

Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

(nombre del programa universitario de investigación de la Digi)

**SARS-CoV 2-: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la
pandemia de COVID-19 en Guatemala**

nombre del proyecto de investigación

4.8.58.0.70

Partida presupuestaria

B26CU-2022

código del proyecto de investigación

Centro Universitario de Zacapa (CUNZAC)

unidad académica o centro no adscrito a unidad académica avaladora

M.Sc. Elizabeth Solórzano Ortiz

Coordinadora

Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols

Investigadora

Br. Fredy Pereira Castillo

Auxiliar de investigación II

nombre del coordinador del proyecto y equipo de investigación contratado por Digi

Zacapa, Guatemala, 28/02/2023

lugar y fecha de presentación del informe final dd/mm/año

Autoridades Universidad de San Carlos de Guatemala

Dra. Alice Burgos Paniagua
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril, Ph. D.
Coordinadora del Programa de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Dr. Carlos Augusto Vargas Gálvez
Director, Centro Universitario de Zacapa

Dr. Manuel Alejandro Barrios Izás
Coordinador, Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

Autores

M.Sc. Elizabeth Solórzano Ortiz
Coordinadora del proyecto
Instituto de Investigaciones,
Centro Universitario de Zacapa
Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2Q3-
Universidad Mariano Gálvez

Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols
Investigadora
Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

Br. Fredy Manolo Pereira Castillo
Auxiliar de investigación II
Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

Colaboradores

Lcda. Suzette Boburg
Coordinadora Área Biológica
Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2Q3-
Universidad Mariano Gálvez

M.Sc. Rebeca Méndez
Directora Técnica
Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2Q3-

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI–

Universidad Mariano Gálvez

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2022. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 4.8.58.0.70 con código B26CU-2022 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.



Índice

Índice

1. Resumen y palabras claves.....	1
2. Introducción.....	2
3. Planteamiento del problema.....	4
4. Delimitación en tiempo y espacio.....	5
5. Marco teórico.....	6
6. Estado del arte.....	11
7. Objetivos.....	12
8. Hipótesis de investigación.....	15
9. Materiales y Métodos.....	16
10. Resultados y discusión.....	22
10.1. Resultados.....	22
10.2. Discusión de resultados.....	41
11. Conclusiones.....	46
12. Agradecimientos.....	47
13. Referencias.....	48
14. Aspectos éticos.....	50
15. Vinculación.....	52
16. Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual.....	52
17. Aporte de la propuesta de investigación a los ODS.....	52
18. Orden de pago final.....	54
19. Declaración de Coordinadora del proyecto de investigación.....	54
20. Aval del Coordinador de investigación del centro regional universitario.....	55
21. Visado de la Dirección General de Investigación.....	56

Lista de Figuras

Figura 1: <i>Localización geográfica del estudio, los colores corresponden con número de casos de COVID-19 registrados por departamento</i>	6
Figura 2: <i>Casos confirmados de COVID-19 en Guatemala por fecha de toma de Muestra, de marzo 2020 a Febrero 2023</i>	13
Figura 3: <i>Árbol filodinámico construido en IQTREE y visualizado en ITOL, de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022</i>	26
Figura 4: <i>Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud de las muestras de base de datos de GISAID y las muestras secuenciadas en el estudio</i>	326
Figura 5: <i>Filogenia de linajes de Máxima verosimilitud, construida en IQTREE y visualizada en microreact de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022</i>	332
Figura 6: <i>Análisis de Distribución Temporal de linajes de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022</i>	34
Figura 7: <i>Análisis de Distribución Espacial de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022, y sus coordenadas geográficas</i>	39
Figura 8: <i>Comparación de la distribución y abundancia de los linajes circulantes de febrero 2022 a febrero 2023 por región</i>	39
Figura 9: <i>Distribución del linaje XBB.1 de los 25 países en los que se presentó con mayor abundancia</i>	40

Lista de Tablas

Tabla 1: <i>Variantes de preocupación que actualmente circulan VOC</i>	10
Tabla 2: <i>Variantes de Preocupación anteriormente en circulación VOC</i>	10
Tabla 3: Análisis de Diversidad.....	35

1 Resumen y palabras claves

Resumen

La secuenciación genómica de SARS-CoV-2 y la investigación asociada han permitido la actualización de la clasificación de variantes de importancia epidemiológica, y con ello la generación de estrategias de respuesta inmediata. En Guatemala el virus se secuenció por primera vez en noviembre del 2020 y el LNS tuvo la posibilidad de establecer un programa de secuenciación local hasta 2022. El éxito de los programas de vigilancia recae en el desarrollo de investigación en colaboración entre los sectores académico y salud. Sin embargo, en Guatemala no existe una red que integre al sector académico. El objetivo de este estudio fue contribuir a la vigilancia genómica a través del fortalecimiento de alianzas entre dichos sectores, la generación de 73 genomas de alta cobertura y de la investigación de la evolución viral a través del análisis de los genomas disponibles para el país. Nuestros hallazgos permiten visualizar una dinámica evolutiva que conserva ciertas tendencias mundiales, sin embargo, algunos efectos locales han modelado un proceso exclusivo en el país, como el acelerado aumento del sublinaje XBB.1. Otros procesos como el aumento de diversidad y recambio de dominancia de variantes pueden trazarse con las olas de contagio y algunas de estas con la modificación de medidas de contingencia como la relajación de medidas en 2020 y 2021, la apertura de fronteras internacionales, y la eliminación del uso obligatorio de mascarilla, esta última coincide con la ola más grande contagios en el país, estos hallazgos enfatizan la necesidad de la investigación de la dinámica evolutiva local.

Palabras clave: Vigilancia Genómica, Evolución viral, Diversidad genética, Linajes, XBB.1.

Abstract and keyword

The genomic sequencing of SARS-CoV-2 and the associated research have allowed the updating of the classification of variants of epidemiological importance, and with it the generation of immediate response strategies. In Guatemala, the virus was first sequenced in November 2020 and the LNS had the possibility of establishing a local sequencing program until 2022. The success of surveillance programs lies in the development of collaborative research between the academic and health sectors. However, in Guatemala there is no network that integrates the academic sector. The objective of this study was to contribute to genomic surveillance through the strengthening of alliances between these sectors, the generation of 73 genomes with high coverage and the investigation of viral evolution through the analysis of the genomes available to the country. Our findings allow us to visualize an evolutionary dynamic that preserves certain global trends, however, some local effects have shaped an exclusive process in the country, such as the accelerated increase of the XBB.1 sublineage. Other processes such as the increase in diversity and dominance replacement of variants can be traced with the waves of contagion and some of these with the modification of contingency measures such as the relaxation of measures in 2020 and 2021, the opening of international borders, and the elimination of the mandatory use of masks. The latter coincides with the largest wave of infections in the country. These findings emphasize the need for research into local evolutionary dynamics.

Keywords: Genomic Surveillance, Viral Evolution, Genetic Diversity, Lineages, XBB.1.

2 Introducción

En diciembre de 2019 en la Ciudad de Wuhan China, fue detectado un grupo de pacientes con neumonía de causas desconocidas, cuyos casos se vinculaban a un mercado de mariscos: en los días posteriores los casos fueron aumentando a gran velocidad (Zhu et al., 2020). Gracias a los avances tecnológicos de los nuevos métodos de identificación molecular y a la vigilancia genómica de enfermedades como la influenza, implementada en países desarrollados, pocos días después de los primeros reportes, científicos de la ciudad de Wuhan fueron capaces de identificar el agente etiológico de dicha infección, hasta entonces desconocido, la identificación fue posible a través de un método de secuenciación de genoma completo y de análisis de genómica comparativa. Se trataba de un coronavirus, con una secuencia similar a las secuencias de otros coronavirus que infectan humanos y que algunos años antes habían constituido retos para los sistemas de salud, SARS en China en 2002 y MERS en Oriente medio en el 2012 (Andersen, Rambaut, Lipkin, Holmes, Garry, et al., 2020). Desde el surgimiento de las enfermedades causadas por SARS-CoV y MERS-CoV, los científicos alertaban respecto a los riesgos del surgimiento de infecciones emergentes en humanos causadas por coronavirus de origen zoonótico, debido a las similitudes genéticas de los coronavirus habitantes comunes de fauna silvestre y los coronavirus con la capacidad de infectar humanos (Chen et al., 2020; Cui et al., 2019). También enfatizaban la necesidad de la inversión en investigación de estos patógenos y de la implementación de regulaciones y controles de los factores que facilitan la exposición del humano a patógenos inusuales, y que aumentan los riesgos del surgimiento de enfermedades emergentes, como el avance de la frontera agrícola, la deforestación, el calentamiento global y el comercio ilegal de fauna silvestre (Cui et al., 2019). Sin lugar a duda, la falta de inversión en investigación y la falta de atención a las recomendaciones del cuerpo científico y ¿por qué no decirlo? la falta de incidencia del gremio científico en las políticas de estado, alrededor del mundo, ha generado altos costos a toda la humanidad, haciendo obligatoria la inversión en ciencia para intentar contener la pandemia por COVID-19, a través de la comprensión de la etiología, el desarrollo de la enfermedad, y la evolución viral. Hemos sido testigos de avances científicos en tiempo récord en la búsqueda de medidas efectivas para el desarrollo de vacunas, tratamientos y estrategias de

contención, de una enfermedad compleja cuyos resultados clínicos pueden ir desde el ser asintomático hasta la muerte (Saad-Roy et al., 2021).

Respecto a la evolución viral (cambios en las frecuencias alélicas en las poblaciones virales a lo largo del tiempo), si bien a inicios de la pandemia las alertas por la generación de variantes de importancia eran bajas, ya que se trata de un virus con una tasa de mutación menor a la de otros virus de importancia médica, el escenario que brindó la rápida expansión del virus, a causa de la alta capacidad de infección de este y a las dinámicas impuestas por la globalización en ese momento (viajes internacionales de alta frecuencia), fue suficiente para que el virus evolucionara mucho más rápido de lo contemplado. Actualmente existen varios linajes principales y sublinajes, de acuerdo con el sistema de clasificación de Pango y todos causan COVID-19 (Rambaut, 2020), la circulación, aumento y disminución en la frecuencia de las variantes que han surgido ha sido un proceso dinámico y particular para las diferentes regiones del mundo.

La vigilancia genómica a nivel mundial y la investigación asociada a esta, ha permitido una actualización constante en la clasificación de las variantes de acuerdo con su relevancia epidemiológica, de acuerdo con el CDC en este momento se consideran 7 variantes de preocupación -VOC-: B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5, todas estas clasificadas como linajes de Omicron; y 11 variantes que deben ser monitoreadas -VBM-: Alpha (B.1.1.7 y linajes Q), Beta (B.1.351 y sus linajes descendientes), Gamma (P.1 y sus linajes descendientes), Delta (B.1.617.2 y los linajes AY), Epsilon (B.1.427 y B.1.429), Eta (B.1.525), Iota (B.1.526), Kappa (B.1.617.1), 1.617.3, Mu (B.1.621, B.1.621.1) y Zeta (P.2). El monitoreo activo en países desarrollados ha contribuido al desarrollo de estrategias de respuesta inmediata ante el surgimiento de dichas variantes. En Guatemala, para que el proceso de vigilancia genómica sea realmente activo, es imperativa la contribución del sector académico, además de los esfuerzos que ya desarrolla el Ministerio de Salud a través del Laboratorio Nacional.

Este proyecto tuvo como objetivo, no solo incrementar la producción de secuencias genómicas de SARS-CoV-2, para contribuir al proceso de vigilancia activa en el país y a nivel mundial, sino también el desarrollo del metaanálisis genético y evolutivo, de las secuencias generadas del virus de pacientes guatemaltecos, con el interés de generar información de la evolución y diversidad viral y sus efectos en el pronóstico de la enfermedad a nivel local, así como de la repercusión de

las medidas de contención establecidas por los administradores de salud, y el potencial impacto de las variaciones que circulan actualmente en el país en la eficacia de los métodos de diagnóstico molecular y vacunas actuales.

3 Planteamiento del problema

Si bien los cambios en las secuencias de los genomas de los virus son procesos naturales que se presentan por errores cometidos por las enzimas que se encargan de mediar la replicación viral, cada vez que una nueva persona se infecta, el virus encuentra una ventana de oportunidad para replicarse y durante esta replicación pueden generarse novedades genómicas a partir de sustituciones, inserciones o deleciones nucleotídicas, pero también de procesos que implican cambios mayores, como la recombinación de diferentes linajes que coinciden en procesos de coinfección, estas nuevas variantes pueden tener cambios fenotípicos de relevancia epidemiológica, como aumento de virulencia, evasión de la neutralización, entre otras. Si alguna de estas variantes es selectivamente superior, tiene la posibilidad de desplazar a otras variantes circulantes menos infectivas o agresivas, o que presenten una menor capacidad para evadir los anticuerpos generados por el huésped como producto de la vacunación o de infecciones previas. Durante los 3 años de pandemia por COVID-19, a nivel mundial se ha generado una vigilancia del surgimiento de nuevas variantes a partir de la secuenciación genómica periódica de muestras virales de los pacientes infectados con el virus, y a partir de estudios posteriores como por ejemplo de su capacidad de infección y evasión de anticuerpos, ha sido posible la generación de un proceso dinámico en la designación de la importancia epidemiológica de las variantes que surgen.

En Guatemala fue hasta noviembre del 2020 que se secuenciaron por primera vez virus de pacientes guatemaltecos, este estudio evidenció a través de pocas secuencias, como los cambios en las políticas de estado para el manejo de la enfermedad, tenían una incidencia directa en modificaciones de la diversidad viral circulante (Solórzano-Ortiz et al., 2020).

Posteriormente diversas instituciones fuera y dentro de Guatemala, como la Asociación de Salud Integral -ASI- contribuyeron con la generación de secuencias de pacientes guatemaltecos, más tarde el Laboratorio Nacional de Salud implementó un proceso de vigilancia genómica, que ha incrementado su efectividad y celeridad a lo largo de la pandemia, aunque al inicio de su

implementación existía un desfase entre el tiempo del surgimiento de las variantes y su detección, durante los últimos meses se generan reportes cada vez con mayor frecuencia y con mayor cantidad de muestras, sin embargo, en parte debido a la desvinculación con entidades académicas a nivel nacional no existen procesos de investigación relacionada a los procesos evolutivos del virus en el país, ni de sus implicaciones en los resultados de la enfermedad o características epidemiológicas. Por otro lado, la alta diversidad del virus y la celeridad con la que estas variaciones se han generado demanda el involucramiento de los sectores académicos a nivel mundial, como apoyo a la generación y análisis de secuencias de SARS-CoV-2.

4 Delimitación en tiempo y espacio

4.1 Delimitación en tiempo

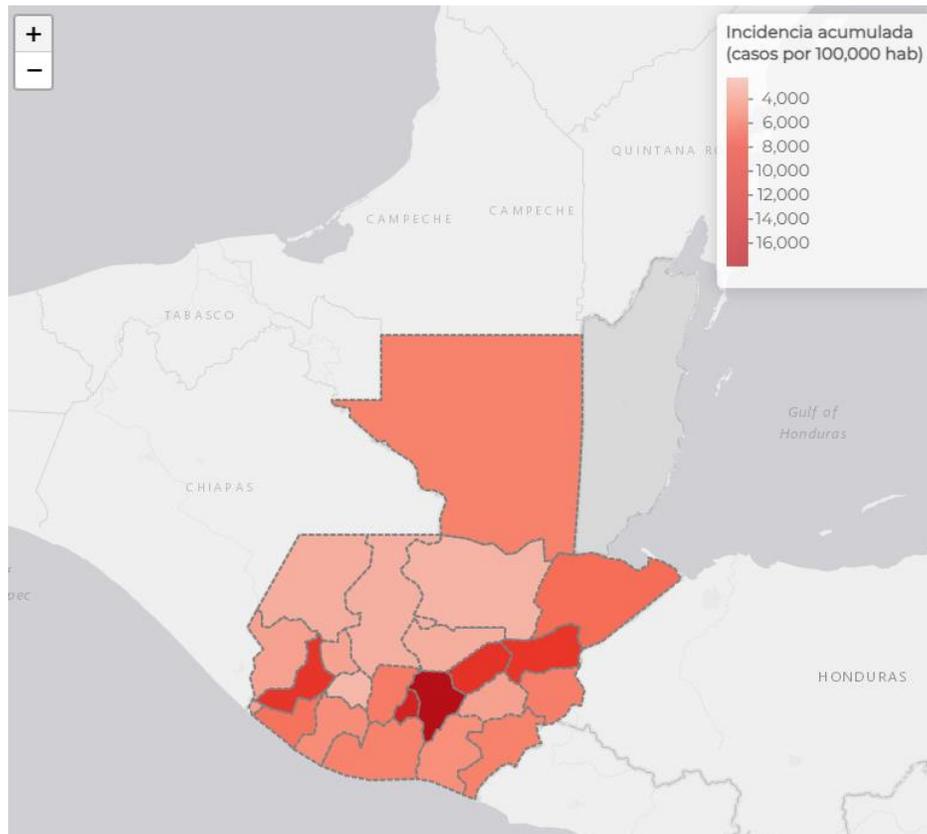
El presente proyecto tuvo una duración de 11 meses, de febrero a diciembre de 2022 y las muestras analizadas comprenden los meses de febrero a noviembre.

