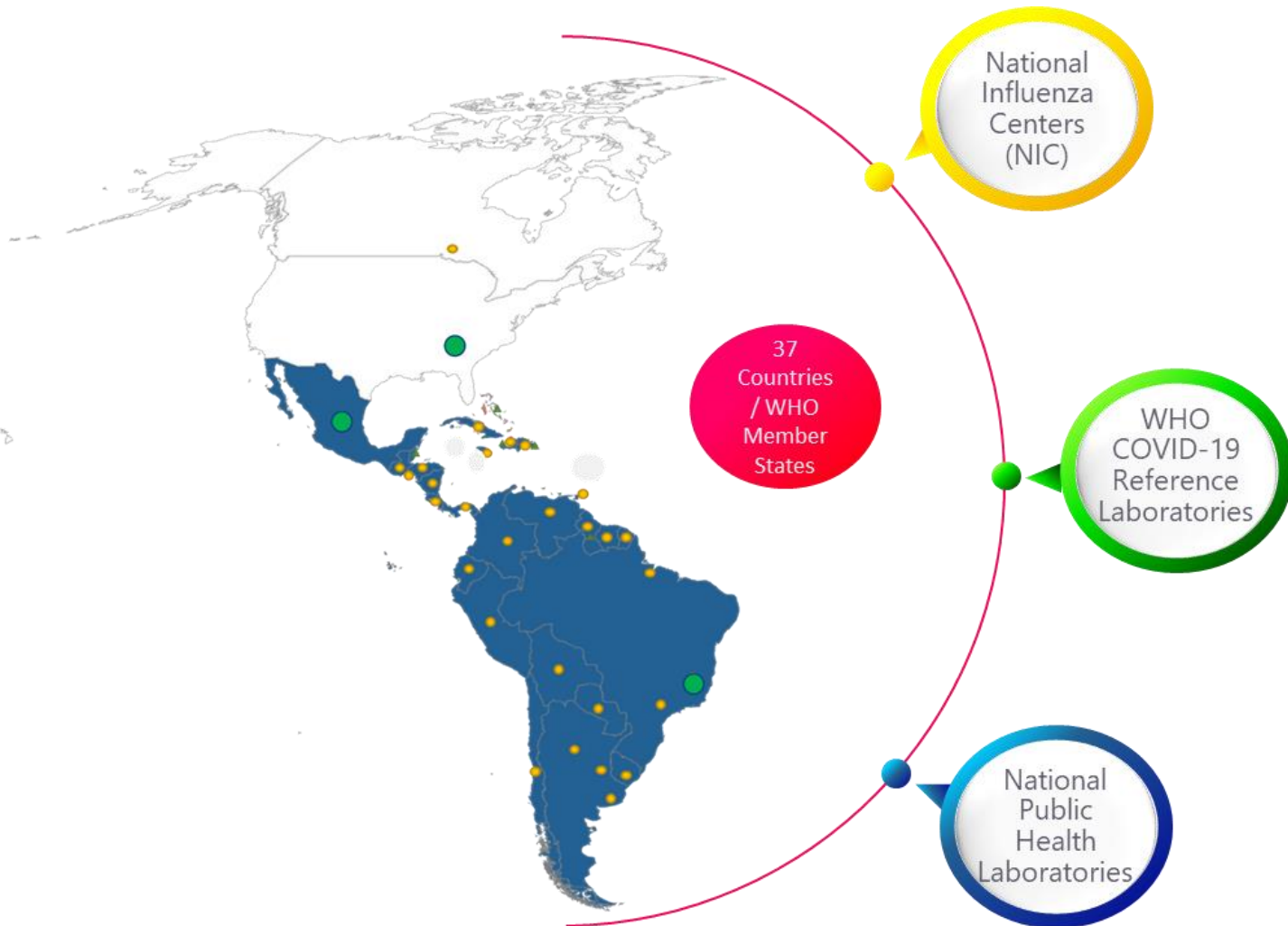
# Criterios para terminar aislamiento o cuarentena

Criterios para dar de alta a los pacientes del aislamiento **sin necesidad de hacer una prueba:**

- **Para pacientes sintomáticos:** 10 días después del inicio de los síntomas, más al menos 3 días adicionales sin síntomas (incluyendo fiebre y síntomas respiratorios) -mínimo de 10 + 3 días
- **Para casos asintomáticos:** 10 días después de la prueba positiva para SARS-CoV-2



# Respuesta de Laboratorio para COVID-19 en Las Americas



- PCR sólidamente establecida en la Región...
- El diagnóstico molecular por PCR ya no es suficiente (costos, tiempo, disponibilidad...)
- Implementar nuevas metodologías, cubrir una mayor población y llegar hasta áreas remotas, debe ser una prioridad

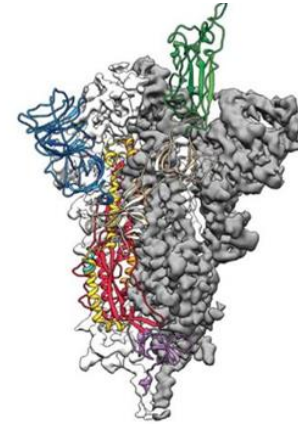
# Ensayos disponibles



Material genético

## PCR

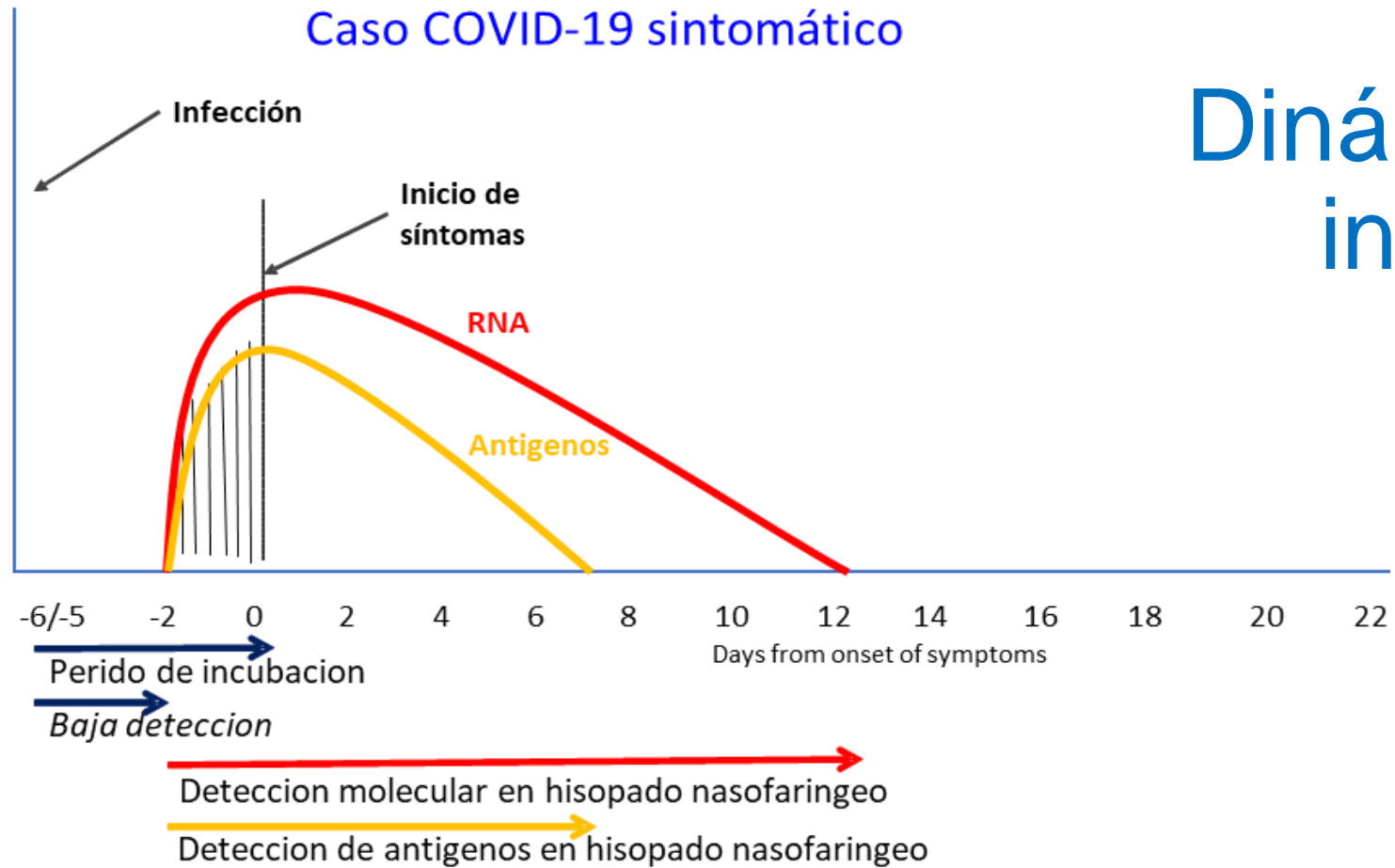
- Plataformas abiertas (manuales)
- Plataformas cerradas (automatizadas)
- Otros (LAMP)



