

ORIGINAL BREVE

USO DE GENOMAS DE SARS-CoV-2 PARA LA ESTIMACIÓN DEL NÚMERO REPRODUCTIVO EFECTIVO (Rt) EN PERÚ DURANTE MARZO Y ABRIL DEL 2020

Pedro E. Romero^{1,a}, Milagros Sánchez-Yupari^{2,b}, Stephanie Montero^{3,c}, Pablo Tsukayama^{4,d}

¹ Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas. Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

² Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

³ Unidad de Investigación en Enfermedades Emergentes y Cambio Climático, Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

⁴ Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

^a Biólogo con mención en Genética y Biología Celular; doctor en Ciencias Naturales; ^b bachiller en Ciencias, ^c bióloga microbióloga parasitóloga; ^d licenciado en Biología, doctor en Filosofía en Biología y Ciencias Biomédicas.

RESUMEN

La comprensión de la COVID-19, provocada por el coronavirus de tipo 2 (SARS-CoV-2) causante de síndrome respiratorio agudo severo, utilizando un enfoque multidisciplinario, es esencial para mejorar la toma de decisiones basadas en evidencia. Se estimó el número reproductivo efectivo (Rt) en Perú a partir de 113 genomas completos generados por el Instituto Nacional de Salud (INS) del Perú almacenados en la base de datos pública GISAID. La tendencia mostrada por el Rt durante marzo y abril del 2020 fue similar a otras estimaciones epidemiológicas. El Rt disminuyó considerablemente durante la primera quincena de marzo, alcanzando su menor valor la semana posterior al inicio de la cuarentena, pero aumentó moderadamente desde la quincena de abril. Se discute las implicancias de las medidas tempranas tomadas para mitigar la transmisión. La vigilancia genómica será una herramienta necesaria para conocer la transmisión y evolución del virus, y complementará la información epidemiológica.

Palabras clave: Análisis Bayesiano; Bases de Datos de Ácidos Nucleicos; COVID-19; Epidemiología Molecular; Filogenómica; Genómica; Modelos Epidemiológicos; Perú; SARS-CoV-2; Vigilancia (fuente: DeCS BIREME).

Citar como: Romero PE, Sánchez-Yupari M, Montero S, Tsukayama P. Uso de genomas de SARS-CoV-2 para la estimación del número reproductivo efectivo (Rt) en Perú durante marzo y abril del 2020. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;38(2):267-71. doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.6417>.

Correspondencia: Pedro E. Romero; Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, 15102 Lima, Perú; pedro.romero@upch.pe

Recibido: 14/09/2020
Aprobado: 03/03/2021
En línea: 30/03/2021

USE OF SARS-CoV-2 GENOMES TO ESTIMATE THE EFFECTIVE REPRODUCTIVE NUMBER (Rt) IN PERU DURING MARCH – APRIL 2020

ABSTRACT

The understanding of COVID-19, caused by the SARS-CoV-2, is essential to improve evidence-based public health policies. The effective reproductive number (Rt) in Peru was estimated using information from 113 complete genomes sequenced by the Instituto Nacional de Salud del Perú (INS), available in the GISAID public database. The Rt trend during March and April of 2020 was found to be similar to results from other epidemiological reports. The Rt decreased during the first two weeks of March. Its lowest value was reported during the week after the quarantine began. The Rt increased moderately after the second week of April. The implication of early decisions taken to mitigate the transmission are discussed. Genomic surveillance will be necessary to understand the transmission and evolution of SARS-CoV-2 in Peru, and will complement the epidemiological information.

Keywords: Bayesian Analysis; Nucleotide Databases; COVID-19; Molecular Epidemiology; Phylogenomics; Genomics; Epidemiological Models; Peru; SARS-CoV-2; Surveillance (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La pandemia actual de la COVID-19 ocasionada por SARS-CoV-2 fue reportada en diciembre del 2019 en la ciudad de Wuhan, China. A febrero del 2021, se ha convertido en un problema global de salud pública, ha afectado a más de 111 millones de personas y ha producido más de 2,4 millones de decesos ⁽¹⁾. El Perú reportó su primer caso el 6 de marzo del 2020. Diez días después, el gobierno decretó el estado de emergencia nacional que incluyó medidas de cuarentena y toque de queda ⁽²⁾. Sin embargo, la transmisión se generalizó dentro del país. Asimismo, la positividad de casos por pruebas moleculares ascendió a más de 364 000 y por pruebas rápidas, a más de 840 000 ⁽³⁾.