4.2 Delimitación espacial

El proyecto se desarrolló en la Ciudad de Guatemala, la selección del origen regional de las muestras se definió con base en el número de casos activos recibidos en el Instituto de Seguridad Social durante el desarrollo del proyecto, en lo posible se establecieron como prioritarias las regiones con mayor número de registros durante dicho período (ver Figura 1), sin embargo, esto fue posible solamente en relación con las muestras que fueron referidas al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social zona 9.

Figura 1

Localización geográfica del estudio, los colores corresponden con número de casos de COVID-19 registrados por departamento



Nota. Fuente: Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala, 2023.

5 Marco teórico

COVID-19

COVID-19 son las siglas en inglés de enfermedad por coronavirus 2019 (Coronavirus disease 2019), este fue el nombre designado de acuerdo con los lineamientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud para la enfermedad infecciosa causada por el coronavirus SARS-CoV-2 (OMS, 2019). A finales de diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan se presentaban los primeros registros de una neumonía atípica, para el 31 de diciembre la oficina de

la Organización Mundial para la Salud generaba un reporte de lo antes narrado, además se habían tomado medidas de aislamiento para los pacientes y se empezaban a registrar los signos y síntomas de la enfermedad en un intento por encontrar patrones diagnósticos, así como la investigación epidemiológica permitió trazar un posible origen de la infección a un mercado mayorista de mariscos en Huanan, sin embargo, aún no existe total claridad respecto a la fecha exacta en la que el SARS-CoV-2 o un ancestro de este, empezó a circular en la población humana (Andersen, Rambaut, Lipkin, Holmes, & Garry, 2020; Maxmen, 2022; Worobey et al., 2022). Otra de las medidas epidemiológicas implementadas fue la búsqueda activa de casos (OMS, 2021). Más tarde el 11 de marzo de 2020 la OMS declaraba a la COVID-19 como una pandemia (OMS, 2021).

SARS-CoV-2

El agente etiológico de la COVID-19 es el SARS-CoV-2, nombre designado por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus y que corresponde a las siglas en inglés para coronavirus de tipo 2 relacionado al síndrome respiratorio agudo severo (Gorbalenya et al., 2020). SARS-CoV-2 es un virus envuelto, de ARN de hebra simple, positiva, y que, de acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, pertenece a la subfamilia de Sarbecovirus, de la familia Orthocoronaviridae, que se encuentra de forma frecuente en humanos y otros mamíferos. El virus, posee un diámetro aproximado de 65-125 nm, y en la superficie presenta espinas proteicas, conocidas como proteína S, y que median la especificidad específica (especificidad de especie) de la infección del coronavirus en cuestión (Astuti & Ysrafil, 2020).

El genoma de SARS-CoV-2 codifica cuatro proteínas estructurales principales, dos glicoproteínas (la de espiga S y la de envoltura E), una proteína de nucleocápside (N) y una licoproteína (de membrana M), además cuenta con varias proteínas accesorias (Astuti & Ysrafil, 2020).

Vigilancia genómica de SARS-CoV-2

La vigilancia genómica de enfermedades consiste en el monitoreo de los cambios de la secuencia nucleotídica del material genético a lo largo del tiempo, de un patógeno en particular, esto, con el objetivo de comprender, cómo estos cambios afectan las características del patógeno y sus consecuencias en el desarrollo de la enfermedad (CDC, 2021). Aunque previamente la vigilancia genómica ha sido aplicada al monitoreo de otros patógenos, como el virus de la influenza; la

velocidad en la detección de nuevas variantes, o cepas de importancia epidemiológica, para SARS-CoV-2, no tiene precedentes. Dicha velocidad se debe en parte a que durante la última década muchos países en el sector académico y/o el sector salud, implementaron el uso de la secuenciación de nueva generación (Alm et al., 2020). Para febrero de 2023 la base de datos de GISAID, que se convirtió en el repositorio oficial para compartir secuencias de SARS-COV-2, cuenta con 14,990,955 secuencias genómicas del virus, que han sido secuenciadas en distintas regiones del mundo, sin embargo, esta distribución no ha sido homogénea, perteneciendo estas, mayoritariamente a países desarrollados en Europa, el Norte de América y Australia (GISAID, 2023). La producción de secuencias en Centroamérica no sólo ha sido baja y lenta, sino que algunos países aún no han implementado un sistema de vigilancia genómica local, o al menos esté no ha funcionado de forma activa.

Variantes, Clados y Linajes de SARS-CoV-2

Como se ha mencionado anteriormente durante la replicación del material genético, las enzimas encargadas de dicho proceso pueden generar errores, estos son conocidos como mutaciones y constituyen una especie de huellas que permiten trazar la historia evolutiva de los organismos.

En el caso de los virus, debido a características inherentes a su proceso de replicación, y la naturaleza de su material genético, presentan tasas mutacionales mayores. Para SARS-CoV-2 la rápida expansión del virus a nivel mundial ha resultado en una diversidad viral alta, generando la necesidad de encontrar sistemas de clasificación dinámicos, que permitan no solo identificar variantes de importancia epidemiológica, sino que tengan además una base en sistemática molecular (Rambaut et al., 2020). Actualmente existen diversos sistemas que intentan clasificar la diversidad genética de SARS-CoV-2 con base en diferentes algoritmos, los dos más aceptados son el sistema de clasificación de linajes de Pango y el sistema de clasificación de clados de GISAID (Rambaut et al., 2020). Hasta el momento el sistema de clasificación de Pango, ha designado una gran cantidad de linajes y sublinajes (Toole et al., 2021, 2022).

Además de los sistemas de clasificación de la diversidad viral, existen un sistema de clasificación de variantes del CDC, entendidas estas como variantes genéticas de SARS-CoV-2 que emergieron y circulan alrededor del mundo, este sistema de clasificación se enfoca en características epidemiológicas asociadas a dichas variantes y define tres clases, Variantes de Interés, Variantes

de Preocupación y Variantes de Alta Consecuencia, la detección de estas variantes pueden requerir la implementación de acciones de salud pública más apropiadas, incluyendo el aumento de la vigilancia genómica y el desarrollo de investigaciones epidemiológicas (CDC, 2021).

Variantes de Preocupación (VOC)

Reconocidas a nivel mundial como VOC, que son las siglas en inglés para “Variantes de Preocupación”. Para estas variantes existe evidencia de aumento en la transmisibilidad, severidad de la enfermedad, reducción significativa en la neutralización por los anticuerpos generados en contra de infecciones previas o vacunas, reducción de la efectividad a tratamientos y fallas en los métodos de diagnóstico. Actualmente se han definido 4 variantes de preocupación para SARS-Co-V2 (Tabla 2) (Public Health England, 2021; CDC, 2021; WHO.2023).

Inicialmente la variante de preocupación que había despertado mayores alertas era la variante Alpha, conocida también como cepa británica, debido a que, para el virus original detectado en Wuhan en 2020, una persona infectada tenía la capacidad de contagiar a entre 2.4 y 2.6 personas, esta tasa para la variante Alpha se incrementaba a de 4-5 personas. Posteriormente, una nueva variante de preocupación generó niveles de contagio en India mucho mayores, la variante Delta, para esta variante una persona infectada tiene la capacidad de contagiar a de 5-8 personas, desplazando incluso en el Reino Unido a la variante Alpha, siendo la variante dominante también en esta región, además los datos de Inglaterra y Escocia demostraron un mayor riesgo de hospitalización con Delta en comparación con Alpha (Public Health England, 2021). En noviembre 2021 una nueva variante fue identificada como variante de preocupación debido una mayor capacidad de dispersión con respecto a Delta. Esta variante, aunque presenta menos riesgo de enfermedad severa afecta el sistema de salud por un aumento de casos de hospitalización.

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Tabla 1

Variantes de preocupación que actualmente circulan VOC

Etiqueta WHO	Linaje Pango	Clado GISAID	Clado Nextstrain	Primera muestra Documentada	Fecha de designación
Omicron *	B.1.1.529	GR/484A	21K, 21L 21M, 22A, 22B, 22C, 22D	Múltiples países, nov. 2021	VUM: 24-nov-2021 VOC: 26-nov-2021

Nota. *Incluye BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5 y linajes descendientes. También incluye las formas recombinantes circulantes de BA.1/BA.2 como XE. La OMS enfatiza que estos linajes deben ser monitoreados como linajes distintos por las autoridades de salud pública. Fuente: WHO, 2023.

Tabla 2

Variantes de Preocupación anteriormente en circulación VOC

Etiqueta WHO	Linaje Pango	Clado GISAID	Clado Nextstra in	Primera muestra Documentada	Fecha de designación
Alpha	B.1.1.7	GRY (antes GR/501Y.V1)	20I (V1)	Reino Unido, Sep-2020	18-Dic-2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	Sudáfrica, May-2020	18-Dic-2020
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	Brasil, Nov-2020	11-Ene-2021
Delta	B.1.617.2	G/478K.V1	21A	India, Oct-2020	VOI: 4-Abr-2021 VOC: 11-May-2021

Nota. Fuente: WHO, 2023.

Variantes de Gran Consecuencia

Para estas variantes existe evidencia clara de reducción de la efectividad de las medidas de prevención o las contramedidas médicas (MCMs), actualmente no se ha definido ninguna variante de gran consecuencia para SARS-CoV-2 (CDC, 2021).

6 Estado del arte

Situación de la COVID-19 en América

Tan solo para el 17 de febrero de 2023 la Organización Panamericana de la Salud reporta 274,448 casos de la enfermedad en la región de las Américas y 3,018 muertes atribuidas a ella en ese día, el total acumulado de casos asciende a 189,923,471 y el total de muertes a 2,926,937 (OPS, 2023).

Línea de Tiempo de la Pandemia por COVID-19 en Guatemala

El 11 de marzo de 2020 la OMS declaró una alerta de pandemia por la COVID-19, para ese momento el Ministerio de Salud de Guatemala ya había iniciado con controles en los aeropuertos para monitorear la temperatura de los pacientes y síntomas asociados a la enfermedad; los pacientes sospechosos fueron sometidos a una prueba diagnóstica por PCR, y así el viernes 13 de marzo se reportaba el primer caso confirmado en Guatemala, se trataba de un paciente de 27 años que regresaba de un viaje por Europa (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2020). Este primer paciente fue aislado y tuvo una recuperación de la enfermedad. Posterior al reporte del primer caso, las medidas de contención indicadas por el presidente de la República de Guatemala, incluían la suspensión de clases en todos los niveles, medidas de restricción de movilidad dentro y entre departamentos, suspensión de algunos sectores laborales y actividades económicas, excepto los servicios esenciales, restricción de algunas actividades del sector público y privado, restricción del desarrollo de eventos públicos y restricción del número de personas que podían reunirse (MSPAS, 2020).

El primer deceso de un paciente por COVID-19 en el país, se registró el 15 de marzo de 2020, y en esos días, se reportó un primer brote de transmisión local de la enfermedad en San Pedro Sacatepéquez, en un intento por contener dicho brote, se cerraron las entradas y salidas del municipio (MSPAS, 2020)

Por otro lado, días después del registro de los primeros casos de la COVID-19 en el país, el gobierno anunció el cierre de las fronteras internacionales en el Aeropuerto Internacional la Aurora. Las medidas de restricción se continuaron con cambios menores hasta finales de junio. Posterior al levantamiento de varias de las medidas descritas, durante el mes de julio y agosto se dio un incremento en el número de casos por COVID-19 que llevó a la saturación de la ocupación de camas de algunos hospitales nacionales y privados.

Respecto al cierre de fronteras internacionales, la medida continuó con modificaciones menores hasta el 18 de septiembre del 2020, fecha en la que reactivaron los vuelos comerciales (Instituto guatemalteco de migración, 2020), en un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación, pudo evidenciarse un cambio relevante en las frecuencias de linajes circulantes en el país a partir de la modificación de estas medidas (Solórzano-Ortiz et al., 2020).

Durante el 2021 se implementó un tablero de alertas de COVID, que funciona como un semáforo que asigna en 4 niveles (rojo, naranja, amarillo y verde) a cada uno de los departamentos del país, con base en la incidencia de casos y durante varios meses, a partir de este tablero se fijaban medidas de contención, como aforos, hasta abril 2022 cuando el gobierno anunció la relajación de medidas, excepto el uso de mascarilla que continuó siendo obligatorio hasta el 18 de julio de 2022.

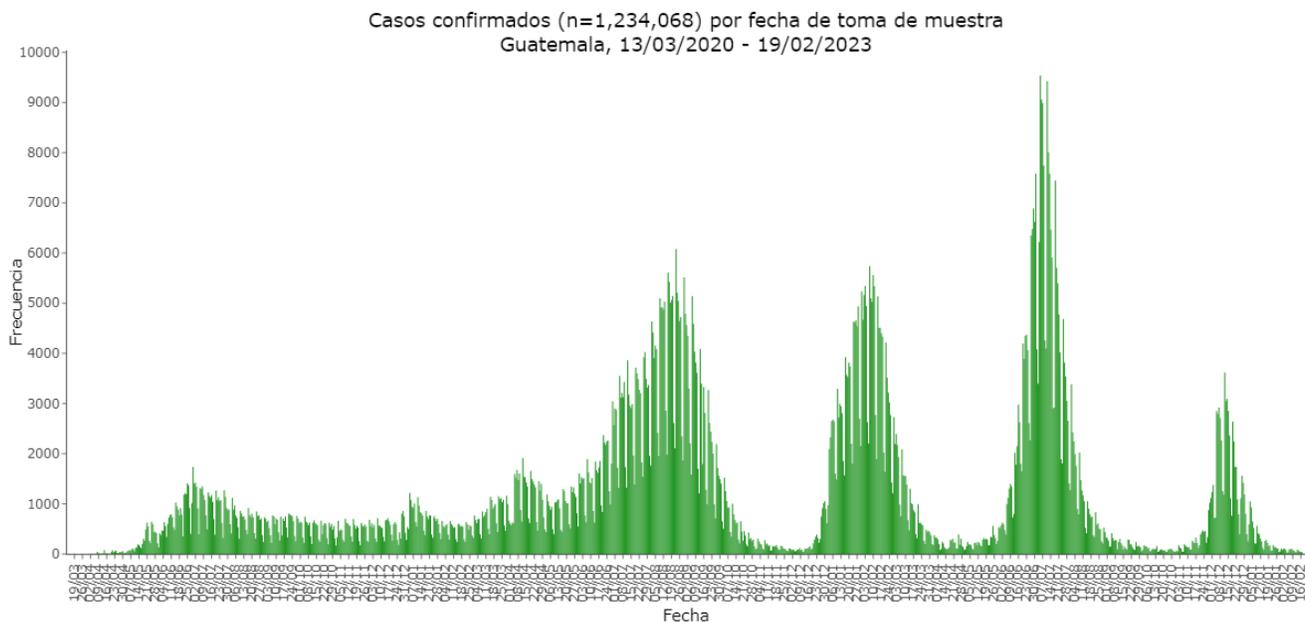
Al igual que en el resto del mundo la incidencia de casos por Covid-19 en Guatemala se ha comportado por olas de aumento de casos, en el país se han registrado 5 episodios de aumento de casos importantes (Figura 2), el primero corresponde de junio a julio de 2020, el segundo de junio a septiembre de 2021, el tercero de enero a febrero de 2022, el cuarto y más alto de todos, de junio a julio de 2022 y el último de menor dimensión de noviembre a diciembre de 2022 (Departamento de Epidemiología del MSPAS, 2023).

Para el 17 de febrero del 2023 el MSPAS reporta 1,233,953 casos de Covid acumulados, 20,158 fallecimientos registrados por la enfermedad, una incidencia acumulada de 7,319.5 (casos por 100,000 habitantes), y una letalidad del 1.6% (Departamento de Epidemiología, MSPAS, 2023). La mayor incidencia de casos por departamento, corresponden a los departamentos de Guatemala, Quetzaltenango, Sacatepéquez, El Progreso y Zacapa (Departamento de Epidemiología del MSPAS, 2023).

Además de la crisis de salud, el impacto socioeconómico que la pandemia dejó en el país ha contribuido al incremento de los niveles de pobreza y desigualdad. En un análisis realizado durante

los primeros 100 días de la pandemia generado por la Organización de las Naciones Unidas en Guatemala, se proyectaba una reducción en la recaudación tributaria de un 5.4%, un incremento de 3.4% en el gasto público y un incremento del endeudamiento público del 5% (Naciones Unidas, 2020). Como resultado de la crisis económica impuesta por la pandemia, la seguridad alimentaria del país sufrió un duro golpe, estimándose, para el 2021 que 4 millones de personas se alimentan con una dieta inadecuada y 1.3 millones sufrieron inseguridad alimentaria severa durante el 2020, esto duplicó las cifras registradas para el 2019 (Naciones Unidas, 2021).