Proteínas/Antígenos

- ELISA
- Prueba rápida *Point of Care* (PoC)

# Dinámica de la infección




## Detección de antígenos

Detecta: Proteínas  
Buena sensibilidad  
Alta especificidad

# Detección de antígenos

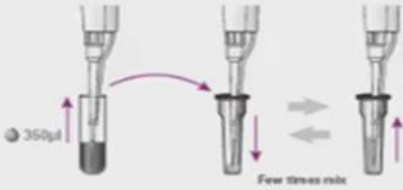
**COLLECTION OF SPECIMEN**  
**[Nasopharyngeal swab]**

1. Insert a sterile swab into the nostril of the patient, swab over the surface of the posterior nasopharynx. Withdraw the sterile swab from the nasal cavity.
2. Insert the swab into an extraction buffer tube. While squeezing the buffer tube, stir the swab more than 5 times.
3. Remove the swab while squeezing the sides of the tube to extract the liquid from the swab.




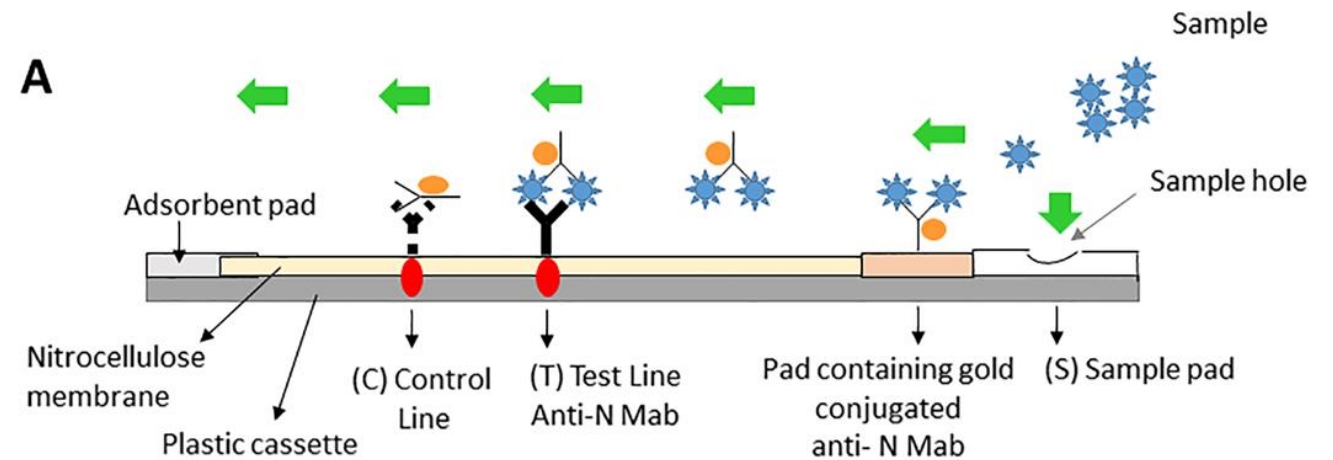
**[Specimens in transport media]**

1. Using a micropipette, collect the 350µl of specimen from the collection cup or VTM. Mix the specimen with an extraction buffer.
2. Press the nozzle cap tightly onto the tube.



**ANALYSIS OF SPECIMEN**

1. Apply 3 drops of extracted specimen to the specimen well of the test device.
2. Read the test result in 15-30 minutes.

