

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL NEUTRALIZANTE DE ANTICUERPOS NATURALES Y VACUNALES FRENTE A LA VARIANTE LAMBDA (linaje C.37, Andina) y ZETA (linaje P.2, Río de Janeiro) EN CÓRDOBA.

Grupo de trabajo

Universidad Nacional de Córdoba: Instituto de Virología “Dr. J.M. Vanella” FCM/ CONICET– Señor Decano Facultad de Ciencias Médicas Dr. Rogelio Pizzi, Dra. Sandra Gallego, Bioq. Sebastián Blanco, Dra. Brenda Königheim, Dra. Lorena Spinsanti, Dr. Adrián Díaz, Bioq. Juan Aguilar, Dr. Mauricio Beranek, Dra. María Elisa Rivarola, Dra. Silvia Nates, Dra. Viviana Ré, Dra. María Belén Pisano. **Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales** - Dr. Arnaldo Mangeaud.

Hospital Rawson- Ministerio de Salud: Med. Esp. Infect. Miguel Díaz, Bioq. Esp. Hematol. César Collino, Bioq. Aldo Barrera, Dra. Alejandra Álvarez, Dra. Lorena Ravera, Dra. Liliana Zappia, Bioq. Canela Brarda, Bioq. Josefina Eynard Asua, Dra. Claudia Toledo, Bioq. Carla Daniela Barrientos Alvarado, Bioq. Julia Sabbatini, Bioq. Laura Belén Coletti, Tec. Lab. Margarita Inés Cáceres.

Ministerio de Salud de la Provincia Córdoba: Ministro de Salud Dr. Diego Cardozo; Secretaria de Prevención y Promoción de la Salud Bioq. Esp. Virol. María Gabriela Barbás, Epidemiología Mg. Laura López. **Laboratorio Central:** Bioq. Esp. Virol. Gonzalo Castro.

La gran variabilidad del virus SARS-CoV-2 debido principalmente a mutaciones en su genoma, con el consecuente surgimiento de nuevas variantes en el mundo y la introducción de las mismas en nuestro país, es un desafío constante para la protección que supone la respuesta inmune inducida en la población, tanto por la infección previa con las variantes del virus que circulan desde el principio de la pandemia, como también por la inmunidad generada como respuesta a la vacunación. En un informe reciente se comunicaron los resultados de la evaluación del potencial neutralizante de los anticuerpos generados en personas recuperadas de la infección con el virus SARS-CoV-2 *wild type* (variantes pandémicas originales) y de personas vacunadas con Sputnik V, frente a la variante de preocupación (VOC) Gamma (Manaos, linaje P.1) en Córdoba.

Otras dos variantes del virus que están circulando en el país son las variantes Lambda (Andina, linaje C.37) y Zeta (Río de Janeiro, linaje P.2). De estas, la variante Lambda, ha sido clasificada como variante de interés (VOI) por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 14 de Junio y ya se ha descrito su circulación en más de 20 países (1, 2). La variante Zeta, si bien fue clasificada por la OMS como VOI el 17 de Julio de 2020, actualmente es considerada como una variante dentro del grupo de alerta de vigilancia reforzada. Los reportes de vigilancia genómica revelan que, desde los primeros casos detectados en Argentina, Lambda se ha propagado rápidamente en la población, y debido a que es actualmente una de las variantes de mayor circulación, resulta de interés obtener datos de inmunidad poblacional a nivel regional.

En el presente informe se comunican los resultados de la evaluación del potencial neutralizante de los anticuerpos preexistentes en la población frente a las variantes Lambda y Zeta en comparación con el virus *wild type* de referencia, linaje B.1. Para este análisis comparativo se consideraron también los resultados previamente comunicados en referencia a la variante Gamma en 157 muestras de plasma de: 44 individuos recuperados de una infección por el virus SARS-CoV-2 *wild type* variantes pandémicas originales, 67 personas recuperadas de la infección que recibieron una o dos dosis de la vacuna Sputnik V y 46 personas sin infección previa, vacunados con una o dos dosis de Sputnik V. Para las variantes Lambda y Zeta se evaluaron muestras de plasma correspondientes a 141 de las mismas 157 personas distribuidas en las siguientes categorías: Grupo 1- Personas recuperadas de infección natural por el virus SARS-CoV-2 *wild type* variantes pandémicas originales (N=41); Grupo 2- Individuos recuperados de infección natural por SARS-CoV-2 que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V (N= 56); Grupo 3- Individuos vacunados con 1 o 2 dosis de Sputnik V y sin exposición previa al virus (N= 44).

