

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE INGENIERÍA

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

TRABAJO DE TITULACIÓN

“ANÁLISIS COMPARATIVO DEL GENOMA DE LOS  
DIFERENTES SUBLINAJES DE LA VARIANTE ÓMICRON  
DE SARS-COV-2 EN ECUADOR.”

**AUTOR:** ANDRÉS HERRERA YELA, MSc.

**TUTOR:** JESUS ABRAHAM AVELAR RIVAS, PhD.

MAYO 2023

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### Contenido

ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
RESUMEN .....	4
ABSTRACT .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
1.1 Planteamiento del problema .....	6
1.2 Justificación .....	6
1.3 Objetivos.....	7
1.3.1 Objetivo General .....	7
1.3.2 Objetivos específicos .....	7
1.4 Marco teórico.....	7
1.4.1 Estructura genómica del SARS-CoV-2 .....	7
1.4.2 Capacidad epidémica del SARS-CoV-2 .....	9
1.4.3 Variantes de SARS-CoV-2 .....	10
1.4.4 Variante ómicron y los sublinajes identificados en Ecuador .....	11
1.4.5 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) .....	12
1.4.6 Global Initiative to Share All Influenza Data (GISAID) .....	12
1.4.7 Nextclade .....	12
1.4.8 Outbreak.info .....	13
2. METODOLOGÍA .....	14
2.1 Búsqueda de todos los genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador .....	14
2.2 Identificación de SNPs .....	14
2.3 Determinación de la importancia biológica de las mutaciones encontradas .....	15
2.4 Análisis filogenético .....	15
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
3.1 Genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador .....	15
3.2 Clados de la variante Ómicron que circulan en Ecuador.....	17
3.3 Sublinajes de la variante Ómicron que circulan en Ecuador .....	18
3.4 Prevalencia de sublinajes por provincia .....	22
3.5 Identificación de SNPs en los sublinajes más importantes.....	24
3.6 Determinación de la importancia biológica de las mutaciones encontradas .....	27
3.7 Análisis filogenético .....	35
4. CONCLUSIONES .....	37
5. RECOMENDACIONES .....	38
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
7. ANEXOS.....	46

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue realizado en base a los metadatos asociados a 5098 genomas de SARS-CoV-2 secuenciados en Ecuador, disponibles en GISAID desde 2021-12-08 al 2023-01-31, y accesibles en <https://doi.org/10.55876/gis8.230316zq> (EPI\_SET\_230316zq).

Por lo que agradezco a todos los contribuyentes de datos, es decir, a los autores de las secuencias, a sus laboratorios de origen, responsables de la obtención de muestras, y a sus laboratorios de envío por generar la secuencia genética, los metadatos y compartirlos a través de la iniciativa GISAID, en la que se basa esta investigación.

En ese sentido extendiendo los agradecimientos a las siguientes instituciones:

- Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública -INSPI.
- Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito-USFQ.
- Universidad Espíritu Santo-UEES
- Laboratorio INTERLAB.

## RESUMEN

El virus del SARS-CoV-2 tiene la capacidad de acumular mutaciones en su genoma, lo que puede dar lugar a la formación de sublinajes y variantes. Desde el año 2022, la única variante circulante ha sido la variante Ómicron, en la cual se han descrito mutaciones principalmente en la glicoproteína Spike. Varias de estas mutaciones le confieren una mayor capacidad de transmisibilidad y evasión de la respuesta inmune. Sin embargo, en Ecuador aún no se ha descrito la diversidad genética ni las consecuencias de las mutaciones de esta Variante. En este estudio, se determinaron los clados y sublinajes de Ómicron que están circulando en Ecuador. Además, se identificaron las mutaciones puntuales (SNPs) y los cambios de aminoácidos asociados. También se evaluó la importancia biológica de estas mutaciones y su impacto en la transmisibilidad, virulencia y capacidad de evadir la respuesta inmune del virus. Para llevar a cabo este análisis, se utilizaron varias herramientas bioinformáticas, como Nextclade, Outbreak.info, Snipit, CoVsurver e IQTree. En la base de datos de GISAID, se encontraron 5098 secuencias de Ómicron de Ecuador hasta el 31 de enero de 2023. Se identificaron nueve clados y 160 sublinajes en Ecuador. Los cuales han evolucionado dinámicamente a lo largo de 2022, y que nuevos sublinajes están desplazando a otros con nuevas mutaciones de relevancia epidemiológica. El análisis también reveló que existen 37 SNPs comunes entre todos los sublinajes analizados, los cuales causan 19 cambios de aminoácidos en la glicoproteína Spike. Seis de estas mutaciones son de interés epidemiológico y 13 están relacionadas con la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad, lo que incrementa la transmisibilidad del virus. Se identificó la mutación T19I, considerada un mecanismo de escape inmunitario, presente en los sublinajes BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1 y XBB.1.5. El análisis filogenético revela que los sublinajes BA.1\*, BA.2\* y BA.5\* han evolucionado de forma independiente, aunque comparten un ancestro común. Por otro lado, los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5 son el resultado de la recombinación de dos sublinajes de BA.2\*, mientras que BQ.1\* y BQ.1.1.13 han evolucionado a partir del sublinaje BA.5\*. Estos resultados resaltan la importancia de continuar vigilando la evolución del virus en Ecuador.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2, Ómicron, Sublinaje, Glicoproteína Spike, SNPs, GISAID, Nextclade, Snipit, Covsurver.

## ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus has the ability to accumulate mutations in its genome, which can lead to the formation of sublineages and variants. Since 2022, the only circulating variant has been the Omicron variant, in which mutations have been described mainly in the Spike glycoprotein. Several of these mutations confer a greater transmissibility and evasion capacity of the immune response. However, in Ecuador, the genetic diversity and consequences of mutations of this variant have not yet been described. In this study, the clades and sublineages of Omicron circulating in Ecuador were determined. Additionally, single nucleotide polymorphisms (SNPs) and associated amino acid changes were identified. The biological significance of these mutations and their impact on virus transmissibility, virulence, and immune evasion were also evaluated. Various bioinformatic tools such as Nextclade, Outbreak.info, Snipit, CoVsurver, and IQTree were used to carry out this analysis. In the GISAID database, 5098 Omicron sequences from Ecuador were found up until January 31, 2023. Nine clades and 160 sublineages were identified in Ecuador, which have dynamically evolved throughout 2022, with new sublineages displacing others with new epidemiologically relevant mutations. The analysis also revealed that there are 37 common SNPs among all analyzed sublineages, resulting in 19 amino acid changes in the Spike glycoprotein. Six of these mutations are of epidemiological interest, and 13 are related to host cell receptor binding or antigenicity, thereby increasing virus transmissibility. The T19I mutation, considered an immune escape mechanism, was identified in the BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1, and XBB.1.5 sublineages. Phylogenetic analysis revealed that sublineages BA.1\*, BA.2\*, and BA.5\* have evolved independently, although they share a common ancestor. On the other hand, sublineages XBB.1 and XBB.1.5 are the result of recombination between two BA.2\* sublineages, while BQ.1\* and BQ.1.1.13 have evolved from the BA.5\* sublineage. These results show the importance of maintaining surveillance of the evolution of the virus in Ecuador.

**Keywords:** SARS-CoV-2, Omicron, Sublineage, Spike glycoprotein, SNPs, GISAID, Nextclade, Snipit, Covsurver.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Planteamiento del problema

A raíz del apareamiento del SARS-CoV-2 en la provincia China de Wuhan, a finales de 2019, este virus se dispersó alrededor del mundo con mucha velocidad, debido a la globalización y a la facilidad con que hoy en día las personas pueden viajar entre países y continentes en cuestión de horas, además de la capacidad del virus de acumular mutaciones en su genoma, lo que ha dado lugar al origen de nuevas variantes, con mejores capacidades de transmisibilidad, dificultades para ser detectadas por las distintas pruebas diagnósticas e incluso siendo capaces de evadir la respuesta inmune natural y adquirida por medio de las vacunas (Organización Mundial de la Salud, 2021).

Ecuador registró el primer caso de la variante Ómicron en diciembre de 2021, esta variante ha demostrado poseer una cantidad sustancial de mutaciones, que le permitieron desplazar en pocas semanas a la variante Delta, y ha dado origen a diferentes sublinajes que se encuentran circulando en Ecuador (Carrasco, *et al.*, 2022). Por otra parte, las mutaciones de simple nucleótido (SNPs: Single Nucleotide Polymorphism) de los sublinajes que circulan en el país, no han sido identificadas, y tampoco se ha estudiado el impacto de estas sobre la capacidad epidémica y de evasión inmunitaria del virus, por lo que se desconoce el verdadero potencial epidémico de estos sublinajes en la población ecuatoriana.

### 1.2 Justificación

Tomando en cuenta que la secuenciación del genoma completo es considerada como el procedimiento gold estándar para la identificación de una variable de interés (VoI) o preocupación (VoC), así como sus respectivos sublinajes; en el Ecuador se han redoblado esfuerzos para secuenciar la mayor cantidad de genomas completos de SARS-CoV-2 posibles (Organización Panamericana de la Salud, 2021). Según datos de GISAID (Global Initiative to Share All Influenza Data), hasta enero de 2023 en Ecuador se han secuenciado 9479 genomas virales de SARS-CoV-2, de los cuales 5098 corresponden a genomas de la variante Ómicron, la cual ha dominado en el mundo durante el año 2022. Actualmente en el Ecuador circulan varios sublinajes de esta variante, cada uno con diferentes características epidemiológicas, producidas por las distintas mutaciones que se encuentran en sus genomas, las mismas que no han sido identificadas y estudiadas (Carrasco, *et al.*, 2022). En el contexto de la pandemia por SARS-CoV-2, el estudio de las mutaciones de las diferentes variantes y sublinajes, es muy importante

para la vigilancia genómica y el manejo de la situación epidemiológica de un país. La identificación de las mutaciones de simple nucleótido (SNPs) de los diferentes sublinajes de Omicron que circulan en Ecuador, permite conocer el impacto de estos cambios genéticos sobre las diferentes capacidades de infección y evasión de la respuesta inmune de cada sublinaje viral, lo que representa una poderosa herramienta para entender la epidemiología del virus, y reforzar las medidas de vigilancia sobre los sublinajes que contengan mutaciones con mayor potencial epidémico y letal (Carrasco, *et al.*, 2022).

### 1.3 Objetivos

#### 1.3.1 Objetivo General

Realizar un análisis comparativo del genoma de los diferentes sublinajes de la variante Ómicron de SARS-CoV-2 en Ecuador.

#### 1.3.2 Objetivos específicos

- Encontrar todos los genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador.
- Conocer todos los sublinajes de la variante Ómicron que circulan en Ecuador en la actualidad.
- Identificar las mutaciones puntuales (SNPs) de los sublinajes de la variante Ómicron que circulan en el Ecuador.
- Inferir la significancia biológica de las mutaciones encontradas sobre la capacidad epidémica del virus.
- Modelar en 3D la glicoproteína Spike de los sublinajes más comunes en Ecuador.
- Elaborar un árbol filogenético para determinar la distancia evolutiva entre los sublinajes de la variante Ómicron circulantes en el Ecuador.

### 1.4 Marco teórico

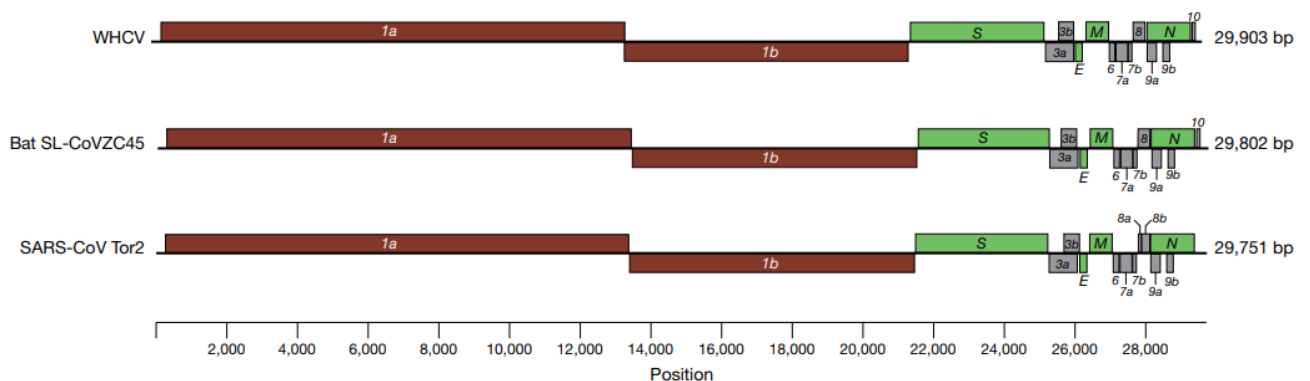
#### 1.4.1 Estructura genómica del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario que es parte del género de los betacoronavirus, posee un diámetro de 80 a 120 nm aproximadamente, y debe su nombre a las glicoproteínas de superficie que posee, las cuales tienen forma de una corona (Wu, *et al.*, 2020).

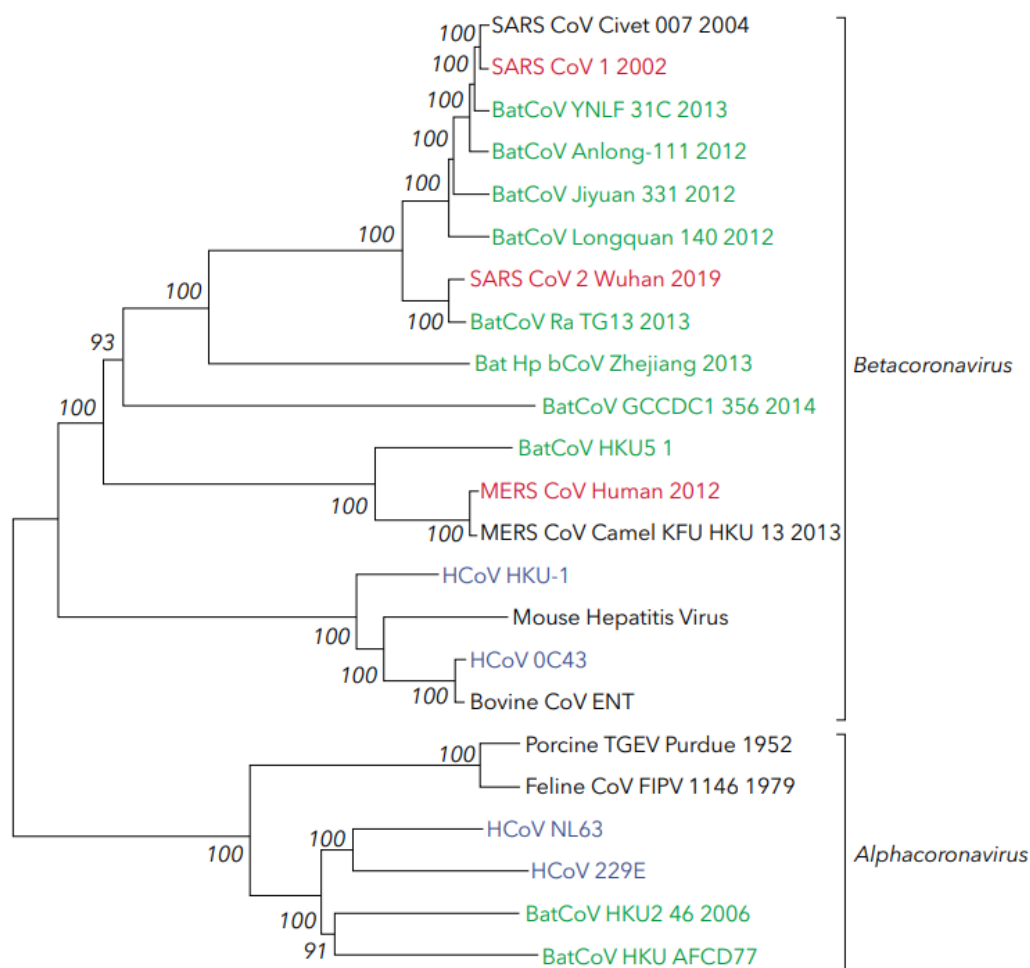
Su genoma está formado por 29903 pares de bases aproximadamente, con dos regiones UTR (*Untranslated Regions*) en sus extremos, y 10 ORF (*Open Reading Frame*) (Núñez Medina & Zabala-Haro,2023).

Dos tercios del genoma del virus están compuestos principalmente por los ORF1a y ORF1b, que forman las proteínas pp1a y pp1ab, las cuales permiten la replicación del virus. El resto del genoma codifica cuatro proteínas estructurales diferentes. El ORF2 codifica la glicoproteína Spike (S), esta proteína permite que el virus se una a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) humana. El ORF4 codifica las proteínas de envoltura (E), las cuales participan en el ensamble de la estructura viral. El ORF5 codifica la proteína de membrana (M), la que permite el transporte de nutrientes por medio de la membrana. Finalmente, el ORF9 codifica la proteína de la nucleocápside del virus (N), la cual esta unida al ARN del virus y forma la nucleocápside del mismo (Hernández *et al.*, 2021) (Núñez Medina & Zabala-Haro,2023).

El SARS-Cov-2 presenta una estructura genómica similar al coronavirus de murciélago bat-SL-CoVZC45 y al SARS-CoV-1 Tor2 (Figura 1), por esta razón estos virus han sido relacionados evolutivamente como muy cercanos (Figura 2) (Wu, *et al.*,2020).