Figura 2
Casos confirmados de COVID-19 en Guatemala por fecha de toma de Muestra, de marzo 2020 a Febrero 2023



Nota. Fuente: Departamento de Epidemiología, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala, 2023.

Vigilancia Genómica de SARS-CoV-2 en Guatemala

El 5 de agosto de 2020 el CDC registró en las bases de datos de acceso libre de GISAID y NCBI, 10 secuencias genómicas correspondientes a los primeros registros de SARS-CoV-2 en Guatemala, casos registrados del 13 al 21 de marzo, dichas muestras pertenecían a pacientes

diagnosticados por el Laboratorio Nacional de Salud y que fueron referidas al CDC y secuenciadas en los Estados Unidos. Las 10 secuencias registradas durante los primeros 8 días de pandemia en el país presentaban una alta diversidad, 4 linajes distintos de acuerdo con el sistema de la clasificación de Pango (Rambaut et al., 2020; Solórzano-Ortiz et al., 2020)

Posteriormente, 89 secuencias más fueron generadas por nosotros en un estudio previo, que contó con muestras de junio a noviembre del 2020 (Solórzano-Ortiz et al., 2020), siendo esta, la primera vez que se secuenció el genoma de SARS-CoV-2 en Guatemala. Además 30 secuencias más se encuentran depositadas en la base de datos de GISAID, de estas 28 fueron secuenciadas por el Laboratorio de Virus Respiratorios y Sarampión, del Instituto Oswaldo Cruz -FIOCRUZ-, proporcionadas por el Laboratorio Nacional de Salud y 2 muestras secuenciadas por Centogene una compañía alemana, sin embargo, dichas muestras no cuentan con la información del laboratorio de origen, hasta ese momento no se detectaban variantes de preocupación circulando en el país (GISAID, 2021).

El 8 de abril el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala, emitió una alerta epidemiológica por la detección de 5 muestras de pacientes con las variantes B.1.429 y dos muestras correspondientes al linaje B.1.427, sin embargo, el reporte correspondía a muestras de pacientes tomadas desde enero 2021 (MSPAS, 2021), lo que pone en evidencia la importancia de la implementación de la vigilancia genómica activa, puesto que estas variantes fueron detectadas 4 meses después de su introducción, momento para el cual, cualquier medida tomada sería insuficiente.

Más tarde, la ONG, Asociación de Salud Integral -ASI- a través de un comunicado en redes sociales, informó el 12 de mayo de 2021 que se encuentran desarrollando la secuenciación genómica de muestras de SARS-CoV-2 de pacientes guatemaltecos y que durante dicho análisis detectaron la variante de preocupación B.1.1.7 conocida como cepa británica, en una muestra colectada del 4 de abril de 2021, de acuerdo con el CDC esta variante ha sido clasificada como variante de preocupación debido a un aumento de aproximadamente el 50% de la transmisibilidad de la enfermedad, posible aumento de la severidad con base en información de la hospitalización y tasa de casos fatales y un impacto mínimo en la neutralización por sueros de convalecientes y post-vacunación (ASI, 2020; CDC 2020). Actualmente el Laboratorio Nacional de Salud ha incrementado la vigilancia genómica a través de reportes periódicos, y la base de datos de GISAID registra la secuencia de 4,359 genomas de virus de pacientes guatemaltecos. Los últimos reportes

de noviembre a febrero de 2022 indican que la cepa circulante predominante es la variante recombinante XBB.1, superando el 80% de los reportes de enero y febrero (Informes de Secuenciación 32 – 36 Laboratorio Nacional de Salud, 2022 - 2023).

7 Objetivos

Objetivo general

Contribuir a la vigilancia genómica activa de SARS-CoV-2 en Guatemala, a través de la investigación y el metaanálisis de la evolución genómica, la diversidad de linajes y patrones de diversidad nucleotídica, para el establecimiento de hipótesis de riesgo epidemiológico.

Objetivos específicos

- Generar análisis bioinformáticos primarios para el ensamblaje y clasificación de los linajes y clados correspondientes a los 30 genomas generados en este estudio.
- Desarrollar análisis filogenéticos, de diversidad nucleotídica, filodinámica y análisis espaciales a partir del metaanálisis de las secuencias genómicas de pacientes guatemaltecos, depositados en los repositorios de acceso libre y las secuencias generadas en este estudio.
- Contribuir con la vigilancia genómica de SARS-CoV-2 a través de la secuenciación de 30 genomas virales provenientes de pacientes guatemaltecos que acudieron al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social de enero a agosto del año 2022.
- Evaluar efectos potenciales de la evolución viral en el país en la efectividad de vacunas, métodos diagnósticos, especificidad de unión a receptores y severidad de la enfermedad, a partir de los patrones de diversidad nucleotídica encontrada en regiones genómicas de interés, la clasificación de linajes y variantes de todas las secuencias genómicas de SARS-CoV-2 disponibles para Guatemala desde marzo de 2020 hasta junio de 2022.

8 Hipótesis de investigación

El metaanálisis de los patrones de evolución genómica y de diversidad nucleotídica, encontrados en los genomas de SARS-CoV-2, secuenciados de pacientes guatemaltecos desde marzo del 2020 a julio 2022, presentan información de relevancia que debe ser considerada en la evaluación de la

efectividad de medidas de contención aplicadas en el país, efectividad de vacunas, métodos diagnósticos, especificidad de unión a receptores y severidad de la enfermedad.

9 Materiales y métodos

Enfoque de la investigación

Es un estudio observacional, descriptivo, analítico con enfoque mixto. Se analizaron datos cuantitativos (diversidad nucleotídica, frecuencia de variantes, frecuencia de mutaciones de importancia, número y posición de cambios mutacionales) y cualitativos (análisis de linajes) de las secuencias de SARS-CoV-2 directamente (todas las analizadas). Además, se analizaron datos cualitativos contenidos en las fichas epidemiológicas correspondientes a cada uno de los pacientes (únicamente de los pacientes del Seguro Social), como fecha de toma de muestra, localidad de origen y estado de la enfermedad. Los datos de secuencias y pacientes se analizaron en conjunto únicamente para los pacientes del Seguro Social que corresponden con las 73 secuencias generadas en este estudio.

Método

Consideraciones éticas:

El proyecto fue sometido a evaluación por el Comité de ética del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, y por el Comité de Bioética en Investigación en Salud, COBIINSA USAC de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Las muestras provenientes del seguro social fueron desvinculadas de datos sensibles de los pacientes. Se cumplió con todos los requerimientos establecidos por ambos comités para la obtención del aval, previo al inicio de la investigación, y se obtuvo el aval bioético de ambas instituciones. (ver anexo 1 y 2).

Población: La población está constituida por genomas virales secuenciados de pacientes guatemaltecos de marzo 2020 a febrero 2023, y se compuso por dos tipos de secuencias:

a) Secuencias de genomas virales de SARS-CoV-2 de pacientes guatemaltecos depositados en los repositorios de acceso público de marzo 2020 a febrero 2023 (en adelante secuencias de bases de datos).

b) Secuencias provenientes de muestras de ARN viral de SARS-CoV-2 de pacientes que accedieron de manera directa, o cuyas muestras fueron referidas al laboratorio de diagnóstico molecular del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, para el diagnóstico de COVID-19, entre febrero y noviembre de 2022.

Muestra:

Muestra bases de datos: Secuencias obtenidas de los repositorios de GISAID y NCBI que cumplieron con los siguientes criterios: Secuencias completas, con alta cobertura, con datos completos de toma de muestra (fecha y localidad), en total 1040 secuencias.

Muestra biológica para Secuenciación: El Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- proporcionó 144 productos de la extracción de ARN viral, de muestras de hisopado nasal positivas para SARS-CoV-2, de pacientes que visitaron el Instituto entre febrero y noviembre de 2022. Las muestras fueron seleccionadas por conveniencia, con una distribución equitativa en la escala temporal y espacial del país, de acuerdo con el registro de casos por región, y fueron entregadas en dos grupos por el personal del IGSS, el número planteado inicialmente correspondía con 100 muestras, esto debido a que durante el proceso de secuenciación, se van descartando las que no cumplen con los criterios de calidad para ser secuenciadas, sin embargo, durante la primera entrega desarrollada por el IGSS, no se desarrolló el traslado en el tiempo y condiciones acordadas, por esta razón, fue necesario someter a una serie de pruebas de calidad del ARN, a las muestras de la primera entrega, y debido a que tan solo 38 muestras cumplían con los criterios, el IGSS desarrollo una segunda entrega de 44 muestras, las cuales fueron trasladadas en el vehículo para transporte de muestras del I2QB3 por los investigadores Elizabeth Solórzano Ortiz y Fredy Pereira, cumpliendo con todas las normas de embalaje para garantizar el buen estado de las muestras..

Criterios de Inclusión: Muestra Biológica para Secuenciación: Gracias al aporte de la contrapartida, el I2QB3, fue posible incluir dentro del estudio, más de las 30 muestras que se plantearon inicialmente, 73 muestras de ARN viral de pacientes guatemaltecos, cuyos valores de carga viral, medidos con la aproximación de los valores de CT de la RT-PCR, fueron iguales o menores a 30. Los valores de CT fueron obtenidos durante el proceso de diagnóstico por el IGSS. El valor umbral de CT para la inclusión de muestras fue establecido con base en la carga viral

necesaria para obtener suficientes lecturas durante el proceso de secuenciación, lo cual garantiza valores adecuados de profundidad y cobertura de los genomas. *Muestra de bases de datos:* Secuencias que sobrepasaron los siguientes criterios: Secuencias completas, con alta cobertura, con datos completos de toma de muestra (fecha y localidad)).

Recolección de información

Transporte de Muestras biológicas: Recepción, Transporte, Manipulación y Almacenaje del ARN viral: Aunque fue convenido que sería el personal del IGSS quien desarrollaría el traslado de muestras del IGSS al I2QB3 y las condiciones que debían cumplir del traslado, como las normas de protección personal, de bioseguridad, y se debía tener cuidado especial en mantener la cadena de frío, el personal del IGSS responsable del traslado de las muestras no cumplió con mantener la cadena de frío y las muestras llegaron descongeladas al I2QB3. Debido a esto y a que no se tenía certeza de que las muestras fueron mantenidas a -70°C previo a ser transportadas, el personal del I2QB3 debió realizar procesos para verificar la integridad de las muestras, lo cual no estaba contemplado y se incurrió en gastos de reactivos no previstas, que fueron solventadas en parte con los reactivos adquiridos en el proyecto y otros brindados por la contrapartida el I2QB3, esto también generó un procesamiento en laboratorio que incremento el tiempo de análisis a un 200%. Para solventar la baja cantidad de muestras que cumplieron con los criterios de calidad del primer envío, las colaboradoras de IGSS proporcionaron una segunda entrega de 44 muestras más, este traslado fue desarrollado por los investigadores Elizabeth Solórzano Ortiz y Fredy Pereira, en el vehículo de transporte del I2QB3, para garantizar el adecuado transporte.

Técnicas e instrumentos

Datos Epidemiológicos:

Los datos epidemiológicos para las 73 secuencias que se generaron en este estudio, fueron recopilados por el personal del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Para cada secuencia se generó una codificación desvinculada de identificadores personales de los pacientes para trasladar la información a los investigadores.

Secuencias de bases de datos (Metaanálisis genético y evolutivo):

Los estudios comparativos de conjuntos de datos genómicos traen consigo la necesidad de enfoques bioinformáticos para su análisis. Así mismo, cada vez se requiere más tener la capacidad de respaldar almacenes más ricos de datos asociados contextualmente (metadatos), para mejorar la capacidad de interpretar y comparar hallazgos en colecciones de estudios independientes o relacionadas en un área geográfica de importancia epidemiológica a través de su metaanálisis. El metaanálisis o síntesis de información de estudios independientes, aumenta el poder de los análisis genéticos y reduce los hallazgos de falsos positivos (Evangelou & Ioannidis, 2013). Sin embargo, los metaanálisis de secuencias genéticas distan de la estructura del metaanálisis tradicional de estudios clínicos, y no debe ser confundido con éste, puesto que el término hace alusión a los análisis de diversidad genética y análisis evolutivos del conjunto de secuencias genómicas generadas por diferentes centros de genómica. Por ello, el metaanálisis de este estudio consistió en la recopilación de metadatos y secuencias completas de genomas de los aislamientos de SARS-CoV-2 en pacientes guatemaltecos desde marzo de 2020 (primeros casos reportados en el país) a febrero de 2023, depositadas en las bases de datos de GISAID en formato FASTA.

Secuenciación Genómica

Las muestras descritas previamente fueron secuenciadas por el método de amplicones con el panel de ARTIC versión 4.1, siguiendo las especificaciones del fabricante, a través de un método de secuenciación de tipo Illumina pareada (paired end), en un secuenciador de tipo MiSeq. El proceso fue desarrollado por el equipo investigadoras asociadas del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biofísicas y Biomédicas I2QB3, de la Universidad Mariano Gálvez, expertas en secuenciación genómica y la Coordinadora del proyecto Elizabeth Solórzano.

Análisis Bioinformáticos Primarios para Secuencias generadas en el Estudio

Para las muestras secuenciadas en este estudio se utilizaron métodos bioinformáticos de las rutas establecidas como las mejores prácticas de análisis para secuencias de SARS-CoV-2.

Análisis de Calidad de Secuencias, Filtrado

Los archivos obtenidos de la secuenciación en formato FASTQ se analizaron por calidad utilizando el software FASTQC, a partir de los valores obtenidos de Q para cada una de las

lecturas, utilizando el paquete BBduk del software BMap se descartaron las lecturas con valores de Q menores a 25 y longitud menor a 100 pares de bases, y se eliminaron los adaptadores, posteriormente se eliminaron las lecturas que correspondían al huésped humano utilizando un pipeline bioinformático en Galaxy Workflow manager.

Ensamblaje Genómico, llamado de Variantes y Generación de Secuencias Consenso

Utilizando la secuencia del genoma de referencia NC_045512.2, la cual es recomendada por la comunidad científica (descargada del GenBank), se realizó el ensamblaje de los genomas en los softwares BWA en la opción BWAmem, posteriormente se realizó un llamado de variantes utilizando lofreq y por último se generaron las secuencias consenso en formato FASTA, utilizando bcftools.

Descarga de Secuencias de Bases de Datos

Se desarrolló una búsqueda de los archivos de secuencias de pacientes guatemaltecos en la base de datos de GISAID, se utilizaron los filtros predeterminados en la base de datos de: Secuencias Completas, Secuencias con alta cobertura, Secuencias con datos de colecta completos (fecha de toma de muestra y localidad), se encontraron 1040 secuencias que cumplieron con estas características, estas se descargó una muestra aleatoria estratificada por fecha, de 239 secuencias distribuidas de marzo 2020 a febrero 2023, con estas secuencias se generó un archivo multifasta, directamente de la base de datos de GISAID, esta muestra fue utilizada para los análisis filogenéticos. Los análisis de diversidad y frecuencia de variantes generados en nextstrain se desarrollaron con las 4359 depositadas en la base de datos de GISAID, sin la aplicación de ningún filtro.

Análisis secundarios

Alineamiento múltiple de Secuencias.

Todas las secuencias descargadas y generadas en este estudio fueron concatenadas en Linux, utilizando una línea de comandos, para generar un solo archivo multifasta. Se concatenaron en dos grupos principales, uno con las secuencias descargadas de GISAID y las muestras generadas en el estudio y otro únicamente con las secuencias generadas en este estudio. Ambos archivos

multifasta fueron alineado junto con el genoma de referencia, en la versión en línea del paquete MAFFT, que utiliza un método de alineamiento múltiple progresivo. El alineamiento fue revisado manualmente utilizando el software Aliview.

Asignación de Linajes y Clados

Utilizando la plataforma utilizando la herramienta Pangolin linaje assignment y la plataforma BaseSpace de Illumina, se clasificaron cada una de las secuencias analizadas por linaje de acuerdo con el método Pango (Rambaut et al., 2020) y en los clados de Nexstrain.

Construcción de filogenias

A partir de los alineamientos múltiples generados en MAFFT, con el software IqTree en su versión en línea, inicialmente se evaluaron los modelos de evolución molecular que mejor se ajustaban a los datos y con base en estos se construyeron filogenias de Máxima verosimilitud, con 10,000 permutaciones de Bootstrap, para acceder al soporte de las ramas. Más tarde se generaron visualizaciones de las filogenias, con árboles enraizados, ignorando la longitud de rama, utilizando el software ITool.

