

Investigación original

Enfermedades infecciosas

7 de octubre de 2020

Análisis de las características genómicas y las vías de transmisión de pacientes con SARS-CoV-2 confirmado en el sur de California durante la etapa inicial de la pandemia de COVID-19 en EE. UU.

Wenjuan Zhang, PhD¹; John Paul Govindavari, DO¹; Brian D. Davis, Licenciado en Ciencias^{2,3}; et al Stephanie S. Chen, Licenciatura en Ciencias^{2,3}; Jong Taek Kim, MD¹; Jianbo Song, PhD¹; Jean Lopategui, MD¹; Jasmine T. Plummer, Doctora en Filosofía^{2,3}; Eric Vail, médico¹

afiliaciones de autor [Información del artículo](#)

JAMA Netw Open. 2020; 3 (10): e2024191. doi: 10.1001 / jamanetworkopen.2020.24191

Puntos clave

Pregunta Durante la fase inicial del brote, ¿cuáles fueron las rutas de transmisión y las características genómicas del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) propagado en Los Ángeles, California?

Hallazgos Esta serie de casos de 192 pacientes encontró que el 82% de los aislados de SARS-CoV-2 de Los Ángeles compartían una similitud más cercana con los originarios de Europa frente a los de Asia (15%). Utilizando la firma de variación de los genomas virales, se identificaron 2 grupos principales, con las principales variantes que comparten características genómicas de los aislados europeos de SARS-CoV-2, y varios subgrupos de brotes de SARS-CoV-2 representaron una extensión comunitaria rastreada en Los Ángeles.

Significado Estos hallazgos sugieren que los genomas del SARS-CoV-2 en Los Ángeles estaban relacionados predominantemente con los aislados originarios de Europa, que son similares a las distribuciones de cepas virales en Nueva York, Nueva York; un subgrupo más pequeño de genomas del SARS-CoV-2 compartía similitudes con los originarios de Asia, lo que indica múltiples fuentes de introducción viral dentro de la comunidad de Los Ángeles.

Abstracto

Importancia A fines de diciembre de 2019, surgió un brote de un nuevo síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en Wuhan, China. Los datos sobre las rutas de transmisión a Los Ángeles, California, el epicentro de la costa oeste de EE. UU. Para la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) y la posterior propagación en la comunidad son limitados.

Objetivo Determinar las rutas de transmisión del SARS-CoV-2 al sur de California y dilucidar la propagación de la comunidad local dentro del área metropolitana de Los Ángeles.

Diseño, entorno y participantes Esta serie de casos incluyó a 192 pacientes consecutivos con resultados positivos de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) para el SARS-CoV-2 que fueron evaluados en el Centro Médico Cedars-Sinai en Los Ángeles, California, desde 22 de marzo al 15 de abril de 2020. El análisis de datos se realizó de abril a mayo de 2020.

Principales resultados y medidas Se secuenciaron los genomas virales del SARS-CoV-2. Los aislados de Los Ángeles se compararon con genomas de submuestreo global y de Nueva York, Nueva York; Estado de Washington; y China para determinar las posibles fuentes de diseminación viral. Se recopilaron datos y resultados demográficos.

Resultados La cohorte incluyó 192 pacientes (mediana [rango intercuartílico] de edad, 59,5 [43-75] años; 110 [57,3%] hombres). La caracterización genética de los aislados de SARS-CoV-2 en la población de Los Ángeles identificó la transmisión comunitaria de 13 pacientes en un radio de 3,81 km²radio. Los paisajes de variación de esta serie de casos también revelaron un grupo de 10 pacientes que contenía 5 residentes en un centro de enfermería especializada, 1 residente de un centro de enfermería especializada cercano, 3 trabajadores de la salud y un miembro de la familia de un residente de uno de los centros de enfermería especializada. instalaciones. La transmisión de persona a persona se detectó en un grupo de 5 pacientes que compartían la misma variación de un solo nucleótido en sus genomas de SARS-CoV-2. Se identificó una alta diversidad genómica viral: 20 aislados de Los Ángeles (15,0%) se parecían a los genomas del SARS-CoV-2 de Asia, mientras que 109 aislados de Los Ángeles (82,0%) eran similares a los procedentes de Europa. El análisis de otros patógenos virales respiratorios comunes no reveló coinfección en la cohorte.

Conclusiones y relevancia Estos hallazgos resaltan la precisión de la detección de la transmisión de persona a persona y el rastreo exacto de contactos directamente a través del aislamiento y secuenciación del genoma del SARS-CoV-2. El desarrollo y la aplicación de análisis filogenéticos de la población de Los Ángeles establecieron conexiones entre los grupos de COVID-19 a nivel local y en todo Estados Unidos.

Introducción

La aparición de la pandemia mundial de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) causada por el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2)¹ presenta a la comunidad científica una necesidad urgente de comprender todos los aspectos de este nuevo virus. Las secuencias del genoma del SARS-CoV-2 depositadas en bases de datos públicas^{2,3} son recursos fundamentales para comprender su virulencia y para orientar los enfoques terapéuticos y vacunas.⁴ La evaluación de las características

genómicas centrales en todas las poblaciones mundiales se puede utilizar para el análisis comparativo para identificar las características únicas del SARS-CoV-2, así como para ayudar en los esfuerzos epidemiológicos y de salud pública.^{2, 5-15}

El SARS-CoV-2 es un coronavirus con un genoma^{16 de} ARN monocatenario de 29 903 pares de bases (pb) que contiene 14 marcos de lectura abiertos y 27 proteínas estimadas.¹⁷ La anotación del genoma viral puede evaluar la secuencia de tipo salvaje conservada en todos los pacientes con COVID-19. La epidemiología genómica ha surgido como una herramienta útil para rastrear las fuentes de transmisión y la evolución del SARS-CoV-2 dentro de las comunidades y en todo el mundo.^{9, 10, 13, 18} La Iniciativa global del consorcio para compartir todos los datos sobre la influenza (GISAID)^{2, 3} clasifica la distribución global de SARS-CoV-2 en 2 clados principales que difieren en sus orígenes: (1) clado 19A, originario de China, y (2) clado 20A, originario de Europa. El Clade 20B fue sembrado por una cepa de China, pero una vez en Europa, su perfil de variación se convirtió en la cepa predominante de la pandemia europea.¹⁹

El primer paciente con COVID-19 confirmado en los EE. UU. Se presentó el 19 de enero de 2020 en el estado de Washington.²⁰ Si bien Seattle registró la primera transmisión observada de SARS-CoV-2 desde China, el mayor brote de SARS-CoV-2 en los EE. UU. Hasta la fecha se registró en Nueva York, Nueva York.^{9, 12} aislados^{de} Nueva York se sembraron en múltiples introducciones de Europa.⁹ Un estudio de Deng et al¹³ informó que la transmisión temprana del SARS-CoV-2 en la costa oeste de los EE. UU. se originó principalmente en China y el estado de Washington (31 de 36 pacientes), y que solo 5 pacientes tenían una infección por SARS-CoV-2 que compartía el linaje con el brote de Nueva York. La epidemiología genómica del SARS-CoV-2 respalda la creencia actual de que los aislamientos de China han sembrado principalmente el brote original de COVID-19 en la costa oeste de EE. UU. Y los aislamientos europeos sembraron la pandemia en Nueva York (y la costa este de EE. UU.).