Los ensayos para la determinación de la capacidad neutralizante de los anticuerpos en las muestras de plasma mencionadas frente a las distintas variantes, se realizaron mediante la técnica de Neutralización viral por reducción de placas (TNRP) en células Vero C176 (ATCC CRL-587) bajo agarosa frente a las cepas recientemente aisladas en el InViV: Lambda (Andina, linaje C.37; hCoV-19/Argentina/PAIS-G0307, GISAID, ID: EPI_ISL_3183946) y Zeta (Río de Janeiro, linaje P.2; hCoV-19/Argentina/PAIS-G0308, GISAID, ID: EPI_ISL_3183947). Los anticuerpos neutralizantes (AcNT) fueron titulados, estableciéndose como el título a la máxima dilución del plasma con capacidad de neutralizar al menos el 80% de las unidades formadoras de placa (UFP) inoculadas como ya fue descrito (3). En paralelo se realizó una TNRP frente al virus salvaje SARS-CoV-2 linaje B.1 (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0001/2020, GISAID, ID: EPI_ISL_499083).

Con el objetivo de comparar los títulos de AcNT frente a las variantes virales se realizaron análisis de Friedman, discriminados según la condición de la muestra. El recíproco de los títulos de los AcNT se transformó en logaritmo de base 2 y se calcularon las medias geométricas (MGT) y los antilogaritmos de MGT. Los títulos inferiores a 1/10 se consideraron como 1 y los títulos superiores a 1/640 se consideraron 1280. Se utilizaron los soft R-Medic (4) y R (5), en todos los casos el nivel de significancia fue del 5%.

Los resultados de la distribución de los títulos de AcNT de las muestras evaluadas frente a todas las variantes se muestran en la tabla 1.

Título AcNT	B.1		Gamma		Zeta		Lambda	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<1/10	0	0	17	10,83	7	4,96	18	12,77
1/10	13	8,28	14	8,92	14	9,93	22	15,6
1/20	20	12,74	16	10,19	21	14,89	15	10,64
1/40	16	10,19	20	12,74	19	13,48	23	16,31
1/80	30	19,11	19	12,1	16	11,35	21	14,89
1/160	29	18,47	22	14,01	21	14,89	22	15,6
1/320	26	16,56	21	13,38	22	15,6	15	10,64
1/640	11	7,01	25	15,92	18	12,77	4	2,84
>1/640	12	7,64	3	1,91	3	2,13	1	0,71
Total	157		157		141		141	

Tabla 1. Distribución del título de anticuerpos neutralizantes obtenidos frente a las variantes virales B.1, Gamma (P.1), Zeta (P.2) y Lambda (C.37).

En el grupo de personas recuperadas de la infección natural por SARS-CoV-2 *wild type*, los títulos de AcNT son significativamente menores frente a todas las variantes en comparación con B.1, y, mientras que las medias geométricas (MGT) frente a las variantes Zeta y Gamma disminuyen 0,83 y 0,94 veces, frente a la variante Lambda disminuye 2 veces (Tabla 2, Figura 1).

Cepa	MGT	ES	Anti Log	
Lambda	4,44	0,36	21,71	A
Gamma	5,50	0,38	45,25	B
Zeta	5,61	0,38	48,84	B
WT-B.1	6,44	0,27	86,62	C

Tabla 2. Diferencias entre las medias geométricas (MGT) de los títulos de AcNT en el grupo de personas recuperadas de infección natural por SARS-CoV-2 *wild type* frente a las variantes virales Gamma, Zeta y Lambda (Friedman, $p < 0,001$). Las letras diferentes representan diferencias estadísticamente representativas.