Enfoque Filodinámico

Para la filogenia de las 73 muestras generadas en este estudio, se generó un árbol filodinámico que asocia cada muestra a la información de linaje de Pango y el estado del paciente.

Análisis Espaciales y Temporales

Utilizando la filogenia generada de las 73 muestras secuenciadas en este estudio y los datos de procedencia geográfica, y fecha de toma de muestra se construyó un mapa de distribución de las variables asociado a la filogenia conservando el tamaño de rama y una línea de tiempo de los linajes en el software Microrreact.

Análisis de Diversidad

Utilizando la herramienta Nextrain, se generó un análisis de diversidad de los genomas secuenciados en este estudio, se clasificaron las muestras en los sistemas de Nextclade, Pango y de la WHO, se analizó además: a) Número de Substituciones Totales, b) Número de

Deleciones c) Número de Inserciones d) Cambios de Marcos de Lectura e) Número de Substituciones de Aminoácidos f) Número de Deleciones de Aminoácidos g) Número de Inserciones de Aminoácidos, h) Número total de Cambios en regiones de Cebadores de la PCR y los i) Los sitios y cambios en regiones de Cebadores de la PCR.

Además, en el sitio de GISAID se realizó un análisis de frecuencia de linajes (Lineage Frequency) en el paquete desarrollado por Yani Xu, bajo la supervisión de Raphael TC Lee y Sebastian Maurer-Stroh del Instituto de Bioinformática (BII) de la Agencia de Ciencia, Tecnología e Investigación de Singapur (A*STAR). Este análisis se desarrolló con las secuencias circulantes de febrero 2022 a febrero 2023, a nivel mundial, en Estados Unidos, en México y Guatemala.

10 Resultados y discusión

10.1 Resultados

Secuenciación Genómica y Análisis Primarios

De las 144 muestras proporcionadas por el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, distribuidas de febrero a noviembre de 2023, 73 cumplieron con todos los criterios de calidad necesarios para ser secuenciadas. Se generaron las lecturas de 73 genomas completos el 2 de diciembre en la plataforma de secuenciación Illumina MiSeq del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas. El 92.81% de las lecturas generadas en la secuenciación, presentaron valores de calidad superior al Q30, con un promedio de cobertura del 99.2%.

Análisis Secundarios:

Análisis Filodinámico

Las 73 muestras generadas en este estudio fueron clasificadas en 24 linajes de acuerdo con el sistema Pango, y el desarrollo de la enfermedad fue clasificado en cuatro estados definidos por el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social como: Fallecido, leve, moderado y severo. Con base en esta información se construyó un árbol filodinámico que asocia la relación filogenética entre muestras, el linaje de cada muestra y el estado del paciente de acuerdo con un código de coloración (Figura 3). De las 73 muestras 7, equivalente al 7.3 de los pacientes fallecieron, de ellos 6 presentaron los linajes y

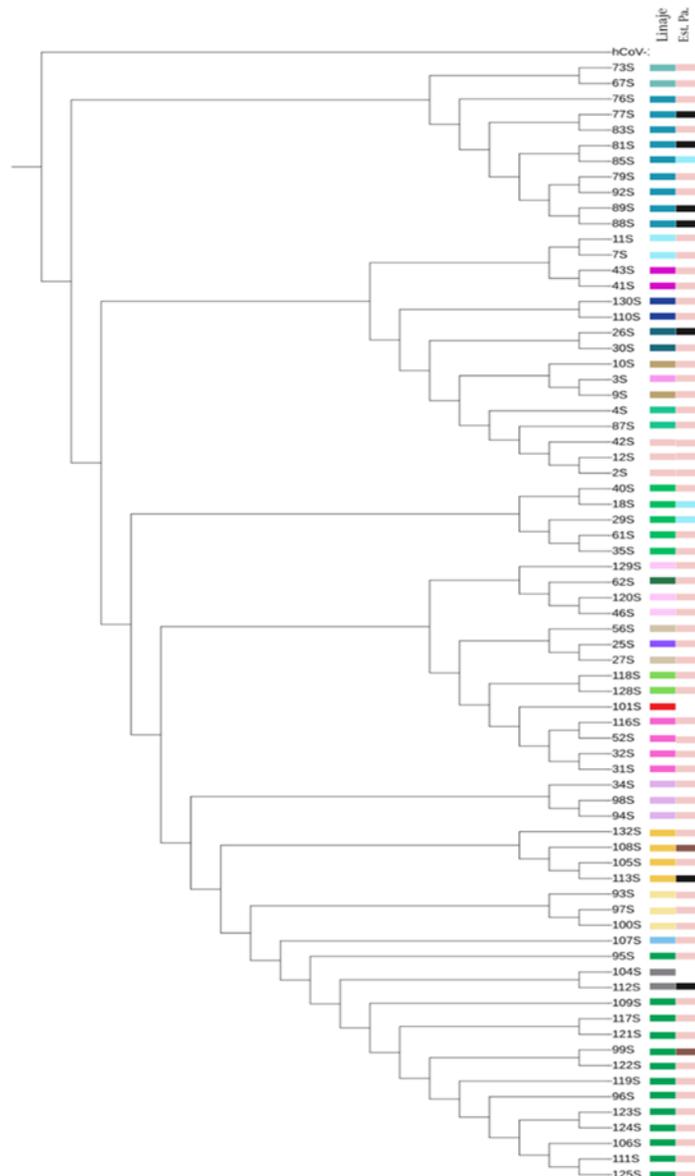
sublinajes BA.1.1, uno el BA.2.12.1, uno el BQ.1.1.4, y uno el BQ.1.13, el estado leve se presentó en una gran diversidad de linajes y sublinajes (23), el estado severo se encontró en dos muestras del linaje BQ.1 y el estado moderado en dos muestras del linaje BA.5.5 y una BA.1.1. Dos de las muestras no presentaron información del estado del paciente.

Análisis Filogenético

El análisis filogenético desarrollado en conjunto de la muestra de 238 muestras de bases de datos de marzo 2020 a febrero con las 73 secuencias generadas en este estudio (Figura 4), mostró que al inicio de la pandemia y durante todo el año 2020, la distribución temporal de las muestras y su relación filogenética no muestran un patrón claro de agrupamiento, probablemente como resultado del escaso esfuerzo de muestreo y la distribución temporal espaciada, mientras que para las muestras de finales de 2021 hasta febrero de 2023 los agrupamientos tienen un patrón de distribución temporal.

Figura 3

Árbol filodinámico construido en IQTREE y visualizado en ITOL, de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022

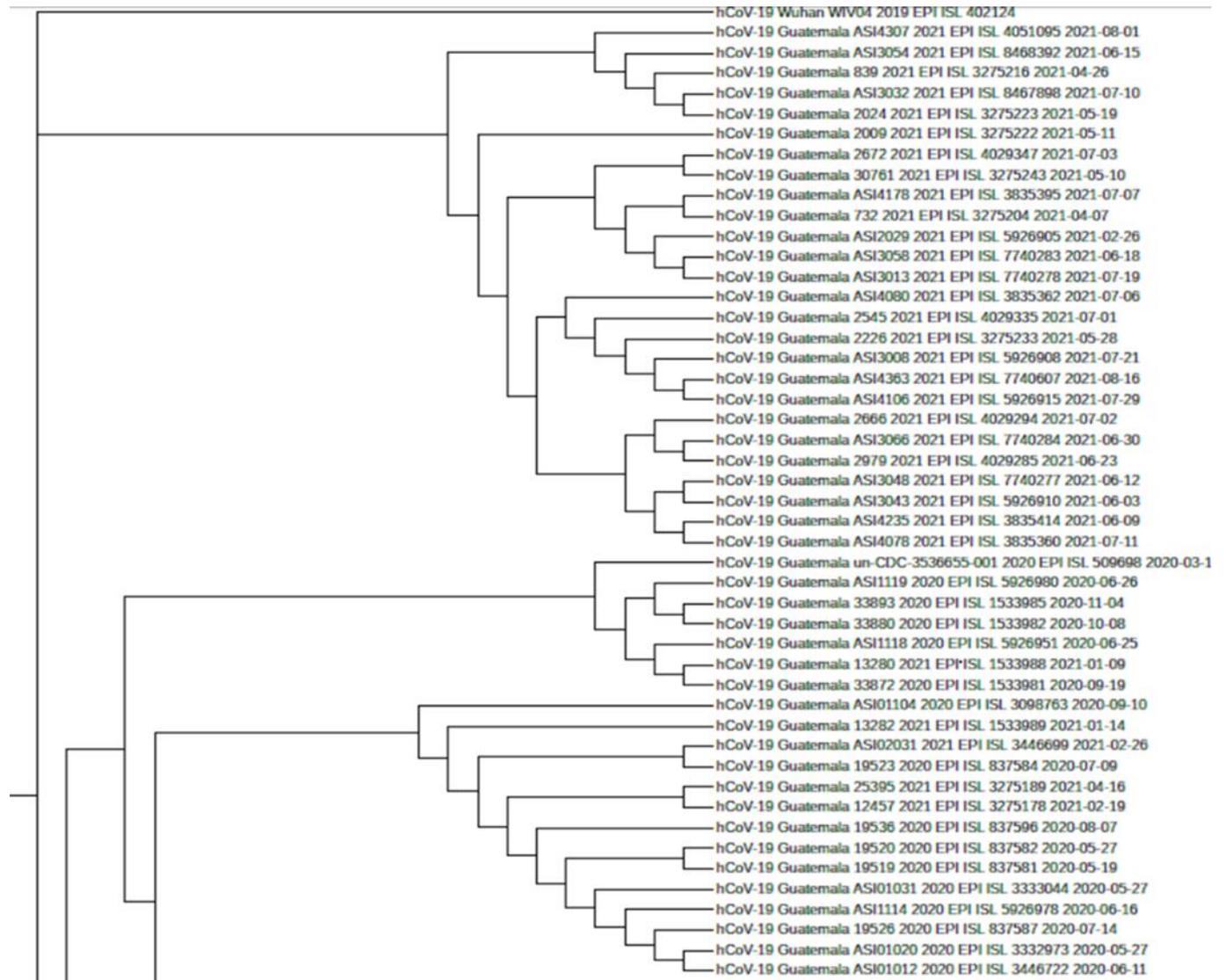


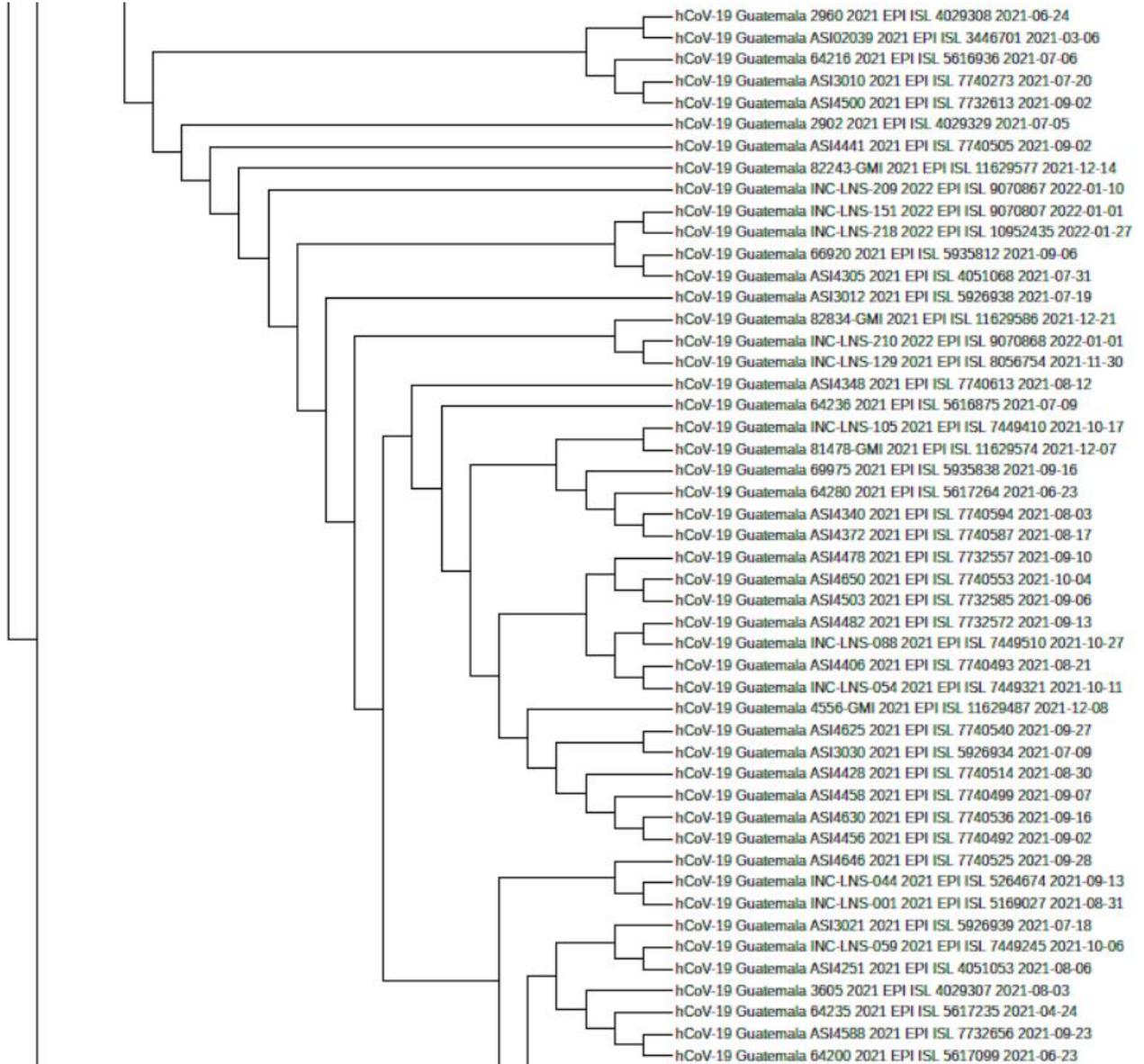
Linajes			Estado del Paciente.				
BA.1.1		BA.4.4		BF.27		FALLECIDO	
BA.1.15		BA.5.1		BQ.1.1		LEVE	
BA.2		BA.5.1.25		BQ.1.1.4		MODERADO	
BA.2.12.1		BA.5.2		BQ.1.13		SEVERO	
BA.2.3		BA.5.2.1		BQ.1.23			
BA.2.3.5		BA.5.2.23		BQ.1.3			
BA.2.9.7		BA.5.5		CK.1			
BA.4		BE.1		XBB.1			

Nota. En esta figura se muestra el árbol de máxima verosimilitud de los linajes asignados de acuerdo con el método de clasificación de Pango y el estado del paciente. En la visualización se ignoró la longitud de las ramas.