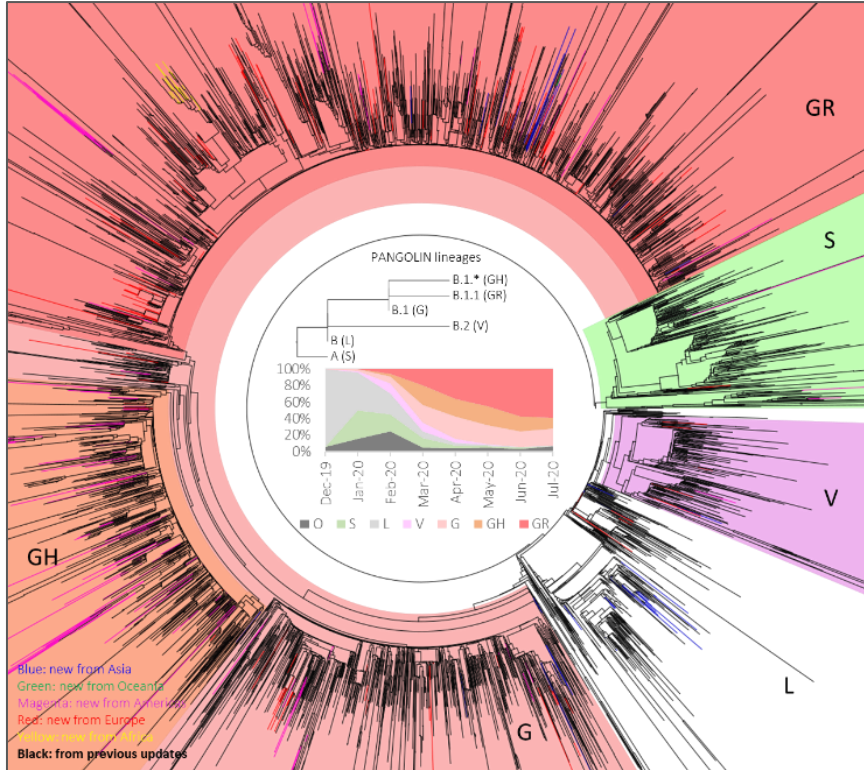







Vigilancia genómica y variantes

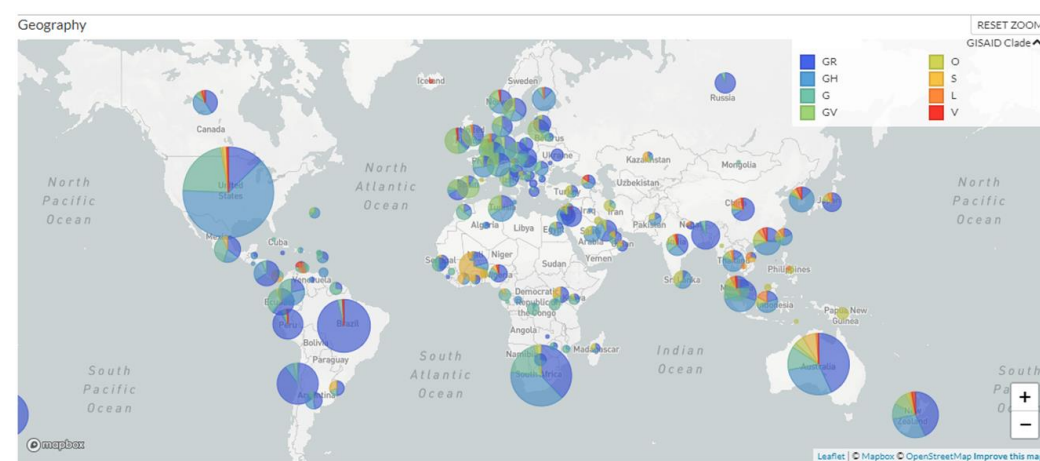
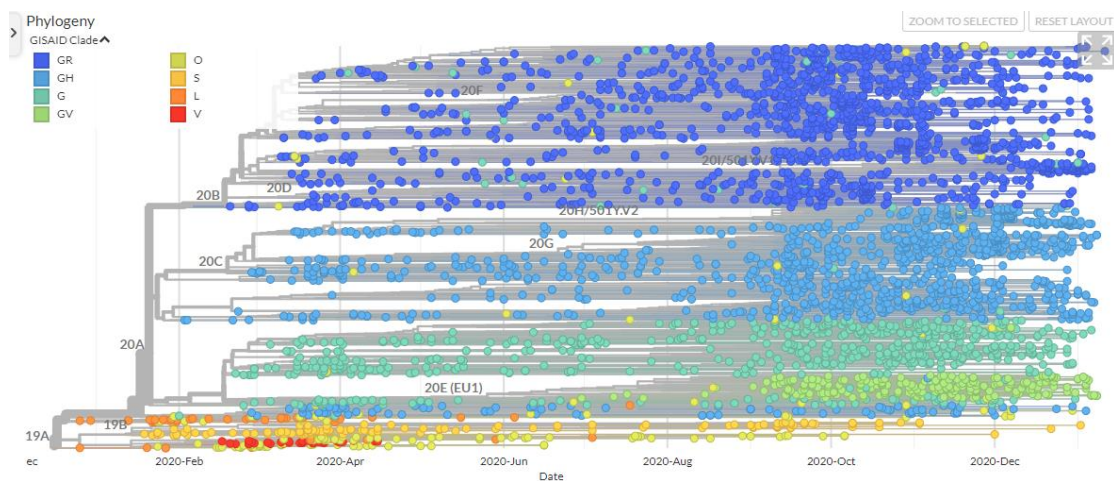
# Caracterización genética de SARS-CoV-2



## Consideraciones:

- Desde la caracterización inicial del COVID-19, el virus a divergido en diferentes clados (***linajes***).
- Debido a repetidos procesos de microevolución y presiones de selección, and mutaciones adicionales aparecen y se acumulan, generando diferencias dentro de cada linaje : ***Variantes***
- Importante mencionar que las denominaciones de *clado, linaje, variante, etc.*, son arbitrarias y no corresponden a una categoría taxonómica oficial

# Caracterización genética de SARS-CoV-2



<https://www.gisaid.org/phyldynamics/global/nextstrain/>

> 420,000 secuencias enviadas a GISAID

# Caracterización genética de SARS-CoV-2

## Consideraciones:

- **Las mutaciones son esperadas en los procesos de evolución y adaptación viral.**
- **Usualmente, los virus de RNA son mas propensos a generar mutaciones (poca capacidad correctora de las polimerasas) y por tanto de generar variantes genéticas**
- **Existen diferentes tipos de mutaciones y algunas son mas importantes que otras:**

# Variantes & mutaciones SARS-CoV-2 de potencial interés en salud pública

	VOC 202012/01	Variant 501Y.V2	Variant P.1
Linaje	B.1.1.7	B.1.351	B.1.1.28
Primera detección	Reino Unido	Sur Africa	Brasil
Mutaciones relevantes (S)	N501Y / Δ69/70	N501Y / E484K / K417N	N501Y / E484K / K417N/T

## Posibles consecuencias de estas mutaciones:

- Aumentar la capacidad de transmisión
- Escapar de la respuesta inmune

# Variantes & mutaciones SARS-CoV-2 de potencial interés en salud pública

	VOC 202012/01	Variant 501Y.V2	Variant P.1
Linaje	B.1.1.7	B.1.351	B.1.1.28
Primera detección	Reino Unido	Sur Africa	Brasil
Mutaciones relevantes (S)	N501Y / Δ69/70	N501Y / E484K / K417N	N501Y / E484K / K417N/T

## Posibles consecuencias de estas mutaciones:

- Aumentar la capacidad de transmisión
- Escapar de la respuesta inmune

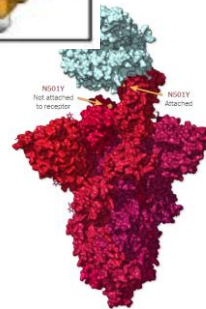
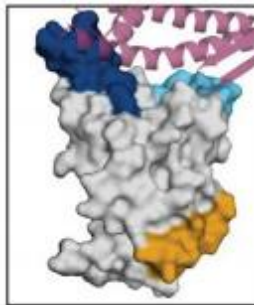
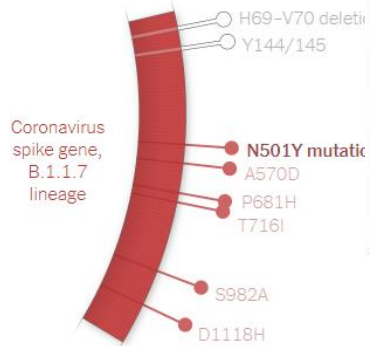
**Incremento en incidencia**

# Líneas de evidencia

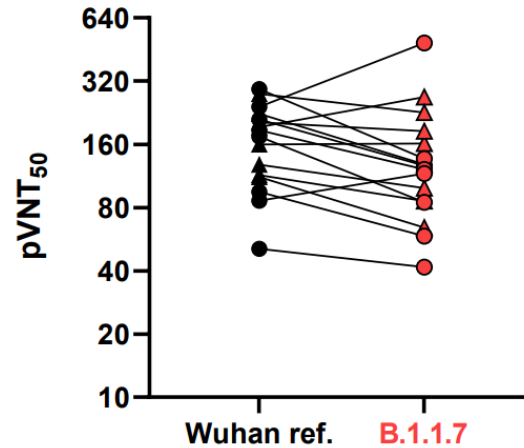
## Virología

### Secuenciación

### Mapeo de dominios funcionales



## Serología



### Cual virus?

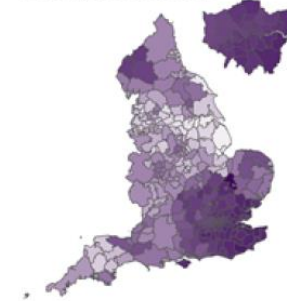
- Pseudovirus
- Virus salvajes
- Variantes virales