El uso de herramientas epidemiológicas durante una pandemia es de gran utilidad en la toma de decisiones porque puede proveer un panorama de la dinámica inicial y actual de la transmisión, y se apoya en el aislamiento precoz de los casos positivos, en el seguimiento de contactos, y en la selección de medidas de mitigación comunitarias e individuales adecuadas ⁽⁴⁾. Una de las estimaciones importantes durante la primera etapa de la pandemia es el número reproductivo básico (R0) ^(5,6), que representa el número de casos secundarios esperados a partir de un caso primario en una población en la que todos los individuos son susceptibles a la enfermedad y que mide la velocidad potencial de transmisión durante la fase inicial de la pandemia. Este número fue estimado en 2,3 (intervalo de confianza al 95% [IC 95%]: 2,0-2,5) para Lima ⁽²⁾ y entre 2,36-5,24 para Perú ⁽⁶⁾ durante marzo del 2020.

Otro índice, importante es el número reproductivo efectivo, (Rt), que mide el número esperado de nuevas infecciones causadas por un individuo infeccioso durante el transcurso de la pandemia, cuando ya existen individuos no susceptibles en la población debido a que fueron infectados o presentan inmunidad a la enfermedad ⁽⁷⁾. Si el $Rt > 1$, los casos se incrementan exponencialmente; si el $Rt < 1$, el número de infectados será cada vez menor ⁽⁸⁾. El Rt para Perú fue estimado en 2,36 (IC 95%: 2,11-2,63) durante marzo del 2020 ⁽⁷⁾.

La disponibilidad de datos libres en repositorios públicos promueve la ciencia abierta y la rápida toma de decisiones en salud pública ⁽⁹⁾. Por ejemplo, el primer genoma de SARS-CoV-2, publicado en enero del 2020, permitió el desarrollo temprano de pruebas moleculares RT-PCR ⁽¹⁰⁾, que se utilizan mundialmente para confirmar la presencia del virus. Asimismo, la información genómica es utilizada en análisis filodinámicos para obtener estimaciones sobre la transmisión de enfermedades emergentes, y en los procesos de evolución molecular en tiempo real, colaborando así con la vigilancia epidemiológica ⁽¹¹⁾.

El cálculo del Rt es posible con modelos similares a los epidemiológicos SIR (susceptibles, infectados, recuperados), utilizando información filogenética para inferir las tasas de transmisión y recuperación ⁽¹²⁾. El primer genoma de un caso peruano fue secuenciado por el Instituto Nacional de Salud

MENSAJES CLAVE

Motivación para realizar el estudio: El uso de la información genómica del coronavirus puede contribuir a su vigilancia epidemiológica en Perú y generar datos independientes sobre cómo ocurre la transmisión y evolución de la enfermedad.

Principales hallazgos: Utilizando la información genómica, se encontró que la transmisión de la enfermedad habría disminuido luego del comienzo de la cuarentena. Sin embargo, esta incrementó luego de unas semanas, probablemente debido a la dificultad de mantener una cuarentena estricta en nuestra sociedad.

Implicancias: La vigilancia genómica del virus será útil para seguir la velocidad de transmisión del nuevo coronavirus a nivel nacional y evaluar los efectos de nuevas variantes locales.

(INS) en marzo del 2020 ⁽¹³⁾. En febrero del 2021, existían 113 genomas de casos peruanos de marzo y abril del 2020 depositados en la base de datos pública Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID).