Figura 4

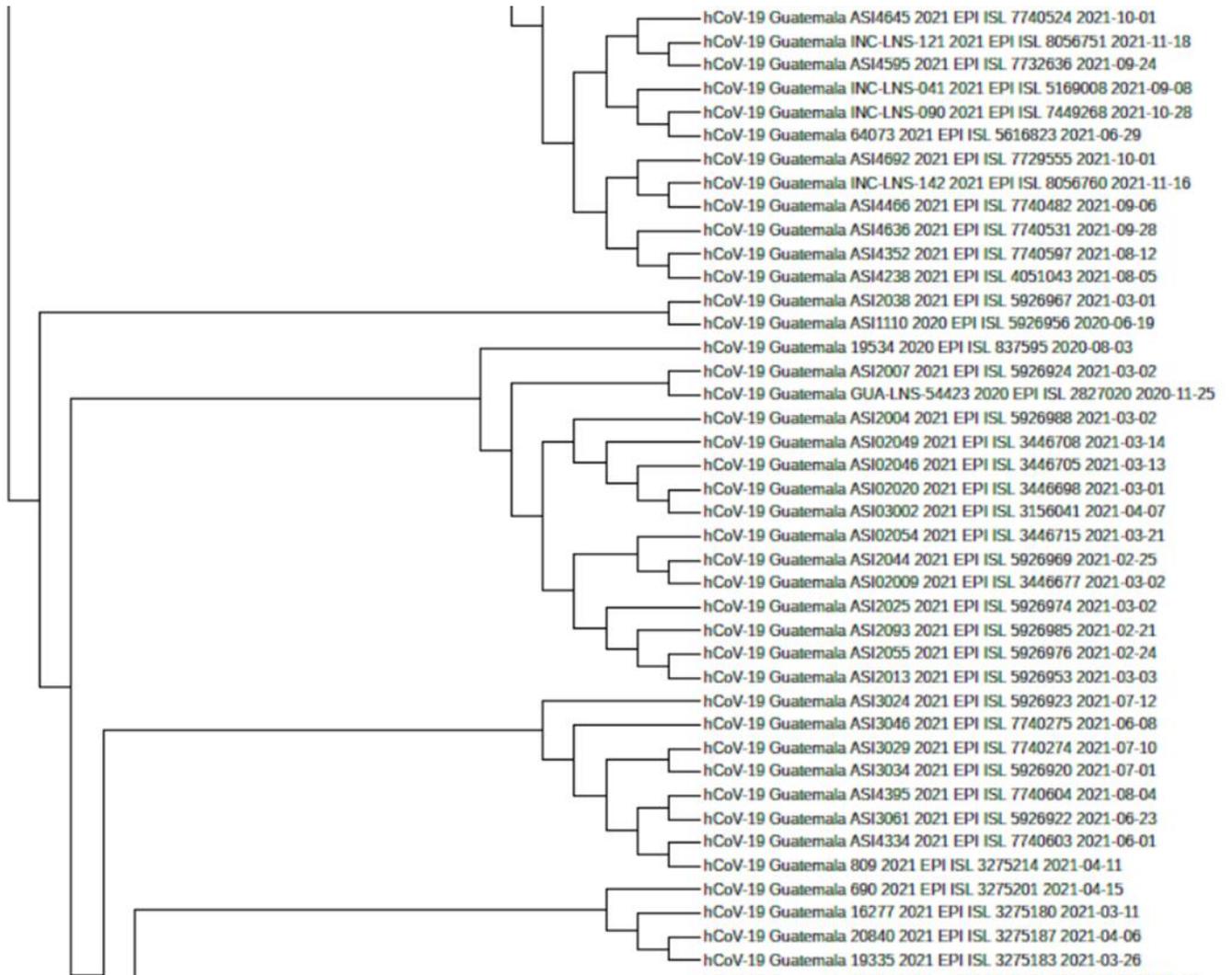
Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud de las muestras de base de datos de GISAID y las muestras secuenciadas en este estudio

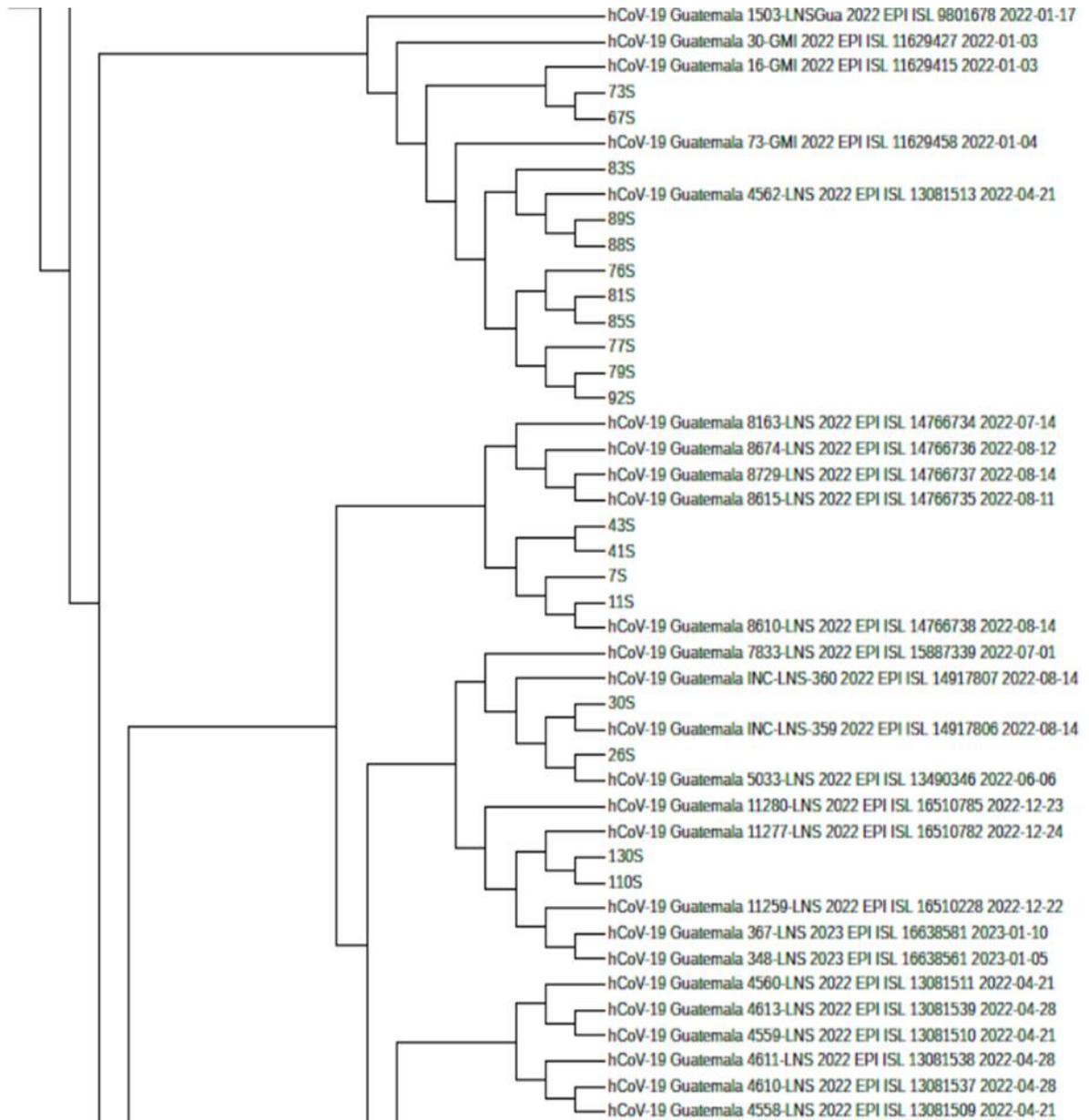


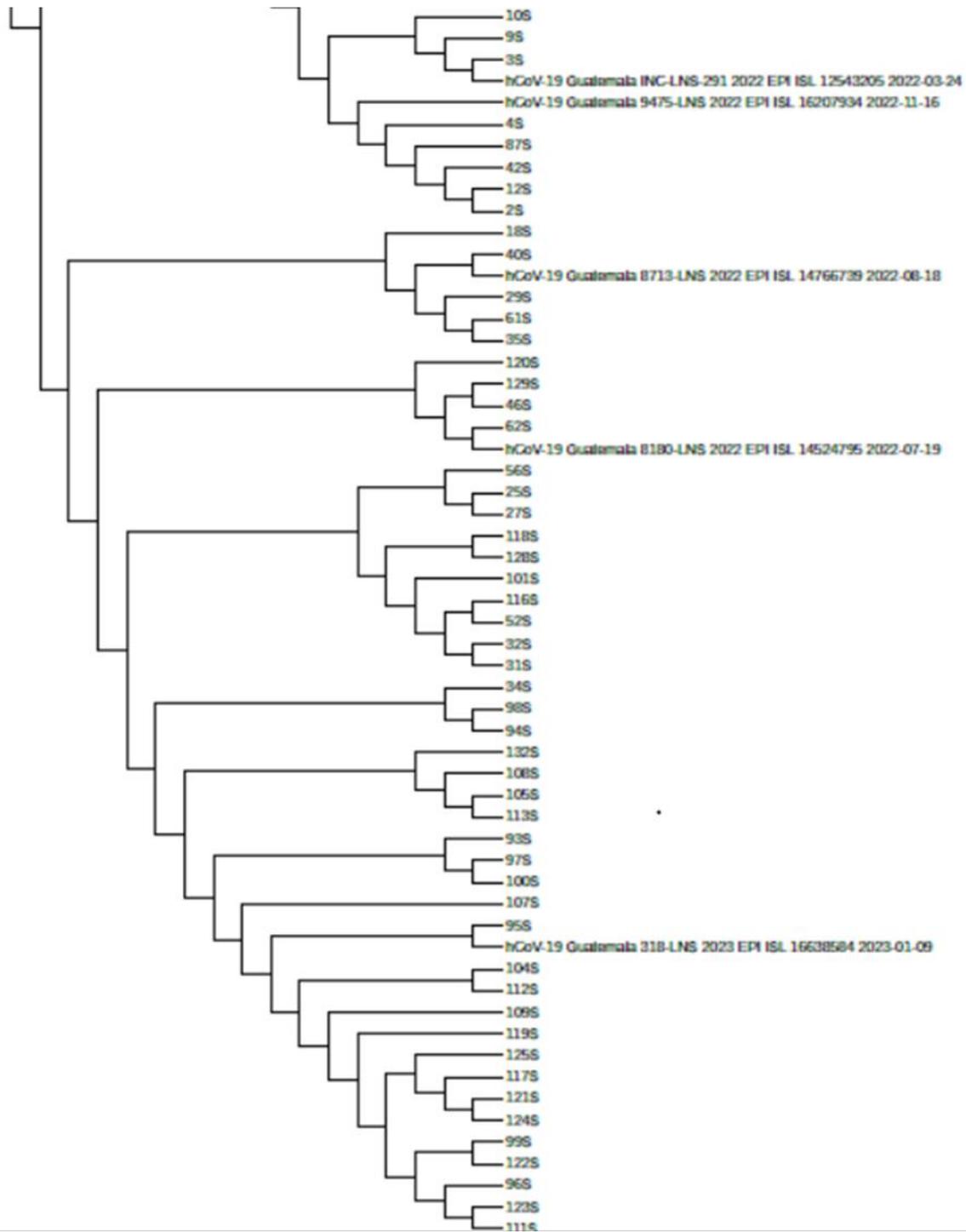


Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-







Nota. La filogenia se construyó en IQTREE y fue visualizado en ITOL. En la visualización se ignoró la longitud de las ramas.

Análisis de Diversidad Nucleotídica

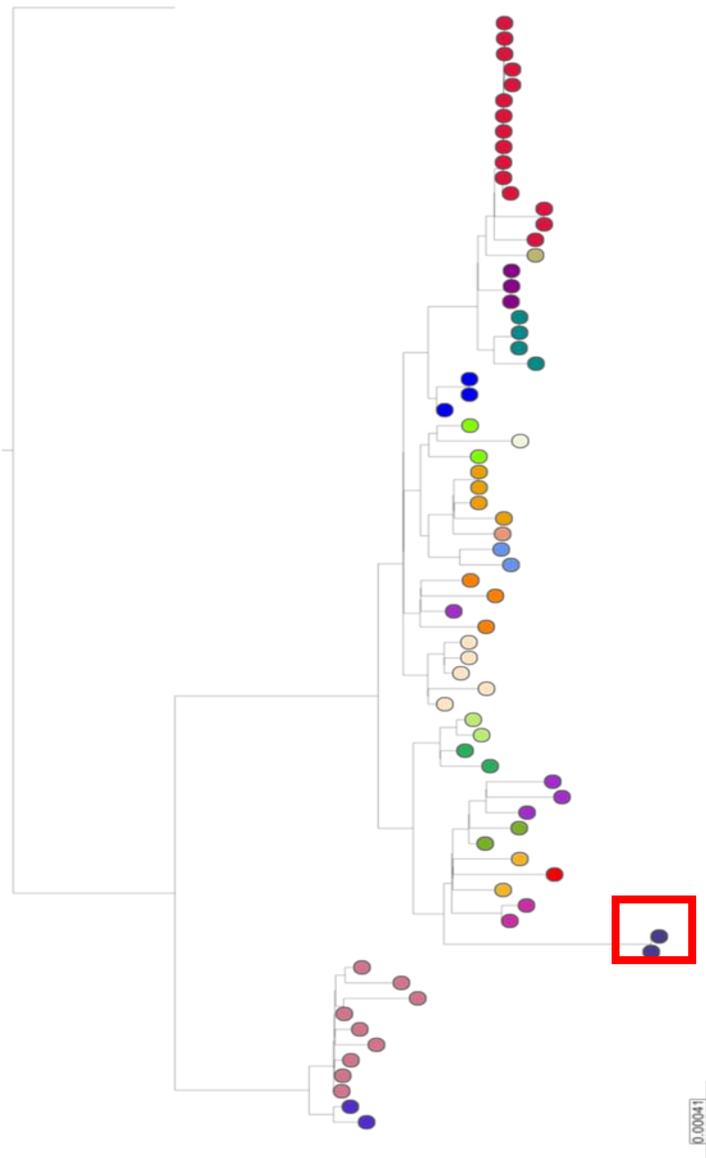
El análisis de diversidad nucleotídica de las 73 secuencias generadas en este estudio (Tabla 3) mostró un promedio de 72.68 sustituciones nucleotídicas por secuencia, 56.65 deleciones, y la mayoría de las muestras no presentó inserciones nucleotídicas, solamente una muestra presentó 6 inserciones y 11 muestras presentaron una inserción de 9 nucleótidos, todas pertenecientes a linajes o sublinajes de BA.1. Respecto a la diversidad de la secuencia de aminoácidos se encontró un promedio de 55.25 sustituciones en posiciones de aminoácidos y 14.53 deleciones. Respecto al análisis de diversidad de los sitios objetivo de los cebadores que se utilizan en los protocolos de diagnóstico por PCR se encontraron de 5 a 8 sustituciones por secuencia, en promedio 6.1. Todas las secuencias presentaron al menos una sustitución para los protocolos de diagnóstico de PCR más utilizados a nivel mundial: Charité, China CDC y US CDC (Tabla 3).

Análisis de Diversidad Espacio-temporal

Para comprender la dinámica espacio temporal de los linajes se construyó un análisis en microreact que consolida la relación evolutiva de los linajes encontrados a través de la visualización de la filogenia considerando el largo de ramas (Figura 5), esto facilita la comprensión de la relación temporal en la que aparecieron ciertos linajes con respecto a otros considerados en el mismo análisis, posteriormente el análisis temporal permite evaluar el tiempo de aparecimiento y circulación de linajes sin considerar su relación evolutiva (Figura 6). Aunque los datos son escasos la línea de tiempo desarrollada (Figura 6), muestra algunas tendencias importantes respecto al aumento de la diversidad y el recambio de variantes dominantes, observamos la mayor diversidad en lo que pudimos capturar de dos olas de contagio, la mayor registrada en el país, en julio de 2022 (Figura 2) y el inicio de una ola de contagios a finales del año, pero de mucho menor importancia epidemiológica. El análisis de distribución espacial posee un alcance menor para el desarrollo de conclusiones temporales a nivel departamental o regional, dado que la mayoría de las secuencias se concentraron en la Ciudad de Guatemala (Figura 7), aunque fue allí donde se encontró mayor diversidad, las muestras de otros departamentos son escasas.

Figura 5.