**Figura 1.** Estructura del genoma de SARS-CoV-2 (WHCV: Wuhan Coronavirus), comparada con la estructura genómica del coronavirus de murciélago (bat-SL-CoVZC45) y el SARS-CoV-1 Tor2. Fuente: (Wu, *et al.*,2020).



**Figura 2.** Árbol Filogenético de los coronavirus de importancia médica. Fuente: (Toro y Díaz, 2020).

### 1.4.2 Capacidad epidémica del SARS-CoV-2

Algunos coronavirus humanos (HCoV) se han caracterizado por presentar un gran potencial epidémico, los mismos que han impactado en gran medida a la población mundial, causando tres brotes de riesgo a gran escala: el SARS-CoV, el MERS-CoV y el SARS-CoV-2 (Harrison *et al.*, 2020).

A finales del año 2019 se presentó el brote de mayor importancia, detectado en varios hospitales de la provincia de Wuhan en China, convirtiéndose en un desafío para los sistemas de salud pública de todo el mundo (Santander *et al.*, 2021). La OMS declaró pandemia mundial al

SARS-CoV-2, causante del COVID-19 y la definió como una emergencia de salud de importancia internacional, al confirmarse más de 118 000 casos en 114 países y miles de muertes asociadas a manifestaciones clínicas semejantes a la neumonía (Jin, *et al.*, 2020) (Ministerio de Salud Pública, 2021).

En países en vía de desarrollo, como Ecuador, las capacidades de diagnóstico molecular y secuenciación del genoma viral tuvieron que incrementarse para hacer frente al incremento de casos durante la pandemia, es así, que la Organización Panamericana de la Salud, en el año 2020 creó la Red Regional de Vigilancia Genómica COVID-19, la cual fomenta la implementación de la vigilancia genómica de rutina entre los países miembros, con la finalidad de aumentar la disponibilidad de datos de secuenciación a nivel global. De esta manera se ha maximizado la cantidad de información genómica producida, así como la reducción del tiempo desde la toma de muestra, la secuenciación y la notificación en bases de datos especializadas como GISAID (Global Initiative to Share All Influenza Data), datos compartidos a nivel mundial que permiten conocer a profundidad los mecanismos moleculares y evolutivos del virus del SARS-CoV-2, para generar políticas de salud que ayuden a su mitigación (Organización Panamericana de la Salud, 2021).

### **1.4.3 Variantes de SARS-CoV-2**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha categorizado las diferentes variantes del virus SARS-CoV-2 en: Variantes de Interés (VoI) y Variantes de Preocupación (VoC). Las VoI engloban aquellas variantes que presentan mutaciones en los aminoácidos que están asociadas con cambios fenotípicos conocidos, como la transmisión comunitaria, la presencia de múltiples casos y conglomerados de casos de COVID-19, así como su detección en varios países. Por otro lado, las VoC se refieren a las variantes que presentan un aumento en su capacidad de transmisión, incluyendo una mayor virulencia o cambios en la presentación clínica de la enfermedad. Estas variantes también pueden disminuir la eficacia de las medidas de distanciamiento social, así como de las vacunas y medicamentos disponibles. Es importante destacar que la definición de variantes de interés y preocupación es dinámica y está sujeta a cambios basados en nueva evidencia científica. Actualmente, se reconocen dos VoI: lambda y Mu, y cinco VoC: alpha, beta, gamma, delta y ómicron (Organización Mundial de la Salud, 2021).

#### 1.4.4 Variante ómicron y los sublinajes identificados en Ecuador

La variante Ómicron fue reportada por primera ocasión en Botsuana en el mes de noviembre de 2021 y presenta una gran variedad de mutaciones en su genoma en comparación con otras variantes (Callaway, 2021). Se han identificado un total de quince mutaciones en la región RBD (Receptor Binding Domain), la cual forma parte de la glicoproteína Spike, lo que le permite una mayor facilidad para unirse a los receptores de la célula humana; por lo que Ómicron es más transmisible que la cepa original reportada en Wuhan. Además, la cápside de Ómicron está compuesta por aminoácidos hidrofóbicos, que son esenciales para su estructura y estabilidad; de la misma manera, también se han identificado las mutaciones de la nucleocápside R203K y G204R, vinculadas a la replicación viral (Carrasco, *et al.*, 2022).

En el Ecuador, la pandemia cambió inesperadamente con la introducción de Ómicron en diciembre de 2021. En consecuencia, el país ha registrado la mayor cantidad de casos positivos desde que comenzó de la pandemia, con un total de 310.472 casos entre enero y marzo de 2022. Debido a su alta capacidad de transmisión, Ómicron se ha convertido en la variante dominante en todo el mundo y desplazó en pocas semanas a Delta. Hasta el mes de marzo de 2022 se identificaron en Ecuador 12 sublinajes diferentes de Ómicron, los mismos que fueron introducidos desde países de América, Europa y Asia como se indica en la Tabla 1 (Carrasco, *et al.*, 2022). Actualmente la cantidad de sublinajes de Ómicron que circulan en el país ha aumentado debido al avance de la pandemia.

**Tabla 1.** Origen de los sublinajes de Ómicron circulantes en Ecuador, hasta marzo de 2022.

Clado	Sublinajes	Origen
21K	BA.1.1	USA y Reino Unido
21K	BA.1	Reino Unido, USA y Alemania
21K	BA.1.14	Brasil
21K	BA.1.15	USA
21K	BA.1.17	Europa
21L	BA.2	Reino Unido, Dinamarca y Alemania
21K	BA.1.16	Reino Unido
21K	BA.1.1.14	Europa
21K	BA.1.6	Canadá
21K	BA.1.1.2	Japón
21K	BA.1.1.1	Europa
21L	BA.2.3	Filipinas

#### **1.4.5 Single Nucleotide Polymorphism (SNP)**

Son polimorfismo de un solo nucleótido, se refieren a una variación genética en la que se encuentra una diferencia de un solo nucleótido (A, T, C o G) en una posición específica del genoma. Los SNPs son comunes en el genoma humano y pueden ser utilizados para estudiar la variabilidad genética entre individuos y poblaciones (Leaché & Oaks, 2017).

En el contexto del SARS-CoV-2, los SNPs sirven para estudiar la evolución y la propagación del virus. Se suele estudiar las diferencias en los genomas de las distintas variantes y sublinajes del virus para entender cómo se propagan y cambian a lo largo del tiempo. Los estudios de SNPs también pueden ayudar a identificar mutaciones que provoquen diferencias en la virulencia, transmisibilidad y escape inmunitario entre diferentes sublinajes del virus. Además, también permiten identificar aquellos sublinajes del virus que son más resistentes a las terapias existentes (Mertens, *et al.*, 2022).

#### **1.4.6 Global Initiative to Share All Influenza Data (GISAID)**

La iniciativa global para compartir todos los datos de influenza (GISAID), es una base de datos global que contiene información genética de virus respiratorios, principalmente del virus de la influenza y el SARS-CoV-2, y a partir del 2022 también almacena información del virus de la viruela Símica (MonkeyPox). La base de datos se creó en 2008 para proporcionar acceso a datos genéticos de virus respiratorios a investigadores de todo el mundo. Los datos almacenados en GISAID incluyen secuencias genéticas completas de virus producidas por secuenciación, información epidemiológica asociada, y datos clínicos de pacientes infectados. GISAID también proporciona herramientas para analizar y comparar las secuencias genéticas, lo que permite a los investigadores estudiar el origen, la evolución y la propagación de los virus respiratorios. Esta base de datos es esencial para el monitoreo y el control de las epidemias de virus respiratorios a nivel mundial y para el desarrollo de vacunas y tratamientos eficaces (Shu & McCauley, 2017).

#### **1.4.7 Nextclade**

Nextclade es una plataforma de análisis genómico, la cual permite analizar secuencias genéticas de virus y otras enfermedades infecciosas, incluido el SARS-CoV-2. Acepta diferentes tipos de datos genéticos, incluyendo secuencias de ADN y ARN en formato FASTA, así como información epidemiológica y clínica relacionadas con el virus (Aksamentov, *et al.*, 2021).

La aparición de las variantes de preocupación del SARS-CoV-2 ha destacado la importancia de una vigilancia molecular global de diferentes patógenos mediante la secuenciación genómica, lo que ha generado la necesidad de un análisis fácil, rápido y descentralizado de los datos iniciales. En ese sentido, Nexclade ofrece una variedad de herramientas para analizar y comparar las secuencias genéticas de SARS-CoV-2. Alinea los genomas virales con una secuencia de referencia, además calcula varias métricas de control de calidad (QC), asigna secuencias a un clado o variante e identifica los cambios en las proteínas virales. Esto permite a los investigadores estudiar la evolución del virus, identificar las mutaciones responsables de cambios en la patogenicidad y la transmisión, y detectar nuevos brotes y cepas emergentes. También, permite realizar un seguimiento de la propagación del virus y ayudar a comprender las dinámicas de transmisión, lo cual es fundamental para tomar decisiones y medidas de prevención y control (Aksamentov, *et al.*,2021).

Además, Nexclade también ofrece herramientas de visualización para ayudar a los investigadores a comprender y comunicar mejor sus hallazgos, incluyendo mapas interactivos y visualizaciones de datos en tiempo real. Siendo una herramienta valiosa para la vigilancia genómica del SARS-CoV-2, para la investigación en salud pública y el control de epidemias, ya que permite a los investigadores analizar y comprender mejor la genética del virus y ayuda a desarrollar estrategias eficaces para prevenir y controlar las epidemias (Aksamentov, *et al.*,2021).

#### **1.4.8 Outbreak.info**

Outbreak.info es una plataforma de investigación creada para responder a la pandemia de SARS-CoV-2. Esta plataforma recopila y agrupa información de diferentes fuentes científicas ofreciendo una gran variedad de información, incluyendo los casos confirmados y fallecimientos, los mapas de riesgo, las noticias actualizadas, los informes de expertos y las estadísticas en tiempo real. También ofrece una variedad de gráficos y visualizaciones para ayudar a los usuarios a comprender mejor la información. El objetivo de outbreak.info es proporcionar información precisa y actualizada sobre brotes de enfermedades infecciosas para ayudar a las autoridades sanitarias y a la comunidad global a tomar medidas de prevención y controlar la propagación de la enfermedad (Gangavarapu, *et al.*,2022).

## 2. METODOLOGÍA

Se dividió la metodología en cuatro etapas, detalladas a continuación:

- Búsqueda de todos los genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador.
- Identificación de SNPs
- Determinación de la importancia biológica de las mutaciones encontradas
- Análisis Filogenético

### 2.1 Búsqueda de todos los genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador

Se realizó una búsqueda avanzada en la base de datos biológicos GISAID (Shu & McCauley, 2017) para filtrar únicamente los registros correspondientes a genomas virales de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador hasta el 31 de diciembre de 2022. Posteriormente se descargaron las secuencias de los genomas encontrados en formato FASTA, así como la metadata vinculada a estas secuencias, para lo cual se generó el EPI\_SET ID: EPI\_SET\_230316zq, que se encuentra disponible en: <https://doi.org/10.55876/gis8.230316zq>

Las secuencias en formato FASTA fueron analizadas en la plataforma bioinformática NextClade Web, para determinar el clado y sublinaje correspondiente a cada genoma viral, y así conocer todos los sublinajes de ómicron que han circulado en Ecuador hasta finales del 2022 (Aksamentov, *et al.*,2021). Los clados y sublinajes asignados fueron cotejados con la metadata obtenida de GISAID, de tal manera que se construyó un gráfico de línea de tiempo para observar los sublinajes dominantes durante el 2022 en la plataforma Outbreak.info, así como la distribución de estos por cada provincia (Gangavarapu, *et al.*,2022).

### 2.2 Identificación de SNPs

Se alinearon todos los genomas descargados de GISAID frente al genoma de referencia del SARS-CoV-2 de Wuhan-Hu-1/2019 (MN908947), en la plataforma NextClade (Aksamentov, *et al.*,2021), la cual además de la asignación de clado y linaje, identificó el total de SNPs y las posiciones de estas mutaciones dentro del genoma en cada una de las secuencias analizadas.

Adicionalmente se descargó el archivo en formato FASTA del alineamiento realizado en NextClade de los sublinajes más prevalentes, para graficar la posición de los SNPs en relación con el genoma de referencia, utilizando la herramienta bioinformática Snipit, la cual fue instalada previamente en el sistema operativo Linux, mediante la línea de comando: `pip install`

snipit, y fue ejecutada mediante el comando: `snipit <alignment> [options]` (O'Toole, *et al.*,2020).

### 2.3 Determinación de la importancia biológica de las mutaciones encontradas

Se utilizó la plataforma bioinformática Outbreak.info, la cual permite identificar los cambios en la proteínas, inserciones y deleciones en el genoma del virus, así como la prevalencia de estas mutaciones en los distintos sublinajes (Gangavarapu, *et al.*,2022). Para fines prácticos, se puso énfasis en las mutaciones encontradas en la glicoproteína Spike y el resto de las proteínas estructurales (E, M y N), y se investigó la importancia biológica de las mutaciones más comunes en los sublinajes más prevalentes del Ecuador.

Finalmente se utilizó la herramienta bioinformática CoVsurver, para anotar las mutaciones y modelar en 3D la glicoproteína Spike de los sublinajes más prevalentes. Esta herramienta realiza el alineamiento de cada secuencia frente al genoma de referencia de Wuhan, y compara estos resultados con diferentes bases de datos que almacenan información sobre secuencias de referencia, cambios de aminoácidos conocidos y posiciones estructurales relevantes; lo que permite identificar, analizar e interpretar mutaciones que puedan tener importancia fenotípica o epidemiológica (Khare, *et al.*,2021).

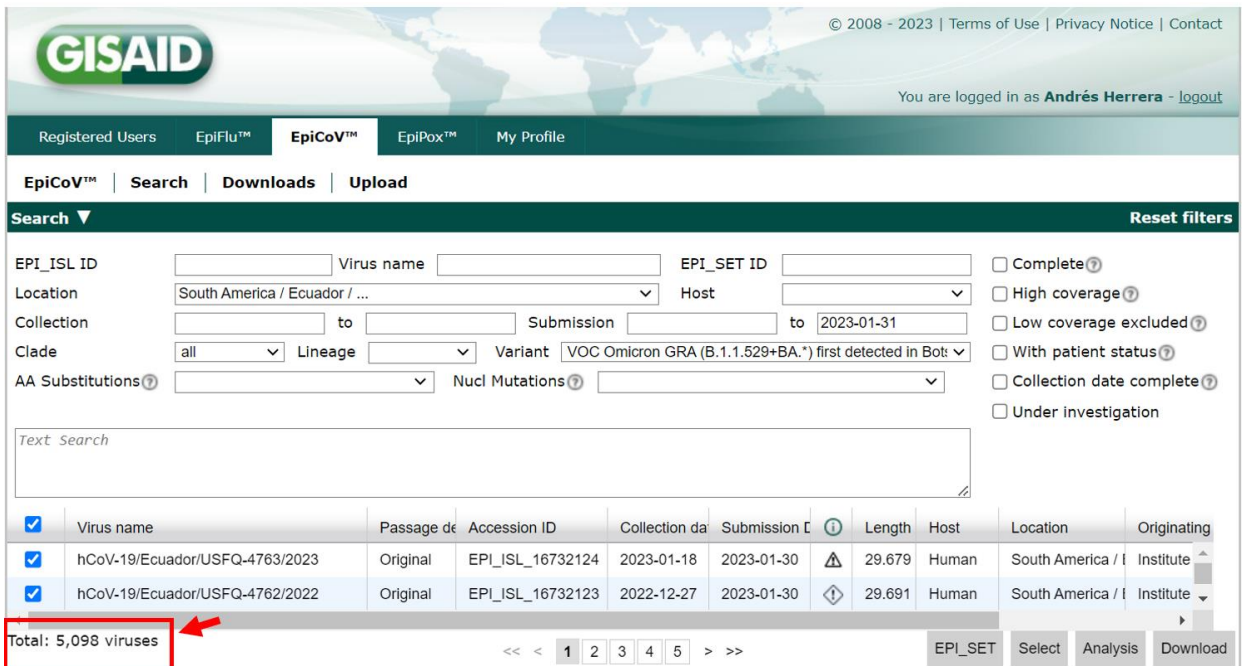
### 2.4 Análisis filogenético

Finalmente, se realizó un alineamiento múltiple con la herramienta MUSCLE, entre las secuencias de los sublinajes más prevalentes, la secuencia del SARS-CoV-2 de Wuhan y la secuencia del SARS-CoV-1, como outgroup. Se utilizó el algoritmo de máxima verosimilitud de IQTree con un valor de Bootstrap de 1000, para realizar el análisis filogenético de todas las secuencias alineadas, y así tener una estimación más precisa y detallada de las relaciones evolutivas de los sublinajes analizados (Minh, *et al.*,2013). Finalmente, el árbol fue visualizado utilizando la herramienta FigTree V1.4.4 (Rambaut, 2007).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Genomas de la variante Ómicron secuenciados en Ecuador

Hasta el 31 de enero de 2023, se encontraron en GISAID un total de 9391 genomas secuenciados de SARS-CoV-2 en el Ecuador, de los cuales 5098 corresponden a la variante Ómicron (Figura 3).