El objetivo de nuestro estudio fue utilizar la información genómica disponible de Perú para estimar el Rt durante los dos primeros meses de la epidemia y determinar la dinámica de la transmisión inicial integrando los análisis moleculares a las estimaciones epidemiológicas.

EL ESTUDIO

El diseño del estudio fue descriptivo. La información fue obtenida desde la base de datos GISAID en febrero del 2021 y corresponde a los meses de marzo y abril del 2020. La unidad de análisis fueron los genomas disponibles para ese periodo. Se utilizaron 113 genomas que cumplían con las siguientes características: genoma completo (>29 000 pares de bases) y un porcentaje de nucleótidos ambiguos menor a uno. Los números de acceso se encuentran en el Material suplementario 1. De las muestras analizadas, 59 correspondieron a Lima y 54, a otras regiones: Ancash, 8; Arequipa, 7; Cajamarca, 2; Callao, 2; Cusco, 2; Huánuco, 1; Ica, 5; Junín, 7; La Libertad, 3; Lambayeque, 12; Loreto, 5. La unidad de análisis de tiempo fueron los días naturales. Las secuencias fueron alineadas con el programa MAFFT ⁽¹⁴⁾ y el genoma de referencia del SARS-CoV-2 (código de identificación en GenBank: NC_045512.2). El alineamiento múltiple de secuencias fue editado manualmente en el programa Geneious v.2020.2.3 para eliminar los flancos correspondientes a las regiones no traducidas (UTR). El tamaño final del alineamiento resultó en 29 409 sitios. Este alineamiento puede ser obtenido en el Material suplementario 2.

La estimación del R_t a partir de datos genéticos es posible utilizando el modelo *Birth-Death Skyline* (BDSKY) ⁽¹⁵⁾. El modelo se basa en el proceso *birth-death*, en el cual los individuos generan nuevos eventos de transmisión de la enfermedad a una tasa λ (*birth*) y se vuelven no infecciosos a una tasa δ (*death*), debido a la recuperación de los hospederos, cambios en el comportamiento, o tratamiento exitoso. El número reproductivo efectivo estimado a partir de los genomas es calculado al dividir ambas tasas.

Los parámetros necesarios para modelar estas tasas fueron estimados a partir de filogenias generadas por análisis bayesiano en el programa BEAST2 ⁽¹⁶⁾. Este programa utiliza cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), estimando los parámetros del modelo BDSKY en cada generación de la MCMC. Se corrieron 10 MCMC, con 50 millones de generaciones cada una. Cada cadena fue muestreada cada 50 000 generaciones, descartándose el primer 25% de resultados de cada cadena (*burnin*). Los resultados de las 10 MCMC se combinaron en un solo archivo (Material suplementario 3).

Lo esperado al realizar este análisis es que a partir de una distribución inicial (*a priori*), y un número considerable de generaciones, los valores tiendan a aparecer en una distribución estacionaria (*posterior*). Cuando esto sucede, se dice que los parámetros han llegado a la «convergencia». El tamaño de muestra estimada (*estimated sample size* o ESS) en la distribución posterior necesaria para aceptar la convergencia de la MCMC es de 200 a más muestras.

Para calibrar las filogenias, se utilizó una tasa de sustitución nucleotídica de 22 905 sustituciones por año. Esta tasa se obtuvo del portal de vigilancia genómica NextStrain ⁽¹⁷⁾. La división entre la tasa y el tamaño del genoma de referencia (29 903 nucleótidos) resultó en 0,00077 sustituciones/sitio/año. Tasas de mutación similares han sido utilizadas en otros estudios de introducciones y transmisión temprana de SARS-CoV-2 ^(18,19).

Los parámetros *a priori* se muestran en la Tabla 1. Se realizó lo siguiente: 1) el cálculo de la tasa de volverse no infeccioso (*becomeUninfectiousrate*), expresada en unidades por año, y que resulta de dividir los días del año entre el promedio del tiempo de días en el que un individuo es infeccioso (365/15 ~25 unidades). Se eligió 25 como media inicial de una distribución normal. 2) El ancestro común de las muestras peruanas fue estimado entre fines de diciembre del 2019

Tabla 1. Parámetros a priori del modelo *birth-death skyline* en BEAST2.