Los Ángeles, California, es la ciudad más grande de la costa oeste de EE. UU. Y tuvo su primer paciente con COVID-19 confirmado a fines de enero de 2020.²¹ En consecuencia, fue una de las primeras ciudades importantes de EE. UU. En tomar medidas de precaución y restringir la población a sus hogares debido a que las muertes aumentaron a principios de marzo de 2020.²² Al 10 de agosto de 2020, más de 200 000 casos positivos de SARS-COV-2 confirmados y 4996 casos relacionados con COVID-19³ Se han registrado muertes en el condado de Los Ángeles. El Centro Médico Cedars-Sinai (CSMC), ubicado en Los Ángeles, atiende a más de 1 millón de personas y es el centro de servicios de salud más grande al oeste del río Mississippi. El 21 de marzo de 2020 se adoptó una prueba de diagnóstico de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) para la infección por SARS-CoV-2, lo que permite a nuestro laboratorio clínico detectar e identificar rápidamente a los pacientes con infección por SARS-CoV-2. Después de la transmisión desde China, nuestro cronograma para la infección por SARS-CoV-2 sigue a otras introducciones informadas en diferentes poblaciones

mundiales.^{5, 11, 14, 15, 23-26} En el momento de nuestro estudio, el único genoma del SARS-CoV-2 de Los Ángeles depositado en GISAID no estaba vinculado a un modelo particular de introducción.³ Con base en estos hallazgos acumulativos, planteamos la hipótesis de que la comunidad local de Los Ángeles probablemente estuvo expuesta a una cepa del SARS-CoV-2 de la costa oeste de EE. UU., que se transmitió directamente desde China. En un esfuerzo por comprender mejor este virus en evolución, buscamos realizar análisis de secuenciación de próxima generación (NGS) en pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2. Realizamos análisis filogenéticos en esta población única de la costa oeste para identificar la propagación de la comunidad local dentro del área metropolitana de Los Ángeles. Se realizó una amplia comparación de la distribución geográfica de los aislamientos de SARS-CoV-2 en el sur de California desde principios del brote de COVID-19 en EE. UU. Con aislamientos en Nueva York, el estado de Washington y China para determinar las vías de transmisión de la diseminación del SARS-CoV-2 en Los Ángeles. En esta serie de casos,

Métodos

Colección de muestra

La Oficina de Cumplimiento de la Investigación y Mejora de la Calidad de CSMC completó la revisión reglamentaria adecuada. Se otorgó una exención del consentimiento informado según la política institucional porque el estudio no requirió interacción o intervención con los participantes, no planteó más que un riesgo mínimo para la privacidad de las personas, no afectó la atención clínica de los pacientes, no se pudo realizar prácticamente sin acceso a información de salud, y el requisito de obtener el consentimiento haría que la investigación fuera impracticable, ya que algunos pacientes ya no estaban recibiendo atención en el momento del estudio. Se recolectaron muestras clínicas mediante hisopos nasofaríngeos de pacientes con síntomas similares a COVID-19 del 22 de marzo al 15 de abril de 2020. Los datos clínicos y demográficos asociados se extrajeron del registro médico electrónico. **STROBE**) guía de informes para estudios de cohortes.

Preparación de la muestra

El ácido nucleico total se extrajo utilizando el mini kit de ARN viral QIAamp en el QIAcube Connect (Qiagen). Todos los pacientes fueron evaluados primero por RT-PCR (Accelerate Technologies) para el ARN viral del SARS-CoV-2. El ácido nucleico se examinó para detectar la presencia de SARS-CoV-2 utilizando RT-PCR de un solo plex en tiempo real para el gen *nsp3* del SARS-CoV-2. Todas las muestras fueron positivas para el diagnóstico de SARS-CoV-2 con amplificación de la región objetivo que cruzó el umbral antes de los 40 ciclos. En total, se utilizaron 192 muestras positivas para SARS-CoV-2 para el análisis NGS paralelo.

NGS dirigido y análisis filogenéticos

Todas las muestras se cuantificaron mediante Qubit, y se procesaron 100 ng de ARN total para la síntesis de ADN complementario de la primera y la

segunda cadena utilizando el flujo de trabajo modular NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit (New England Biolabs) de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes. El enriquecimiento objetivo de 200 ng de ADN complementario se realizó utilizando el kit de preparación de la biblioteca Nextera Flex combinado con el panel respiratorio viral de Illumina y los índices duales únicos de ADN (Illumina). Después del enriquecimiento, todas las muestras se combinaron, cargaron y secuenciaron en una plataforma NovaSeq Illumina (150 bp paired-end). Las lecturas de secuenciación se asignaron a 41 genomas de virus respiratorios, incluido el genoma de referencia del SARS-CoV-2 (NCI_045512.2) (eTable 1 en el [Suplemento](#)) con la versión de software BWA-MEM 0.7.17-r1188.²⁷ Todas las muestras con más del 50% del genoma del SARS-CoV-2 cubierto con más de 10 x de profundidad se incluyeron en el estudio, que totalizaron 133 aislamientos. Estos genomas pasaron la evaluación de control de calidad de Nextclade²⁸ y se conservaron para análisis filogenéticos posteriores. Las lecturas duplicadas se marcaron con Picard,²⁹ y se utilizó BCFTools³⁰ para generar secuencias consenso. Los datos utilizados en este estudio se han depositado en GISAID (eTable 2 en el [Suplemento](#)). La razón de mapeo fue calculada por Samtools,³¹ y el coeficiente de correlación de Pearson entre la razón de mapeo y el valor del ciclo umbral (Ct) obtenido por RT-PCR con el software estadístico R versión 3.6.3 (R Project for Statistical Computing).