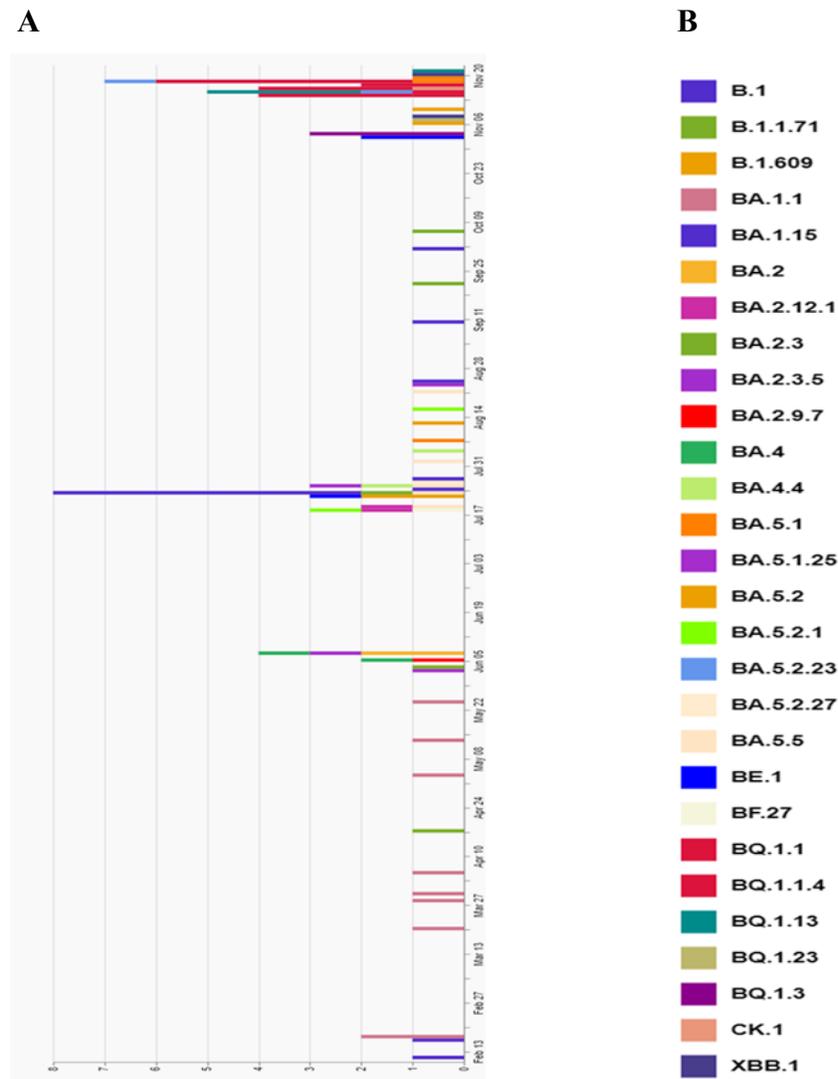
Filogenia de linajes de Máxima verosimilitud, construida en IQTREE y visualizada en microreact de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022



Nota. Se muestra los linajes asignados de acuerdo con el método de clasificación de Pango y el estado del paciente conservando la longitud de las ramas. El código de coloración corresponde con los análisis espaciales y temporales para una mejor visualización de la distribución espacio-temporal, y se encuentra en la Figura 4. En recuadro rojo se remarcan las dos secuencias del sublinaje recombinante XBB,1

Figura 6

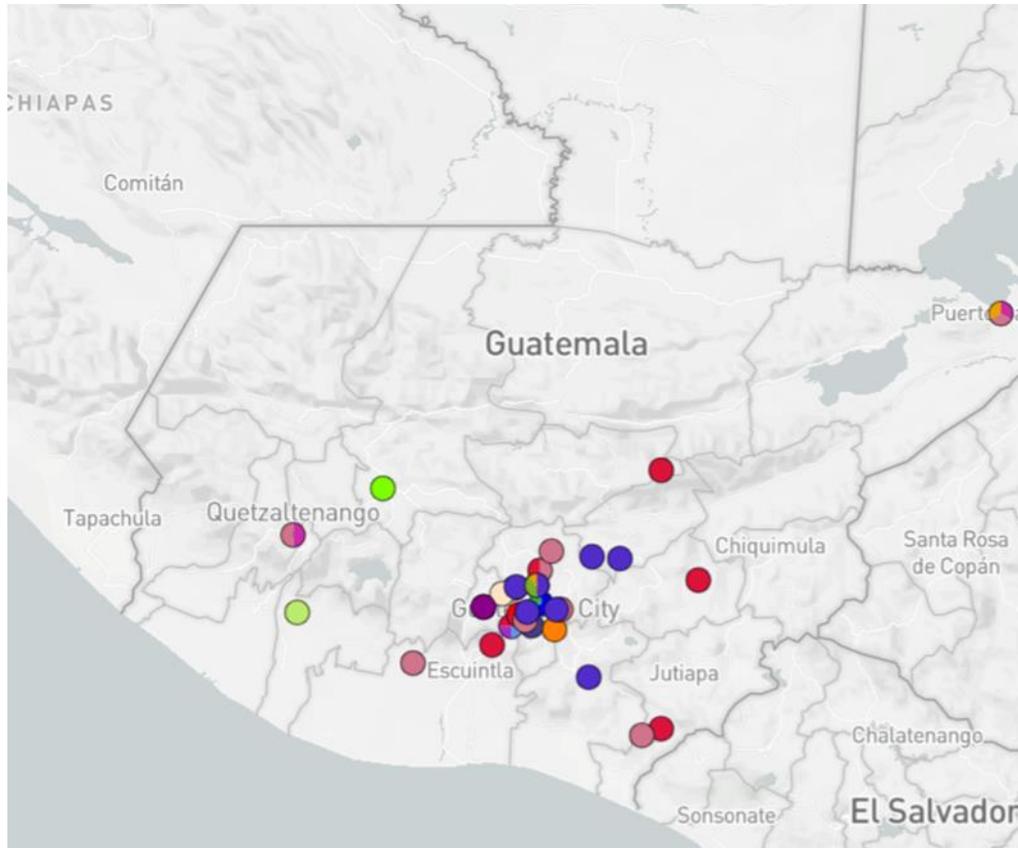
Analisis de la Distribución Temporal de linajes de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022



Nota. A) Análisis de Distribución Temporal desarrollado en el software Microreact de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022 muestra los linajes asignados de acuerdo con el método de clasificación de Pango. En el eje X se encuentran las fechas de toma de muestra y en el eje Y el número de secuencias B) Código de coloración por linaje.

Figura 7

Análisis de Distribución Espacial de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022, y sus coordenadas geográficas



Nota. Análisis de Distribución Espacial desarrollado en el software Microreact de las 73 muestras secuenciadas del IGSS de febrero a noviembre 2022, y sus coordenadas geográficas, el código de coloración por linaje corresponde con la Figura 4.

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Tabla 3

Análisis de Diversidad

Muestra	Clado Nextclade_pango	Clado Nextstrain	Clado Who	Substituciones Totales	Delecciones Totales	Inserciones Totales	Cambios de Marcos de Lectura Totales	Substituciones de Aminoácidos Totales	Delecciones de Aminoácidos Totales	Inserciones de Aminoácidos Totales	Cobertura	Número total de Cambios en regiones de Cebadores de PCR	Sitios y Cambios en regiones de Cebadores de PCR
106S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9967227	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
29S	BA.5.5	22B	Omicron	72	59	0	0	55	14	0	0.9967896	5	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
100S	BQ.1.3	22E	Omicron	77	59	0	0	60	14	0	0.9970906	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
124S	BQ.1.1	22E	Omicron	77	62	0	0	59	15	0	0.9967896	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
41S	BA.4.4	22A	Omicron	74	68	6	0	56	17	1	0.997124	7	CharitA@_E_F:C26270T,CharitA@_N_F:C28724T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_P:C28724T
27S	BA.5.2.1	22B	Omicron	72	59	0	0	53	14	0	0.9966559	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
2S	BA.2.3.5	21L	Omicron	78	53	0	0	58	12	0	0.9889643	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,ChinaCDC_N_R:A28973T,USCDC_N1_P:C28311T
110S	XBB.1	22F	Omicron	90	56	0	0	66	13	0	0.9968899	7	CharitA@_RdRp_F:G15451A,CharitA@_E_F:C26270T;A26275G,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
119S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9971575	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
30S	BA.2.12.1	22C	Omicron	75	53	0	0	53	12	0	0.9881952	5	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
88S	BA.1.1	21K	Omicron	60	36	9	0	46	15	1	0.9629803	5	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
46S	BA.5.1	22B	Omicron	72	59	0	0	52	14	0	0.9970906	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,Pasteur_IP4_R:C14178T
94S	BE.1	22B	Omicron	72	59	0	0	56	14	0	0.9966559	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_F:G28681T
89S	BA.1.1	21K	Omicron	65	39	9	0	49	16	1	0.9963549	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,Pasteur_IP2_R:C12784T
96S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9968899	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
56S	BA.5.2.1	22B	Omicron	74	74	0	0	56	19	0	0.9967896	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
31S	BA.5.2	22B	Omicron	68	59	0	0	48	14	0	0.9720764	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
32S	BA.5.2	22B	Omicron	73	59	0	0	53	14	0	0.988864	6	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
125S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9966559	7	CharitA@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

43S	BA.4.4	22A	Omicron	75	68	0	0	57	17	0	0.9968565	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,CharitÃ@_N_F:C28724T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_P:C28724T
83S	BA.1.1	21K	Omicron	59	39	9	0	48	16	1	0.9968231	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
129S	BA.5.1	22B	Omicron	73	59	0	0	55	14	0	0.9965221	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
111S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9963549	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
4S	BA.2.3	21L	Omicron	69	53	0	0	53	12	0	0.9943484	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
128S	BA.5.2.23	22B	Omicron	73	59	0	0	56	14	0	0.9878273	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
52S	BA.5.2	22B	Omicron	72	59	0	0	52	14	0	0.9895328	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
9S	BA.2	21L	Omicron	74	59	0	0	53	14	0	0.9856536	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
122S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9969568	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
120S	BA.5.1	22B	Omicron	72	59	0	0	54	14	0	0.9951844	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
113S	BQ.1.13	22E	Omicron	78	59	0	0	59	14	0	0.9969903	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
42S	BA.2.3.5	21L	Omicron	74	53	0	0	56	12	0	0.9924088	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
130S	XBB.1	22F	Omicron	89	56	0	0	66	13	0	0.9966224	7	CharitÃ@_RdRp_F:G15451A,CharitÃ@_E_F:C26270T;A26275G,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
118S	BA.5.2.23	22B	Omicron	77	59	0	0	56	14	0	0.9971575	8	CharitÃ@_E_F:C26270T,CharitÃ@_N_F:C28720T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G,USCDC_N3_P:C28720T
13S	BA.5.2.27	22B	Omicron	65	59	0	0	47	14	0	0.9374979	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
11S	BA.4.3	22A	Omicron	73	68	0	0	54	17	0	0.9878273	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,CharitÃ@_N_F:C28724T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_P:C28724T
98S	BE.1	22B	Omicron	72	59	0	0	56	14	0	0.9967896	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_F:G28681T
92S	BA.1.1	21K	Omicron	67	39	9	0	54	16	1	0.9966224	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
85S	BA.1.1	21K	Omicron	60	39	9	0	51	16	1	0.9966559	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;G28287A,USCDC_N1_P:C28311T
123S	BQ.1.1	22E	Omicron	77	59	0	0	60	14	0	0.9968565	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

18S	BA.5.5	22B	Omicron	68	62	0	0	51	15	0	0.9864896	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
25S	BF.27	22B	Omicron	78	59	0	0	56	14	0	0.989165	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,HKU_N_R:C29253T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
107S	BQ.1.23	22E	Omicron	80	62	0	0	60	15	0	0.9966559	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
81S	BA.1.1	21K	Omicron	62	39	9	0	50	16	1	0.9963549	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
101S	CK.1	22B	Omicron	74	62	0	0	54	15	0	0.9967896	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:A28330G
116S	BA.5.2	22B	Omicron	76	59	0	0	55	14	0	0.989165	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;A28330G
77S	BA.1.1	21K	Omicron	58	39	9	0	48	16	1	0.9967896	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,CharitÃ@_N_P:C28775T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
97S	BQ.1.3	22E	Omicron	77	59	0	0	60	14	0	0.9970906	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
108S	BQ.1.13	22E	Omicron	78	59	0	0	59	14	0	0.9971575	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
34S	BE.1	22B	Omicron	69	59	0	0	53	14	0	0.9881952	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_F:G28681T
40S	BA.5.5	22B	Omicron	69	63	0	1	53	16	0	0.9879945	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
99S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9970906	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
76S	BA.1.1	21K	Omicron	58	39	9	0	47	16	1	0.9967896	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
79S	BA.1.1.16	21K	Omicron	57	39	9	0	48	16	1	0.9678962	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
35S	BA.5.5	22B	Omicron	71	59	0	0	53	14	0	0.9877939	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
87S	BA.2.3	21L	Omicron	74	77	0	0	54	20	0	0.9877939	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,HKU_N_F:T29148C,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
62S	BA.5.1.25	22B	Omicron	70	59	0	0	52	14	0	0.9970906	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
67S	BA.1.15	21K	Omicron	59	39	9	0	48	16	1	0.9968565	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
109S	BQ.1.1	22E	Omicron	77	59	0	0	60	14	0	0.9970906	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
121S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	62	0	0	59	15	0	0.9966224	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

73S	BA.1.15	21K	Omicron	61	39	9	0	50	16	1	0.9967896	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
112S	BQ.1.1.4	22E	Omicron	81	68	0	0	64	17	0	0.9966559	8	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N2_F:T29173C,USCDC_N3_F:G28681T
93S	BQ.1.3	22E	Omicron	77	59	0	0	60	14	0	0.9968231	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
61S	BA.5.5	22B	Omicron	71	59	0	0	54	14	0	0.9886968	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
104S	BQ.1.1.4	22E	Omicron	81	68	0	0	64	17	0	0.9966893	8	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N2_F:T29173C,USCDC_N3_F:G28681T
117S	BQ.1.1	22E	Omicron	76	59	0	0	59	14	0	0.9968565	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
12S	BA.2.3.5	21L	Omicron	69	53	0	0	51	12	0	0.9802695	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
3S	BA.2.9.7	21L	Omicron	72	53	0	0	52	12	0	0.9786309	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
10S	BA.2	21L	Omicron	72	53	0	0	52	12	0	0.9799686	6	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N1_R:C28344T
26S	BA.2.12.1	22C	Omicron	73	53	0	0	52	12	0	0.9881283	5	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T
132S	BQ.1.13	22E	Omicron	78	59	0	0	60	14	0	0.9780958	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
95S	BQ.1.1	22E	Omicron	80	59	0	0	61	14	0	0.9967896	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T
7S	BA.4	22A	Omicron	76	68	0	0	55	17	0	0.9881283	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,CharitÃ@_N_F:C28724T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T,USCDC_N3_P:C28724T
105S	BQ.1.13	22E	Omicron	78	59	0	0	59	14	0	0.9969903	7	CharitÃ@_E_F:C26270T,ChinaCDC_N_F:G28881A;G28882A;G28883C,USCDC_N1_P:C28311T;C28312T,USCDC_N3_F:G28681T

Nota. Fuente: Datos experimentales.

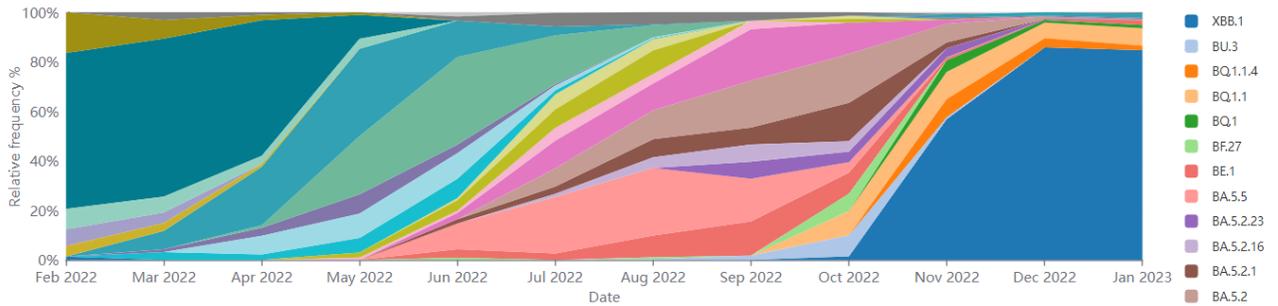
Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

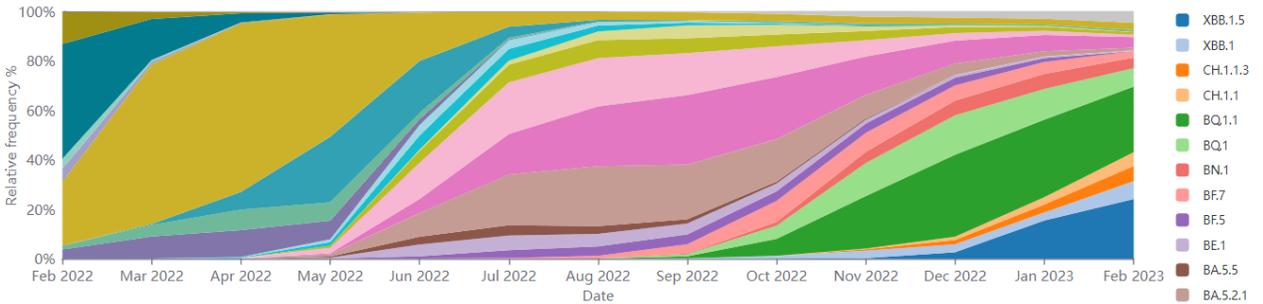
Figura 8

Comparación de la distribución y abundancia de los linajes circulantes de febrero 2022 a febrero 2023 por región