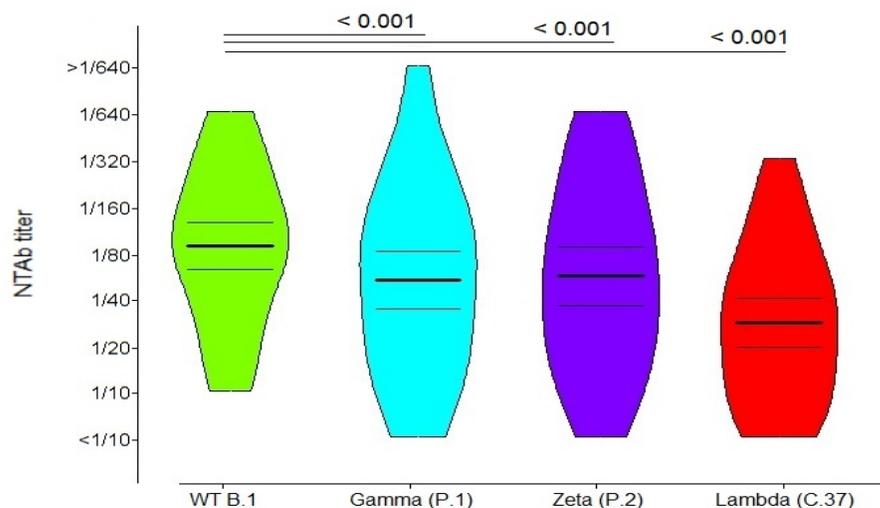


Figura 1. Títulos de anticuerpos neutralizantes contra las variantes virales en el grupo de personas recuperadas de infección natural por SARS-CoV-2 *wild type*. Gráfico de Violín. Los gráficos muestran los valores de media geométrica y los valores p (Test de Friedman).

En el grupo de individuos recuperados de infección natural por SARS-CoV-2 *wild type* que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V, se encontraron diferencias significativas en la capacidad neutralizante de los anticuerpos solo frente a la variante Lambda, siendo esta 0,91 veces menor. Sin embargo, la capacidad neutralizante fue similar frente a Gamma y Zeta comparado con la cepa WT-B.1 (Tabla 3, Figura 2).

Cepa	MGT	ES	Anti Log	
Lambda	7,19	0,17	146,02	A
Zeta	8,07	0,17	268,73	B
Gamma	8,11	0,15	276,28	B
WT B.1	8,11	0,18	276,28	B

Tabla 3. Diferencias entre las medias geométricas (MGT) de los títulos de AcNT en el grupo de personas recuperadas de infección natural por SARS-CoV-2 *wild type* que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V, frente a las variantes virales (Friedman, $p < 0.001$). Las letras diferentes representan diferencias estadísticamente representativas.

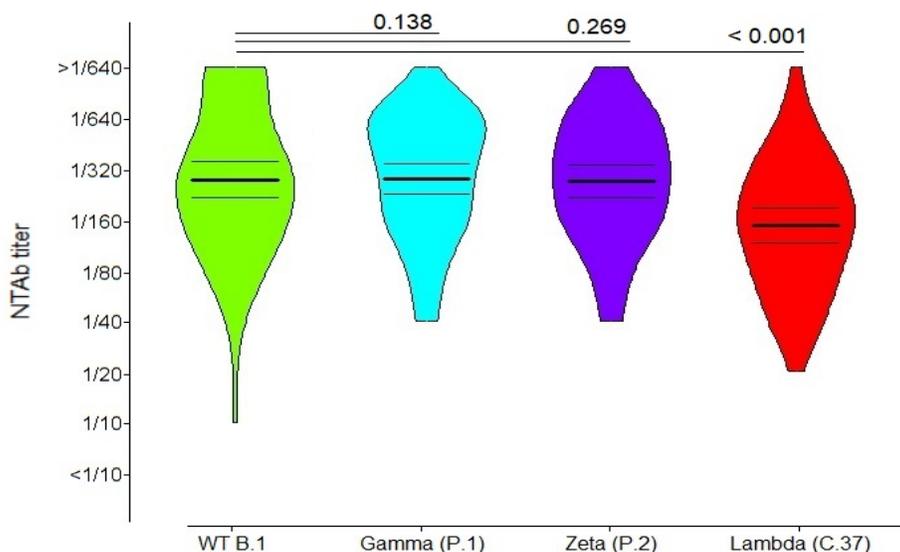


Figura 2. Títulos de anticuerpos neutralizantes contra las variantes virales en el grupo de personas recuperadas de infección natural por SARS-CoV-2 *wild type* que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V. Gráfico de Violín. Se muestran los valores de media geométrica y los valores p (Test de Friedman).

En el grupo de individuos sin antecedentes de infección previa que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V, se observó una reducción de la capacidad neutralizante de los anticuerpos frente a todas las variantes comparado con la WT-B.1 (Tabla 4, Figura 3). Se observó una reducción de la MGT de 0,7 veces frente a Zeta, 1,68 veces frente a Gamma y 1,87 veces frente a Lambda.