The screenshot shows the GISAID EpiCoV search interface. The top navigation bar includes 'Registered Users', 'EpiFlu™', 'EpiCoV™', 'EpiPox™', and 'My Profile'. The main search area has a 'Search' dropdown and a 'Reset filters' button. The search filters include: EPI\_ISL ID, Location (South America / Ecuador / ...), Collection (to 2023-01-31), Clade (all), Lineage, Variant (VOC Omicron GRA (B.1.1.529+BA.\*) first detected in Bot), AA Substitutions, and Nucl Mutations. On the right, there are checkboxes for 'Complete', 'High coverage', 'Low coverage excluded', 'With patient status', 'Collection date complete', and 'Under investigation'. Below the filters is a 'Text Search' box. The results table has columns: Virus name, Passage date, Accession ID, Collection date, Submission ID, Length, Host, Location, and Originating. Two rows are visible, both for hCoV-19/Ecuador/USFQ-4763/2023 and hCoV-19/Ecuador/USFQ-4762/2022. A red box highlights the 'Total: 5,098 viruses' text at the bottom left of the table area.

<input checked="" type="checkbox"/>	Virus name	Passage date	Accession ID	Collection date	Submission ID	Length	Host	Location	Originating
<input checked="" type="checkbox"/>	hCoV-19/Ecuador/USFQ-4763/2023	Original	EPI_ISL_16732124	2023-01-18	2023-01-30	29.679	Human	South America / I	Institute
<input checked="" type="checkbox"/>	hCoV-19/Ecuador/USFQ-4762/2022	Original	EPI_ISL_16732123	2022-12-27	2023-01-30	29.691	Human	South America / I	Institute

**Figura 3.** Genomas de Ómicron secuenciados en Ecuador, disponibles en la plataforma GISAID.

La pandemia de SARS-CoV-2 ha permitido aumentar la capacidad de secuenciación genómica de los países miembros de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), incluyendo Ecuador. La necesidad de monitorear la evolución del virus y la identificación de nuevas variantes ha impulsado a los países a mejorar y ampliar sus capacidades de secuenciación. La creación de la Red de Vigilancia Genómica de COVID-19 en la Región de las Américas, en marzo de 2020, ha permitido aumentar los datos de secuenciación disponibles a nivel mundial, resultando fundamental para optimizar procedimientos de diagnóstico, el desarrollo de vacunas y para comprender la evolución y la epidemiología molecular del SARS-CoV-2 (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

En este sentido, las capacidades de secuenciación genómica en Ecuador han mejorado considerablemente, al punto de que se encuentra entre los diez países miembros de la OPS que han reportado el mayor número de secuencias en la plataforma de GISAID. Esto ha permitido establecer una vigilancia genómica de rutina para fortalecer la capacidad de detección temprana y seguimiento de virus con potencial epidémico en el país (Organización Panamericana de la Salud, 2020).

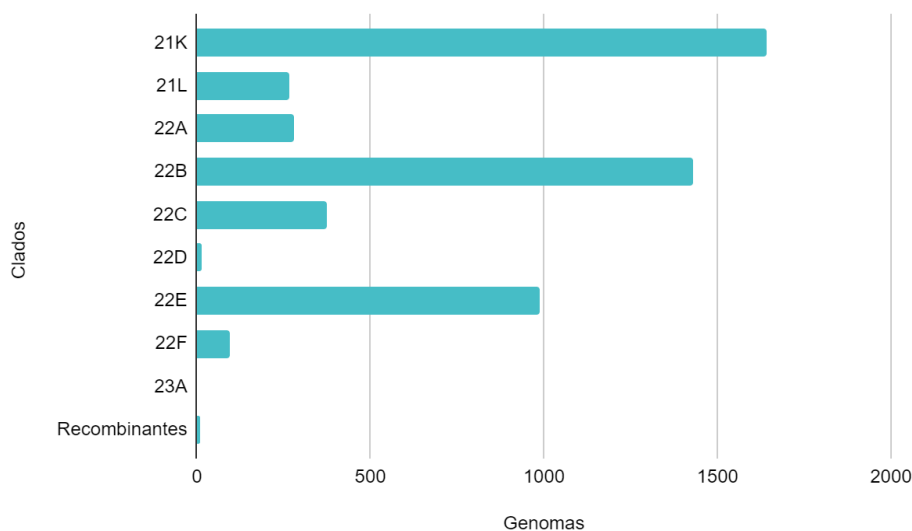
### 3.2 Clados de la variante Ómicron que circulan en Ecuador

Los 5098 genomas de Ómicron secuenciados en Ecuador se clasifican dentro de nueve clados y 11 genomas recombinantes (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clados de la variante Ómicron que circularon en Ecuador, hasta enero de 2023.

Nro	Clados	Genomas
1	21K	1642
2	21L	265
3	22 <sup>a</sup>	279
4	22B	1429
5	22C	374
6	22D	16
7	22E	986
8	22F	95
9	23 <sup>a</sup>	1
10	Recombinantes	11
<b>Total</b>		<b>5098</b>

En la Figura 4 se observa que los clados con la mayor cantidad de genomas corresponden a los clados 21K (32,20%), 22B (28,05%) y 22E 19,34%).

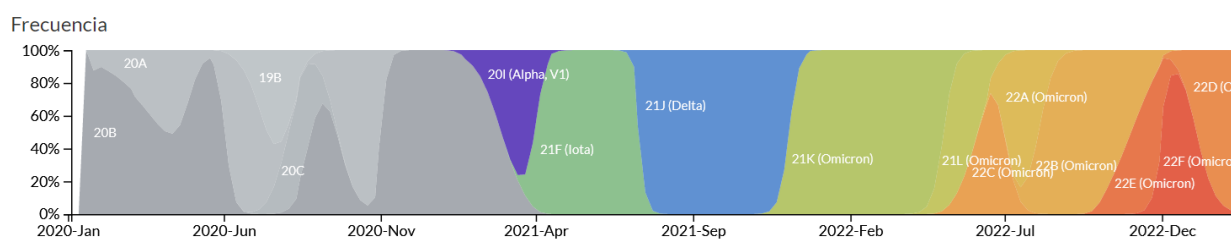


**Figura 4.** Clados de la variante Ómicron que circularon en Ecuador, hasta enero de 2023.

En genómica, un clado corresponde a un grupo de organismos que comparten un ancestro común y, por lo tanto, tienen características similares dentro de su genoma. En el contexto de la evolución de SARS-CoV-2, los clados son grupos de genomas que difieren entre sí en ciertas mutaciones que han surgido a lo largo del tiempo (Badua, *et al.*, 2021).

La variante Ómicron ha evolucionado a partir de mutaciones acumuladas en el genoma del virus, por lo que se han identificado varios clados de Ómicron que difieren entre sí dependiendo de la cantidad y la ubicación de las mutaciones. La identificación de diferentes clados de una variante puede resultar útil para rastrear la propagación del virus y monitorear el apareamiento de nuevas variantes a lo largo del tiempo (Kandeel, *et al.*,2022). En ese sentido, en este estudio se identificaron nueve clados diferentes de Ómicron en el Ecuador hasta enero de 2023, a diferencia de lo reportado por Carrazco, *et al.*, quienes hasta marzo de 2022 habían reportado en el Ecuador solamente a los clados 21K y 21L (Carrazco, *et al.*,2022).

Estos resultados indican que, en el último año circularon al menos siete nuevos clados en el país, como muestra la Figura 5, el clado 21K fue dominante en Ecuador hasta mediados de 2022, donde fue desplazado por los clados 21L, 22A, 22C y el clado 22B, el cual fue dominante hasta finales de 2022, en donde fue desplazado por el clado 22E, que se ha convertido en el clado dominante hasta la actualidad. Se debe tomar en cuenta que la variante Ómicron surgió en un contexto mundial de altas tasas de transmisión viral, lo que aumenta la probabilidad de que aparezcan mutaciones que se van acumulando en el genoma del virus en un corto periodo de tiempo, lo que ha resultado en la aparición de múltiples clados (Kandeel, *et al.*,2022). El clado que dominó durante más tiempo en Ecuador fue 21K, lo cual explicaría la mayor cantidad de genomas secuenciados pertenecientes a este clado.



**Figura 5.** Clados de SARS-CoV-2 circulantes en Ecuador, hasta enero de 2023.

### 3.3 Sublinajes de la variante Ómicron que circulan en Ecuador

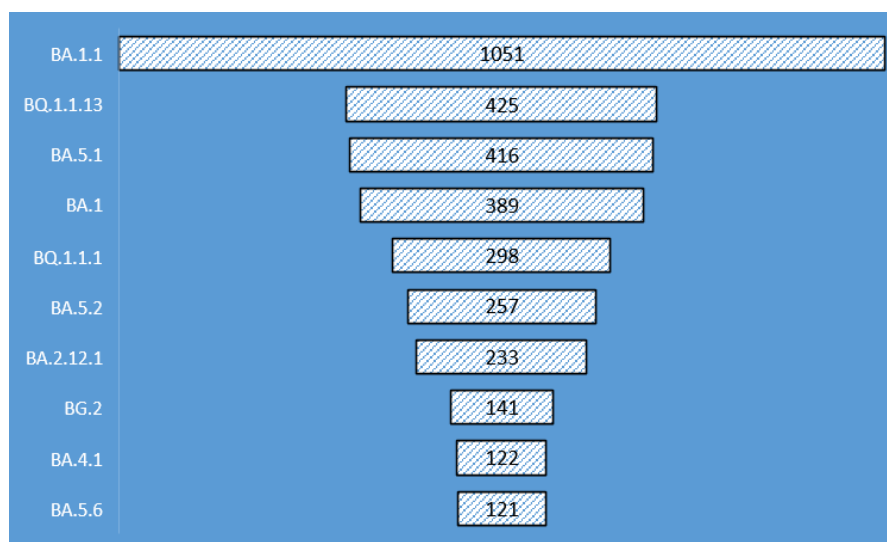
Dentro de los 5098 genomas de Ómicron reportados por Ecuador en GISAID, se han identificado un total de 160 sublinajes distintos. Estos sublinajes se encuentran detallados en la Tabla 3, presentados en orden descendente de prevalencia, desde el más común al menos frecuente. Entre estos sublinajes, se han identificado 45 casos en los que solo se ha secuenciado un genoma para cada uno de ellos

**Tabla 3.** Sublinajes de la variante Ómicron que circulan en Ecuador.

Nro.	Sublinaje	Genomas	Nro.	Sublinaje	Genomas	Nro.	Sublinaje	Genomas	Nro.	Sublinaje	Genomas
1	BA.1.1	1051	41	BA.4.1.6	13	81	BA.5.1.18	3	121	BA.4.2	1
2	BQ.1.1.13	425	42	BA.2.35	12	82	BA.5.1.3	3	122	BA.5.1.10	1
3	BA.5.1	416	43	BQ.1.1.18	12	83	BA.5.1.8	3	123	BA.5.1.4	1
4	BA.1	389	44	BQ.1.22	12	84	BA.5.2.21	3	124	BA.5.2.18	1
5	BQ.1.1.1	298	45	B.1.1.529	11	85	BA.5.2.34	3	125	BA.5.2.19	1
6	BA.5.2	257	46	BA.1.17	11	86	BE.3	3	126	BA.5.2.2	1
7	BA.2.12.1	233	47	BA.2.3.15	10	87	BF.1	3	127	BA.5.2.27	1
8	BG.2	141	48	BF.5	10	88	BF.25	3	128	BA.5.2.3	1
9	BA.4.1	122	49	BA.1.20	9	89	BF.4	3	129	BA.5.2.35	1
10	BA.5.6	121	50	BA.2.53	9	90	BN.1.2	3	130	BA.5.5.2	1
11	BA.5.1.1	116	51	BA.2.12	8	91	BQ.1.2	3	131	BA.5.9	1
12	BA.2	103	52	BE.1	8	92	CA.7	3	132	BE.1.1.1	1
13	BA.5.2.1	103	53	BE.9	8	93	CH.1.1	3	133	BE.1.2	1
14	BA.1.14	92	54	BQ.1.5	8	94	XAS	3	134	BE.1.4.1	1
15	BQ.1.1	87	55	XBB	8	95	BA.1.1.1	2	135	BF.14	1
16	XBB.1	68	56	BA.2.1	7	96	BA.1.15.2	2	136	BF.21	1
17	BA.4.6	67	57	BA.5.1.23	7	97	BA.1.18	2	137	BF.28	1
18	BA.1.15	62	58	BA.5.2.9	7	98	BA.1.6	2	138	BF.31	1
19	BA.2.9	49	59	BA.5.3	6	99	BA.2.23	2	139	BF.31.1	1
20	BA.5.1.25	46	60	BA.5.6.1	6	100	BA.2.3.14	2	140	BF.7.4	1
21	BA.5.5	40	61	BE.1.1	6	101	BA.2.38	2	141	BF.9	1
22	BQ.1.1.3	37	62	BQ.1.18	6	102	BA.2.72	2	142	BN.1.3.1	1
23	BA.4.6.5	33	63	BA.1.1.14	5	103	BA.2.9.7	2	143	BN.1.5	1
24	BA.5.6.2	32	64	BA.1.16	5	104	BA.5.1.21	2	144	BQ.1.1.10	1
25	BA.4	28	65	BA.1.17.2	5	105	BA.5.1.24	2	145	BQ.1.1.17	1
26	BE.4	26	66	BA.2.44	5	106	BE.1.4	2	146	BQ.1.1.5	1
27	BQ.1.10.1	25	67	BA.5.1.22	5	107	BF.10	2	147	BQ.1.1.6	1
28	BA.5	24	68	BA.5.2.20	5	108	BF.24	2	148	BQ.1.1.9	1
29	BA.5.1.12	22	69	BA.5.3.1	5	109	BF.27	2	149	BQ.1.10	1
30	BA.5.1.2	20	70	BA.5.8	5	110	BF.7.4.1	2	150	BQ.1.23	1
31	BQ.1	19	71	BF.7	5	111	BQ.1.3	2	151	BQ.1.8	1
32	XBB.2	19	72	BQ.1.13	5	112	CK.2.1.1	2	152	BT.2	1
33	BA.2.36	17	73	BQ.1.25	5	113	XAJ	2	153	CN.1	1
34	DE.1	17	74	BA.2.3	4	114	XAR	2	154	CP.5	1
35	BA.2.13	15	75	BA.5.1.6	4	115	XAU	2	155	CR.1	1
36	BA.4.4	15	76	BN.1	4	116	BA.1.1.2	1	156	CR.1.3	1
37	BA.5.1.30	15	77	BQ.1.6	4	117	BA.2.10	1	157	DJ.1.1.1	1
38	BQ.1.1.4	15	78	CK.1	4	118	BA.2.13.1	1	158	XAN	1
39	BQ.1.1.41	15	79	BA.2.18	3	119	BA.2.3.5	1	159	XBB.1.5	1
40	BF.26	14	80	BA.2.56	3	120	BA.2.75.2	1	160	XBL	1

Los sublinajes de SARS-CoV-2 son grupos genéticos que surgen de mutaciones dentro de un clado. Estos sublinajes comparten características similares con el clado principal, pero presentan diferencias genéticas que los distinguen de otros sublinajes pertenecientes al mismo clado. En el caso específico de la variante Ómicron, su alta capacidad de transmisión ha propiciado el surgimiento de mutaciones que generan diferencias dentro un clado, las cuales han definido la aparición de nuevos sublinajes (Organización Panamericana de la Salud, 2022). Hasta marzo de 2022, se registraron oficialmente en Ecuador 12 sublinajes de Ómicron. Sin embargo, a partir de entonces y hasta enero de 2023, se han reportado 160 sublinajes de esta variante, lo que indica una evolución acelerada de la diversidad genética del virus en el país, que además de la alta transmisibilidad puede estar relacionada a la capacidad para evadir la inmunidad adquirida por vacunación o por infección previa (Carrasco, *et al.*, 2022).