Las muestras del estado de Washington, Nueva York y China se descargaron de la base de datos GISAID EpiCoV el 18 de mayo de 2020,² y solo se incluyeron secuencias completas, con un total de 3398 genomas de SARS-CoV-2 (eTable 3 en el [Suplemento](#)).

Análisis estadístico

Se realizó una alineación de muestras múltiples con MAFFT versión 7.464³² y se realizó una reconstrucción de árbol de máxima verosimilitud con IQ-TREE versión 2.0.3³³ con el modelo de mejor ajuste elegido en base al criterio de información bayesiano. El soporte de rama se infirió utilizando 1000 réplicas de arranque. El análisis filodinámico de máxima verosimilitud se infirió por fecha de recolección con TreeTime³⁴ utilizando un modelo de tiempo generalizado reversible. Las visualizaciones de árboles se realizaron con FigTree versión 1.4.4³⁵ y iTOL versión 5.6.1.³⁶ El submuestreo con fondo global fue realizado por NextClade con muestras CSMC. Los porcentajes de la muestra se calcularon en función de su distribución dentro de los clados globales de Nextstrain.³ A partir de septiembre de 2020, los clados globales del SARS-CoV-2 se designaron en los clados 19A y 19B de origen asiático y los clados 20A, 20B y 20C de origen europeo. Los valores de p fueron bilaterales y la significación estadística se estableció en 0,05.

Resultados

Muestras de SARS-CoV-2 secuenciadas de CSMC

Secuenciamos 192 muestras con resultados de RT-PCR positivos para SARS-CoV-2 utilizando el panel de virus respiratorio dirigido de Illumina. Estas

muestras se recolectaron entre 192 pacientes (mediana de edad [rango intercuartílico], 59,5 [43-75] años; 110 [57,3%] hombres) ([Figura 1](#)). Al 15 de mayo de 2020, 21 pacientes (10,9%) habían fallecido, 122 pacientes (63,5%) fueron ingresados y posteriormente dados de alta del hospital, 11 pacientes (5,7%) habían sido ingresados y seguían hospitalizados en tratamiento, y 38 pacientes (19,8%) eran pacientes ambulatorios que no habían sido hospitalizados por COVID-19. El conjunto de 192 muestras positivas para SARS-CoV-2 obtuvo 222425974 lecturas en datos brutos (mediana [rango intercuartílico] lecturas mapeadas, 489759 [152 982-3 172 609]; total de lecturas mapeadas, 1737684077 lecturas [78% del genoma de referencia total del SARS-COV-2]). La relación de mapeo varió entre 0,3% y 99,0%, lo que se correlacionó negativamente con los valores de Ct obtenidos de RT-PCR ($R^2 = -0,73$; $P < 0,001$). En general, las proporciones de mapeo bajas con menos del 50% de cobertura del genoma se correlacionaron con muestras con un valor Ct aumentado (> 30 ciclos) en la prueba de diagnóstico de RT-PCR.

Análisis de coinfección de otros patógenos respiratorios y SARS-CoV-2

Las lecturas de secuenciación de toda la cohorte de muestra se asignaron a los 41 patógenos virales respiratorios (eTabla 1 en el [Suplemento](#)). A pesar de encontrar lecturas fragmentarias de otros virus, ninguna muestra tenía genomas virales distintos del SARS-CoV-2 con proporciones mapeadas superiores al 5% del total de lecturas mapeadas en muestras con mapeo total. En consecuencia, no hubo evidencia de coinfección de otros patógenos virales respiratorios con SARS-CoV-2 en nuestra población de muestra.

Paisaje variante

La comparación del genoma completo de las muestras de CSMC reveló más del 99,8% de identidad con el genoma de referencia del SARS-CoV-2. Los análisis de variación de estos aislados revelaron un total de 518 sitios de variación detectados a lo largo del genoma del SARS-CoV-2 ([Figura 1](#)). Un total de 436 variantes (84,3%) fueron variaciones privadas y se encontraron 5 variantes (0,1%) en más del 50% de todas las muestras ([Tabla](#)). En total, 82 sitios tenían variantes en más de 2 aislamientos que contenían una media (DE) de 5,1 (5,0) variantes por muestra. Los 20 sitios principales con variación y sus alteraciones y frecuencias estimadas se resumen en la [Tabla](#) y en la [Figura 1](#) del [Suplemento](#) .

De nuestros sitios de variación más observados, se han informado anteriormente 4 variantes, incluso en el 5'-UTR (C241T), junto con C3037T, C14408T y A23403G.³⁷ Encontramos 125 muestras (65,1%) con las 4 variantes presentes en el genoma. Mientras que C3037T causa una variación sinónima en nsp3 (F105F), C14408T y A23403G dieron como resultado cambios de aminoácidos en la ARN primasa (es decir, nsp12, P323L). En esta cohorte de Los Ángeles se observó la variación^{10, 13} de China y el norte de California en la proteína S (D614G). Se ha informado que las variaciones en G25563T (ORF3a) y C1059T (nsp2) se coexpresan.³⁷ Las variantes del estado

de Washington y China,³⁸ C8782T (nsp4) y T28144C (ORF8), también se alteraron con frecuencia en los aislados de Los Ángeles.

Análisis filogenético

Realizamos análisis filogenéticos de 133 muestras con más del 50% del genoma cubierto y más de 10 veces la profundidad del genoma para identificar qué aislados de SARS-CoV-2 eran más similares ([Figura 2](#)). De los 6 sitios de variación superiores a lo largo del árbol filogenético ([Figura 3](#)), observamos un mínimo de 2 grupos que contienen firmas de variantes distintas. Dentro de estos grupos, el subclade inferior del árbol contenía las 6 variantes. Un subconjunto de 4 variantes que rastrearon juntas, como se describió anteriormente,³⁷ estaban en 2 grupos principales ([Figura 3](#) A, C, D y E). Si bien estas variantes se segregaron estrechamente en 2 grupos principales del árbol, no registraron la fecha de recolección de la muestra (eFigura 2 en el [Suplemento](#)). La diversidad genómica en nuestra población estuvo presente desde las primeras muestras recolectadas y permaneció durante todo el período de estudio.