Parámetro	Media	Desviación estándar	Distribución
<i>becomeUninfectiousrate</i>	25	5	Normal
Ancestro común de las muestras peruanas	0,3 ^a	0,05	Normal
Número efectivo reproductivo	1,65	1,00	Lognormal

^aDiciembre del 2019 a enero del 2020

y enero del 2020, por ello, elegimos una distribución normal con media 0,3 (hace ~110 días) como distribución inicial. 3) El R_t fue estimado utilizando como parámetro una distribución lognormal con media 1,65 y desviación estándar 1, que implica $0,1 < R_t < 7,1$. El R_t fue calculado por cada semana, aproximadamente.

La información utilizada en este trabajo procede de la base de datos pública GISAID. Ninguno de los datos analizados presentó identificadores personales. Esta investigación se encuentra alineada con la necesidad de información para combatir una emergencia sanitaria.

HALLAZGOS

La distribución estacionaria de las MCMC, con convergencia (ESS > 200), fue alcanzada en la estimación del R_t (Tabla 2, Material suplementario 3). La tasa de volverse no infeccioso se calculó en 39,7, HPD 95%: 31,76-47,62 (HPD: intervalo de mayor densidad de probabilidad). Este valor corresponde a un estimado de 365/39,7 ~9 días, HPD 95%: 7,66 a 11,5 días, en los cuales el individuo seguiría siendo infeccioso. El R_t fue mayor que 1 días antes del primer reporte de SARS-CoV-2 en Perú (Figura 1, Material suplementario 4). El R_t disminuyó durante la segunda semana de marzo y alcanzó un valor $R_t < 1$ pocos días antes del inicio de la cuarentena. Los menores valores de R_t se encontraron entre los días 19 y 25 de marzo (Material suplementario 4), luego de decretarse la cuarentena. El R_t fluctuó cercano a 1 durante las siguientes semanas hasta elevarse nuevamente en la segunda quincena de abril del 2020.

DISCUSIÓN

Un reporte del R_t para los primeros diez días de la pandemia en Perú mostró valores de 2,36-5,24 ⁽⁷⁾. Otro reporte calculó un R_t de 4,4 para marzo del 2020 y una reducción a 3,2 durante las primeras dos semanas de cuarentena ⁽⁴⁾. Nuestra investigación muestra concordancia con estas estimaciones y con reportes que no han sido revisados por pares ⁽⁸⁾. Los valores iniciales más altos podrían deberse a la incertidumbre inicial en el cálculo del R_t durante los primeros días ⁽⁸⁾.

El control de la epidemia se obtiene si llegamos a un valor

Tabla 2. Parámetros estimados utilizando el modelo *Birth-Death Skyline* en BEAST2.

Parámetro	Media	Intervalo al 95% HPD	ESS
Probabilidad posterior	-41 340,88	-41 376,93 - -41 307,96	5261
<i>BecomeUninfectiousrate</i>	39,7	31,76 - 47,62	7023
Origen ^a	0,3	0,29 - 0,30	7207

^aFecha de aparición del ancestro común de las muestras

ESS: tamaño de muestra estimado. HPD: intervalo de mayor densidad de la probabilidad.