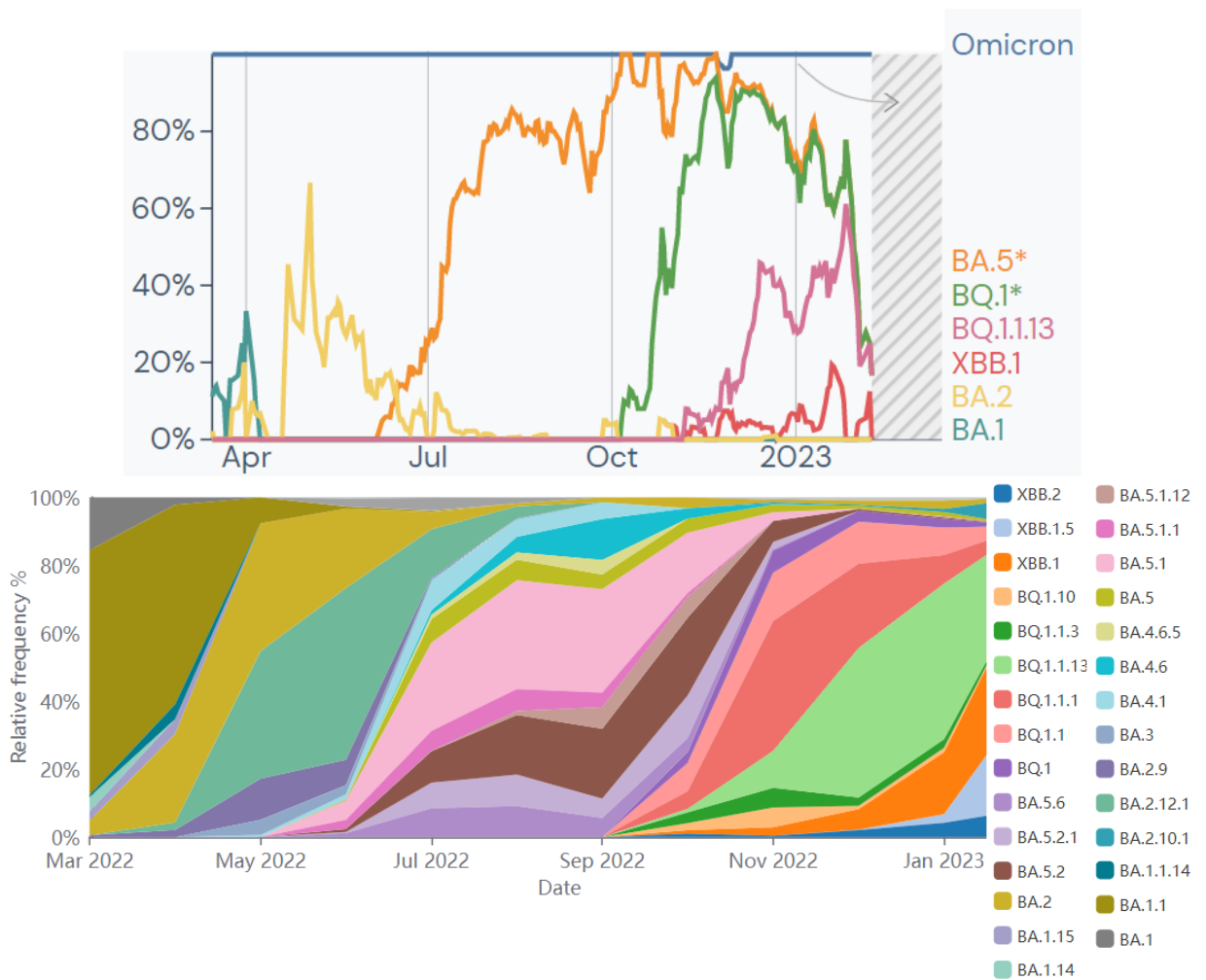
En la Figura 6 se observan los sublinajes históricamente más prevalentes en Ecuador hasta enero del 2023, donde el sublinaje más abundante es BA.1.1 con 1051 genomas, que representan el 20,61% de todos los genomas de ómicron secuenciados en Ecuador; seguidos del sublinaje BQ.1.1.13 con 425 (8,33%) y BA.5.1 con 416 (8,16%).



**Figura 6.** Sublinajes de Ómicron más prevalentes en Ecuador, hasta enero de 2023.

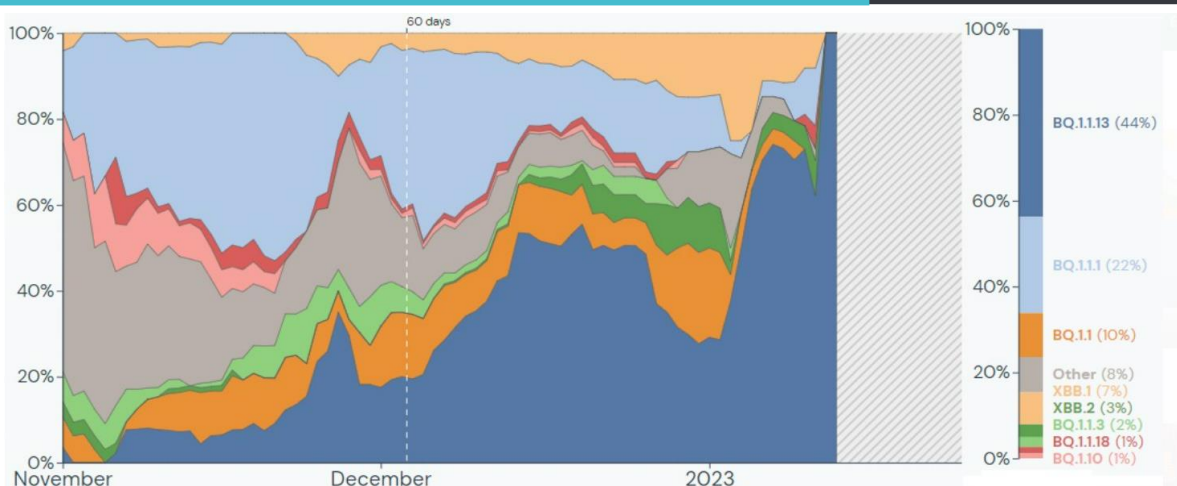
Existieron varios sublinajes dominantes a lo largo del tiempo, tal como se muestra en la Figura 7. Donde el sublinaje BA.1\*, fue dominante en Ecuador hasta abril del 2022, lo que es concordante con lo reportado en estudios realizados en el país durante ese periodo (Carrasco, *et al.*, 2022). En los meses de mayo y junio de 2022 el sublinaje dominante fue BA.2\*, hasta el mes

de julio en donde fue desplazado por el sublinaje BA.5\*. Por otra parte, el sublinaje BQ.1\* tuvo un crecimiento exponencial desde el mes de octubre de 2022, dentro de este sublinaje destaca el BQ.1.1.13, el cual se convirtió en el sublinaje dominante en Ecuador desde la última semana de noviembre de 2022, hasta enero de 2023. También es importante destacar el apareamiento del linaje XBB.1\*, el cual empezó a crecer en el mes de noviembre. La importancia de este sublinaje radica en su capacidad de evadir la respuesta inmune natural y adquirida por medio de la vacunación, este sublinaje ha tenido un crecimiento importante y se convirtió en el sublinaje dominante en Estados Unidos durante los últimos meses del 2022 (Mykytyn, *et al.*, 2023).



**Figura 7.** Línea de tiempo de los sublinajes de Ómicron más prevalentes en Ecuador.

En la figura 8 se observa que, desde el mes de noviembre de 2022, los sublinajes BQ.1\* y XBB.1\* desplazaron en su totalidad al sublinaje BA.5\*, siendo el sublinaje BQ.1.1.13 el sublinaje dominante en el país con una prevalencia del 44% hasta enero de 2023. Considerando un total de 266 genomas secuenciados en noviembre, 773 en diciembre y 87 en enero.



**Figura 8.** Sublinajes de Ómicron más prevalentes en Ecuador en el periodo noviembre 2022-enero 2023.

### 3.4 Prevalencia de sublinajes por provincia

El análisis de la distribución geográfica de los sublinajes de Ómicron en el país refleja que la mayoría de sublinajes fueron identificados en Pichincha y Guayas, en donde se encuentran las ciudades más grandes y pobladas del Ecuador, Quito y Guayaquil respectivamente, seguidos de Manabí, Cotopaxi y Azuay, como se muestra en la figura 9. Esto obedece a que la mayor parte de los genomas reportados en GISAID, corresponden a las provincias de Pichincha y Guayas, mientras que el resto de las provincias presentan menos de 500 genomas de Ómicron secuenciados. De manera más específica, las provincias de Cañar, Carchi, El Oro, Loja, Santa Elena, Galápagos y todas las provincias de la Amazonía presentan menos de 50 secuencias de Ómicron reportadas, como se observa en la Tabla 4. La diferencia entre la cantidad de genomas secuenciados por provincia se debe a la distribución de laboratorios de referencia con la capacidad de secuenciación genómica en el país, los mismos que se encuentran ubicados únicamente en las ciudades de Quito y Guayaquil. De la misma manera, los laboratorios con capacidad diagnóstica que implementan pruebas de biología molecular se concentran principalmente en las grandes ciudades, y a esto se suma la dificultad del transporte de muestras desde las diferentes provincias hasta los laboratorios de referencia nacional para su diagnóstico y posterior genotipificación, por lo que el muestreo, diagnóstico y secuenciación de SARS-CoV-2 en ciudades pequeñas es insuficiente, lo que trae consigo un subregistro de los casos reales que se presentan en el país. Estudios de epidemiología molecular de SARS-CoV-2 que se llevaron a cabo en Ecuador entre el año 2020 y 2021, evidencian una problemática similar, en

donde la mayor parte de datos disponibles y tasas de muestreo se concentran principalmente en las grandes ciudades del país (Gutiérrez, *et al.*, 2021).

**Tabla 4.** Genomas de la variante Ómicron secuenciados por provincia.

Provincia	Genomas
Pichincha	1653
Guayas	1086
Manabí	425
Cotopaxi	328
Azuay	313
Chimborazo	227
Tungurahua	155
Bolívar	135
Imbabura	116
Esmeraldas	103
Santo Domingo de Los Tsáchilas	100
Napo	71
Sucumbíos	66
Los Ríos	63
Cañar	48
Carchi	47
El Oro	42
Loja	33
Santa Elena	26
Morona Santiago	19
Galápagos	17
Orellana	11
Pastaza	11
Zamora-Chinchi	3
<b>Total</b>	<b>5098</b>

En la figura 9, se observa que el sublinaje BA.1\*, es históricamente más prevalente y ha sido identificado en todas las provincias del Ecuador. De la misma manera se observa que el sublinaje BA.2\* fue identificado en las provincias de Azuay, Cotopaxi, Guayas, Manabí, Tungurahua, sin embargo, este linaje fue más abundante en la provincia de Pichincha. De la misma forma se observa la presencia del sublinaje BA.5\* en las provincias de Azuay, Bolívar, Cotopaxi, Esmeraldas, Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Tungurahua, y con una alta prevalencia en Guayas y Pichincha. Finalmente se observa una alta prevalencia del sublinaje BQ.1\* en Guayas y del sublinaje BQ.1.1.13 en Pichincha y Chimborazo.

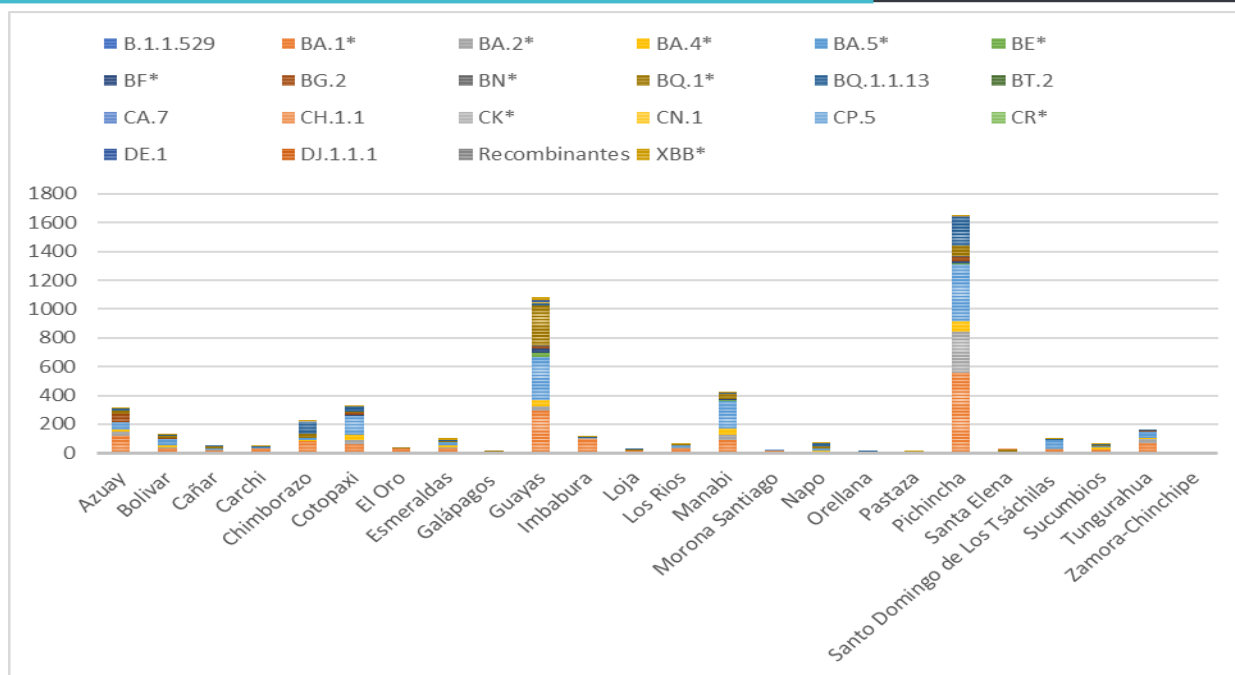


Figura 9. Distribución geográfica de los sublinajes de Ómicron identificados en Ecuador.

### 3.5 Identificación de SNPs en los sublinajes más importantes

En el caso de del SARS-CoV-2, las mutaciones constituyen un mecanismo evolutivo del virus, en donde los SNPs son el tipo de mutación más frecuente. Los SNPs son cambios en un solo par de bases, los mismos que pueden modificar el marco abierto de lectura durante la traducción y cambiar un aminoácido específico de la estructura viral. En ese sentido los primeros sublinajes de la variante Ómicron presentaron 37 mutaciones dentro de su genoma, de las cuales 26 son exclusivas para Ómicron, mientras que 11 de ellas se comparten con las variantes Alfa, Beta y Gamma. Posteriormente aparecieron nuevos sublinajes de Ómicron con mutaciones características de los mismos, lo que les permitió desplazar a los sublinajes dominantes, tener una mayor transmisibilidad y escape inmunitario (Aguilar-Gamboa, *et al.*, 2021).

La figura 10 muestra de forma comparativa la ubicación de los SNPs identificados en en los sublinajes más prevalentes en Ecuador: BA.1\*, BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13 y XBB.1. También se incluyó en el análisis al sublinaje XBB.1.5, ha generado preocupación a nivel mundial por su alta transmisibilidad y evasión de la respuesta inmunitaria y según una proyección del Centro Europeo para el Control y la Prevención de Enfermedades, XBB.1.5 será dominante a nivel mundial en los primeros meses del 2023 (European Centre for Disease Prevention and Control, 2023) (Uriu, *et al.*, 2023).



**Figura 10.** Análisis comparativo de la posición de los SNPs identificados en los sublinajes analizados (142 posiciones).

A continuación, se detallan los 37 SNPs comunes para todos los sublinajes analizados. Se observan en color azul las 26 mutaciones exclusivas de Ómicron, mientras que las 11 mutaciones compartidas con las variantes Alfa, Beta y Gamma, se encuentran en color verde.

- **SNPs identificados en todos los sublinajes de Ómicron:** C241T, C3037T, C10029T, C10449A, C14408T, A18163G, G22578A, C22674T, T22679C, C22686T, G22813T, T22882G, G22992A, C22995A, A23013C, A23055G, A23063T, T23075C, A23403G, C23525T, T23599G, C23604A, C23854A, G23948T, A24424T, T24469A, C25000T, C25584T, C26270T, C265TTG, G26709A, C27807T, A28271T, C28311T, G28881A, G28882A, G28883C.

También se identificaron 22 SNPs que son comunes entre los sublinajes BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1 y XBB.1.5, lo cual sugiere que estas mutaciones aparecieron con el linaje BA.2 y se han mantenido evolutivamente hasta los sublinajes que se han reportado en los últimos meses.

- **SNPs comunes entre los sublinajes BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1 y XBB.1.5:** T670G, C2790T, G4184A, C4321T, C9344T, A9424G, C9534T, C10198T, G10447A, C12880T, C15714T, C17410T, C19955T, A20055G, C21618T, G21987A, T22200G, A22688G, G22775A, A22786C, C26060T, A29510C.

Además de las mutaciones comunes encontradas en todos los sublinajes de Ómicron y las mutaciones que comparte con BA.2\*, los sublinajes BA.5\*, BQ.1\* y BQ.1.1.13 tienen en común cinco SNPs más. Asimismo, se identificaron 10 SNPs adicionales en común entre BQ.1\* y BQ.1.1.13. Las similitudes entre las mutaciones identificadas de estos sublinajes se debe a que BQ.1\* y BQ.1.1.13 evolutivamente descendieron del sublinaje BA.5\* (Scarpa, *et al.*, 2022).

- **SNPs comunes entre los sublinajes BA.5\*, BQ.1\* y BQ.1.1.13:** G12160A, T22917G, T23018G, G26529A, C27889T.
- **SNPs comunes entre los sublinajes BQ.1\* y BQ.1.1.13:** C1931A, T2954C, C11750T, T14257C, G16935A, A17039G, A22893C, T22942A, C28312T, G28681T.

Por otra parte, los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5, al ser producto de una recombinación de dos sublinajes de BA.2\*, comparten mutaciones en común, se han identificado seis SNPs comunes

entre BA.2\*, XBB.1 y XBB.1.5. Mientras que se han identificado 24 SNPs compartidos únicamente entre XBB.1 y XBB.1.5 (Goh, *et al.*, 2023).

- **SNPs comunes entre los sublinajes BA.2\*, XBB.1 y XBB.1.5:** C9866T, C26858T, A27259C, G27382C, A27383T, T27384C.
- **SNPs comunes entre los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5:** A405G, C9866T, G15451A, C15738T, T15939C, T16342C, T17859C, A19326G, T21810C, C22000A, C22109G, T22200A, G22317T, G22577C, C22664A, G22895C, T22896C, G22898A, T22942G, T23019C, T23031C, C25416T, A26275G, G27915T.

Además de los SNPs que se encuentran compartidos entre los diferentes sublinajes también existen SNPs exclusivos por cada sublinaje, los cuales se detallan a continuación:

- **SNPs exclusivos de BA.1\*:** A2832G, C2902T, G4583A, T5386G, T5619C, G8393A, C11455T, A11537G, T13195C, C15240T, C21762T, C21846T, T22673C, G23048A, C23202A, C24130A, C24503T, A26530G.
- **SNPs exclusivos de BA.2\*:** C9391T.
- **SNPs exclusivos de BA.5\*:** C6285T, C6312T, C18421T, A22524G, C25611T, C25824T, T27438C, C27630T, C29666T.
- **SNPs exclusivos de BQ.1\*:** C1426T, T4483C, T18024C, C28717T.
- **SNPs exclusivos de BQ.1.1.13:** C7521T, C16080A, G26428T.
- **SNPs exclusivos de XBB.1:** C1884T, C9803T, A20511G.
- **SNPs exclusivos de XBB.1.5:** T17124C, T23018C, A28271C.