Rastros filogenéticos de transmisión comunitaria en los árboles en la etapa inicial de la pandemia COVID-19

Se construyó un árbol filogenético de todos los aislados de Los Ángeles para rastrear las diferencias del genoma del SARS-CoV-2. Un grupo se definió como un grupo de pacientes con cepas de SARS-CoV-2 que se originaron en el mismo punto de ramificación en el árbol. De nuestro análisis de árbol filogenético local, 13 pacientes, que representan más del 10% de nuestra población de muestra, fueron identificados en 1 grupo ([Figura 2](#)). El análisis de los datos demográficos de los pacientes reveló que todos vivían en el mismo código postal o en uno adyacente, en un radio de 3,81 km² entre sí, y todos eran miembros de la misma denominación religiosa. El genoma viral compartido exclusivamente entre estos pacientes fue la variante C18877T dentro de la proteína no estructural, nsp14 (eFigura 3 en el [Suplemento](#)). Se observó un evento de transmisión comunitaria con contacto cercano conocido dentro de un grupo estrechamente asociado que contenía 5 pacientes, en el que los 5 genomas virales compartían 3 variantes: T13575C, T16506C y C25466T. Además, observamos un grupo de 10 aislamientos en los que 5 pacientes eran residentes conocidos del mismo centro de enfermería especializada (SNF) y otro paciente era residente de un SNF cercano (es decir, dentro de un bloque). Tres aislamientos adicionales de este grupo pertenecían a trabajadores de la salud con probable contacto con pacientes del mismo SNF. El último paciente de este grupo estaba relacionado con uno de los pacientes del SNF. No observamos otras conexiones claras dentro de las muestras fuera de estos 3 grupos.

Análisis filogenético conjunto

Para abordar adecuadamente la ruta de transmisión y la distribución del SARS-CoV-2 en la población de Los Ángeles en comparación con la distribución global del virus, las muestras de CSMC se combinaron con genomas representativos submuestreados de datos globales. Este árbol filogenético

revela que las muestras de Los Ángeles se distribuyeron en todos los clados de la distribución global del SARS-CoV-2 ([Figura 4](#)). La distribución de muestras de CSMC entre estos aislados distribuidos geográficamente es indicativa de múltiples introducciones virales independientes en la comunidad de Los Ángeles. Entre los 2 clados principales, 20 (15,0%) eran similares al linaje asiático y 109 (82,0%) eran similares a los linajes europeos. Más de la mitad de los genomas de CSMC SARS-CoV-2 (72 muestras [54,1%]) estaban dentro del clado 20C, que contiene predominantemente aislamientos de América del Norte. Además, 24 aislados de CSMC (18,0%) estaban en el clado 20A, que contiene principalmente los primeros aislados europeos. Hay 2 grupos principales (clado 19A y subclade 19B) de Asia (principalmente China) en los que se encontraron muestras de CSMC en ambos grupos, con 13 muestras (9,7%) en el clado 19A y 7 muestras (5,3%) en el clado 19B. El clado 20B contiene 13 aislados (9,7%) que se agruparon con otro clado originario de Europa, distinguido por 3 variantes consecutivas: G28881A, G28882A y G28883C. Un clado desconocido, que incluye 4 aislamientos (3,0%), es coherente con el árbol global emergente. Los análisis filogenéticos de los aislados de Los Ángeles con genomas de Nueva York, el estado de Washington y China encontraron que compartían similitudes con todos los subclados derivados de estas ubicaciones regionales (eFigura 4 en el [Suplemento](#)).

Discusión

Hasta donde sabemos, esta serie de casos es el primer estudio integral de una muestra de población de COVID-19 de Los Ángeles, uno de los principales centros de brotes en los EE. UU. Una advertencia a nuestra colección de muestras es que los departamentos de emergencias son menos frecuentados por pacientes más jóvenes y están sesgados hacia pacientes de 18 años o más. Por lo tanto, la edad media de los pacientes con CSMC fue de aproximadamente 60 años, lo que concuerda con que los adultos mayores son más susceptibles al COVID-19.^{5, 21, 24} Los pacientes con cargas virales más altas detectadas por RT-PCR también se correlacionaron con un mayor porcentaje de cobertura del genoma del SARS-CoV-2 mediante secuenciación. Desde una perspectiva técnica, se confirmó que 48 pacientes con menor cobertura de secuenciación (menos del 50% de la cohorte total) tenían infección por SARS-CoV-2 mediante pruebas de RT-PCR en más de 30 ciclos.³⁹ Por lo tanto, cuando se utilizan enfoques de NGS con fines de diagnóstico, una posible advertencia es que la secuenciación del genoma favorece a los pacientes con títulos virales más altos y puede que no capture a los que tienen un número bajo de copias virales.

El análisis de otros 40 virus respiratorios no reveló coinfección con SARS-CoV-2 en nuestra cohorte, lo que es consistente con otros estudios, lo que indica que las tasas de coinfección son bajas en pacientes con infección por SARS-CoV-2.⁴⁰ Sin embargo, no pudimos descartar la posibilidad de coinfección o superinfección por virus con bajo número de copias, pero la alta carga viral del SARS-CoV-2 hizo que se secuenciara preferentemente. A medida que el conocimiento de este virus evoluciona rápidamente, estos datos se vuelven

importantes para ayudar a la comunidad médica en general a comprender la variabilidad de la presentación del SARS-CoV-2 con otros patógenos virales.

El árbol filogenético local encontró 2 grandes grupos, que se definieron principalmente por 6 variaciones de alta frecuencia. El análisis filogenético de estas muestras por fecha de recolección revela que las principales variantes que definieron estos 2 grandes conglomerados se observaron durante marzo y abril; por lo tanto, estaban presentes en la comunidad antes de nuestra fecha de recolección,

Esta serie de casos presenta una instantánea de las características moleculares de la transmisión temprana del SARS-CoV-2 en el área de Los Ángeles. La ventana de nuestras fechas de recolección no fue lo suficientemente larga para observar nuevos datos de diseminación viral en la población de Los Ángeles. A pesar de que nuestro árbol filogenético local muestra una alta diversidad genómica, se detectaron patrones de agrupación ajustados dentro de un grupo de 5 pacientes a partir de sus genomas que comparten 1 variante en común. Este hallazgo destaca la precisión del rastreo de contactos directamente a través del aislamiento y secuenciación del genoma del SARS-CoV-2, mediante el cual el análisis genómico de esta variante puede rastrear con precisión la transmisión de persona a persona dentro de un área urbana más grande.