### Cuales anticuerpos?

- Terapéuticos
- Convalecientes
- Vacunales

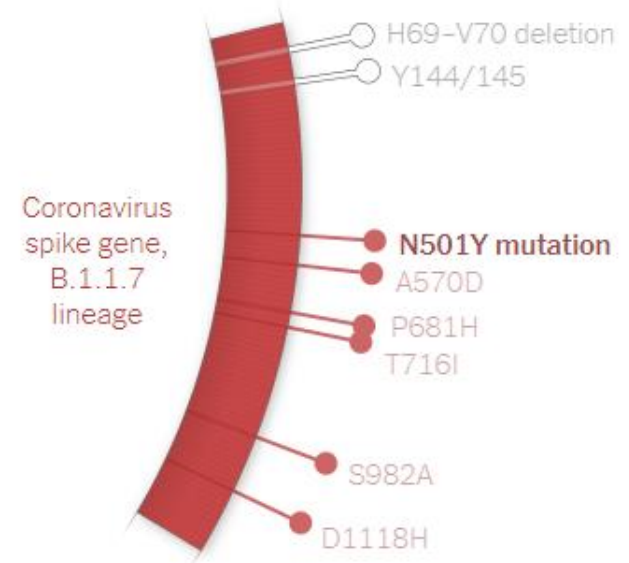
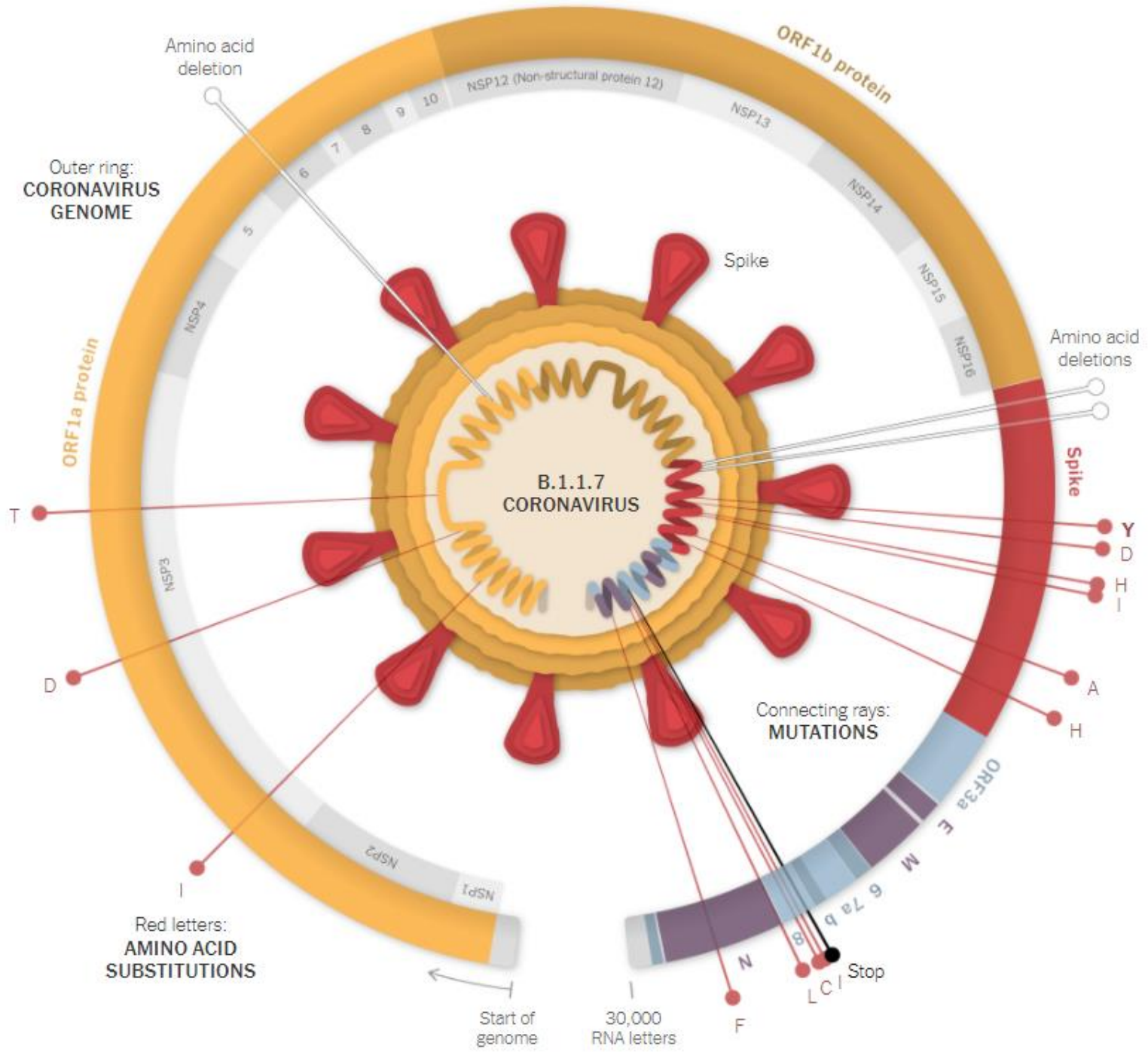
## Epidemiología

15 Dec to 28 Dec 2020



Characteristic of contact	All contacts	Contacts of people with S-gene target failure		Contacts of people with wild type (no S-gene target failure)			
		Total contacts	All contacts that became cases	%	All contacts that became cases	%	
All	956,519	262,769	39,277	15.0	262,232	28,770	11.0
East Midlands	60,153	5,421	782	14.4	26,750	2,899	10.8
East of England	154,144	45,396	6,953	15.3	18,791	2,141	11.4
London	281,461	101,056	14,638	14.5	41,365	4,392	10.6
North East	28,450	5,860	897	15.3	17,454	1,948	11.2
North West	71,002	9,575	1,531	16.0	45,852	5,182	11.3
South East	186,311	73,133	11,043	15.1	27,849	3,052	11.0
South West	41,465	4,692	716	15.3	9,084	1,038	11.4
West Midlands	78,112	13,588	2,099	15.5	43,848	4,751	10.8
Yorkshire and Humber	53,192	3,448	533	15.5	30,616	3,310	10.8

# SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant



Corum & Zimmer, Inside the B.1.1.7 coronavirus variant, The New York Times 2021 (18 Jan.), [www.nytimes.com](http://www.nytimes.com)



