

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Identificación de casos

El Laboratorio Referencia Nacional de Virus Respiratorios (LRNVR) del Instituto Nacional de Salud del Perú (INS) realiza el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2 para varias regiones del país y monitorea los reportes de los laboratorios públicos y privados que realizan pruebas moleculares⁽¹⁾. La base de datos NetLab2 del INS contiene información sobre el paciente, el laboratorio que realiza la prueba y su resultado. Se realizó una búsqueda de pacientes que tuvieran dos resultados positivos de RT-PCR para SARS-CoV-2 con más de 90 días de diferencia entre ambos resultados. La búsqueda abarcó desde el 6 de marzo hasta el 24 de agosto del 2020.

Técnicas de laboratorio

Los tipos de muestras que se utilizan para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 son hisopados nasales y faríngeos (ambos por cada paciente), colocados en medio de transporte viral estándar. Luego de realizar la técnica de RT-PCR⁽¹⁾, el LRNVR mantiene las muestras positivas congeladas a -80°C . Al identificarse un paciente con dos pruebas de RT-PCR positivas con más de 90 días entre ambas, se recuperaron las dos muestras correspondientes. Se intentó la secuenciación genética utilizando MiSeq Sequencer (Illumina Inc., Estados Unidos)⁽²⁾. El cultivo viral se realizó en línea celular vero 81⁽³⁾. La clasificación del genoma se realizó según el sistema Pangolin COVID-19, para la diferenciación de clados y linajes⁽⁴⁾. Todas las secuencias se encuentran depositadas o en proceso de aprobación en la base de datos GISAID (EPI_ISL_1111364 - EPI_ISL_1111366).

El árbol filogenético de la figura 1 fue reconstruido mediante el programa RAxML, utilizando el modelo GTR+I+G y 1000 repeticiones de Bootstrap⁽⁵⁾.

Aspectos éticos

Se contactó a los casos o a sus familiares directos apoderados para que dieran su consentimiento para esta publicación. No se expone ninguna información personal sobre su identidad. Las secuencias genéticas completas se analizaron como parte del protocolo «Plataforma de genotipificación del virus SARS-CoV-2 en Perú» (Código OI01420), aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Salud.

Casos

Caso 1, mujer, trabajadora de salud de 57 años, procedente de Lima, sin comorbilidades. El 6 de abril del 2020 empezó con cefalea, odinofagia, malestar y fiebre. Tuvo una evolución favorable y dos semanas después se encontraba asintomática. El 7 de agosto refirió malestar general, fiebre, diarrea y dolor de espalda. El 9 de agosto se realiza una tomografía de alta resolución, cuyo resultado sugiere el diagnóstico de COVID-19, con un 10% de afectación pulmonar. Recibió tratamiento sintomático domiciliario con evolución favorable.

Caso 2, mujer, profesional de la salud de 31 años, procedente de Lima, sin comorbilidades. El 1 de abril del 2020 empezó con fiebre, malestar, tos y disnea. Fue hospitalizada el 4 de abril por necesitar oxígeno, por cuatro días. La tomografía de tórax reveló lesiones bilaterales con patrón intersticial. Fue dada de alta sin síntomas. El 31 de julio refirió fiebre, dolor de cabeza, malestar y tos. Recibió tratamiento domiciliario con evolución favorable.

Caso 3, mujer, profesional de la salud de 35 años, procedente de Áncash, con sobrepeso (IMC: $26,2\text{ kg/m}^2$). El 25 de abril del 2020 comienza con fiebre, astenia, odinofagia y malestar. La radiografía de tórax está relacionado con el diagnóstico de COVID-19. Luego de cinco días estaba asintomática. El 30 de mayo tuvo una RT-PCR negativa. El 3 de agosto empezó con dolor de cabeza, dolor de espalda y tos; persistieron los síntomas durante siete días, sin más complicaciones.

Caso 4, niña de 6 años, procedente de Lima, con trisomía 21 y leucemia linfoblástica aguda. El 8 de abril del 2020 empezó con fiebre y dolor corporal. Fue hospitalizada por presentar aumento de marcadores de inflamación (proteína C reactiva: 352 y deshidrogenasa láctica: 1652). Permaneció en el hospital durante nueve días. En julio fue readmitida para reiniciar quimioterapia, sin embargo, presentó síntomas respiratorios. Se sometió a RT-PCR el 16 de julio, con resultado positivo. Una

Tabla 1. Hallazgos de laboratorio de pacientes con posible reinfección por SARS-CoV-2 en el Perú.

| Paciente, edad, sexo, procedencia. | 1.ª prueba molecular | 1.º episodio pruebas adicionales | 2.ª prueba molecular | 2.º episodio pruebas adicionales |
|------------------------------------|--|---|--|---|
| Caso 1: 57 años, mujer, Lima | 09/04/20 RT-PCR (+) Valor CT: 29 | Cultivo viral negativo <hr/> Secuencia genómica no detectada | 10/08/20 RT-PCR (+) Valor CT: 14 | Cultivo viral positivo <hr/> Secuencia genómica: Clado: GR Linaje: B.1.1.1 |
| Caso 2: 31 años, mujer, Lima | 04/04/20 RT-PCR (+) Valor CT: 30 | Cultivo viral negativo <hr/> Secuencia genómica no detectada | 07/08/20 RT-PCR (+) Valor CT: 19 | Cultivo viral positivo <hr/> Secuencia genómica: Clado: GR Linaje: B.1.1.1 |
| Caso 3: 35 años, mujer, Áncash | 03/05/20 RT-PCR (+) Valor CT: 11 | Cultivo viral positivo <hr/> Secuencia genómica: Clado: GR Linaje: B.1.1.1 | 07/08/20 RT-PCR (+) Valor CT: 34 | Cultivo viral negativo <hr/> Secuencia genómica no detectada |
| Caso 4: 6 años, mujer, Lima | 11/04/20 RT-PCR (+) Valor CT: 26 | Cultivo viral positivo. <hr/> Secuencia genómica: Clado: GR Linaje B.1.1 | 16/07/20 RT-PCR (+) Valor CT: 30 | Cultivo viral positivo <hr/> Secuencia genómica: Clado: G Linaje B.1 |

Fuente: Análisis de Laboratorio de Virus Respiratorio del Instituto Nacional de Salud.
RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa. Valor CT: Valor del umbral de ciclo del PCR.

tomografía computarizada de tórax reveló afectación extensa con patrón intersticial y consolidación alveolar. El paciente también presentó luego bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae*, productora de carbapenemasas (KPC), y falleció el 17 de octubre del 2020. La condición oncológica de la paciente por inmunosupresión persistente y activa podría haber alterado esta evolución natural, acortando el período de protección, que según algunas referencias se considera en torno a los 6 a 12 meses⁽⁷⁾.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, *et al.* The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clin Chem.* 2009;55(4):611-22. doi: 10.1373/clinchem.2008.112797.
- 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):e00303-20. doi: 10.1128/MRA.00303-20.
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020;581(7809):465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
- Rambaut A, Holmes EC, O'Toole A, Hill V, McCrone JT, Ruis C, *et al.* A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* 2020;5(11):1403-1407. doi: 10.1038/s41564-020-0770-5.
- Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 2014;30(9):1312-3. doi: 10.1093/bioinformatics/btu033.
- Ministerio de Salud. Sala Situacional COVID-19 Perú [Internet]. [citado 22 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp.
- El-Chennawi FA, Al-Tonbary YA, Mossad YM, Ahmed MA. Immune reconstitution during maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia, relation to co-existing infection. *Hematology.* 2008;13(4):203-9. doi: 10.1179/102453308X316086.