Otro grupo único en el árbol filogenético local encontró un grupo de pacientes que fueron identificados dentro del mismo código postal o adyacente. Este código postal tiene solo 3,81 km² y está densamente poblado (36 885 personas). Este grupo representa la propagación dentro de un área geográfica restringida, todos dentro de los miembros de la misma comunidad religiosa. Otra validación de esta propagación representativa dentro de una comunidad distinta fue el hecho de que los aislados de SARS-CoV-2 de 7 pacientes del mismo código postal que no eran de la misma denominación religiosa no se encontraron en este grupo. Estudios anteriores destacan que las comunidades religiosas corren un riesgo particularmente agudo en una pandemia debido a los grandes eventos comunitarios, como servicios, bodas y funerales.^{19, 41} En el futuro, los líderes comunitarios deben ser conscientes de los riesgos únicos que se presentan a sus congregaciones y planificar en consecuencia. Los pacientes restantes vivían en muchos códigos postales, lo que proporciona más evidencia de transmisión comunitaria en el área metropolitana más grande.

Un tercer grupo mostró una transmisión generalizada dentro de un solo SNF. Tales instalaciones han sido un semillero para la propagación viral en todo el mundo y no es sorprendente observar este tipo de agrupaciones.

Las iniciativas globales para rastrear el SARS-CoV-2 han demostrado ser fructíferas en el seguimiento de la incidencia, la gravedad y la propagación mundial de enfermedades.^{6, 9, 11 - 14, 18, 42 - 49} En este estudio, al examinar una cohorte dentro de un epicentro de SARS-CoV-2 en EE. UU., Los Ángeles, sentamos las bases para estudios adicionales sobre el uso de SARS-CoV-2 secuenciación para monitorear la propagación de la comunidad local.

Limitaciones

Este estudio tiene algunas limitaciones, incluido que los genomas del SARS-CoV-2 fueron todos de pacientes que fueron hospitalizados por COVID-19 y puede ser una representación sesgada de casos más graves. Estas muestras se obtuvieron al principio de la pandemia de EE. UU., Cuando las pruebas eran limitadas y una alta proporción de personas con infección asintomática o síntomas leves están ausentes en este y otros estudios similares.^{46, 50} Estas infecciones por SARS-CoV-2 que faltan afectarán la evaluación colectiva de la transmisión tanto en los EE. UU. Como a nivel mundial. Al intentar inferir causalidad, Villabona-Arenas et al⁵¹ proporcionó ejemplos de las trampas que pueden ocurrir al realizar un análisis epidemiológico solo en los genomas virales, especialmente cuando el virus es nuevo. Existe la posibilidad de que varios eventos semilla en Los Ángeles, Europa y Nueva York ocurrieran simultáneamente, confundiendo así la capacidad de extraer la direccionalidad de los datos. Teniendo en cuenta el momento de la propagación del COVID-19 y los patrones de transmisión conocidos de Europa a Nueva York, consideramos que esto es poco probable. Lo que puede ser más plausible, y debe tenerse en cuenta, es que los viajeros de Europa sembraron Nueva York y Los Ángeles simultáneamente. Lu et al¹⁸ También destacan cómo el análisis filogenético puede ser engañoso, ya que los grupos que se cree que representan la propagación de la comunidad pueden incluir múltiples introducciones de lugares genómicamente submuestreados. Su estudio estuvo sesgado por el hecho de que los datos se recopilaron principalmente durante el período del festival de primavera que rodea al Año Nuevo chino, el período de mayor migración humana anual en el mundo.⁵² Como era de esperar, una parte significativamente mayor de casos de lo normal se importó de regiones externas. No hubo tal evento en Los Ángeles en el momento del brote temprano, y los datos de este estudio se generaron varias semanas después de que se promulgaran las limitaciones ordenadas por el estado sobre viajes y reuniones. Aunque tenemos un número de muestra limitado (133 pacientes), la integración de genomas CSMC SARS-CoV-2 en conjuntos de datos del estado de Washington, la ciudad de Nueva York y China (eFigure 4 en el [Suplemento](#)) brindó información útil para determinar la introducción del SARS -CoV-2 en la comunidad de Los Ángeles.

Conclusiones

En esta serie de casos, de acuerdo con otros estudios, la combinación de las 4 variantes (es decir, C241T, C3037T, C14408T y A23403G) coevolucionando juntas se ha visto en otras poblaciones rastreadas en aislados europeos.^{9, 37} De nuestro análisis de variantes, 2 de nuestros sitios altamente alterados, G25563T (ORF3a) y C1059T (nsp2), han sido reportados exclusivamente en secuencias aisladas de EE. UU. Recolectadas desde marzo de 2020⁷; una línea de tiempo que corresponde a la fecha de recolección de la muestra de este estudio. Se encontró que estas variantes estaban estrechamente asociadas dentro de un grupo que contenía principalmente genomas de SARS-CoV-2 de Nueva York, lo que sugiere que estos genomas se introdujeron a partir de una cepa que surgió de la población de la costa este de EE. UU. De las variantes encontradas en nuestras muestras, 4 variantes, 5'-

UTR (241C> T), 3037C> T, 14408C> T y 23403A> G, coinciden con otros estudios que encontraron que estas variaciones coevolucionaron.³⁷ Una proporción tan alta de nuestros pacientes que tienen las 4 variaciones indica la siembra de nuestra población por una cepa originaria de Europa. Este hallazgo se valida aún más en nuestro árbol filogenético local, que se separa en 2 grupos principales, nuestro árbol global en el que nuestra población se parece mucho a los genomas del SARS-CoV-2 de Nueva York,⁹ seguido de un porcentaje más pequeño del estado de Washington, que en conjunto identificaron posibles rutas para la diseminación del SARS-CoV-2 en la población del sur de California. Dado que Seattle, Washington, fue la primera aparición documentada del SARS-CoV-2 en EE. UU., La introducción del virus desde el estado de Washington^{13,20} es consistente con nuestro árbol filogenético y el marco de tiempo de nuestro muestreo de datos, concordante con nuestra hipótesis. Sin embargo, a pesar de nuestras estimaciones anteriores, una porción aún mayor de nuestra población de muestra tenía un parecido significativo con los genomas de Nueva York, el epicentro del brote de SARS-CoV-2 en los EE. UU.^{9,12,44} La aparición de la mayoría de nuestras muestras en diferentes subclades de los aislados de Nueva York sugiere que el SARS-CoV-2 probablemente se propagó a partir de múltiples introducciones de Nueva York. Además, la población de CSMC entremezclada con los aislamientos del estado de Washington y China sugiere múltiples rutas de diseminación desde Asia y la costa oeste norte de los Estados Unidos hasta el sur de California, apareciendo como un grupo importante en nuestra población local. Aunque restringimos nuestros análisis a estos 3 orígenes geográficos, encontramos una alta diversidad genómica entre los aislados de CSMC SARS-CoV-2. El gran impacto de COVID-19 en la comunidad de Los Ángeles probablemente se originó por diseminaciones independientes del virus por múltiples rutas, con algunas cepas geográficas que tienen mayor prevalencia que otras.