### 3.6 Determinación de la importancia biológica de las mutaciones encontradas

La identificación de los SNPs es de importancia, puesto que los SNPs que resultan en una sustitución de aminoácidos pueden tener un efecto estructural significativo además de afectar el funcionamiento de las proteínas virales. En el caso del SARS-CoV-2, se ha prestado mayor atención a las mutaciones que ocurren en la proteína Spike, puesto que es el sitio de unión del virus con la ACE2 del huésped, y estas mutaciones pueden aumentar la velocidad de transmisión y replicación del virus, afectar la respuesta inmune de la persona infectada, la agresividad de la infección, la eficacia de las terapias y el diagnóstico de la enfermedad mediante pruebas PCR (Maza & Celis, 2021). A continuación, se detallan los cambios de aminoácidos identificados; para lo cual se realizó un análisis comparativo de la prevalencia de

los cambios de aminoácidos presentes en las cuatro proteínas estructurales (Spike, E, M y N) de todos los sublinajes de Ómicron de Ecuador analizados.

### Proteína Spike

En la figura 11 se muestra la prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la proteína Spike de los diferentes sublinajes analizados. Aquellos cambios de aminoácidos que se encuentran en el 100% de los genomas secuenciados se muestran de color violeta oscuro, mientras que los cambios de aminoácidos menos prevalentes se muestran en tonalidades violetas más claras. Las mutaciones no han sido detectadas en los distintos sublinaje, se muestran como un cuadro con líneas grises.



**Figura 11.** Prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la proteína Spike de los sublinajes analizados.

**Cambios de aminoácidos en la Proteína Spike comunes para todos los sublinajes analizados:** Se identificaron 19 mutaciones prevalentes en común en todos los sublinajes.

- **Mutaciones que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad (13 mutaciones):** G142D, S373P, K417N, N440K, S477N, T478K, E484A, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y y P681H. Estas mutaciones están relacionadas a la deriva antigénica (Antigenic Drift), la cual puede reducir la respuesta inmune natural o adquirida del huésped. Como consecuencia, el sistema inmunológico puede no responder eficazmente ante estos sublinajes, lo que facilita su propagación en la población (Aleem, *et al.*, 2023).
- **Mutaciones de interés epidemiológico (6 mutaciones):** S375F, N679K, N764K, D796Y, Q954H y N969K. La incorporación de estas mutaciones en la proteína Spike, está relacionada con la propagación y transmisibilidad de la variante Ómicron en la población humana, esta es la razón son consideradas de interés epidemiológico (Kimura, *et al.*, 2022). Además, las mutaciones en las posiciones 375 y 796 de la proteína Spike están asociadas a la deriva antigénica, en ese sentido las mutaciones S375F y D796Y, también podrían reducir la respuesta antigénica en personas infectadas y facilitan la unión a la proteína de la angiotensina humana 2 (Kumar, *et al.*, 2022).

Estos resultados son concordantes con lo expuesto por Caputo y Mandrich en el 2022, en donde mencionan que estas mutaciones son compartidas entre todas las variantes de Ómicron (Caputo & Mandrich, 2022).

**Cambios de aminoácidos en la Proteína Spike comunes para los Sublinajes BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1 y XBB.1.5:** Se identificaron siete mutaciones prevalentes en común.

- **Mutaciones de escape inmunológico:** T19I. Esta mutación elimina un sitio de N-Glicosilación en la posición 17, esto afecta la capacidad antigénica del virus, lo que dificulta su detección por los anticuerpos neutralizantes del sistema inmunológico del hospedero (Fonager, *et al.*, 2022).
- **Deleciones:** DEL25/27. Esta deleción también está relacionada a la evasión de anticuerpos neutralizantes. Es importante destacar que, en adición a esta deleción, estos subtipos también presentan la mutación T19I, lo cual les confiere la capacidad de evasión inmunitaria (Xia, *et al.*, 2022).
- **Mutaciones que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad:** S371F, D405N y R408S. Estas mutaciones también están relacionadas a

la deriva antigénica, de tal manera que facilitan la propagación del virus en la población, puesto que reducen la respuesta inmunitaria del hospedero (Aleem, *et al.*, 2023).

- **Mutaciones de interés epidemiológico:** L24S y T376A. Estas mutaciones facilitan la unión de la proteína Spike a la enzima receptora de angiotensina, razón por la cual favorecen la propagación del virus (Pastorio, *et al.*, 2023).

**Cambios de aminoácidos en la Proteína Spike comunes para los Sublinajes BQ.1\* y BQ.1.1.13:** Se identificaron ocho mutaciones prevalentes en común.

- **Deleciones:** DEL69/70 y DEL144. La deleción en la posición 69/70 también se ha reportado en los sublinajes BA.5\*, misma que además de estar relacionada a la deriva antigénica facilita la unión a receptores de la enzima convertidora de angiotensina humana 2, por lo que los sublinajes que presentan esta mutación tienen una mayor infectividad que el SARS-CoV-2 original (Kemp, *et al.*, 2023). También se ha reportado que esta deleción podría causar un fallo en la amplificación del gen que codifica la proteína Spike, lo cual podría dificultar el diagnóstico de infecciones causadas por estos sublinajes mediante PCR (Meng, *et al.*, 2021). Por otra parte, la deleción en la posición 144 se relaciona con la capacidad de evadir la respuesta inmune y neutralizar anticuerpos, esta mutación es más prevalente en el sublinaje BQ.1.1.13, sin embargo, también se ha reportado en varios casos del sublinaje BQ.1 (Cao, *et al.*, 2023).
- **Mutaciones que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad:** G339D, K444T, L452R, N460K y F486V. Dentro de estas mutaciones destacan G339D y K444T, las cuales se caracterizan por incrementar la afinidad del sitio de unión a la enzima convertidora de angiotensina y el escape de anticuerpos neutralizantes (Cao, *et al.*, 2022) (Xia, *et al.*, 2022). Las mutaciones L452R, N460K, F486V, están relacionadas con la unión del virus a la membrana de la célula del hospedero y a la deriva antigénica, la cual produce el escape inmunológico (Wang, *et al.*, 2022) (Zhang, *et al.*, 2022). Es importante mencionar que L452R, N460K y F486V también se han identificado en los sublinajes BA.5\*. Por otra parte, la mutación R346T presente en el sublinaje BQ.1.1.13, y posee la capacidad para escapar a los anticuerpos neutralizantes (Groenheit, *et al.*, 2022). Esta mutación en combinación con la deleción en la posición 144 han permitido al sublinaje BQ.1.1.13 escapar de la respuesta inmune, lo cual explicaría su alta prevalencia en Ecuador durante el último trimestre del 2022, a

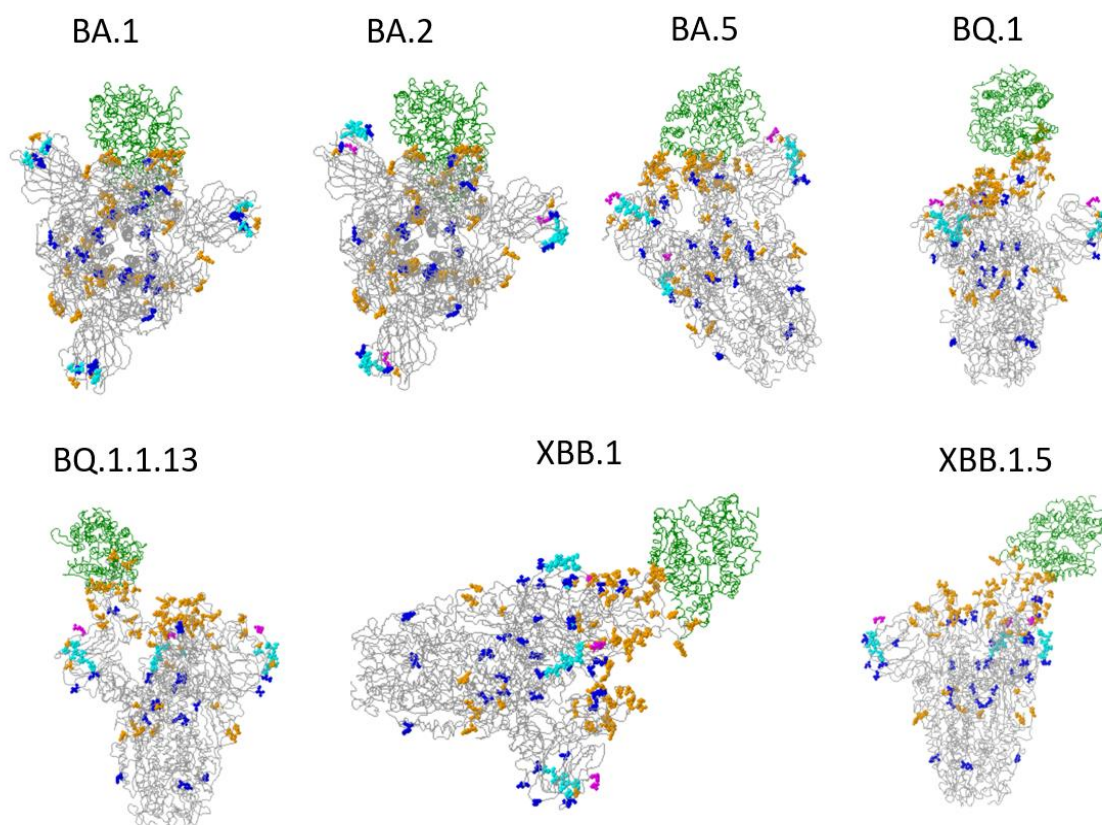
pesar de que el país posee una tasa de vacunación superior al 85% (Carrasco, *et al.*, 2022).

- **Mutaciones de interés epidemiológico:** V213G. Esta mutación favorece el escape a anticuerpos neutralizantes, favoreciendo la propagación y transmisibilidad de los sublinajes que la contienen (Pastorio, *et al.*, 2023).

**Cambios de aminoácidos en la Proteína Spike comunes para los Sublinajes XBB.1 y XBB.1.5:** Se identificaron 13 mutaciones prevalentes en común.

- **Deleciones:** DEL144. Al igual que el caso de BQ.1.1.13, la deleción en la posición 144 se asocia al escape inmunitario por medio de la neutralización de anticuerpos (Fonager, *et al.*, 2022) (Cao, *et al.*, 2023).
- **Mutaciones que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad:** G339H, R346T, V445P, G446S, N460K y F490S. Estas mutaciones facilitan la unión del virus a la membrana celular además de favorecer el escape a los anticuerpos neutralizantes del hospedero, razones por las que los sublinajes que presentan estas mutaciones se caracterizan por tener una rápida propagación (Singh, *et al.*, 2023). Considerando que XBB.1 y XBB.1.5 constituyen sublinajes recombinantes derivados de BA.2, sin embargo, están caracterizados por la sustitución de aminoácidos en la posición 486 de la proteína Spike. En el caso del sublinaje XBB.1 la mutación F486S aumenta la capacidad del virus para neutralizar anticuerpos. Por otra parte, el sublinaje XBB.1.5 contiene la mutación F486P en lugar de F486S encontrada en XBB.1, esta mutación se caracteriza por brindar una mayor afinidad del virus a la enzima convertidora de angiotensina humana 2, así como una transmisibilidad hasta 3 veces superior comparada con XBB.1, lo cual sugiere que XBB.1.5 podría convertirse en el sublinaje dominante a nivel mundial (Ao, *et al.*, 2023).
- **Mutaciones de interés epidemiológico:** V83A, H146Q, Q183E, V213E, G252V y L368I. Estas mutaciones están relacionadas al aumento de la afinidad del sitio de unión a la enzima convertidora de angiotensina 2 lo que en combinación a la capacidad de evasión inmunitaria confiere a los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5 una alta transmisibilidad, provocando su rápida propagación (Qu, *et al.*, 2023).

La figura 12 muestra el modelamiento de la proteína Spike de todos los sublinajes analizados, su unión con la enzima convertidora de angiotensina 2 humana (en color verde), así como las mutaciones identificadas; las mismas que se han clasificado por colores según su efecto biológico: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico se presentan de color azul. Aquellos que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico se encuentran de color rosa. Finalmente, las inserciones y deleciones de aminoácidos se encuentran de color celeste. Se puede observar la mayor parte de mutaciones que alteran la unión a receptores de la célula hospedera se encuentran en la zona de unión a la ACE2, esta zona corresponde a la región del dominio de unión al receptor (RBD) (Cao, *et al.*, 2023). También se puede observar que el sublinaje BA.1 es el único que no posee mutaciones de escape inmunológico en su proteína Spike.

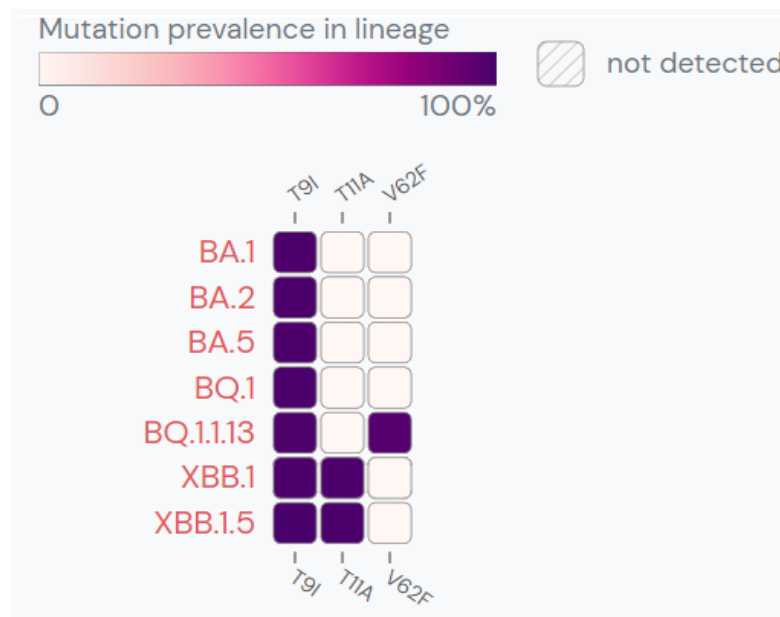


**Figura 12:** Proteína Spike de los sublinajes analizados en complejo con el receptor ACE2 Humano.

### Proteína de Envoltura (E)

En la figura 13 se muestra la prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la proteína de envoltura de los diferentes sublinajes analizados. Se puede observar que la mutación T9I es común para todos los sublinajes, mientras V62F es exclusiva de BQ.1.1.13 y finalmente T11A se encuentra en los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5.

Estas mutaciones son consideradas de interés epidemiológico, y están relacionadas con la virulencia del SARS-CoV-2. La proteína de envoltura (E), se encarga de la liberación del virus en las células infectadas, sin embargo, estas mutaciones provocan una liberación menos eficiente del virus y una disminución de la producción de citoquinas por parte del sistema inmunológico, lo que provoca respuestas inmunes menos agresivas y mortales. Esto en combinación con la vacunación, explicaría la disminución de las tasas de mortalidad producidas por Ómicron en comparación con otras variantes (Xia, *et al.*, 2022).

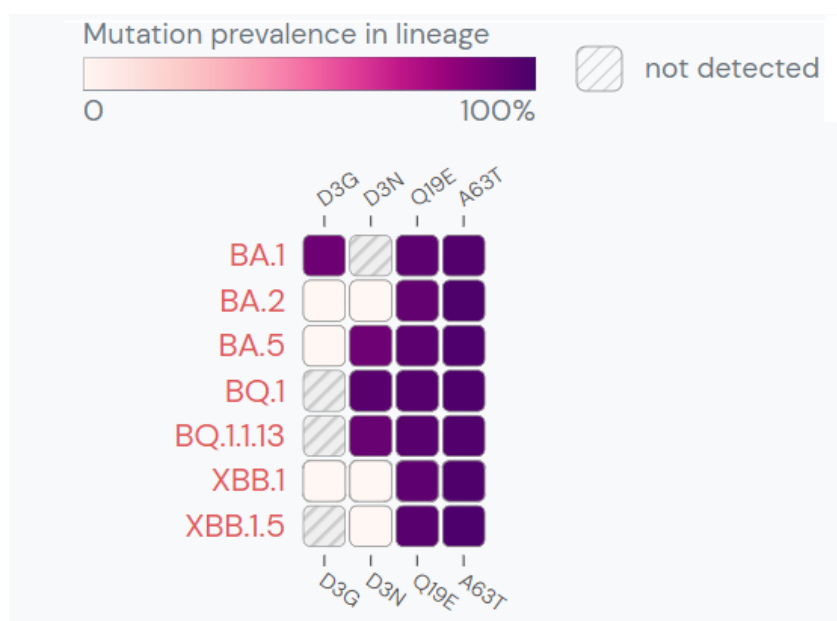


**Figura 12.** Prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la proteína de envoltura (E) de los sublinajes analizados.

### Glicoproteína de Membrana (M)

En la figura 14 se presenta la prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la glicoproteína de membrana de los sublinajes analizados. Donde se observa que las mutaciones Q19E y A63T son comunes en todos los sublinajes.