**Table 2. Characteristics of the Most Advanced Vaccine Candidates for the United States\***

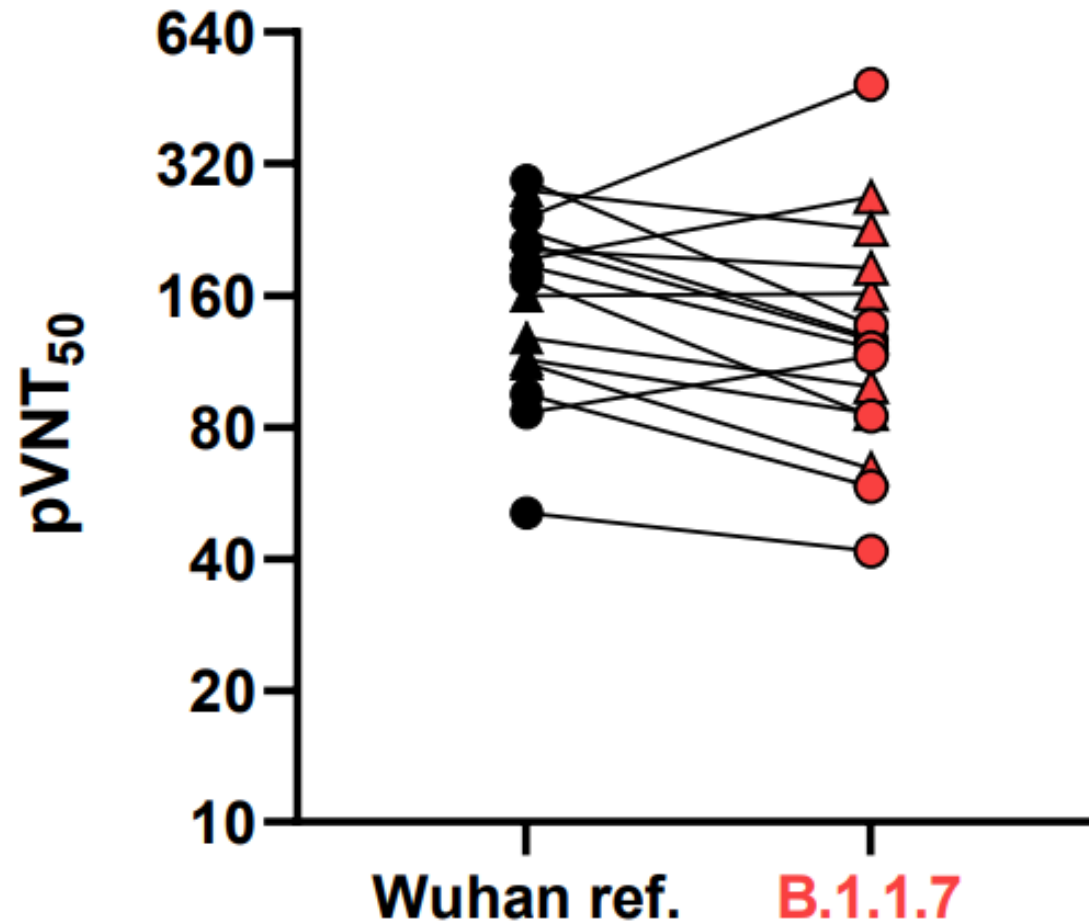
Manufacturer	Platform	Status In the U.S.	Doses and Interval	Phase 3 Sample Size	Efficacy Against Symptomatic Disease (95% CI)	Efficacy Against Severe Disease†	Reactogenicity	Storage and Temperature
Pfizer/ BioNTech	mRNA	EUA	2 at 3 wk apart	43 661	95.0% (90.3%–97.6%)	9 vs. 1	Fatigue, muscle aches, chills, fever, local reactions	–70 °C for 6 mo 2–8 °C for 5 d
Moderna	mRNA	EUA	2 at 4 wk apart	30 351	94.1% (89.3%–96.8%)	30 vs. 0	Local pain, fatigue, headache, myalgia, arthralgia, chills, fever	–20 °C for 6 mo 2–8 °C for 30 d RT for 12 h
AstraZeneca	Recombinant chimpanzee adenovirus (nonreplicating)	Enrolling phase 3	2 at 4 wk apart	~30 000	NA	NA	Local pain, fatigue, headache, fever, myalgia	2–8 °C for 6 mo
Johnson & Johnson/Janssen	Recombinant human adenovirus 26 (nonreplicating)	Completed phase 3 enrollment	1	~45 000	NA	NA	Local pain, fatigue, headache, myalgia	2–8 °C
Novavax	Recombinant protein	Enrolling phase 3	2 at 3 wk apart	~30 000	NA	NA	Local pain, fatigue, headache, myalgia	2–8 °C
Sanofi/ GlaxoSmithKline	Recombinant protein	Phase 2	1 or 2 at 3 wk apart	NA	NA	NA	NA	2–8 °C
Merck	Recombinant vesicular stomatitis virus (replicating)	Phase 1	1	NA	NA	NA	NA	–70 °C

EUA = emergency use authorization; NA = not available; RT = room temperature.

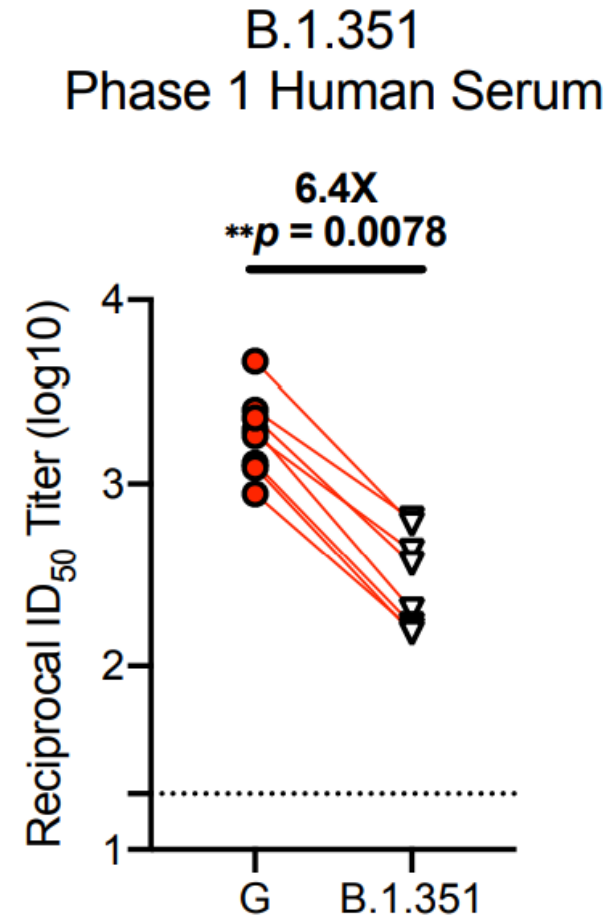
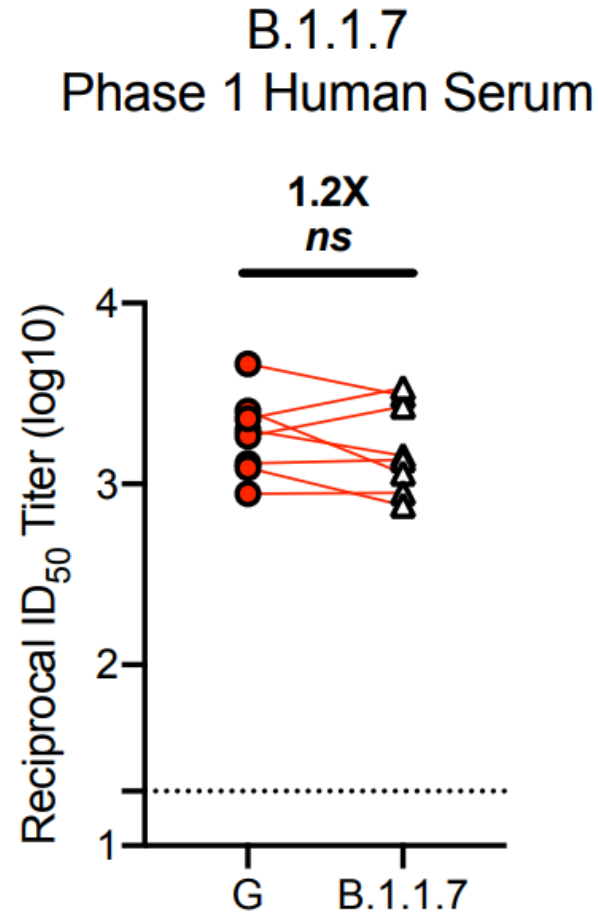
\*All vaccines are directed toward the spike protein of SARS-CoV-2.