[Volver arriba](#)

Información del artículo

Aceptado para publicación: 23 de agosto de 2020.

Publicado: 7 de octubre de 2020. doi: [10.1001 / jamanetworkopen.2020.24191](https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.24191)

Acceso abierto: este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la [Licencia CC-BY](#) . © 2020 Zhang W et al. *Red JAMA abierta* .

Autor para correspondencia: Jasmine T. Plummer, PhD, Centro de Bioinformática y Genómica Funcional, Departamento de Ciencias Biomédicas, Centro Médico Cedars-Sinai, 8700 Beverly Blvd, West Hollywood, CA 90048 (jasmine.plummer@cshs.org).

Contribuciones de los autores: Los doctores Plummer y Vail tuvieron acceso completo a todos los datos del estudio y asumen la responsabilidad de la integridad de los datos y la precisión del análisis de datos. Los doctores Plummer y Vail son autores muy importantes.

Concepto y diseño: Zhang, Kim, Song, Lopategui, Plummer, Vail.

Adquisición, análisis o interpretación de datos: Zhang, Govindavari, Davis, Chen, Plummer, Vail.

Redacción del manuscrito: Zhang, Davis, Chen, Kim, Plummer, Vail.

Revisión crítica del manuscrito para contenido intelectual importante: Zhang, Govindavari, Song, Lopategui, Plummer, Vail.

Análisis estadístico: Zhang, Vail.

Financiamiento obtenido: Vail.

Apoyo administrativo, técnico o material: Govindavari, Davis, Chen, Kim, Plummer, Vail.

Supervisión: Kim, Lopategui, Plummer, Vail.

Divulgación de conflictos de intereses: el Dr. Vail informó haber recibido apoyo no financiero de Illumina, honorarios personales y apoyo no financiero de Thermo Fisher, y honorarios personales de LungLifeAI fuera del trabajo enviado. No se informaron otras divulgaciones.

Financiamiento / Apoyo: Este proyecto fue financiado por una subvención interna a Eric Vail proporcionada por el Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio, Centro Médico Cedars-Sinai.

Papel del financiador / patrocinador: El financiador no tuvo ningún papel en el diseño y la realización del estudio; recopilación, manejo, análisis e interpretación de los datos; preparación, revisión o aprobación del manuscrito; y decisión de enviar el manuscrito para su publicación.

Referencias

1. Grupo de estudio *Coronaviridae* del Comité Internacional de Taxonomía de Virus. La especie *Coronavirus relacionado con el síndrome respiratorio agudo severo*: clasificando 2019-nCoV y nombrándolo SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020; 5 (4): 536-544. doi: [10.1038 / s41564-020-0695-z](https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z)[PubMed](#)[Google Académico](#)[Crossref](#)
2. Shu Y, McCauley J. GISAID: Iniciativa global para compartir todos los datos sobre la influenza, de la visión a la realidad. *Euro Surveill*. 2017; 22 (13): 30494. doi: [10.2807 / 1560-7917.ES.2017.22.13.30494](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494)[PubMed](#)[Google Académico](#)[Crossref](#)
- 3.

Hadfield J, Megill C, Bell SM y col. Nextstrain: seguimiento en tiempo real de la evolución de patógenos. *Bioinformática* . 2018; 34 (23): 4121-4123. doi: [10.1093 / bioinformatics / bty407](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407)[PubMed](#)[Google Académico](#)[Crossref](#)

4.

Kucharski AJ, Russell TW, Diamond C, et al; Centro de Modelización Matemática de Enfermedades Infecciosas Grupo de trabajo COVID-19. Dinámica temprana de transmisión y control de COVID-19: un estudio de modelado matemático. *The Lancet Infect Dis* . 2020; 20 (5): 553-558. doi: [10.1016 / S1473-3099 \(20\) 30144-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30144-4)[PubMed](#)[Google Académico](#)[Crossref](#)

5.

Equipo Nacional de Vigilancia de la Sala de Incidentes COVID-19. COVID-19, Australia: informe epidemiológico 12 (semana del informe hasta las 23:59 AEST del 19 de abril de 2020). *Commun Dis Intell (2018)* . 2020; 44: 10.33321 / cdi.2020.44.36. doi: [10.33321 / cdi.2020.44.36](https://doi.org/10.33321/cdi.2020.44.36)[PubMed](#)[Google Académico](#)

6.

Akther S, Bezrucenkovas E, Sulkow B y col. CoV Genome Tracker: rastreo de huellas genómicas de la pandemia COVID-19. *BioRxiv* . Preprint publicado en línea el 14 de abril de 2020. doi: [10.1101 / 2020.04.10.036343](https://doi.org/10.1101/2020.04.10.036343)[Google Scholar](#)

7.

Cai HY, Cai KK, Li J. Identificación de mutaciones sin sentido novedosas en un gran número de secuencias genómicas recientes del SARS-CoV-2. *Impresiones previas* . Preprint publicado en línea el 21 de mayo de 2020. doi: [10.20944 / preprints202004.0482.v1](https://doi.org/10.20944/preprints202004.0482.v1)[Google Scholar](#)

8.

Mavian C, Marini S, Prospero M, Salemi M. Una instantánea de la disponibilidad del genoma del SARS-CoV-2 hasta abril de 2020 y sus implicaciones: análisis de datos. *JMIR Surveill Salud Pública* . 2020; 6 (2): e19170. doi: [10.2196 / 19170](https://doi.org/10.2196/19170)[PubMed](#)[Google Académico](#)

9.

Gonzalez-Reiche AS, Hernandez MM, Sullivan MJ, et al. Introducciones y propagación temprana del SARS-CoV-2 en el área de la ciudad de Nueva York. *La ciencia* . 2020; 369 (6501): 297-301. doi: [10.1126 / science.abc1917](https://doi.org/10.1126/science.abc1917)[PubMed](#)[Google Académico](#)

10.

Zhang X, Tan Y, Ling Y, et al. Factores virales y del huésped relacionados con el resultado clínico de COVID-19. *Naturaleza* . 2020; 583 (7816): 437-440. doi: [10.1038 / s41586-020-2355-0](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2355-0)[PubMed](#)[Google Académico](#)[Crossref](#)

11.