Cepa	MGT	ES	Anti Log	
Lambda	3,21	0,34	9,25	A
Gamma	3,40	0,35	10,56	B
Zeta	4,38	0,28	20,82	C
WT- B.1	5,08	0,26	33,85	D

Tabla 4. Diferencias entre las medias geométricas (MGT) de los títulos de AcNT en el grupo de personas sin antecedentes de infección que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V, frente a las variantes virales (Friedman, $p < 0.001$). Las letras diferentes representan diferencias estadísticamente representativas.

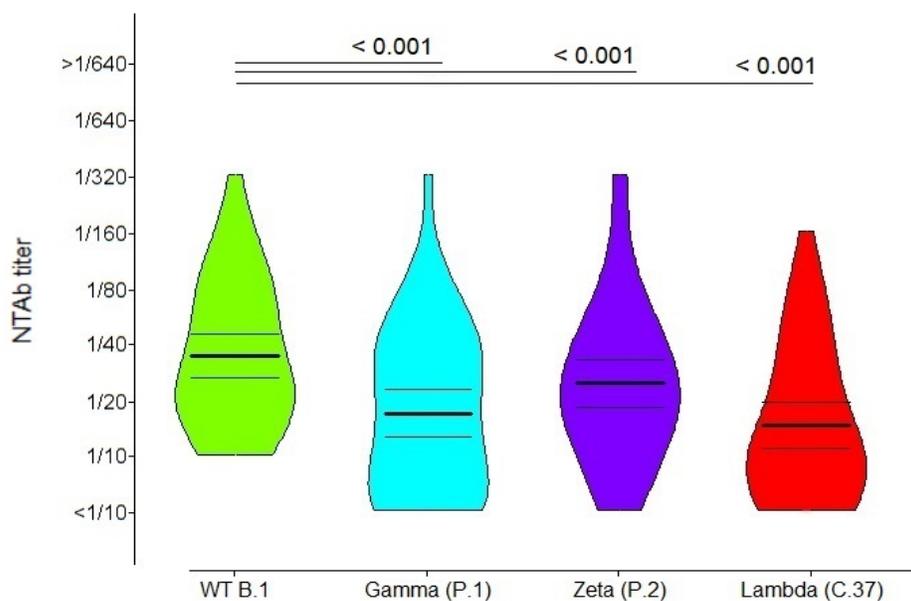


Figura 3. Títulos de anticuerpos neutralizantes contra las variantes virales en el grupo de personas sin antecedentes de infección que recibieron 1 o 2 dosis de la vacuna Sputnik V. Gráfico de Violín. Se muestran los valores de media geométrica y los valores p (Test de Friedman).

Los resultados muestran un potencial neutralizante de los anticuerpos preexistentes en la población marcadamente menor frente a la variante Lambda, tanto en individuos recuperados de la infección por la variante *wild type* como en los individuos vacunados con Sputnik V. Estos resultados difieren con lo descrito previamente en una comunicación de un estudio realizado en Buenos Aires, en la cual se informó que no habría compromiso en la actividad neutralizante de sueros provenientes de individuos vacunados con Sputnik V o de individuos recuperados frente a la variante Lambda (6). Contrario a esto, nuestros resultados muestran una disminución de 2 veces en la media geométrica del título de AcNT, destacándose inclusive que los anticuerpos presentes en el grupo de individuos que cursaron una infección, se recuperaron y fueron luego vacunados, disminuyen su capacidad neutralizante solo frente a la variante Lambda y no así frente a las otras variantes evaluadas. Además, los resultados aquí informados concuerdan con una publicación reciente de un estudio realizado en Chile en el que se demostró que, en comparación con SARS-CoV-2 linaje A, la capacidad de neutralización de los anticuerpos generados por la vacuna a virus inactivado CoronaVac se reduce 3,05 veces frente a la variante Lambda, mientras que frente a las variantes Gamma y Alpha la reducción es de 2,33 y 2,03 veces, respectivamente (7). Los hallazgos concuerdan también con lo

recientemente publicado por otro grupo de científicos, quienes demostraron que la variante Lambda es 1,5 veces en promedio (2,63 veces como máximo) más resistente a los anticuerpos generados por la vacuna a ARN BNT162B2 (Pfizer) que el virus parental D614G S, adjudicando la mayor resistencia de la variante a una mutación (delección) en la región NTD de su genoma (8). En este sentido, Takuya et al describió resultados similares, mostrando reducción del potencial neutralizante de los anticuerpos presentes en sueros de convalecientes y en personas inmunizadas con vacunas a ARN (9).