† Number of severe cases of COVID-19 (placebo vs. vaccine group)

# Títulos neutralizantes de 16 sueros de vacunados con **BNT162b2** contra pseudovirus SARS-CoV-2 con proteína S de WT & linaje B.1.1.7



# Neutralización contra virus salvaje & variantes con sueros de pacientes vacunados con **mRNA-1273**



# Personas positivas para COVID-19 UK, 4/2020–1/2021

Latest data provided on 14 January 2021

Daily

48,682

Last 7 days

370,839

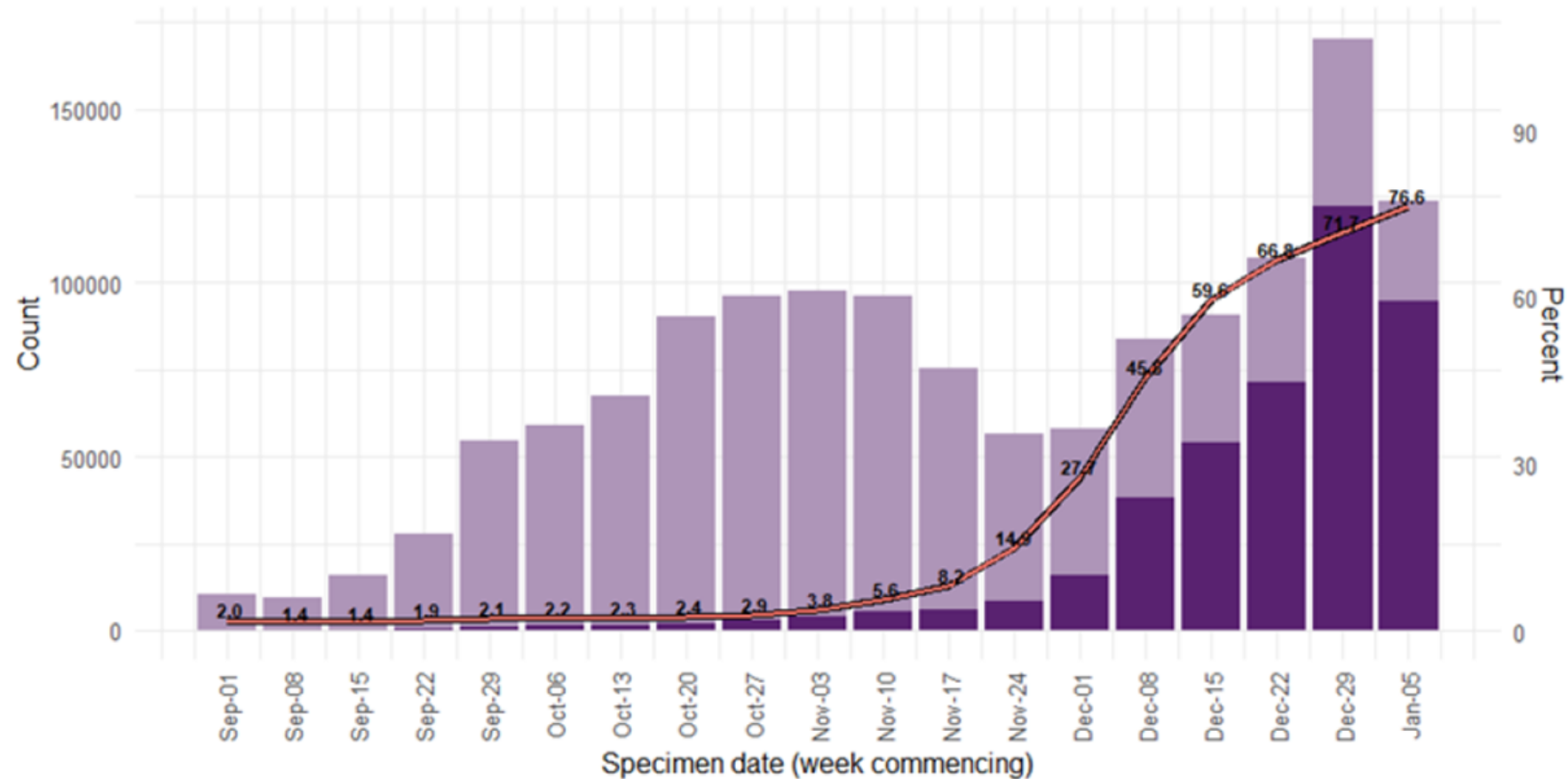
↓ -29,801 (-7.4%)