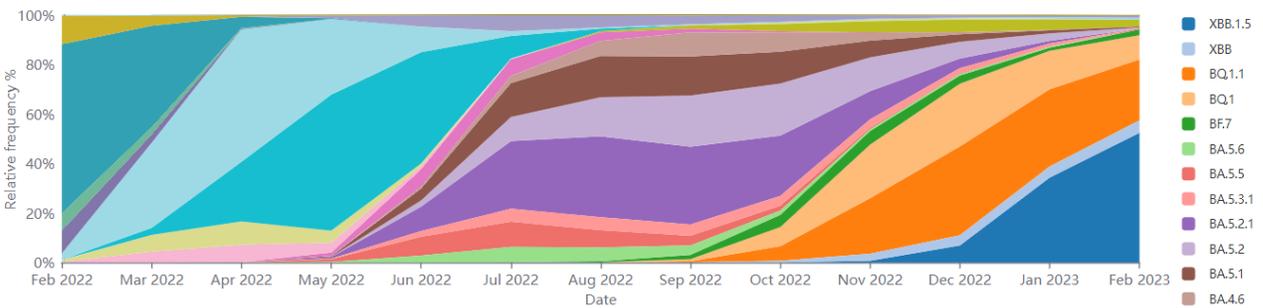
A



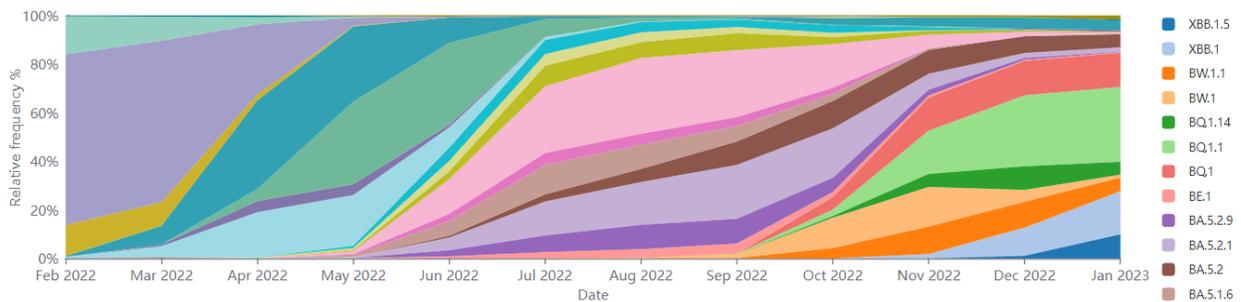
B



C



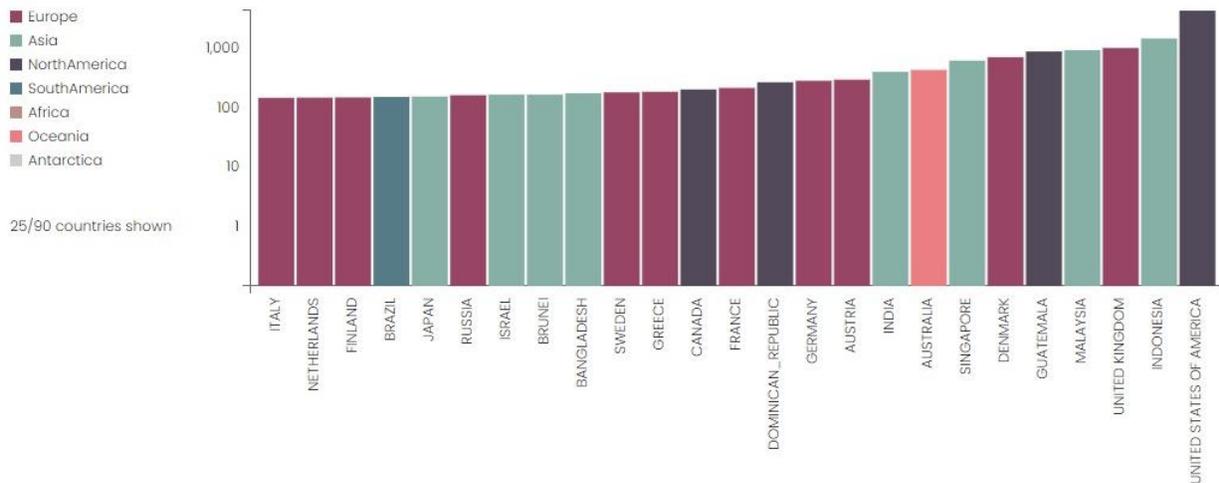
D



Nota. Comparación de la distribución y abundancia de los linajes circulantes de febrero 2022 a febrero 2023 por región. A: Guatemala, B: Mundial, C: Estados Unidos y D: México.

Figura 9

Distribución del linaje XBB.1 de los 25 países en los que se presentó con mayor abundancia



Nota. Distribución del linaje XBB.1 de los 25 países en los que se presentó con mayor abundancia. Guatemala ocupa el 5to lugar a nivel mundial. Fuente Cov-Lineages, Pangolin.

Distribución y abundancia regional de los linajes circulantes de SARS-CoV-2 en 2022

La evaluación de la distribución y abundancia de los linajes de SARS-CoV-2 que circularon de febrero 2022 a febrero 2023 mostró una tendencia de linajes circulantes similar a la presentada a nivel mundial, pero con cambios en las frecuencias relativas y la velocidad de cambio, sin embargo una observación que llamó la atención fue el abrupto aumento del sublinaje XBB.1 en Guatemala de octubre 2022 a febrero 2023 (Figura 8), en la búsqueda de información del linaje se encontró que este sublinaje recombinante que deriva del linaje recombinante XBB y que fue detectado por primera vez a nivel mundial en India. Además, la búsqueda del sublinaje en el sitio Cov-Lineages se accedió a su distribución mundial, los hallazgos mostraron que Guatemala ocupa el quinto lugar de abundancia a nivel mundial, solamente después de Estados Unidos, Indonesia, Reino Unido y Malasia (Figura 9). Debido a que el país con mayor abundancia fue Estados Unidos, decidimos evaluar la distribución en Estados Unidos y en México para generar hipótesis respecto a si se trata de un efecto de fuente sumidero y la ruta de dispersión es a través de México, sin embargo, los hallazgos mostraron que a pesar de que la variante ingresó a México más o menos al mismo tiempo que en Guatemala, al menos hasta el momento el sublinaje no predomina en la región.

10.2 Discusión de resultados

Análisis Filodinámico de los pacientes secuenciados en este estudio

El análisis filodinámico de las 73 muestras secuenciadas de pacientes del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, mostró una alta diversidad de linajes circulantes a lo largo del año 2022, todas pertenecientes al clado de Omicron de acuerdo con la clasificación de la WHO (Tabla 3), sin embargo. es necesario enfatizar que la distribución temporal de las muestras se vio alterada por los problemas de transporte y almacenamiento de las muestras pertenecientes a los meses de febrero a octubre.

La mayoría de los pacientes asociados a estas 73 secuencias virales tuvieron un desarrollo leve de la enfermedad y todos los pacientes fallecidos y con estado severo (el 12% de los pacientes analizados) presentaron sublinajes derivados de BA.1, BA.2 y BQ.1. En un estudio desarrollado en Sudáfrica en febrero de 2022, los autores concluyeron que BA.2 puede tener una ventaja competitiva sobre BA.1 en la consideración de ciertas características, sin embargo, que el perfil clínico de la enfermedad

continuaba siendo similar, lo que coincide con nuestros hallazgos (Wolter et al., 2022), y en un estudio publicado a inicios de este año se evaluó la resistencia a anticuerpos neutralizantes de las variantes BQ.1.1, BA.4.6, BF.7 y BA.2.75.2, respecto a sus variantes ancestrales, sus hallazgos mostraron que los linajes BQ.1/ BQ.1.1 y BA.2.75.2 exhibieron un aumento en la capacidad para evadir los anticuerpos neutralizantes, característica derivada de las mutaciones N460K/ K444T y F486S , respectivamente, esto podría explicar el desarrollo fatal de la enfermedad en los pacientes incluidos en este estudio que presentaron dichas variantes.

Análisis de Diversidad

En el análisis de diversidad nucleotídica de las 73 secuencias generadas en este estudio mostró un promedio de 72.68 sustituciones nucleotídicas por secuencia, que corresponde aproximadamente con un 0.25% del genoma total, no se detectó ninguna sustitución no reportada de relevancia epidemiológica, ya que no se modificaron los marcos de lectura para ninguna secuencia, y las sustituciones aminoacídicas en promedio correspondieron solamente al 0.19% de la secuencia.

Respecto al análisis de diversidad de los sitios objetivo de los cebadores que se utilizan en los protocolos de diagnóstico por PCR se encontraron de 5 a 8 sustituciones por secuencia, en promedio 6.1, distribuidas en las regiones blanco de los tres protocolos de diagnóstico por PCR más utilizados a nivel mundial: Charité, China CDC y US CDC.

Todas las secuencias analizadas presentaron al menos una sustitución para cada uno de los protocolos, el bajo nivel de sustitución en las regiones blanco parece irrelevante en términos epidemiológicos, sin embargo, la capacidad de hibridación entre la región blanco y los cebadores no es solo relevante en cuanto al número sino también respecto a la posición, por ello es necesario evaluar periódicamente a través de softwares específicos para el análisis *in silico* de la eficiencia de cada grupo de cebadores de los protocolos que actualmente se utilizan en el país para el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2.

Análisis de la Diversidad Espacio temporal

Aunque como se mencionó en los resultados, los datos son escasos para la línea de tiempo desarrollada, se muestran algunas tendencias importantes, al ser comparadas con datos del comportamiento poblacional en las olas de aumentos de casos, en el país (Figura 2 y 6) y las políticas de estado para el manejo de la enfermedad. Esto pone de relevancia que aunque la selección ha sido la fuerza evolutiva

a la cual se ha atribuido la mayor relevancia en los procesos de la dinámica de aumento, disminución y recambio en la diversidad genómica de las secuencias circulantes de SARS-CoV-2, y se ha mencionado también la importancia de eventos estocásticos, como efectos fundador y deriva génica, en el caso de Guatemala tanto en nuestro estudio previo durante el primer año de pandemia, como en este, se puede evidenciar una influencia respecto a las políticas de estado de contención de la enfermedad, no solo en el aumento de número de casos, sino también en aumento de la diversidad y un recambio relevante respecto a las variantes dominantes posteriores a la disminución de la ola de contagios, en el caso del análisis temporal de las secuencias de 2022, fue posible contar con datos de una olas de contagio, la mayor para el país desde el inicio de la pandemia, cuando el uso obligatorio de mascarilla en el país fue eliminado durante el mes de julio.

Respecto al análisis espacial la diversidad más alta se observó en la región central, específicamente en la Ciudad de Guatemala, y parecieran estar estratificadas las variantes por la región de procedencia del país. Sin embargo, es necesario para ambos análisis generar estos modelos con una muestra más amplia tanto en el espacio temporal como el geográfico, en este estudio no fue posible desarrollarlo debido a los retrasos que sufrieron la ejecución de los proyectos.

Distribución y abundancia regional de los linajes circulantes de SARS-CoV-2 en 2022

Al analizar todas las secuencias disponibles de SARS-CoV-2 en la base de datos de GISAID de muestras comprendidas entre febrero 2022 y febrero 2023, el comportamiento de la distribución y abundancia de los linajes circulantes parece tener un distintivo regional, probablemente provocado por las particularidades en las actividades de relevancia epidemiológica para SARS-CoV-2 de cada región, como por ejemplo el índice de vacunación, el tipo de vacuna, la administración de medidas de contingencia y las características inmunológicas de su población. La comparación del recambio en la diversidad de linajes en Guatemala parece ser mucho más dinámica y acelerada que el comportamiento de las secuencias analizadas a nivel mundial, y cuando se comparó con Estados Unidos y México, sin embargo, este efecto podría ser provocado por las diferencias en los esfuerzos de muestreo, el cual ha sido mucho menor en Guatemala. Respecto a la comparación con México y Estados Unidos, el primero mucho más cercano geográficamente, se observó una similitud mayor del comportamiento presentado en Estados Unidos, el segundo país del que se registran más ingresos a Guatemala (INGUAT, 2023).

Un fenómeno relevante que se observó a partir de este análisis fue el abrupto aumento del sublinaje XBB.1 en Guatemala y Estados Unidos a partir de noviembre de 2022.

XBB.1 la variante predominante en el país de noviembre 2022 a febrero 2023

El primer registro de secuencia de la variante XBB.1 en país es del 11 de octubre de 2023 en la Ciudad de Quetzaltenango y fue por primera vez detectada en la Ciudad de Guatemala el 3 de noviembre de 2022, dentro de nuestro muestreo que incluyó muestras de pacientes de febrero a noviembre de 2022 se encontraron dos secuencias de esta variante el 8 y el 23 de noviembre, en el desarrollo del análisis filogenético en la herramienta Microreact (Figura 5) en el cual se conservó la longitud de las ramas, se observa como estas secuencias, resaltadas en el recuadro rojo, se separan en la filogenia de las muestras de otros sublinajes que circulaban en ese momento, debido a que se trata de un sublinaje de la variante recombinante XBB, que proviene de la recombinación de los sublinajes BJ.1 y BM.1.1.1 (Arora et al., 2023), las variantes recombinantes se generan a partir de un proceso de recombinación entre variantes presentes en procesos de coinfección y por ello se generan novedades evolutivas que se separan de los clados que originaron las variantes que fueron recombinadas.

XBB fue detectada por primera vez en India en enero del 2022, y durante el transcurso del año solo fue predominante en países de Asia y el Reino Unido (Arora et al., 2023, Rambault et al 2023). De acuerdo con los últimos informes de secuenciación del LNS esta variante empezó a aumentar su frecuencia desde finales de noviembre hasta la fecha, representando el 87.03 de las variantes detectadas en Guatemala de acuerdo con su informe de secuenciación 34 emitido el 16 de enero de 2023 (LNS, 2023).

El aumento de la frecuencia ha sido tal que actualmente ocupa junto a Malasia el cuarto lugar de presencia de secuencias de la variante, solamente después de Estados Unidos, Indonesia y el Reino Unido, aun cuando la proporción de secuencias disponibles para Guatemala es mucho menor que para las otras tres regiones, cuyos tamaños poblacionales son mucho mayores. Los pacientes que presentaron ambas variantes dentro de nuestro análisis de 73 secuencias, desarrollaron síntomas leves, lo cual coincide con los metadatos reportados por el Laboratorio Nacional de salud que corresponden con 1024 secuencias cuyos pacientes sobrevivieron a la infección hasta el momento de la toma de datos, y también coincide con la información de disminución de decesos en el país, de noviembre a febrero 18 se registraron 151 fallecimientos, lo que corresponde con una tasa de mortalidad de 0.9%

y una letalidad del 0.2% (MSPAS, 2023). Además respecto al acelerado aumento de esta variante en el país es importante resaltar que México cuya cercanía geográfica a EEUU es mayor que Guatemala y cuya vigilancia genómica también es mayor que en Guatemala, solo ha reportado 56 muestras para dicha variante de acuerdo con la información del sitio Cov-Lineages.org, sin embargo de acuerdo con el boletín de estadísticas de turismo del segundo semestre de 2022 del Instituto Guatemalteco de Turismo -INGUAT-, el segundo país con mayores visitantes a Guatemala, proviene de EEUU, solamente superado por El Salvador, lo que podría explicar en parte la similitud en el comportamiento de esta variante en Guatemala y EEUU (INGUAT, 2023).

Importancia Epidemiológica de XBB.1

Como se mencionó anteriormente XBB.1 es un sublinaje de la variante recombinante XBB cuyo punto de corte se localiza en el gen que codifica para la proteína S o proteína de espiga, la cual media el ingreso del virus a la célula del huésped y es además el blanco de los anticuerpos neutralizantes (Arora et al., 2023).

En un estudio recientemente publicado por Arora y colaboradores, se desarrolló una evaluación inicial de la capacidad de XBB.1 para ingresar a las células huésped y su capacidad para evadir la neutralización mediada por anticuerpos, entre sus principales hallazgos reportaron que las partículas que portaban la proteína de espiga XBB.1 mostraron una eficiencia de entrada celular significativamente reducida en comparación con BA.5 para todas las líneas celulares analizadas (reducción de 1.7–3.9 veces), sin embargo los resultados en comparación con el linaje B.1 fueron variables, para la línea celular Calu-3 se encontró una eficiencia de ingreso de XBB.1 reducida (3·4 veces), en la evaluación en las líneas celulares 293T los resultados fueron similares para ambos linajes, mientras que la eficiencia de ingreso de XBB.1 para la línea celular Vero fue mayor (1.3–1.4 veces) (Arora, et al., 2023).

Respecto a la evaluación de la capacidad de XBB.1 para evadir la neutralización sus datos sugieren que exhibe una capacidad extraordinariamente fuerte para la evasión de anticuerpos, similar a BQ.1 y BQ.1.1;9 dos sublinajes de omicron altamente resistentes a la neutralización que están aumentando actualmente en incidencia en varios países del mundo (Arora et al., 2023). Aunque debido a lo reciente del aumento de la frecuencia de XBB.1 son necesarios más estudios que evalúen estas capacidades, estos hallazgos refuerzan la relevancia de continuar con el proceso de vigilancia genómica en el país,

sobre todo considerando que somos uno de los países con menores índices de esquemas completos y parciales de vacunación.

El Panorama en Guatemala

Aunque como se mencionó en las secciones anteriores, en este momento el país presenta una disminución en el registro de decesos causados por COVID-19, probablemente asociado a la baja eficiencia de entrada celular de la cepa que actualmente predomina en el país XBB.1, sabemos que durante estos 3 años de pandemia, el virus ha tenido un proceso evolutivo acelerado y la dinámica regional ha sido relativamente impredecible, no sabemos el comportamiento que nuevas variantes que ingresen al país tendrán un comportamiento distinto. Por lo tanto, la vigilancia genómica continúa siendo un proceso necesario, si bien la generación de reportes de circulación de variantes ha aumentado en periodicidad y número, la efectividad de la vigilancia también depende el análisis de la evolución del virus y de la incidencia de la información generada en la administración de salud.