Por otra parte, la mutación D3G se identificó solamente en el sublinaje BA.1, mientras D3N esta presente únicamente en los sublinajes BA.5\*, BQ.1\* y BQ.1.1.13. Estas mutaciones se caracterizan por tener importancia epidemiológica. Las mutaciones Q19E y A63T podrían afectar la estabilidad de la glicoproteína M, mientras que las mutaciones D3G y D3N pueden alterar la forma en que se modifica esta proteína, en ese sentido algunas investigaciones sugieren que estas mutaciones podrían influir en la capacidad del virus para infectar células y propagarse (Abbasian, *et al.*, 2023) (Hossain, *et al.*, 2022).



**Figura 14.** Prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la Glicoproteína de membrana (M) de los sublinajes analizados.

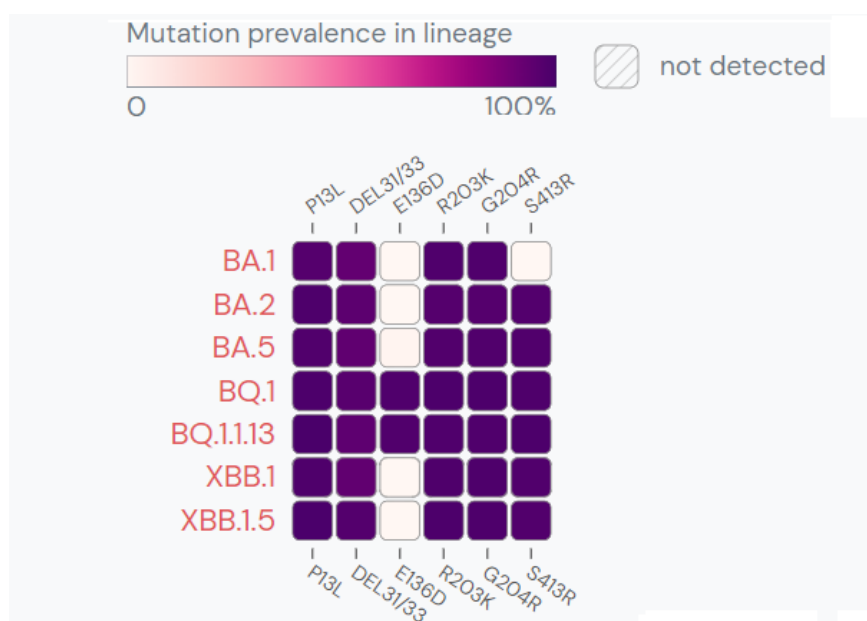
### Fosfoproteína de la nucleocápside (N)

En la figura 15 se observa la prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la fosfoproteína de la nucleocápside de los sublinajes analizados. Donde se observa que las mutaciones P13L, DEL31/33, R203K y G204R son comunes en todos los sublinajes. Mientras la mutación S413R esta presente en todos los sublinajes excepto en BA.1\*. Por otra parte, la mutación E136D se encuentra solamente en los sublinajes BQ.1\* y BQ.1.1.13.

La mutación P13L está relacionada con la antigenicidad y al igual que la DEL31/33 podrían afectar la capacidad del virus para encapsular el ARN, afectando su replicación y propagación

(Hossain, *et al.*, 2022). Si bien estas mutaciones son perjudiciales para el virus, la mayor parte de las mutaciones identificadas en el resto del genoma viral favorecen la unión a la célula hospedera y su propagación, razón por la cual los sublinajes de la variable Ómicron se caracterizan por su transmisibilidad.

Finalmente, las mutaciones E136D, R203K, G204R y S413R son mutaciones de interés epidemiológico, y juntas tienen la capacidad inhibir la respuesta inmune, lo que podría aumentar la replicación, la patogenicidad y la capacidad de propagación del virus (Hossain, *et al.*, 2022).

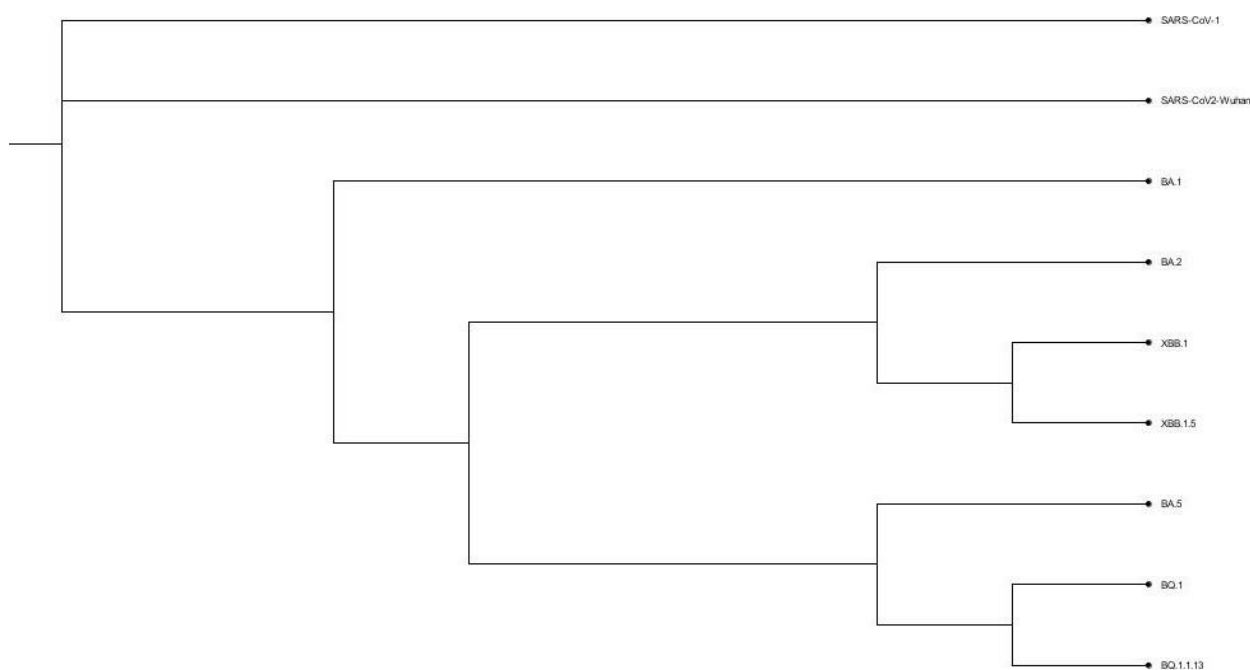


**Figura 14.** Prevalencia de los cambios de aminoácidos identificados en la Fosfoproteína de la nucleocápside (N) de los sublinajes analizados.

### 3.7 Análisis filogenético

Los cambios de aminoácidos, en especial aquellos que ocurren en la región de la proteína Spike, tienen un impacto crítico en la filogenia y la aparición de nuevos sublinajes de SARS-CoV-2 (Pan, *et al.*, 2023). Estas mutaciones ocasionan cambios estructurales y funcionales en las proteínas virales, los cuales ya han sido descritos en este estudio. A medida que el virus se replica y se transmite, estas mutaciones se acumulan progresivamente, generando sublinajes con características genotípicas específicas (Maza & Celis, 2021). La secuenciación del genoma viral permite la reconstrucción filogenética para determinar las relaciones evolutivas entre los distintos sublinajes analizados (Pan, *et al.*, 2023).

En la figura 16, se puede observar el análisis filogenético de máxima verosimilitud que se realizó para comprender la evolución y la relación genética entre los sublinajes analizados. Se utilizó la secuencia del SARS-CoV-1 como outgroup, ya que está filogenéticamente relacionado con el grupo de interés (SARS-CoV-2), pero se encuentra fuera del mismo y un valor de Bootstrap de 1000.



**Figura 16.** Árbol filogenético de máxima verosimilitud de los sublinajes analizados.

En el árbol filogenético se puede apreciar que los sublinajes BA.1\*, BA.2\* y BA.5\* evolucionaron de forma independiente, aunque comparten un ancestro común. Asimismo, se ha identificado otro ancestro común entre BA.2\* y BA.5\*, lo cual coincide con lo expuesto por Caputo y Mandrich en el 2022 (Caputo & Mandrich, 2022). Por otra parte, también se puede observar que los sublinajes XBB.1 y XBB.1.5 evolucionaron a partir del sublinaje BA.2\*, lo que es concordante con la literatura científica, donde se mantiene que XBB.1 y XBB.1.5 son recombinantes de los sublinajes BA.2.10.1 y BA.2.75 (Goh, *et al.*, 2023). Finalmente, se observa que los sublinajes BQ.1\* y BQ.1.1.13 descienden de BA.5\*, lo que es consistente con lo reportado por Scarpa y sus colaboradores en el año 2022 (Scarpa, *et al.*, 2022). El alto valor de Bootstrap utilizado (1000), indica que las iteraciones para la construcción de la filogenia se

repetieron mil veces, lo que indica que la agrupación realizada esta bien soportada y tiene una alta confianza (Minh, *et al.*,2013).

#### 4. CONCLUSIONES

- Durante el año 2022 se observó una evolución dinámica de los sublinajes de SARS-CoV-2 en Ecuador, en la cual el sublinaje BA.1\* fue dominante hasta abril, seguido por BA.2\* hasta junio, y BA.5\* desde el mes de julio. Sin embargo, desde octubre, el sublinaje BQ.1\* presentó un crecimiento exponencial y, a partir de noviembre desplazó completamente al sublinaje BA.5\*, siendo el sublinaje BQ.1.1.13 el sublinaje más prevalente en el país con una tasa del 44%, hasta enero de 2023.
- En noviembre de 2022 destaca la aparición del sublinaje XBB.1\*, que constituye un sublinaje de interés por su capacidad para evadir la respuesta inmune y su transmisibilidad, por lo que se prevé se convierta en el sublinaje dominante a nivel mundial.
- La mayoría de las secuencias de SARS-CoV-2 de Ecuador reportadas en GISAID, son de las provincias de Pichincha y Guayas. Esto seguramente se debe a que los laboratorios con capacidad de secuenciación genómica se encuentran únicamente en las ciudades de Quito y Guayaquil, y también existen dificultades logísticas en el transporte de muestras desde las provincias más remotas, generando un subregistro de casos en las ciudades más pequeñas y una concentración de datos en las grandes urbes.
- Se observó que en la región de la proteína Spike se encuentra la mayor diversidad genética de los sublinajes de SARS-CoV-2 analizados, mientras que en las otras proteínas estructurales la diversidad de mutaciones es baja. Por esta razón, el estudio de las mutaciones presentes en la proteína Spike es de vital importancia para entender la evolución del virus y el apareamiento de nuevos sublinajes.
- La principal diferencia entre el sublinaje XBB.1.5 y XBB.1 es la mutación en la posición 486 de la proteína Spike. El sublinaje XBB.1.5 contiene la mutación F486P en lugar de la F486S de XBB.1, lo que aumenta la afinidad del virus a la enzima convertidora de angiotensina humana 2 y su transmisibilidad, con una posible ventaja competitiva sobre otros sublinajes. Esto sugiere que el sublinaje XBB.1.5 podría tener una mayor capacidad para propagarse y convertirse en el sublinaje dominante a nivel mundial.

- Se identificaron 19 cambios de aminoácidos en la proteína Spike que son comunes para todos los sublinajes analizados. De estos cambios, seis mutaciones son de interés epidemiológico y 13 mutaciones están relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.
- La mutación T19I es común para los sublinajes BA.2\*, BA.5\*, BQ.1\*, BQ.1.1.13, XBB.1 y XBB.1.5, lo que sugiere que esta mutación apareció con el linaje BA.2 y se han mantenido evolutivamente hasta los sublinajes actuales. Esta mutación se encuentra en la glicoproteína Spike y es considerada de escape inmunitario, ya que afecta la capacidad antigénica del virus, lo que dificulta su detección por los anticuerpos neutralizantes del sistema inmunológico del hospedero.
- La mutación T9I ubicada en la proteína de envoltura es común en todos los sublinajes analizados. Esta mutación afecta la liberación del virus en la célula, lo que produce una respuesta inmunes menos agresiva y mortal. La disminución en las tasas de mortalidad asociadas con la variante Ómicron podría ser explicada por esta mutación.
- El análisis filogenético muestra que los sublinajes BA.1\*, BA.2\* y BA.5\* evolucionaron de forma independiente, sin embargo, comparten un ancestro común. Por otra parte, XBB.1 y XBB.1.5 evolucionaron a partir del sublinaje BA.2\*, mientras que los sublinajes BQ.1\* y BQ.1.1.13 descienden de BA.5\*.

## 5. RECOMENDACIONES

- El presente trabajo resalta la importancia de los análisis genómicos para evaluar la evolución y propagación de Ómicron en el país. Debido a la alta diversidad genética identificada, se recomienda realizar estos análisis de forma continua, para mantener una vigilancia de los sublinajes circulantes y emergentes en el Ecuador, así como de países vecinos, para mejorar la comprensión de la epidemiología del virus en la región, estar atento a posibles introducciones y tomar decisiones informadas en la gestión y control de la pandemia.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasian, M. H., Mahmanzar, M., Rahimian, K., Mahdavi, B., Tokhanbigli, S., Moradi, B., Sisakht, M. M., & Deng, Y. (2023). Global landscape of SARS-CoV-2 mutations and conserved regions. *Journal of translational medicine*, 21(1), 152. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-03996-w>
- Aguilar-Gamboa, F. R., Suclupe-Campos, D. O., Vega-Fernández, J. A., & Silva-Diaz, H. (2021). Diversidad genómica en SARS-CoV-2: Mutaciones y variantes. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 14(4), 572-582. <https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2021.144.1465>
- Aksamentov, I., Roemer, C., Hodcroft, E. B., & Neher, R. A., (2021). Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *Journal of Open Source Software*, 6(67), 3773, <https://doi.org/10.21105/joss.03773>
- Aleem, A., Akbar Samad, A. B., & Vaqar, S. (2023). Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570580/>
- Ao, D., He, X., Hong, W., & Wei, X. (2023). The rapid rise of SARS-CoV-2 Omicron subvariants with immune evasion properties: XBB. 1.5 and BQ. 1.1 subvariants. *MedComm*, 4(2), e239. <https://doi.org/10.1002/mco2.239>
- Badua, C. L. D. C., Baldo, K. A. T., & Medina, P. M. B. (2021). Genomic and proteomic mutation landscapes of SARS-CoV-2. *Journal of medical virology*, 93(3), 1702–1721. <https://doi.org/10.1002/jmv.26548>
- Callaway, E. (2021). Heavily mutated Omicron variant puts scientists on alert. *Nature*, 600(7887), 21. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-03552-w>
- Caputo, E., & Mandrich, L. (2022). SARS-CoV-2: Searching for the Missing Variants. *Viruses*, 14(11), 2364. <https://doi.org/10.3390/v14112364>
- Carrasco-Montalvo, A., Herrera-Yela, A., Alarcón-Vallejo, D., Gutiérrez-Pallo, D., Armendáriz-Castillo, I., Andrade-Molina, D., Muñoz-Mawyin, K., Fernández-Cadena, J. C., Morey-León, G., Usfq-Covid-Consortium, Crn Influenza Y Ovr-Inspi, & Patiño, L. (2022). Omicron Sub-Lineages (BA.1.1.529 + BA.\*) Current Status in Ecuador. *Viruses*, 14(6), 1177. <https://doi.org/10.3390/v14061177>

- Cao, Y., Jian, F., Wang, J., Yu, Y., Song, W., Yisimayi, A., Wang, J., An, R., Chen, X., Zhang, N., Wang, Y., Wang, P., Zhao, L., Sun, H., Yu, L., Yang, S., Niu, X., Xiao, T., Gu, Q., Shao, F., ... Xie, X. S. (2023). Imprinted SARS-CoV-2 humoral immunity induces convergent Omicron RBD evolution. *Nature*, 614(7948), 521–529. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05644-7>
- Cao, Y., Wang, J., Jian, F., Xiao, T., Song, W., Yisimayi, A., ... & Xie, X. S. (2022). Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature*, 602(7898), 657-663. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04385-3>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2023). SARS-CoV-2 variants of concern as of 26 January 2023. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
- Fonager, J., Bennedbæk, M., Bager, P., Wohlfahrt, J., Ellegaard, K. M., Ingham, A. C., ... & Rasmussen, M. (2022). Molecular epidemiology of the SARS-CoV-2 variant Omicron BA. 2 sub-lineage in Denmark, 29 November 2021 to 2 January 2022. *Eurosurveillance*, 27(10), 2200181. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.10.2200181>
- Gangavarapu, K., Abdel Latif, A., Mullen, J., Alkuzweny, M., Hufbauer, E., Tsueng, G., ... & Hughes, L. D. (2022). Outbreak.info genomic reports: scalable and dynamic surveillance of SARS-CoV-2 variants and mutations. medRxiv. doi: 10.1101/2022.01.27.22269965
- Goh, A. X. C., Chae, S. R., Chiew, C. J., Tang, N., Pang, D., Lin, C., ... & Ho, Z. J. M. (2023). Characteristics of the omicron XBB subvariant wave in Singapore. *The Lancet*, 401(10384), 1261-1262. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00390-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00390-2)
- Groenheit, R., Galanis, I., Sondén, K., Sperk, M., Mover, E., Bacchus, P., ... & Blom, K. (2023). Rapid emergence of omicron sublineages expressing spike protein R346T. *The Lancet Regional Health–Europe*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2022.100564>
- Gutiérrez, B., Márquez, S., Prado-Vivar, B., Becerra-Wong, M., Guadalupe, J. J., Candido, D. D. S., ... & Cárdenas, P. (2021). Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 transmission lineages in Ecuador. *Virus evolution*, 7(2), veab051. <https://doi.org/10.1093/ve/veab051>