Se ha informado recientemente, a través de un documento del Ministerio de Salud de la Nación (10), que la variante Lambda corresponde a la segunda variante más prevalente actualmente en nuestro país, alcanzando una frecuencia de detección del 17,56% en julio de este año (de un total de 2209 individuos no viajeros estudiados), registrándose, además, un aumento en su detección en las últimas semanas. Esto concuerda con datos regionales que surgen de la vigilancia epidemiológica activa de las variantes del virus que se realiza en la provincia de Córdoba, en la que se muestra una frecuencia de circulación actual de 18,6% (11). Así, teniendo en cuenta lo aquí descrito sobre la menor capacidad neutralizante de los anticuerpos preexistentes en nuestra población, en coincidencia con lo que se viene observando en otros países, y frente a un escenario de alta frecuencia de detección de Lambda en el país, esta variante del SARS-CoV-2 resulta un desafío a considerar para las estrategias actuales de vacunación en Argentina.

Referencias

1. COVID-19 Weekly Epidemiological Update Global overview. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--15-june-2021>.
2. Nextstrain / community / quipu / C37_lineage. Available at: https://nextstrain.org/community/quipu/C37_lineage.
- 3- Sebastián Blanco, Juan Javier Aguilar, Brenda Salomé Konigheim, Luis Adrian Diaz, Lorena Spinsanti, Mauricio Beranek, César Collino, Lab Central Córdoba working group, Miguel Diaz, María Gabriela Barbás, Sandra Verónica Gallego. The extent of infectious SARS-CoV-2 shedding in an Argentinean cohort. Journal of Public Health 2021|pp. 1–5| doi:10.1093/pubmed/fdab145.
- 4- Mangeaud, A. & D. Elías Panigo. 2018. R-Medic. Un programa de análisis estadísticos sencillo e intuitivo. Revista Methodo 3 (1) 18-22. URL <http://www.r-medic.com>
- 5- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- 6- Miembros del Proyecto PAIS, Biobanco de Enfermedades Infecciosas BBEI, Instituto INBIRS, y el Hospital de Clínicas “José de San Martín. Seroneutralización de variantes SARS-CoV-2 Gamma (P.1, Manaus), Alpha (B.1.1.7, Reino Unido) y Lambda (C.37, Andina)

en individuos vacunados con Sputnik V e individuos recuperados de la infección por SARS-CoV-2. <https://infomed.com.ar/wp-content/uploads/2021/07/Informe-conjunto-seroneutralizacion-C37-y-P1-.pdf>

7- Mónica L. Acevedo, Luis Alonso-Palomares, Andrés Bustamante, Aldo Gaggero, Fabio Paredes, Claudia P. Cortés, Fernando Valiente-Echeverría, Ricardo Soto-Rifo. Infectivity and immune escape of the new SARS-CoV-2 variant of interest Lambda. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.06.28.21259673>.

8- Kimura I, Kosugi Y, Wu J, Yamasoba D, Butlertanaka E, et al: SARS-CoV-2 Lambda variant exhibits higher infectivity and immune resistance. bioRxiv 2021; <https://doi.org/10.1101/2021.07.28.454085>.

9- Takuya T, Zhou H, Dcosta BM, Samanovic MI et al: SARS-CoV-2 Lambda variant remains susceptible to neutralization by mRNA vaccine-elicited antibodies and convalescent serum. bioRxiv 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.07.02.450959>.

10- COVID-19 – SITUACIÓN DE NUEVAS VARIANTES SARS-CoV-2 EN ARGENTINA - SE30/2021. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Julio 2021. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/informe-vigilancia-genomica-mayo-direpi-anlis.pdf>.

11- Vigilancia de variantes de preocupación (VOC) y de interés (VOI) de SARS-CoV-2 en la Provincia de Córdoba. Actualización al 12/08/2021. Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba e Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, FCM, UNC. <https://www.cba.gov.ar/wp-content/uploads/2021/08/Informe-VOC-VOI-real-time-Cordoba-13-08-2021M.pdf?csrt=17181978000907301477>