11 Conclusiones

Es necesario continuar fortaleciendo alianzas entre los diferentes elementos que comprenden el Sistema de Salud Nacional y la Academia para lograr que la secuenciación genómica de patógenos de importancia médica sea efectiva y que los hallazgos producto de la investigación científica puedan llegar a tomadores de decisión locales.

Dentro del fortalecimiento de alianzas también es importante la capacitación constante de las entidades que realizan el diagnóstico molecular de patógenos de importancia como SARS-CoV-2, ya que estas debilidades se pusieron de manifiesto en el incumplimiento de los protocolos de traslado de muestras, lo que perjudicó el diseño de muestreo temporal en este estudio.

La Dinámica de recambio y abundancia de linajes circulantes en el país durante estos casi tres años de pandemia ha mostrado un patrón exclusivo para la región, pero influenciado por algunos procesos globales de evolución del virus.

En las muestras secuenciadas en este estudio a lo largo de 2022 en pacientes que visitaron el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, se encontraron una gran diversidad de linajes y sublinajes circulantes

de acuerdo con la clasificación de Pango, sin embargo, todos son pertenecientes al clado de Omicrón de acuerdo con la clasificación de la WHO.

9 pacientes incluidos en este estudio, lo que corresponde con el 12% de los pacientes analizados fallecieron o presentaron un desarrollo severo para la enfermedad, todos estos pacientes presentaron linajes o sublinajes de B.A. y B.Q,

A partir de noviembre de 2022 se encontró un aumento abrupto y atípico de la región de la variante XBB1, colocándonos como el 5 lugar en abundancia de esta variante a nivel mundial, después de Estados Unidos, Indonesia, El Reino Unido y Malasia.

Actualmente la variante de mayor predominancia en el país es la XBB1, con una frecuencia mayor al 80%.

Los dos pacientes que presentaron la variante XBB.1 en nuestro estudio tuvieron un desarrollo leve de la enfermedad y cuando se consultaron los metadatos de todas las secuencias disponibles en la base de datos de GISAID para XBB.1 en Guatemala, reportaron un estado del paciente vivo.

El análisis de la diversidad nucleotídica no presentó ningún efecto importante en el fenotipo de las secuencias analizadas, puesto que la frecuencia y abundancia de sustituciones nucleotídicas, inserciones, deleciones y cambios en los marcos de lectura fueron mínimos, además no se encontró ninguna mutación de relevancia ni en la proteína S, ni en las regiones blanco de los grupos de cebadores de los tres métodos de diagnóstico molecular más utilizados en el país.

12 Agradecimientos

A las autoridades Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2QB3- de la Universidad Mariano Gálvez; en especial al Dr. Ricardo San José, Director I2QB3, por todo el apoyo institucional brindado para desarrollar la fase de laboratorio y analítica de este estudio en las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Investigaciones I2QB3 de UMG y por el apoyo brindado en insumos como contrapartida de este proyecto, y al equipo de investigadores del Laboratorio de Biología Molecular, Lcda. Milagro Gómez, Br. Yesica Minero, M.BA. Allan Urbizo, por su participación en el desarrollo de la fase de laboratorio de análisis de calidad de muestras y todos los procesos que involucra la Secuenciación Genómica de las 73 muestras analizadas en este

estudio. Al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, particularmente a la M.D. Ada Vargas, M.D. Edna Cáceres, por su participación en la selección y obtención de las 73 muestras de ARN viral analizadas en este estudio y los metadatos asociados a dichas muestras, y al personal del Laboratorio de Biología Molecular del IGSS zona 9, quienes desarrollaron la extracción de ARN de las muestras virales y el diagnóstico de las mismas. A la Dra Hilda Valencia, por todo el apoyo brindado durante la ejecución del proyecto. Al Licenciado Jimmy Vargas, tesorero del Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa, por todo su apoyo y asesoría en la ejecución de fondos del proyecto.

13 Referencias

- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, *89*(1), 44–48. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., Garry, R. F., Chen, Y., Liu, Q., Guo, D., Shen, Z., Xiao, Y., Kang, L., Ma, W., Shi, L., Zhang, L., Zhou, Z., Yang, J., Zhong, J., Yang, D., Guo, L., ... Phan, T. (2020). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, *89*(1), 181–192. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104260>
- Arora, P., Cossmann, A., Schulz, S. R., Ramos, G. M., Stankov, M. V., Jäck, H.-M., Behrens, G. M. N., Pöhlmann, S., & Hoffmann, M. (2023). Neutralisation sensitivity of the SARS-CoV-2 XBB.1 lineage. *Ann Oncol*, *January*, 19–21.
- Astuti, I., & Ysrafil. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, *14*(4), 407–412. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.020>
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, *92*(4), 418–423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- CDC. 2021. <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Evangelou, E., & Ioannidis, J. P. A. (2013). Meta-analysis methods for genome-wide association studies and beyond. *Nature Publishing Group*, *May*. <https://doi.org/10.1038/nrg3472>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, *5*(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Maxmen, A. (2022). *Wuhan market was epicentre of pandemic 's start , studies suggest. February*, 1–8.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social [MSPAS] (2023). *Situación de Covid-19 en Guatemala*. Disponible en: <https://tablerocovid.mspas.gob.gt/tablerocovid/>

- Naciones Unidas. (2020). *Análisis de los efectos e impactos socioeconómicos COVID-19 en Guatemala*.
- Naciones Unidas. (2021). *Informe Anual de Resultados, Equipo de Países del Sistema de Naciones Unidas en Guatemala*. <https://doi.org/10.15517/rbt.v64i1.22809>
- Organización Panamericana de la Salud -OPS-, 2023. paho.org/es/temas/coronavirus/brote-enfermedad-por-coronavirus-covid-19
- Public Health England. (2021). *SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England: technical briefing 8*. 8, 1–50.
- Saad-Roy, C. M., Morris, S. E., Metcalf, C. J. E., Mina, M. J., Baker, R. E., Farrar, J., Holmes, E. C., Pybus, O. G., Graham, A. L., Levin, S. A., Grenfell, B. T., & Wagner, C. E. (2021). Epidemiological and evolutionary considerations of SARS-CoV-2 vaccine dosing regimes. *Science*, 8663(April), eabg8663. <https://doi.org/10.1126/science.abg8663>
- Solórzano-Ortiz, E., Yurrita, C. L., Moguel, B., Montenegro, C., & Barrios, M. (2020). *Secuenciación genómica de SARS-CoV-2 en pacientes guatemaltecos para el monitoreo de la diversidad y evolución viral como herramienta epidemiológica*. diciembre, 58.
- Toole, Á. O., Hill, V., Pybus, O. G., Watts, A., Bogoch, I. I., Khan, K., Messina, J. P., Network, B. C. G., Tegally, H., Lessells, R. R., Giandhari, J., Pillay, S., Tumedi, K. A., Merhi, G., Koweyes, J., Geoghegan, J. L., Ligt, J. De, Ren, X., Storey, M., ... Munnink, B. O. (2022). *Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B.1.1.7 and B.1.351 / 501Y-V2 with grinch [version 2; peer review: 3 approved]* Network for Genomic Surveillance in South Africa (NGS-SA), Danish Covid-19 Genome Consortium (DCGC), . 1–19.
- Toole, Á. O., Scher, E., Underwood, A., Jackson, B., Hill, V., Mccrone, J. T., Colquhoun, R., Ruis, C., Abu-dahab, K., Taylor, B., Yeats, C., Plessis, L., Maloney, D., Medd, N., Attwood, S. W., Aanensen, D. M., Holmes, E. C., Pybus, O. G., & Rambaut, A. (2021). *Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool*. 7(2), 1–9.
- Wolter, N., Jassat, W., von Gottberg, A., & Cohen, C. (2022). Clinical severity of omicron lineage BA.2 infection compared with BA.1 infection in South Africa. *The Lancet*, 400(10346), 93–96. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00981-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00981-3)
- WHO. 2021. <https://www.who.int/es>.
- Worobey, M., Levy, J. I., Serrano, L. M., Crits-christoph, A., Pekar, J. E., Goldstein, S. A., Rasmussen, A. L., & Kraemer, M. U. G. (2022). *The Huanan Seafood Wholesale Market in Wuhan was the early epicenter of the COVID-19 pandemic*. 959(August), 951–959. 1.
- Zhang, L., Shen, F., Chen, F., & Lin, Z. (2020). Origin and Evolution of the 2019 Novel Coronavirus. *Clinical Infectious Diseases*, (M1), 2019–2020. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa112>
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>

14 Aspectos éticos

El proyecto fue sometido a evaluación por el Comité de Bioética en Investigación en Salud, COBIINSA USAC de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el Comité de ética del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, ambos avales se presentan a continuación:

Aval Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS-

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social
Ciudad de Guatemala, C.A.

6912
SICCI: 20220054665

Subgerencia de Prestaciones en Salud

Guatemala, 13 de mayo de 2022

7a. AVENIDA 22-72 ZONA 1 6TO. NIVEL
GUATEMALA, C.A. 01001
PBX: (502) 2412-1224
EXTS. 1637, 1611 Y 1613
www.igssgt.org

M. Sc. Elizabeth Solórzano Ortiz
Coordinadora Proyecto B26CU-2022
Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

M. Sc. Rebeca Méndez
Directora Técnica
IQB3J/ Universidad Mariano Gálvez

Estimadas profesionales:

De manera atenta me dirijo a ustedes, en atención al Oficio Ref: Inv-B26CU-2022-04-2022, de fecha 07 de abril de 2022, suscrito por sus personas, relacionado a la colaboración en investigación genómica de SARS-CoV-2, entre el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), el Instituto de Investigaciones de CUNZAC y el IQB3J de la Universidad Mariano Gálvez, iniciado en mayo de 2021.

En el mismo, se informa que, derivado del interés en la investigación genómica del virus SARS-CoV-2, se creó una propuesta de investigación para la obtención de financiamiento, enviada a la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, la cual fue sometida a convocatoria en junio 2021, para ser ejecutada en 2022. Dicho proyecto, obtuvo el financiamiento para la secuenciación de 30 muestras virales dentro del marco de la investigación: **"SARS-CoV2: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la pandemia de COVID-19 en Guatemala"** código B26CU-2022, motivo por el cual fue trasladado el protocolo sometido en junio 2021 para poder confirmar la participación del Instituto en esta alianza.

Derivado de lo anterior, el protocolo de investigación "SARS-CoV2: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la pandemia de COVID-19 en Guatemala" fue sometido a análisis por parte del Comité de Bioética y por la Sección de Laboratorios Clínicos, Bancos de Sangre y Patología del Departamento Médico de Servicios Técnicos, quienes emitieron pronunciamiento y consideraron si es viable colaborar en el proyecto de investigación.

Por lo anterior, me es grato confirmar la participación del Instituto en el proyecto de investigación "SARS-CoV2: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la pandemia de COVID-19 en Guatemala", y solicitamos amablemente se puedan llevar a cabo las coordinaciones correspondientes con el Hospital General de Enfermedades a la brevedad posible.

Sin otro particular, atentamente.

DOCTOR ARTURO ERNESTO GARCÍA AQUINO
Subgerente
Subgerencia de Prestaciones en Salud

www.igssgt.org

7ª. Avenida 22-72, zona 1, Centro Cívico Guatemala, C. A. PBX: 2412-1224

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Aval Bioético Comité de Bioética en Investigación en Salud, COBIINSA USAC



Ref. adcobiusac 003-2022
Guatemala 16 de marzo de 2022

MSc. Elizabeth Solórzano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad de San Carlos de Guatemala

Me complace comunicarle que luego de haber revisado las respuestas a los cuestionamientos y observaciones que realizó el Comité a su protocolo en la primera revisión, el cual lleva por título: "SARS-CoV2: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la pandemia de COVID-19 en Guatemala"

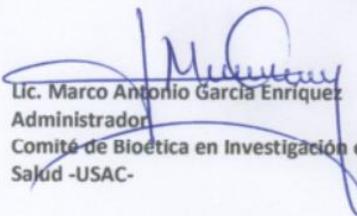
Luego de haber revisado las correcciones enviadas por su persona, se otorga el Aval Bioético correspondiente por haber completado los requerimientos solicitados.

El Comité se reserva el derecho de supervisar, en cualquier momento, que se hayan cumplido todos los requerimientos solicitados, y considerando la emergencia sanitaria que estamos viviendo por la pandemia COVID 19, si hubiera alguna modificación en su trabajo de campo, le solicitamos indicarlo al Comité para aprobar cualquier cambio que tuviera que realizar a la dirección de correo: adcobiusac2016@gmail.com

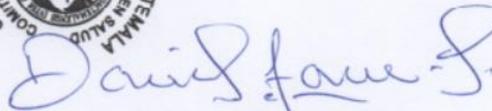
Por el Comité de Bioética en Investigación en Salud

Atentamente,

ID Y ENSEÑAD A TODOS


Lic. Marco Antonio García Enriquez
Administrador
Comité de Bioética en Investigación en
Salud -USAC-





Vo.Bo. Lic. Daniel Josué López Hernández.
Coordinador.
Comité de Bioética en Investigación en Salud.
USAC.

15 Vinculación

Este proyecto se realizó como una colaboración con el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social y el Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas de la Universidad Mariano Gálvez, que inició desde el segundo semestre del año 2021.

Durante dicha colaboración el IGSS cubrió los gastos de la primera fase de análisis de las 30 muestras para secuenciación (toma de muestra, extracción de ARN, diagnóstico por PCR y traslados), además su equipo de investigadores fue el encargado de la toma de datos y administración de los datos epidemiológicos.

La universidad Mariano Gálvez desarrolló el proceso de secuenciación genómica en sus equipos de secuenciación y periféricos, contribuyó además con parte de los reactivos para secuenciación, y su equipo de investigadoras expertas en secuenciación genómica, como parte del aporte de la UMG.

Los investigadores de los tres equipos CUNZAC, IGSS e I2QB3, realizaron contribuciones en la fase analítica.

16 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Se elaboraron un poster y una presentación, las cuales serán colocadas en la página del Instituto de Investigaciones de CUNZAC.

17 Aporte de la propuesta de investigación a los ODS

Este proyecto contribuye de forma directa al alcance del Objetivo de Desarrollo Sostenible No3, Salud y Bienestar, al generar información de relevancia para el manejo de la pandemia por COVID-19, uno de los principales problemas de salud que actualmente aquejan a Guatemala.

Este proyecto contribuye a la vigilancia genómica activa de SARS-CoV-2 en Guatemala y a la vinculación de la vigilancia genómica con la investigación genética y evolutiva.

Este proyecto muestra una vez más que en Guatemala existen las capacidades locales para desarrollar el proceso de secuenciación y que es posible implementar procesos de vigilancia genómica en el país. Además, se incidió en la capacidad analítica lo cual favorece la detección temprana de las variantes de importancia, de forma que puedan implementarse de inmediato medidas de contención, en lugar de que las cepas de importancia sean detectadas meses después de que fueron introducidas al país, como

ocurrió a inicios del año pasado cuando el proceso de secuenciación quedó casi de forma exclusiva en manos del LNS.

Además, desarrollamos a través de análisis bioinformáticos secundarios de las secuencias generadas por este estudio, por el LNS, ONGs, y laboratorios de referencia internacional, información de la evolución y diversidad del virus a nivel local. Esto tiene implicaciones epidemiológicas, más allá de la simple clasificación de cepas, ya que se pueden hacer relaciones con las medidas de control establecidas en el país, con la eficacia de las pruebas de diagnóstico molecular y vacunas, con vistas a generar herramientas para los administradores de salud que les permitan comprender el alcance y el impacto de las medidas de contención, como el retraso en la administración de vacunas, y en la evolución de la enfermedad en el país.

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

18 Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Carmen Lucia Yurrita Obiols	Investigadora	970104	Si	
Fredy Manolo Pereira Castillo	Auxiliar II	20210468	Si	

19 Declaración de Coordinadora del proyecto de investigación

La Coordinadora de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

M.Sc. Elizabeth Solórzano Ortiz Nombre de coordinadora del proyecto de investigación	Firma
Fecha: 28/02/2023	

20 Aval del Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto “SARS-CoV 2-: Metaanálisis genético, evolutivo y epidemiológico durante dos años de la pandemia de COVID-19 en Guatemala” en mi calidad de Coordinador de investigación del Centro Universitario de Zacapa, mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Dr. Manuel Barrios Izás Vo.Bo. Coordinador Instituto de Investigación CUNZAC	Firma
Fecha: 28/02/2023	

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

21 Visado de la Dirección General de Investigación

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril, Ph. D. Vo.Bo. Coordinadora del Programa Universitario de Investigación	 Firma
Fecha: 28/02/2023	

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Vo.Bo. Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación	 Firma
Fecha: 28/02/2023	

Ing. MARN Julio Rufino Salazar Pérez
Coordinador General de Programas de Investigación, Digi-Usac