Stefanelli P, Faggioni G, Lo Presti A, et al; Grupo de estudio ISS COVID-19. Análisis filogenético y del genoma completo de dos cepas de SARS-CoV-2 aisladas en Italia en enero y febrero de 2020: pistas adicionales sobre múltiples introducciones y mayor circulación en Europa. *Euro Surveill* . 2020; 25 (13): 2000305. doi: [10.2807 / 1560-7917.ES.2020.25.13.2000305](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.13.2000305)[PubMed](#)[Google Académico](#)

12.

Worobey M, Pekar J, Larsen BB y col. La aparición del SARS-CoV-2 en Europa y Estados Unidos. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 23 de mayo de 2020. doi: [10.1101 / 2020.05.21.109322](https://doi.org/10.1101/2020.05.21.109322)[Google Scholar](#)

13.

Deng X, Gu W, Federman S y col. La vigilancia genómica revela múltiples introducciones de SARS-CoV-2 en el norte de California. *La ciencia* . 2020; 369 (6503): 582-587. doi: [10.1126 / science.abb9263](https://doi.org/10.1126/science.abb9263)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

14.

Lai A, Bergna A, Caucci S, et al. Rastreo molecular del SARS-CoV-2 en Italia en los primeros tres meses de la epidemia. *Los virus* . 2020; 12 (8): E798. doi: [10.3390 / v12080798](https://doi.org/10.3390/v12080798)[PubMedGoogle Académico](#)

15.

Licastro D, Rajasekharan S, Dal Monego S, Segat L, D'Agaro P, Marcello A. Aislamiento y caracterización del genoma completo de SARS-CoV-2 de casos de COVID-19 en el norte de Italia. *J Virol* . 2020; 94 (11): e00543-20. doi: [10.1128 / JVI.00543-20](https://doi.org/10.1128/JVI.00543-20)[PubMedGoogle Académico](#)

dieciséis.

Zhou P, Yang XL, Wang XG y col. Un brote de neumonía asociado con un nuevo coronavirus de probable origen en murciélagos. *Naturaleza* . 2020; 579 (7798): 270-273. doi: [10.1038 / s41586-020-2012-7](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

17.

Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, et al. Un mapa de interacción de proteínas SARS-CoV-2 revela objetivos para la reutilización de fármacos. *Naturaleza* . 2020; 583 (7816): 459-468. doi: [10.1038 / s41586-020-2286-9](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2286-9)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

18.

Lu J, du Plessis L, Liu Z y col. Epidemiología genómica del SARS-CoV-2 en la provincia de Guangdong, China. *Celular* . 2020; 181 (5): 997-1003.e9. doi: [10.1016 / j.cell.2020.04.023](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.023)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

19.

Morais IJ Junior, Costa Polveiro R, Souza GM, Bortolin DI, Sasaki FT, Lima ATM. La población mundial de SARS-CoV-2 se compone de seis subtipos principales. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 20 de abril de 2020. doi: [10.1101 / 2020.04.14.040782](https://doi.org/10.1101/2020.04.14.040782)[Google Scholar](#)

20.

Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al; Equipo de investigación de casos del estado de Washington 2019-nCoV. Primer caso del nuevo coronavirus de 2019 en Estados Unidos. *N Engl J Med* . 2020; 382 (10): 929-936. doi: [10.1056 / NEJMoa2001191](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

21.

Equipo de Investigación COVID-19. Características clínicas y virológicas de los primeros 12 pacientes con enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en

Estados Unidos. *Nat Med* . 2020; 26 (6): 861-868. doi: [10.1038 / s41591-020-0877-5](https://doi.org/10.1038/s41591-020-0877-5)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

22.

Dong E, Du H, Gardner L. Un tablero interactivo basado en la web para rastrear COVID-19 en tiempo real. *The Lancet Infect Dis* .2020; 20 (5): 533-534. doi: [10.1016 / S1473-3099 \(20\) 30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

23.

Stower H. Evaluación virológica del SARS-CoV-2. *Nat Med* . 2020; 26 (4): 465. doi: [10.1038 / s41591-020-0848-x](https://doi.org/10.1038/s41591-020-0848-x)[PubMedGoogle Académico](#)

24.

Wang D, Hu B, Hu C y col. Características clínicas de 138 pacientes hospitalizados con neumonía infectada por el nuevo coronavirus de 2019 en Wuhan, China. *JAMA* . 2020; 323 (11): 1061-1069. doi: [10.1001 / jama.2020.1585](https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585)
[ArtículoPubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

25.

Hodcroft EB. Informe de caso preliminar sobre el grupo SARS-CoV-2 en el Reino Unido, Francia y España. *Med Wkly suizo* .2020; 150 (9-10). doi: [10.4414 / smw.2020.20212](https://doi.org/10.4414/smw.2020.20212)[PubMedGoogle Académico](#)

26.

Ornelas-Aguirre JM. El nuevo coronavirus que vino de Oriente: análisis de la epidemia inicial en México. *Gac Med Mex* . 2020; 156 (4). doi: [10.24875 / GMM.M20000377](https://doi.org/10.24875/GMM.M20000377)[PubMedGoogle Académico](#)

27.

Li H, Durbin R. Alineación de lectura corta rápida y precisa con la transformación de Burrows-Wheeler. *Bioinformática* . 2009; 25 (14): 1754-1760. doi: [10.1093 / bioinformatics / btp324](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

28.

Nextstrain. Nextclade. Consultado el 9 de septiembre de 2020. <https://clades.nextstrain.org/>

29.

broadinstitute. Picard. Consultado el 9 de septiembre de 2020. <http://broadinstitute.github.io/picard/>

30.

Danecek P, McCarthy SA. BCFtools / csq: consecuencias variantes conscientes del haplotipo. *Bioinformática* . 2017; 33 (13): 2037-2039. doi: [10.1093 / bioinformática / btx100](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx100)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

31.

Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al; Subgrupo de procesamiento de datos del proyecto 1000 Genome. El formato de alineación / mapa de secuencia y SAMtools. *Bioinformática* . 2009; 25 (16): 2078-2079. doi: [10.1093 / bioinformatics / btp352](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

32.

Katoh K, Standley DM. Software de alineación de secuencias múltiples MAFFT versión 7: mejoras en el rendimiento y la usabilidad. *Mol Biol Evol* . 2013; 30 (4): 772-780. doi: [10.1093 / molbev / mst010](https://doi.org/10.1093/molbev/mst010)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

33.

Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2: aproximadamente árboles de máxima probabilidad para grandes alineaciones. *PLoS One* . 2010; 5 (3): e9490. doi: [10.1371 / journal.pone.0009490](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490)[PubMedGoogle Académico](#)

34.

Sagulenko P, Puller V, Neher RA. TreeTime: análisis filodinámico de máxima verosimilitud. *Virus Evol* . 2018; 4 (1): vex042. doi: [10.1093 / ve / vex042](https://doi.org/10.1093/ve/vex042)[PubMedGoogle Académico](#)

35.

Rambaut A. Árbol de higo. Consultado el 9 de septiembre de 2020. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

36.

Ciccarelli FD, Doerks T, von Mering C, Creevey CJ, Snel B, Bork P. Hacia la reconstrucción automática de un árbol de la vida altamente resuelto. *La ciencia* . 2006; 311 (5765): 1283-1287. doi: [10.1126 / science.1123061](https://doi.org/10.1126/science.1123061)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

37.

Yin C. Genotipado del coronavirus SARS-CoV-2: métodos e implicaciones. *Genómica* . 2020; 112 (5): 3588-3596. doi: [10.1016 / j.ygeno.2020.04.016](https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.04.016)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

38.

Bedford T, Greninger AL, Roychoudhury P, et al. Transmisión críptica de SARS-CoV-2 en el estado de Washington. *medRxiv* . 16 de abril de 2020. doi: [10.1101 / 2020.04.02.20051417](https://doi.org/10.1101/2020.04.02.20051417)[Google Scholar](#)

39.

van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, et al. Comparación de siete kits comerciales de diagnóstico por RT-PCR para COVID-19. *J Clin Virol* . 2020; 128: 104412. doi: [10.1016 / j.jcv.2020.104412](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104412)[PubMedGoogle Académico](#)

40.

Kim D, Quinn J, Pinsky B, Shah NH, Brown I. Tasas de coinfección entre el SARS-CoV-2 y otros patógenos respiratorios. *JAMA* . 2020; 323 (20): 2085-2086. doi: [10.1001 / jama.2020.6266](https://doi.org/10.1001/jama.2020.6266)[ArtículoPubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

41.

Yong SEF, Anderson DE, Wei WE, et al. Conectando grupos de COVID-19: una investigación epidemiológica y serológica. *The Lancet Infect Dis* . 2020; 20 (7): 809-815. doi: [10.1016 / S1473-3099 \(20\) 30273-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30273-5)[PubMedGoogle AcadémicoCrossref](#)

42.

Ou X, Yang Z, Zhu D, et al. El rastreo de dos SNP causantes revela la transmisión del SARS-CoV-2 en la población de América del Norte. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 14 de mayo de 2020. doi: [10.1101 / 2020.05.12.092056](https://doi.org/10.1101/2020.05.12.092056)[Google Scholar](#)

43.

Delatorre E, Mir D, Graf T, Bello G. Seguimiento de la fecha de inicio de la propagación comunitaria del SARS-CoV-2 en los países occidentales. *medRxiv*. Preprint publicado en línea el 23 de abril de 2020. doi: [10.1101 / 2020.04.20.20073007](https://doi.org/10.1101/2020.04.20.20073007)[Google Scholar](#)

44.

Moustafa AM, Planet PJ. La tipificación rápida de la secuencia del genoma completo revela múltiples ondas de propagación del SARS-CoV-2. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 9 de junio de 2020. doi: [10.1101 / 2020.06.08.139055](https://doi.org/10.1101/2020.06.08.139055)[Google Scholar](#)

45.

Bluhm A, Christandl M, Gesmundo F, et al. Cadenas de transmisión del SARS-CoV-2 a partir de datos genéticos: un estudio de caso danés. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 29 de mayo de 2020. doi: [10.1101 / 2020.05.29.123612](https://doi.org/10.1101/2020.05.29.123612)[Google Scholar](#)

46.

Li R, Pei S, Chen B y col. La infección sustancial indocumentada facilita la rápida diseminación del nuevo coronavirus (SARS-CoV-2). *La ciencia*. 2020; 368 (6490): 489-493. doi: [10.1126 / science.abb3221](https://doi.org/10.1126/science.abb3221)[PubMed](#)[Google AcadémicoCrossref](#)

47.

Long SW, Olsen RJ, Christensen PA, et al. Arquitectura molecular de la diseminación temprana y la evolución del virus SARS-CoV-2 en el área metropolitana de Houston, Texas. *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 3 de mayo de 2020. doi: [10.1101 / 2020.05.01.072652](https://doi.org/10.1101/2020.05.01.072652)[Google Scholar](#)

48.

Fang B, Liu L, Yu X, et al. Datos de todo el genoma que infieren la evolución y la demografía de la población del nuevo coronavirus de la neumonía (SARS-CoV-2). *BioRxiv*. Preprint publicado en línea el 11 de mayo de 2020. doi: [10.1101 / 2020.03.04.976662](https://doi.org/10.1101/2020.03.04.976662)[Google Scholar](#)

49.

Ghinai I, McPherson TD, Hunter JC, et al; Equipo de investigación de COVID-19 de Illinois. Primera transmisión conocida de persona a persona del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en los EE. UU. *The Lancet*. 2020; 395 (10230): 1137-1144. doi: [10.1016 / S0140-6736 \(20\) 30607-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30607-3)[PubMed](#)[Google AcadémicoCrossref](#)

50.

Sneppen K, Taylor RJ, Simonsen L. Impacto de los super difusores en la difusión y mitigación de COVID-19. *medRxiv*. Preprint publicado en línea el 3 de julio de 2020. doi: [10.1101 / 2020.05.17.20104745](https://doi.org/10.1101/2020.05.17.20104745)[Google Scholar](#)

51.

Villabona-Arenas CJ, Hanage WP, Tully DC. La interpretación filogenética durante los brotes requiere precaución. *Nat Microbiol*. 2020; 5 (7): 876-877. doi: [10.1038 / s41564-020-0738-5](https://doi.org/10.1038/s41564-020-0738-5)PubMedGoogle AcadémicoCrossref

52.

Liu M, Ning J, Du Y y col. Modelando la trayectoria evolutiva de COVID-19 en Wuhan, China: experiencia y sugerencias. *Salud Pública*. 2020; 183: 76-80. doi: [10.1016 / j.puhe.2020.05.001](https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.05.001)PubMedGoogle AcadémicoCrossref