► Rate per 100k resident population: **583.4**



<https://coronavirus.data.gov.uk/>

# Numero de casos COVID-19 con falla en la detección del gen S (SGTF),—Inglaterra, 1 Sept 2020 – 11 Ene 2021

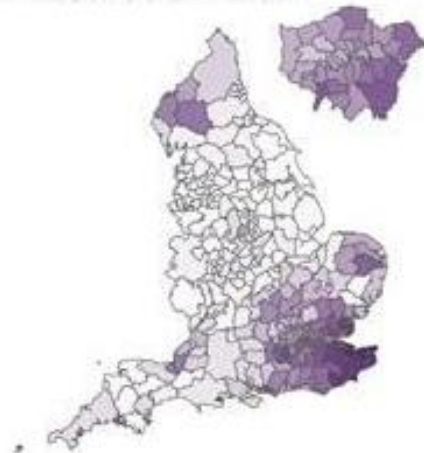


# Proporción de test COVID-19 con falla en la detección del gen S (SGTF),—Inglaterra, 1 Sept 2020 – 4 Ene 2021

10 Nov to 23 Nov 2020



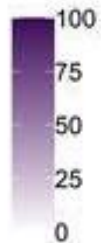
24 Nov to 07 Dec 2020



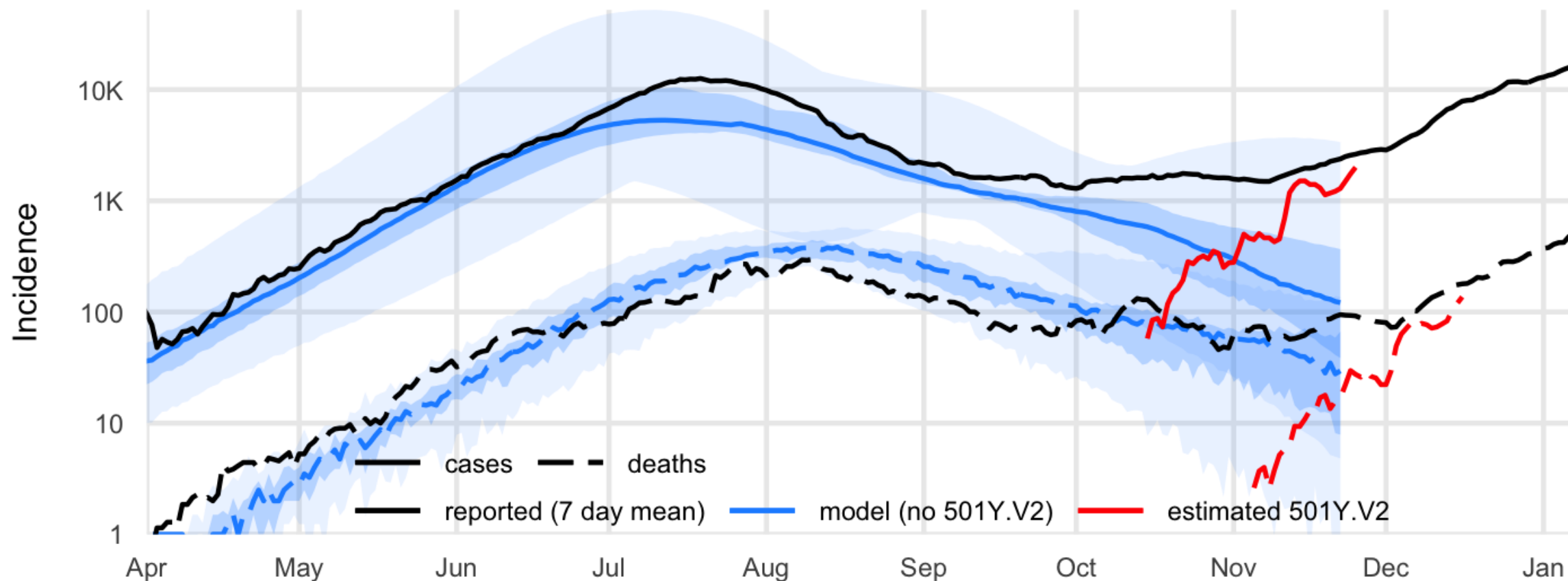
08 Dec to 21 Dec 2020



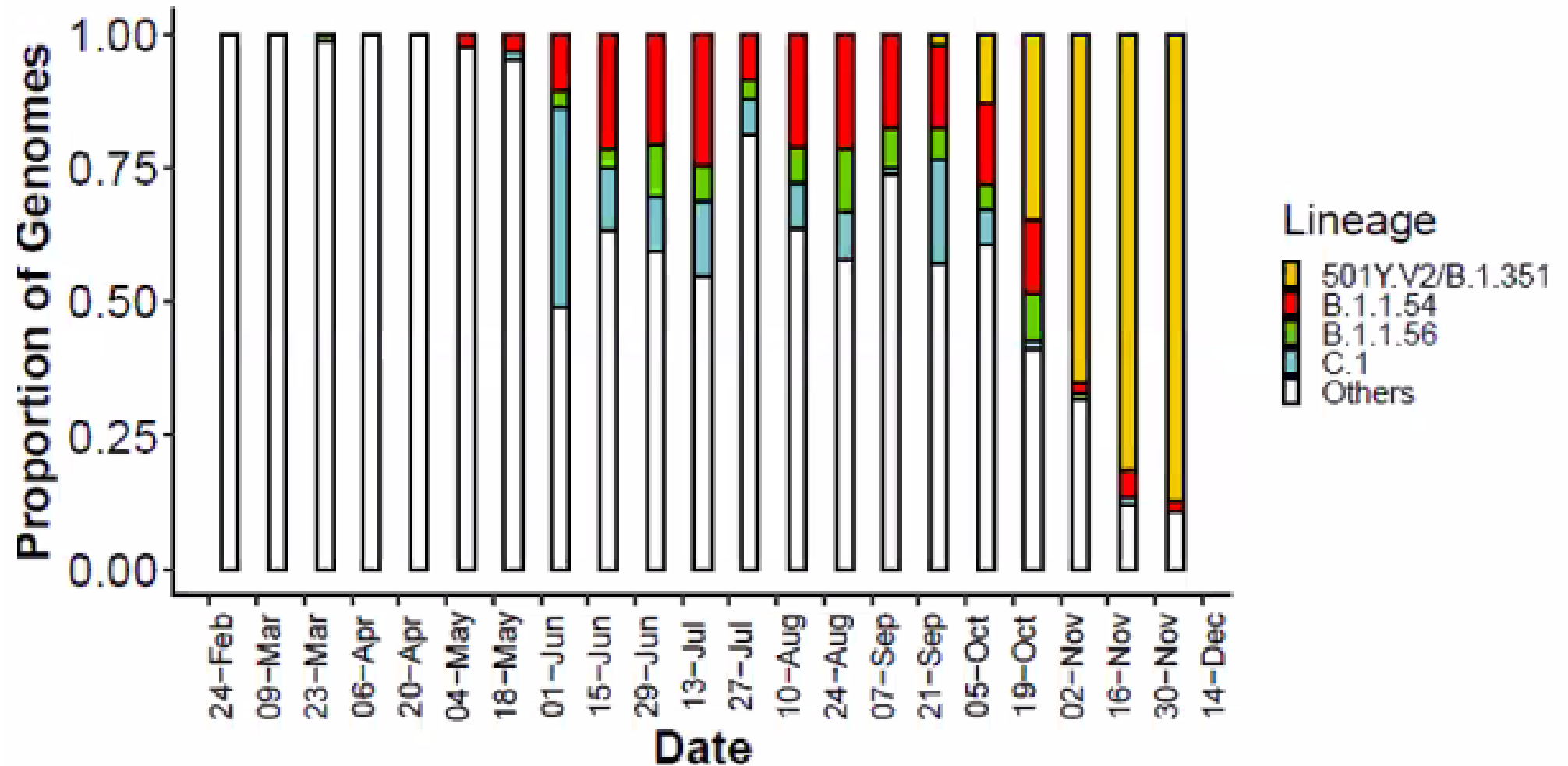
22 Dec to 04 Jan 2021



# Incidencia proyectada & reportada de COVID-19 con impacto estimado de 501Y.V2 — Sur Africa



# Proporción de variantes (incluyendo 501Y.V2) entre muestras de SARS-CoV-2 en tres Provincias\*, Sur África, Febrero– Noviembre 2020



\*Eastern Cape, Western Cape, KwaZulu-Natal Provinces  
Network for Genomic Surveillance South Africa (NGS-SA)





## SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil

SARS-CoV-2 coronavirus | nCoV-2019 Genomic Epidemiology



paola

9d

Jan 17

### SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil

Felipe Naveca **1,2,3**, Cristiano da Costa **2,4**, Valdinete Nascimento **1,2,3**, Victor Souza **1,2,3**, André Corado **1,2,3**, Fernanda Nascimento **1,2,3**, Ágatha Costa **1,2,3**, Débora Duarte **1,2,3**, George Silva **1,2,3**, Matilde Mejía **1,2,3**, Karina Pessoa **1,2,3**, Luciana Gonçalves **2,4**, Maria Júlia Brandão **1,2,3**, Michele Jesus **2,3,5**, Rosemary Pinto **2,4**, Marineide Silva **2,6**, Tirza Mattos **2,6**, Lígia Abdalla **7**, João Hugo Santos **8**, Rubens Costa-Filho **9**, Gabriel Luz Wallau **3,10**, Marilda Mendonça Siqueira **3,11**, Edson Delatorre\*, **3,12**, Tiago Gräf\*, **3,13**, Gonzalo Bello\*, **3,14**, Paola Cristina Resende\* ,**3,11**.