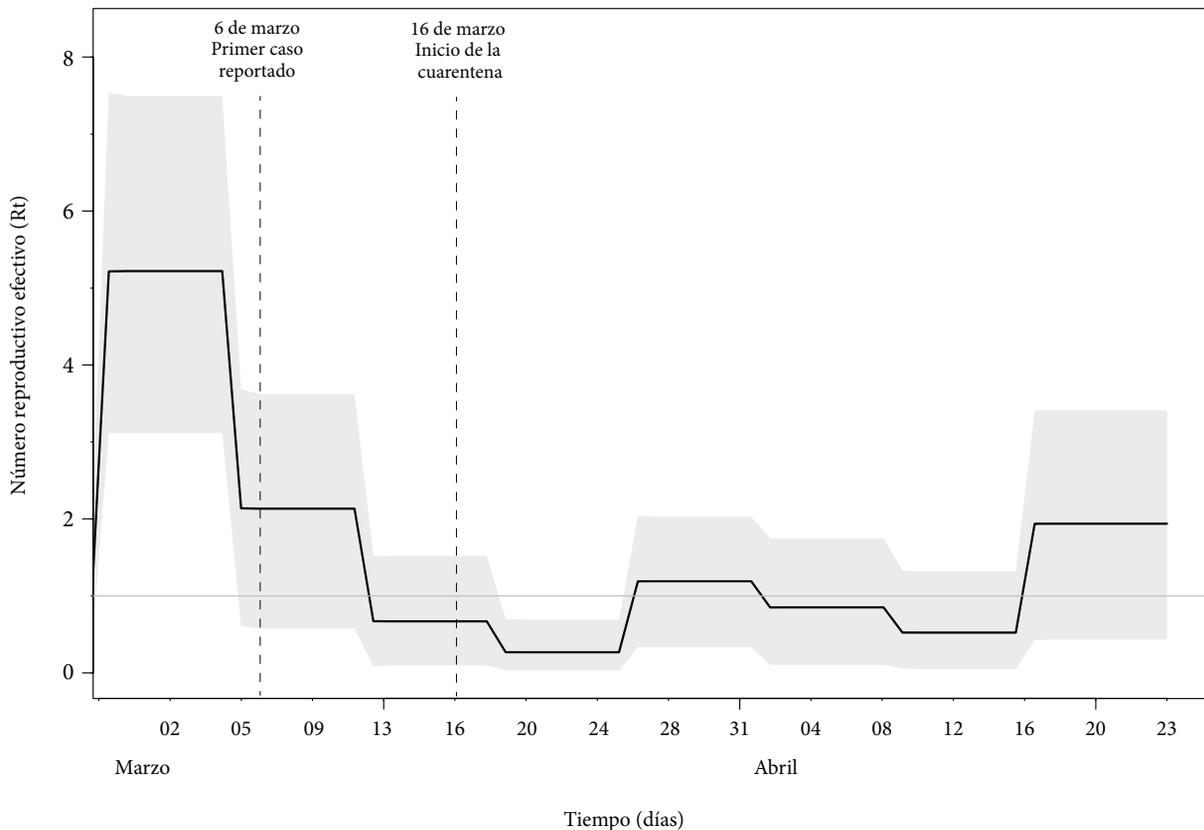


Figura 1. Valores estimados del R_t por el modelo *Birth-Death Skyline*. La incertidumbre es representada mediante una distribución con intervalos de mayor densidad de la probabilidad al 95% (HPD 95%) (área sombreada). El valor del R_t disminuye durante las dos primeras semanas de marzo y aumenta moderadamente la última semana de abril del 2020.

del $R_t < 1$. De acuerdo con nuestros resultados, la cuarentena permitió mantener ese valor al menos una semana después de decretada. Sin embargo, la disminución del R_t antes del inicio de la cuarentena podría explicarse debido a las medidas tomadas por el gobierno la semana previa, suspendiendo clases y vuelos desde Europa y Asia, así como prohibiendo las reuniones de más de 300 personas⁽²⁾.

El $R_t < 1$ se mantuvo durante la primera semana de cuarentena probablemente debido a las condiciones estrictas durante los primeros días. El posterior aumento del R_t luego de esa semana pudo ser debido a aglomeraciones recurrentes en lugares públicos como mercados o bancos. Por ejemplo, por la falla en la restricción de movilización de acuerdo al sexo (3-10 abril del 2020), que provocó aglomeraciones los días que estaban destinados a las mujeres.

Si bien se tomaron medidas tempranas de mitigación estricta como el confinamiento, esto no evitó que las personas se desplacen fuera de sus domicilios. Aunque el confinamiento ha funcionado en países con mercados laborales formales, en Perú la supresión de actividades económicas informales —que llegarían a más de 72%— es una medida insostenible en el contexto de nuestra dinámica social⁽²⁰⁾, que pudo promover el desplazamiento de las personas fuera de sus residencias y facilitó la transmisión del virus.