- Harrison, A., Lin, T., & Wang, P. (2020). Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology*, 41(12), 1100–1115. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>
- Hossain, A., Akter, S., Rashid, A. A., Khair, S., & Alam, A. S. M. R. U. (2022). Unique mutations in SARS-CoV-2 Omicron subvariants' non-spike proteins: Potential impacts on viral pathogenesis and host immune evasion. *Microbial pathogenesis*, 170, 105699. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105699>
- Huerta-Cepas, J., Serra, F., Bork, P. (2016). ETE 3: Reconstruction, Analysis, and Visualization of Phylogenomic Data, *Molecular Biology and Evolution*, Volume 33, Issue 6, Pgs 1635–1638. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw046>
- Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W., & Duan, G. (2020). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. *Viruses*, 12(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/v12040372>
- Kandeel, M., Mohamed, M. E. M., Abd El-Lateef, H. M., Venugopala, K. N., & El-Beltagi, H. S. (2022). Omicron variant genome evolution and phylogenetics. *Journal of medical virology*, 94(4), 1627–1632. <https://doi.org/10.1002/jmv.27515>
- Khare, S., Gurry, C., Freitas, L., Schultz, M. B., Bach, G., Diallo, A., ... & Maurer-Stroh, S. (2021). GISAID's role in pandemic response. *China CDC weekly*, 3(49), 1049. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2021.255>
- Kemp, S. A., Collier, D. A., Datir, R. P., Ferreira, I. A. T. M., Gayed, S., Jahun, A., Hosmillo, M., Rees-Spear, C., Mlcochova, P., Lumb, I. U., Roberts, D. J., Chandra, A., Temperton, N., CITIID-NIHR BioResource COVID-19 Collaboration, COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium, Sharrocks, K., Blane, E., Modis, Y., Leigh, K. E., Briggs, J. A. G., ... Gupta, R. K. (2021). SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. *Nature*, 592(7853), 277–282. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03291-y>
- Kimura, I., Yamasoba, D., Nasser, H., Zahradnik, J., Kosugi, Y., Wu, J., Nagata, K., Uriu, K., Tanaka, Y. L., Ito, J., Shimizu, R., Tan, T. S., Butlertanaka, E. P., Asakura, H., Sadamasu, K., Yoshimura, K., Ueno, T., Takaori-Kondo, A., Schreiber, G., Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, ... Sato, K. (2022). The SARS-CoV-2 spike S375F mutation characterizes the Omicron BA.1 variant. *iScience*, 25(12), 105720. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105720>

- Kumar, S., Thambiraja, T. S., Karuppanan, K., & Subramaniam, G. (2022). Omicron and Delta variant of SARS-CoV-2: A comparative computational study of spike protein. *Journal of medical virology*, 94(4), 1641–1649. <https://doi.org/10.1002/jmv.27526>
- Leaché, A. D., & Oaks, J. R. (2017). The utility of single nucleotide polymorphism (SNP) data in phylogenetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48(1), 69-84.
- Maza, M. M., & Celis, L. G. (2021). Mutaciones del virus SARS-CoV2 y el impacto de la enfermedad COVID-19 en el sistema de salud. *Revista Salud Uninorte*, 37(3), 534-538. <https://doi.org/10.14482/sun.37.3.614.592>
- Mertens, J., Coppens, J., Loens, K., Le Mercier, M., Xavier, B. B., Lammens, C., ... & Matheussen, V. (2022). Monitoring the SARS-CoV-2 pandemic: screening algorithm with single nucleotide polymorphism detection for the rapid identification of established and emerging variants. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(1), 124-129.
- Meng, B., Kemp, S. A., Papa, G., Datir, R., Ferreira, I. A., Marelli, S., ... & Masoli, J. A. (2021). Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B. 1.1. 7. *Cell reports*, 35(13), 109292. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109292>
- Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & Von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular biology and evolution*, 30(5), 1188-1195. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst024>
- Ministerio de Salud Pública. (2021). Plan Nacional de Vacunación e Inmunización contra el COVID-19. Plan Vacunarse, 1–95.
- Mykytyn, A. Z., Rosu, M. E., Kok, A., Rissmann, M., van Amerongen, G., Geurtsvankessel, C., ... & Haagmans, B. L. (2023). Antigenic mapping of emerging SARS-CoV-2 omicron variants BM. 1.1. 1, BQ. 1.1, and XBB. 1. *The Lancet Microbe*. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00384-6](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00384-6)
- Núñez Medina, J. A., & Zabala-Haro, A. (2023). Covid-19: principales variantes genéticas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 4225-4238. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.4750](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.4750)

- Organización Mundial de la Salud. (2021). Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>
- Organización Panamericana de la Salud. (2020). Red Regional de Vigilancia Genómica de COVID-19. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/influenza-otros-virus-respiratorios/red-regional-vigilancia-genomica-covid-19>
- Organización Panamericana de la Salud. (2021). Orientaciones para la selección de muestras de SARS-CoV-2 para caracterización y vigilancia genómica - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/orientaciones-para-seleccion-muestras-sars-cov-2-para-caracterizacion-vigilancia>
- Organización Panamericana de la Salud. (2022). Emergencia de sublinajes y eventos de recombinación: evolución genética del SARS-CoV-2. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/emergencia-sublinajes-eventos-recombinacion-evolucion-genetica-sars-cov-2-13-abril-2022>
- O'Toole, A., Tomkins, C., Watson, M., Roemer, C., Maier, W., Moloney, D. (2020). Snipit: Summarise snps relative to a reference sequence. Github, Inc. Disponible en: <https://github.com/aineniamb/snipit>
- Pan, Y., Wang, L., Feng, Z., Xu, H., Li, F., Shen, Y., ... & Wang, Q. (2023). Characterisation of SARS-CoV-2 variants in Beijing during 2022: an epidemiological and phylogenetic analysis. *The lancet*, 401(10377), 664-672. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00129-0)
- Pastorio, C., Zech, F., Noettger, S., Jung, C., Jacob, T., Sanderson, T., ... & Kirchhoff, F. (2022). Determinants of Spike infectivity, processing, and neutralization in SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA. 1 and BA. 2. *Cell Host & Microbe*, 30(9), 1255-1268. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.07.006>
- Qu, P., Faraone, J. N., Evans, J. P., Zheng, Y. M., Carlin, C., Anghelina, M., ... & Liu, S. L. (2023). Enhanced Evasion of Neutralizing Antibody Response by Omicron XBB. 1.5, CH. 1.1 and CA. 3.1 Variants. *Cell Reports*. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112443>
- Rambaut, A. (2007). Molecular evolution, phylogenetics and epidemiology. Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

- Santander, D., Iturralde, G., Freire, B., Zambrano, M., Morales, D., Vallejo, P., Coronel, B., Galvis, H., Jaramillo, T., Bilbao, C., Paredes, M., Rodriguez, A., Laglaguano, J., Herrera, H., Tito, A., Ortiz, E., Rivera, I., Henriquez, A., Lozada, T., & Garcia, M. (2021). Crucial contribution of the universities to SARS-CoV-2 surveillance in Ecuador: Lessons for developing countries. *One Health*, 13, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100267>
- Scarpa F, Sanna D, Benvenuto D, Borsetti A, Azzena I, Casu M, Fiori PL, Giovanetti M, Maruotti A, Ceccarelli G, Caruso A, Caccuri F, Cauda R, Cassone A, Pascarella S, Ciccozzi M. (2022). Genetic and Structural Data on the SARS-CoV-2 Omicron BQ.1 Variant Reveal Its Low Potential for Epidemiological Expansion. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(23):15264. <https://doi.org/10.3390/ijms232315264>
- Shu, Y. and McCauley, J. (2017). GISAID: from vision to reality. *EuroSurveillance*, 22(13) doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494 PMID: PMC5388101
- Singh, P., Sharma, K., Shaw, D., Bhargava, A., & Negi, S. S. (2023). Mutational characterization of Omicron SARS-CoV-2 lineages circulating in Chhattisgarh, a central state of India. *Frontiers in medicine*, 9, 1082846. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1082846>
- Toro-Montoya, A. I., & Díaz-Castrillon, F. J. (2020). SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia. *Medicina y Laboratorio*, 24(3), 183-205.
- Uriu, K., Ito, J., Zahradnik, J., Fujita, S., Kosugi, Y., Schreiber, G., Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium, & Sato, K. (2023). Enhanced transmissibility, infectivity, and immune resistance of the SARS-CoV-2 omicron XBB.1.5 variant. *The Lancet. Infectious diseases*, 23(3), 280–281. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00051-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00051-8)
- Wang, Q., Guo, Y., Iketani, S., Nair, M. S., Li, Z., Mohri, H., ... & Ho, D. D. (2022). Antibody evasion by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA. 2.12. 1, BA. 4 and BA. 5. *Nature*, 608(7923), 603-608. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05053-w>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... & Zhang, Y. Z. (2020). Author Correction: A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 580(7803), E7-E7. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

- Xia, B., Wang, Y., Pan, X., Cheng, X., Ji, H., Zuo, X., ... & Gao, Z. (2022). Why is the SARS-CoV-2 Omicron variant milder?. *The Innovation*, 3(4), 100251. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2022.100251>
- Xia, S., Wang, L., Zhu, Y., Lu, L., & Jiang, S. (2022). Origin, virological features, immune evasion and intervention of SARS-CoV-2 Omicron sublineages. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 241. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01105-9>
- Zhang, Y., Zhang, T., Fang, Y., Liu, J., Ye, Q., & Ding, L. (2022). SARS-CoV-2 spike L452R mutation increases Omicron variant fusogenicity and infectivity as well as host glycolysis. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 76. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00941-z>

## 7. ANEXOS

### ANEXO 1: Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.1\*

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A67V, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike G142D, Spike G339D, Spike G446S, Spike G496S, Spike H69del, Spike H655Y, Spike ins214EPE, Spike K417N, Spike L212I, Spike L981F, Spike N211del, Spike N440K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N856K, Spike N969K, Spike P681H, Spike Q493R, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike S371L, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T95I, Spike T478K, Spike T547K, Spike V70del, Spike V143del, Spike Y144del, Spike Y145del, Spike Y505H, E T9I, M A63T, M D3G, M Q19E, N E31del, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, NSP3 A1892T, NSP3 D622N, NSP3 I967T, NSP3 K38R, NSP3 L1266I, NSP3 S1265del, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 G107del, NSP6 I189V, NSP6 L105del, NSP6 S106del, NSP12 P323L, NSP14 I42V.

En la Tabla Anexo 1, se observa la distribución de estas mutaciones en la estructura proteica del virus, las cuales se han clasificado por colores según su efecto biológico: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico se presentan de color azul. Aquellos que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Finalmente, las inserciones y deleciones de aminoácidos se encuentran de color celeste. Los cambios de aminoácidos del sublinaje BA.1\* se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 3:** Cinco mutaciones de interés epidemiológico y una deleción.
- **Proteína no estructural 4:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones y una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 12:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína Spike:** 12 mutaciones de interés epidemiológico, cuatro deleciones, una inserción y 20 mutaciones relacionadas a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

- **Proteína de Envoltura (E):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Dos mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 1.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.1\*.

Query	Clade VariantInf	Best reference hit	%id	%coverag	#Δs	List of aa changes
BA.1	GRA	recent (not ranked)				
		NSP1 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP2 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP3 WIV04	99.7%	<a href="#">99.9%</a>	6	<a href="#">K38R</a> , <a href="#">D622N</a> , <a href="#">I967I</a> , <a href="#">S1265del</a> , <a href="#">L1266I</a> , <a href="#">A1892I</a>
		NSP4 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T492I</a>
		NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
		NSP6 WIV04	99.7%	<a href="#">99.0%</a>	4	<a href="#">L105del</a> , <a href="#">S106del</a> , <a href="#">G107del</a> , <a href="#">I189V</a>
		NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP12 WIV04	99.9%	<a href="#">99.0%</a>	1	<a href="#">P323I</a>
		NSP13 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP14 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I42V</a>
		NSP15 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		Spike WIV04	97.6%	<a href="#">99.5%</a>	37	<a href="#">A67V</a> , <a href="#">H69del<sup>S</sup></a> , <a href="#">V70del<sup>S</sup></a> , <a href="#">I95I</a> , <a href="#">G142D<sup>S</sup></a> , <a href="#">V143del</a> , <a href="#">Y144del<sup>S</sup></a> , <a href="#">Y145del</a> , <a href="#">N211del</a> , <a href="#">L212I</a> , <a href="#">ins214FPE</a> , <a href="#">G339D<sup>S</sup></a> , <a href="#">S371I<sup>S</sup></a> , <a href="#">S373P<sup>S</sup></a> , <a href="#">S375E<sup>S</sup></a> , <a href="#">K417N<sup>S</sup></a> , <a href="#">N440R<sup>S</sup></a> , <a href="#">G446S<sup>S</sup></a> , <a href="#">S477N<sup>S</sup></a> , <a href="#">T478K<sup>S</sup></a> , <a href="#">E484A<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q493R<sup>S</sup></a> , <a href="#">G496S<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q498R<sup>S</sup></a> , <a href="#">N501Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">Y505H<sup>S</sup></a> , <a href="#">T547K</a> , <a href="#">D614G<sup>S</sup></a> , <a href="#">H655Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">N679K</a> , <a href="#">P681H<sup>S</sup></a> , <a href="#">N764K</a> , <a href="#">D796Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">N856K</a> , <a href="#">Q954H</a> , <a href="#">N969K</a> , <a href="#">L981F</a>
		NS3 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		E WIV04	98.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T9I</a>
M WIV04	98.6%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">D3G</a> , <a href="#">Q19E</a> , <a href="#">A63T</a>		
NS6 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
N WIV04	99.3%	<a href="#">99.3%</a>	6	<a href="#">P13I<sup>S</sup></a> , <a href="#">E31del</a> , <a href="#">R32del</a> , <a href="#">S33del</a> , <a href="#">R203K</a> , <a href="#">G204R</a>		

**ANEXO 2:** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.2\*

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike G142D, Spike G339D, Spike H655Y, Spike K417N, Spike L24del, Spike N440K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q493R, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V213G, Spike Y505H, E T9I, M A63T, M Q19E, N E31del, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NSP1 S135R, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP4 L264F, NSP4 L438F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 S106del, NSP12 P323L, NSP13 R392C, NSP14 I42V, NSP15 T112I.

En la Tabla Anexo 2, se observa la distribución de estas mutaciones en la estructura proteica del virus, las cuales se han clasificado por colores según su efecto biológico: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico se presentan de color azul. Aquellos que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico se encuentran de color rosa. Finalmente, las inserciones y deleciones de aminoácidos se encuentran de color celeste. Los cambios de aminoácidos del sublinaje BA.2\* se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones.
- **Proteína no estructural 12:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** Nueve mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones, una mutación de escape inmunológico y 18 mutaciones relacionadas a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Tres mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 2.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.2\*.

Query	Clade VariantInf	Best reference hit	%id	%covera	#Δs	List of aa changes
BA.2	GRA	NSP1 WIV04	99.4%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">S135R</a>
		NSP2 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP3 WIV04	99.9%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">T24I</a> , <a href="#">G489S</a>
		NSP4 WIV04	99.2%	<a href="#">100%</a>	4	<a href="#">L264E</a> , <a href="#">T327I</a> , <a href="#">L438F</a> , <a href="#">T492I</a>
		NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
		NSP6 WIV04	100%	<a href="#">99.0%</a>	3	<a href="#">S106del</a> , <a href="#">G107del</a> , <a href="#">F108del</a>
		NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP12 WIV04	99.9%	<a href="#">99.0%</a>	1	<a href="#">P323L</a>
		NSP13 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">R392C</a>
		NSP14 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I42V</a>
		NSP15 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T112I</a>
		NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		Spike WIV04	97.8%	<a href="#">99.8%</a>	31	<a href="#">T19I</a> , <a href="#">L24del</a> , <a href="#">P25del</a> , <a href="#">P26del</a> , <a href="#">A27S</a> , <a href="#">G142D<sup>S</sup></a> , <a href="#">V213G</a> , <a href="#">G339D<sup>S</sup></a> , <a href="#">S371F<sup>S</sup></a> , <a href="#">S373P<sup>S</sup></a> , <a href="#">S375F<sup>S</sup></a> , <a href="#">T376A<sup>S</sup></a> , <a href="#">D405N<sup>S</sup></a> , <a href="#">R408S<sup>S</sup></a> , <a href="#">K417N<sup>S</sup></a> , <a href="#">N440K<sup>S</sup></a> , <a href="#">S477N<sup>S</sup></a> , <a href="#">T478K<sup>S</sup></a> , <a href="#">F484A<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q493R<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q498R<sup>S</sup></a> , <a href="#">N501Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">Y505H<sup>S</sup></a> , <a href="#">D614G<sup>S</sup></a> , <a href="#">H655Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">N679K</a> , <a href="#">P681H<sup>S</sup></a> , <a href="#">N764K</a> , <a href="#">D796Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q954H</a> , <a href="#">N969K</a>
		NS3 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T223I</a>
		E WIV04	98.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T9I</a>
		M WIV04	99.1%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">Q19E</a> , <a href="#">A63I</a>
		NS6 WIV04	100%	<a href="#">98.4%</a>	0	no aa changes
		NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NS8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		N WIV04	99.0%	<a href="#">99.3%</a>	7	<a href="#">P13L<sup>S</sup></a> , <a href="#">E31del</a> , <a href="#">R32del</a> , <a href="#">S33del</a> , <a href="#">R203K</a> , <a href="#">G204R</a> , <a href="#">S413R</a>

**ANEXO 3:** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.5\*

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike F486V, Spike G142D, Spike G339D, Spike H69del, Spike H655Y, Spike K417N, Spike L24del, Spike L452R, Spike N440K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q321R, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V70del, Spike V213G, Spike Y505H, E T9I, M A63T, M D3N, M Q19E, N E31del, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NSP1 S135R, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP3 T1189I, NSP3 T1198I, NSP4 L264F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 S106del, NSP12 P323L, NSP13 R392C, NSP14 I42V, NSP14 P128S, NSP15 T112I.