\*These authors contributed equally to this work.

1 / 4

Jan 18

Casos incrementando en el estado de Amazonas






\*The map includes 2 unverified reports for the VOC 202012/01 variant and 2 unverified reports for the 501Y.V2 variant.

# Variantes SARS-CoV-2 en las Américas, hasta enero 26, 2021

Country	VOC 202012/01	Variant 501Y.V2	Variant P1
Argentina	X		
Brazil	X		X
Canada	X	X	
Chile	X		
Cuba		X	
Ecuador	X		
Jamaica	X		
Mexico	X		
Panama		X	
Peru	X		
Dominican Rep.	X		
Saint Lucia	X		
Trinidad & Tobago	X		
USA	X		X

Source: Information shared by the International Health Regulations (IHR) National Focal Points (NFPs) or published on the websites of the Ministries of Health, Health Agencies or similar and reproduced by PAHO/WHO

# Variantes SARS-CoV-2 en las Américas, hasta enero 26, 2021



Actualización epidemiológica:  
**Variantes de SARS-CoV-2 en las Américas.**  
26 de enero de 2021

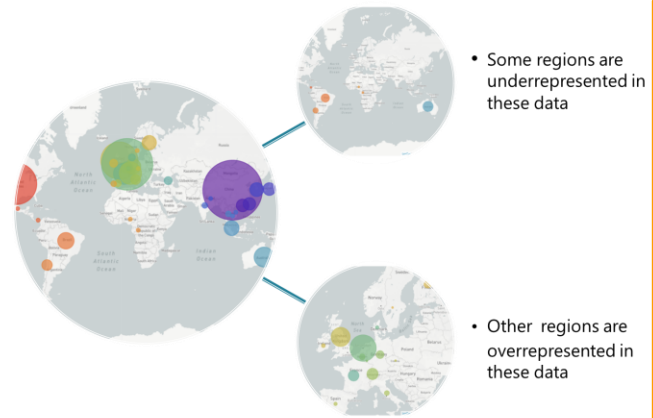
---

**Aspectos destacados**

- Se ha documentado recientemente que las personas infectadas con la **variante VOC 202012/01** tienen un mayor riesgo de fallecer que las personas infectadas con otras variantes<sup>2</sup>.
- Estudios preliminares sugieren que la **variante 501Y.V2** está asociada con una carga viral más alta, lo que podría sugerir un potencial de mayor transmisibilidad<sup>4</sup>.
- Se registró un aumento de la **variante P.1 linaje B.1.1.28** en Manaus, constituyendo el 52,2% (n = 35/67) de los casos tipificados de SARS-CoV-2 en diciembre de 2020 y en enero de 2021, esta proporción aumentó a 85,4% (n = 41/48)<sup>8</sup>.

<https://www.paho.org/es/file/81083/download?token=TiS4tiRi>

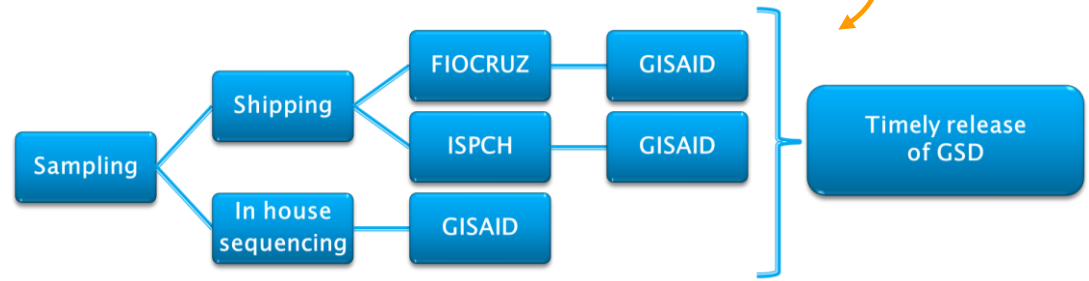
# Red OPS de Vigilancia Genómica COVID-19



- Main objectives:**
- Develop and strengthen a COVID-19 genomic surveillance network in the Americas region
  - Contribute to timely make available more genetic sequencing data (GSD) from the Latin America and Caribbean countries.
- Analysis Objectives:**
- Clarification on transmission patterns, especially in signal events (cruise ship-related or other cluster events, importations, etc.);
  - Identification of mutations putatively involved in host adaptation, virulence or transmissibility;
  - Identification of mutations potentially affecting diagnostic protocols;

**Participating countries:**

- 19 countries from each subregion:
  - North America: Mexico
  - Caribe: Bahamas, Barbados, Haiti and Jamaica
  - Central America: Costa Rica, Guatemala, Honduras and Panama
  - Adrian Region: Colombia, Ecuador, Perú and Venezuela
  - South Cone: Argentina, Bolivia, Brazil, Chile, Paraguay and Uruguay



Page on PAHO website dedicated to the COVID-19 Genomic Surveillance Regional Network:

<https://www.paho.org/en/topics/influenza/covid-19-genomic-surveillance-regional-network>

<https://www.paho.org/es/temas/influenza/red-regional-vigilancia-genomica-covid-19>

# Red OPS de Vigilancia Genómica COVID-19

## COVID-19 Genomic Surveillance Regional Network



## Criterios para seleccionar muestras:

- Muestras de la vigilancia regular en áreas de transmisión
- Áreas con incremento significativo de casos en las últimas semanas (no explicadas por relajamiento de las MSP)
- Casos en niños de áreas con incremento en afectación pediátrica
- Conglomerados de casos severos en <60 años son comorbilidades
- Casos en personas completamente inmunizadas o donde se confirme re infección



## COVID-19 GENOMIC SURVEILLANCE REGIONAL NETWORK

### Geographic distribution of laboratories



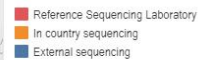
© 2021 Mapbox © OpenStreetMap

### Sequencing status

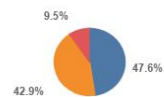
### Total laboratories by status

21

### Selection by status



### Percent distribution



# Caracterización genética de SARS-CoV-2

## Comentarios finales:

- Las mutaciones son esperadas en los procesos de evolución y adaptación viral.
- Aunque algunas variantes han demostrado mayor capacidad para transmitirse y replicar, no son mas agresivas o severas; el impacto en reinfecciones o escape de la respuesta inmune aun debe ser establecido
- Hasta el momento, no hay evidencia para inferir que las vacunas existentes no protejan contra las variantes circulando a nivel global
- El diagnostico virológico (hasta el momento) no ha sido afectado:

# Caracterización genética de SARS-CoV-2

## Comentarios finales:

- **El diagnóstico virológico (hasta el momento) no ha sido afectado:**
  - La mayoría de los protocolos de PCR se basan en la detección de sitios conservados; aquellos basados en la detección del gen S , deben ser revisados\*
  - *\*TaqPath Thermofisher V2* ha disminuido sensibilidad para S, pero sigue detectando bien Orf1 y N
  - Ag RDT detectan la proteína N que es muy conservada
- **Cuanto mas se transmita el virus, mas probabilidades que ocurran mutaciones : Mas variantes son esperadas (vacuna como presión de selección y variantes de escape)**
- **Mantener todas las medidas de salud publica y fortalecer la vigilancia (genómica y epidemiológica)**



# Gracias!!

**PAHO**  
**Laboratory Response Team**