Con respecto a las limitaciones del estudio, el número de genomas muestreados es pequeño en comparación con los casos totales reportados en Perú durante los meses de marzo y abril del 2020. Sin embargo, otros estudios han utilizado metodologías similares para estimar el R_t asumiendo una frecuencia de muestreo de 10^{-3} y 10^{-5} (1/1000 a 1/100 000) genomas por casos reportados^(18,19). A fines de abril del 2020, los casos ascendían a más de 36 000, por lo que la frecuencia de muestreo en Perú sería $113/36\ 000 \sim 10^{-3}$. Aún si se considera que esta cifra oficial fuese menor a los casos existentes, el valor aún se encontraría dentro del rango utilizado en otras investigaciones.

Por otro lado, la representación geográfica también debería ser mejorada para poder determinar el valor de R_t a nivel regional con más detalle. Esta es otra limitante de este estudio, y está relacionada con los datos públicos disponibles en la base de datos GISAID. Por ello, se sugiere incrementar la diversidad geográfica de las muestras reportadas.

En conclusión, utilizando la información genómica, se evidencia que el R_t disminuyó considerablemente durante la primera quincena de marzo, alcanzó su menor valor la semana posterior al inicio de la cuarentena, pero aumentó moderadamente desde la quincena de abril.

Resulta evidente que se requieren más iniciativas de secuenciamiento para reforzar la vigilancia genómica en nuestro país. El poder de este análisis permite el seguimiento de nuevas mutaciones, de la introducción de variantes foráneas y de la aparición de variantes locales y genera datos sobre la diversidad genética del virus, su evolución molecular y sus patrones filogeográficos de transmisión en nuestro país. En este estudio, la información genómica producida fue analizada desde un enfoque epidemiológico para estimar la velocidad de transmisión del virus durante la etapa temprana de la pandemia.

Debido a que los datos genómicos complementan estudios epidemiológicos, su integración es necesaria en un futuro sistema nacional de vigilancia epidemiológica que permita la toma de decisiones en salud pública sustentadas en evidencia generada mediante ciencia abierta y multidisciplinaria. Asimismo es necesario promover la formación de recurso humano capacitado que pueda comprender e integrar métodos epidemiológicos con herramientas bioinformáticas.

Contribuciones de los autores: PER participó en la concepción y diseño del artículo, análisis e interpretación de datos, redacción del artículo y revisión crítica de la versión final. MSY participó en el análisis e interpretación de datos, y redacción del artículo. SM participó en la interpretación de datos, redacción y revisión crítica del artículo. PT participó en la redacción y revisión crítica del artículo. Todos los autores aprueban la versión final.

Financiamiento: Este trabajo fue financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico y de Innovación Tecnológica (Fondecyt - Perú) en el marco del «Proyecto de Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica» [Número de contrato 34-2019-FONDECYT-BM-INC. INV.], y por el CONCYTEC-FONDECYT en el marco del concurso «Proyectos Especiales: Respuesta al COVID-19 2020-01» [número de contrato 046-2020-FONDECYT].

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Material suplementario: Disponible en la versión electrónica de la *RPMESSP*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. Suiza: WHO; 2020 [citado el 2 setiembre de 2020]. Disponible en <https://covid19.who.int>.
2. Munayco CV, Tariq A, Rothenberg R, Soto-Cabezas GG, Reyes MF, Valle A, *et al.* Early transmission dynamics of COVID-19 in a southern hemisphere setting: Lima-Peru: February 29(th)-March 30(th), 2020. *Infect Dis Model.* 2020;5:338-45. doi: 10.1016/j.idm.2020.05.001.
3. MINSA. Sala situacional COVID-19 [Internet]. Perú: Ministerio de Salud; 2020 [citado el 02 setiembre 2020]. Disponible en: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp.
4. Gonzales-Castillo JR, Varona-Castillo L, Dominguez-Morante MG, Ocaña-Gutierrez VR. Pandemia de la COVID-19 y las Políticas de Salud Pública en el Perú: marzo-mayo 2020. *Revista de Salud Pública.* 2020;22(2):1-9. doi: 10.15446/rsap.v22n2.87373.
5. Ridenhour B, Kowalik JM, Shay DK. Unraveling R0: considerations for public health applications. *Am J Public Health.* 2014;104(2):e32-41. doi: 10.2105/AJPH.2013.301704.
6. Torres-Roman JS, Kobiak IC, Valcarcel B, Diaz-Velez C, La Vecchia C. The reproductive number R0 of COVID-19 in Peru: An opportunity for effective changes. *Travel Med Infect Dis.* 2020:101689. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101689.
7. Caicedo-Ochoa Y, Rebellon-Sanchez DE, Penalzoza-Rallon M, Cortes-Motta HF, Mendez-Fandino YR. Effective Reproductive Number estimation for initial stage of COVID-19 pandemic in Latin American Countries. *Int J Infect Dis.* 2020;95:316-8. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.069.
8. Rt de COVID-19 por departamento en Perú [Internet]. Lima: AMIGO-CLOUD; 2020 [citado el 5 setiembre de 2020]. Disponible en: <https://huaynodata.com/>.
9. Moorthy V, Henao Restrepo AM, Preziosi MP, Swaminathan S. Data sharing for novel coronavirus (COVID-19). *Bull World Health Organ.* 2020;98(3):150. doi: 10.2471/BLT.20.251561.
10. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
11. Rife BD, Mavian C, Chen X, Ciccozzi M, Salemi M, Min J, *et al.* Phylogenetic applications in 21(st) century global infectious disease research. *Glob Health Res Policy.* 2017;2:13. doi: 10.1186/s41256-017-0034-y.
12. Vaughan TG, Leventhal GE, Rasmussen DA, Drummond AJ, Welch D, Stadler T. Estimating Epidemic Incidence and Prevalence from Genomic Data. *Mol Biol Evol.* 2019;36(8):1804-16. doi: 10.1093/molbev/msz106.
13. Padilla-Rojas C, Lope-Pari P, Vega-Chozo K, Balbuena-Torres J, Caceres-Rey O, Bailon-Calderon H, *et al.* Near-Complete Genome Sequence of a 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Strain Causing a COVID-19 Case in Peru. *Microbiol Resour Announc.* 2020;9(19). doi: 10.1128/MRA.00303-20.
14. Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief Bioinform.* 2019;20(4):1160-6. doi: 10.1093/bib/bbx108.
15. Stadler T, Kuhnert D, Bonhoeffer S, Drummond AJ. Birth-death skyline plot reveals temporal changes of epidemic spread in HIV and hepatitis C virus (HCV). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(1):228-33. doi: 10.1073/pnas.1207965110.
16. Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchene S, Fourment M, Gavryushkina A, *et al.* BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput Biol.* 2019;15(4):e1006650. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006650.
17. Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, *et al.* Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics.* 2018;34(23):4121-3. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407.
18. Lai A, Bergna A, Acciarri C, Galli M, Zehender G. Early phylogenetic estimate of the effective reproduction number of SARS-CoV-2. *J Med Virol.* 2020;92(6):675-9. doi: 10.1002/jmv.25723.
19. Lai A, Bergna A, Caucci S, Clementi N, Vicenti I, Dragoni F, *et al.* Molecular tracing of SARS-CoV-2 in Italy in the first three months of the epidemic. *Viruses.* 2020;12(8):798. doi: 10.3390/v12080798.
20. Organización Mundial del Trabajo. ¿Respuesta rápida a la COVID-19 en un contexto de alta informalidad? El caso del Perú [Internet]. Ginebra: Organización Mundial del Trabajo; 2020 [citado el 13 de setiembre de 2020]. http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/--ed_emp/documents/publication/wcms_747776.pdf.