La Tabla Anexo 3, muestra la distribución de las mutaciones del sublinaje BA.5\*, que se han clasificado por colores: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico de color azul. Los que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico de color rosa. Y las inserciones y deleciones de aminoácidos se encuentran de color celeste. Mutaciones que se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones.
- **Proteína no estructural 12:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** Nueve mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones, una mutación de escape inmunológico y 22 mutaciones relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad (incluyen dos deleciones adicionales).
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Tres mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 3.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BA.5\*.

Query	Clade	VariantInf	Best reference hit	%id	%coverag	#Δs	List of aa changes
BA.5	GRA	old	NSP1 WIV04	99.4%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">S135R</a>
			NSP2 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP3 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	4	<a href="#">T24I, G489S, T1189I, T1198I</a>
			NSP4 WIV04	99.4%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">L264F, T327I, I492I</a>
			NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
			NSP6 WIV04	100%	<a href="#">99.0%</a>	3	<a href="#">S106del, G107del, F108del</a>
			NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP12 WIV04	99.9%	<a href="#">99.0%</a>	1	<a href="#">P323I</a>
			NSP13 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">R392C</a>
			NSP14 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">I42V, P128S</a>
			NSP15 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T112I</a>
			NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			Spike WIV04	97.6%	<a href="#">99.6%</a>	35	<a href="#">T19I, I244del, P25del, P26del, A27S, H69del, V70del, G142D, V213G, Q321R, G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, L452R, S477N, T478K, F484A, F486V, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K</a>
			NS3 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T223I</a>
			E WIV04	98.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T9I</a>
			M WIV04	98.6%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">D3N, Q19E, A63I</a>
NS6 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
NS8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
N WIV04	99.0%	<a href="#">99.3%</a>	7	<a href="#">P13I, E31del, R32del, S33del, R203K, G204R, S413R</a>			

**ANEXO 4:** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BQ.1\*

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike F486V, Spike G142D, Spike G339D, Spike H69del, Spike H655Y, Spike K417N, Spike K444T, Spike L24del, Spike L452R, Spike N440K, Spike N460K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R346T, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V70del, Spike V213G, Spike Y505H, E T9I, M A63T, M D3N, M Q19E, N E31del, N E136D, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NSP1 S135R, NSP2 Q376K, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP4 L264F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 L260F, NSP6 S106del, NSP12 P323L, NSP12 Y273H, NSP13 M233I, NSP13 N268S, NSP13 R392C, NSP14 I42V, NSP15 T112I.

La Tabla Anexo 4, muestra la distribución de las mutaciones de BQ.1\*, que se han clasificado por colores: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico de color azul. Los que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico de color rosa. Y las inserciones y deleciones de aminoácidos se encuentran de color celeste. Mutaciones que se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 2:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones y una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 12:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** Nueve mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones, una mutación de escape inmunológico y 24 mutaciones relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad (incluyen dos deleciones adicionales).
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 4.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BQ.1\*.

Query	Clade	VariantInf	Best reference hit	%id	%coverag	#Δs	List of aa changes
BQ.1	GRA	recent (not ranked)	NSP1 WIV04	99.4%	100%	1	<a href="#">S135R</a>
			NSP2 WIV04	99.8%	100%	1	<a href="#">Q376K</a>
			NSP3 WIV04	99.9%	100%	2	<a href="#">T24I</a> , <a href="#">G489S</a>
			NSP4 WIV04	99.4%	100%	3	<a href="#">L264E</a> , <a href="#">T327I</a> , <a href="#">T492I</a>
			NSP5 WIV04	99.7%	100%	1	<a href="#">P132H</a>
			NSP6 WIV04	99.7%	99.0%	4	<a href="#">S106del</a> , <a href="#">G107del</a> , <a href="#">F108del</a> , <a href="#">L260E</a>
			NSP7 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			NSP8 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			NSP9 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			NSP10 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			NSP11 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			NSP12 WIV04	99.8%	99.0%	2	<a href="#">Y273H</a> , <a href="#">P323L</a>
			NSP13 WIV04	99.5%	100%	3	<a href="#">M233I</a> , <a href="#">N268S</a> , <a href="#">R392C</a>
			NSP14 WIV04	99.8%	100%	1	<a href="#">I42V</a>
			NSP15 WIV04	99.7%	100%	1	<a href="#">T112I</a>
			NSP16 WIV04	100%	100%	0	no aa changes
			Spike WIV04	97.5%	99.6%	37	<a href="#">T19I</a> , <a href="#">L24del</a> , <a href="#">P25del</a> , <a href="#">P26del</a> , <a href="#">A27S</a> , <a href="#">H69del</a> , <a href="#">V70del</a> , <a href="#">G142D</a> , <a href="#">V213G</a> , <a href="#">G339D</a> , <a href="#">R346T</a> , <a href="#">S371E</a> , <a href="#">S373P</a> , <a href="#">S375F</a> , <a href="#">T376A</a> , <a href="#">D405N</a> , <a href="#">R408S</a> , <a href="#">K417N</a> , <a href="#">N440K</a> , <a href="#">K444T</a> , <a href="#">L452R</a> , <a href="#">N460K</a> , <a href="#">S477N</a> , <a href="#">T478K</a> , <a href="#">E484A</a> , <a href="#">F486V</a> , <a href="#">Q498R</a> , <a href="#">N501Y</a> , <a href="#">Y505H</a> , <a href="#">D614G</a> , <a href="#">H655Y</a> , <a href="#">N679K</a> , <a href="#">P681H</a> , <a href="#">N764K</a> , <a href="#">D796Y</a> , <a href="#">Q954H</a> , <a href="#">N969K</a>
			NS3 WIV04	99.6%	100%	1	<a href="#">T223I</a>
			E WIV04	98.7%	100%	1	<a href="#">T9I</a>
			M WIV04	98.6%	100%	3	<a href="#">D3N</a> , <a href="#">Q19E</a> , <a href="#">A63I</a>
NS6 WIV04	100%	100%	0	no aa changes			
NS7a WIV04	100%	100%	0	no aa changes			
NS7b WIV04	100%	100%	0	no aa changes			
NS8 WIV04	100%	100%	0	no aa changes			
N WIV04	98.8%	99.3%	8	<a href="#">P13I</a> , <a href="#">E31del</a> , <a href="#">R32del</a> , <a href="#">S33del</a> , <a href="#">E136D</a> , <a href="#">R203K</a> , <a href="#">G204R</a> , <a href="#">S413R</a>			

**ANEXO 5:** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BQ.1.1.13

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike F486V, Spike G142D, Spike G339D, Spike H69del, Spike H655Y, Spike K417N, Spike K444T, Spike L24del, Spike L452R, Spike N440K, Spike N460K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R346T, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V70del, Spike V213G, Spike Y144del, Spike Y505H, E T9I, E V62F, M A63T, M D3N, M Q19E, N E31del, N E136D, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NSP1 S135R, NSP2 Q376K, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP3 T1601I, NSP4 L264F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 L260F, NSP6 S106del, NSP12 P323L, NSP12 Y273H, NSP13 M233I, NSP13 N268S, NSP13 R392C, NSP14 I42V, NSP15 T112I.

La Tabla Anexo 5, muestra la distribución de las mutaciones de BQ.1.1.13, clasificadas por colores: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico de color azul. Los que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico de color rosa. Y las inserciones y deleciones de aminoácidos de color celeste. Mutaciones que se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 2:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones y una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 12:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** Nueve mutaciones de interés epidemiológico, cuatro deleciones, una mutación de escape inmunológico y 24 mutaciones relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad (incluyen dos deleciones adicionales).
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Tres mutaciones de interés epidemiológico.
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 5.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje BQ.1.1.13.

Query	Clade VariantInf	Best reference hit	%id	%coveraç	#Δs	List of aa changes
BQ.1.1.13	GRA	recent (ranked)				
		NSP1 WIV04	99.4%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">S135R</a>
		NSP2 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">Q376K</a>
		NSP3 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">T24I, G489S, T160I</a>
		NSP4 WIV04	99.4%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">L264F, T327I, T492I</a>
		NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
		NSP6 WIV04	99.7%	<a href="#">99.0%</a>	4	<a href="#">S106del, G107del, F108del, L260F</a>
		NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP12 WIV04	99.8%	<a href="#">99.0%</a>	2	<a href="#">Y273H, P323I</a>
		NSP13 WIV04	99.5%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">M233I, N268S, R392C</a>
		NSP14 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I42V</a>
		NSP15 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T112I</a>
		NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		Spike WIV04	97.5%	<a href="#">99.5%</a>	38	<a href="#">T19I, L24del, P25del, P26del, A27S, H69del, V70del, G142D, Y144del, V213G, G339D, R346I, S371E, S373P, S375E, T376A, D405N, R408S, K417N, N440K, K444I, L452R, N460K, S477N, T478K, F484A, F486V, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H, N969K</a>
		NS3 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T223I</a>
		E WIV04	97.3%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">T9I, V62F</a>
M WIV04	98.6%	<a href="#">100%</a>	3	<a href="#">D3N, Q19E, A63T</a>		
NS6 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
N WIV04	98.8%	<a href="#">99.3%</a>	8	<a href="#">P13I, E31del, R32del, S33del, E136D, R203K, G204R, S413R</a>		

## ANEXO 6: Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje XBB.1

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike F486S, Spike F490S, Spike G142D, Spike G252V, Spike G339H, Spike G446S, Spike H146Q, Spike H655Y, Spike K417N, Spike L24del, Spike L368I, Spike N440K, Spike N460K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q183E, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R346T, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V83A, Spike V213E, Spike V445P, Spike Y144del, Spike Y505H, E T9I, E T11A, M A63T, M Q19E, N E31del, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NS8 G8stop, NSP1 K47R, NSP1 S135R, NSP2 A360V, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP4 L264F, NSP4 L438F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 S106del, NSP12 G671S, NSP12 P323L, NSP13 R392C, NSP13 S36P, NSP14 I42V, NSP15 T112I.

La Tabla Anexo 6, muestra la distribución de las mutaciones de XBB.1, clasificadas por colores: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico de color azul. Los que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico de color rosa. Y las inserciones y deleciones de aminoácidos de color celeste. Mutaciones que se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 2:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones.
- **Proteína no estructural 12:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** 14 mutaciones de interés epidemiológico, cuatro deleciones, una mutación de escape inmunológico y 23 mutaciones relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína del ORF8 (NS8):** Una mutación de interés epidemiológico (Codón de parada).
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Tres mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 6.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje XBB.1.

Query	Clade	VariantInf	Best reference hit	%id	%coverag	#Δs	List of aa changes
XBB.1	GRA	<b>recent (not ranked)</b>	NSP1 WIV04	98.9%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">K47R</a> , <a href="#">S135R</a>
			NSP2 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">A360V</a>
			NSP3 WIV04	99.9%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">T24I</a> , <a href="#">G489S</a>
			NSP4 WIV04	99.2%	<a href="#">100%</a>	4	<a href="#">L264E</a> , <a href="#">I327I</a> , <a href="#">L438E</a> , <a href="#">I492I</a>
			NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
			NSP6 WIV04	100%	<a href="#">99.0%</a>	3	<a href="#">S106del</a> , <a href="#">G107del</a> , <a href="#">I108del</a>
			NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			NSP12 WIV04	99.8%	<a href="#">99.0%</a>	2	<a href="#">P323L</a> , <a href="#">G671S</a>
			NSP13 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">S36P</a> , <a href="#">R392C</a>
			NSP14 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I42V</a>
			NSP15 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I112I</a>
			NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
			Spike WIV04	97.0%	<a href="#">99.7%</a>	42	<a href="#">T19I</a> , <a href="#">L24del</a> , <a href="#">P25del</a> , <a href="#">P26del</a> , <a href="#">A27S</a> , <a href="#">V83A</a> , <a href="#">G142D</a> , <a href="#">Y144del</a> , <a href="#">H146Q</a> , <a href="#">Q183E</a> , <a href="#">V213E</a> , <a href="#">G252V</a> , <a href="#">G339H</a> , <a href="#">R346I</a> , <a href="#">L368I</a> , <a href="#">S371F</a> , <a href="#">S373P</a> , <a href="#">S375E</a> , <a href="#">I376A</a> , <a href="#">D405N</a> , <a href="#">R408S</a> , <a href="#">K417N</a> , <a href="#">N440K</a> , <a href="#">V445P</a> , <a href="#">G446S</a> , <a href="#">N460K</a> , <a href="#">S477H</a> , <a href="#">I478K</a> , <a href="#">F484A</a> , <a href="#">F486S</a> , <a href="#">F490S</a> , <a href="#">Q498R</a> , <a href="#">N501Y</a> , <a href="#">Y505H</a> , <a href="#">D614G</a> , <a href="#">H655Y</a> , <a href="#">N679K</a> , <a href="#">P681H</a> , <a href="#">N764K</a> , <a href="#">D796Y</a> , <a href="#">Q954H</a> , <a href="#">N969K</a>
			NS3 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T223I</a>
			E WIV04	97.3%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">I9I</a> , <a href="#">I11A</a>
			M WIV04	99.1%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">Q19E</a> , <a href="#">A63T</a>
NS6 WIV04	100%	<a href="#">98.4%</a>	0	no aa changes			
NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes			
NS8 WIV04	100%	<a href="#">5.8%</a>	1	<a href="#">G8stop</a>			
N WIV04	99.0%	<a href="#">99.3%</a>	7	<a href="#">P13I</a> , <a href="#">E31del</a> , <a href="#">R32del</a> , <a href="#">S33del</a> , <a href="#">R203K</a> , <a href="#">G204R</a> , <a href="#">S413R</a>			

**ANEXO 7:** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje XBB.1.5

- **Cambio de aminoácidos:** Spike A27S, Spike D405N, Spike D614G, Spike D796Y, Spike E484A, Spike F486P, Spike F490S, Spike G142D, Spike G252V, Spike G339H, Spike G446S, Spike H146Q, Spike H655Y, Spike K417N, Spike L24del, Spike L368I, Spike N440K, Spike N460K, Spike N501Y, Spike N679K, Spike N764K, Spike N969K, Spike P25del, Spike P26del, Spike P681H, Spike Q183E, Spike Q498R, Spike Q954H, Spike R346T, Spike R408S, Spike S371F, Spike S373P, Spike S375F, Spike S477N, Spike T19I, Spike T376A, Spike T478K, Spike V83A, Spike V213E, Spike V445P, Spike Y144del, Spike Y505H, E T9I, E T11A, M A63T, M Q19E, N E31del, N G204R, N P13L, N R32del, N R203K, N S33del, N S413R, NS3 T223I, NS8 G8stop, NSP1 K47R, NSP1 S135R, NSP3 G489S, NSP3 T24I, NSP4 L264F, NSP4 L438F, NSP4 T327I, NSP4 T492I, NSP5 P132H, NSP6 F108del, NSP6 G107del, NSP6 S106del, NSP12 G671S, NSP12 P323L, NSP13 R392C, NSP13 S36P, NSP14 I42V, NSP15 T112I.

La Tabla Anexo 7, 11 muestra la distribución de las mutaciones de XBB.1.5, clasificadas por colores: Los cambios de aminoácidos de interés epidemiológico de color azul. Los que alteran la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad de color naranja. Las mutaciones relacionadas al escape inmunológico de color rosa. Y las inserciones y deleciones de aminoácidos de color celeste. Mutaciones que se distribuyen de la siguiente manera:

- **Proteína no estructural 1:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 3:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 4:** Cuatro mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 5:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 6:** Tres deleciones.
- **Proteína no estructural 12:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 13:** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 14:** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína no estructural 15:** Una mutación de interés epidemiológico.

- **Proteína Spike:** 14 mutaciones de interés epidemiológico, cuatro deleciones, una mutación de escape inmunológico y 23 mutaciones relacionadas a la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.
- **Proteína del ORF3 (NS3):** Una mutación de interés epidemiológico.
- **Proteína de Envoltura (E):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Glicoproteína de Membrana (M):** Dos mutaciones de interés epidemiológico.
- **Proteína del ORF8 (NS8):** Una mutación de interés epidemiológico (Codón de parada).
- **Fosfoproteína de la nucleocápside (N):** Tres mutaciones de interés epidemiológico, tres deleciones y una mutación relacionada a la alteración de la unión a receptores de la célula hospedera o la antigenicidad.

**Tabla Anexo 7.** Cambios de aminoácidos identificados en el sublinaje XBB.1.5.

Query	Clade VariantInf	Best reference hit	%id	%coverage	#Aa	List of aa changes
XBB.1.5	GRA <b>recent (ranked)</b>	NSP1 WIV04	98.9%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">K47R</a> , <a href="#">S135R</a>
		NSP2 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP3 WIV04	99.9%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">T24I</a> , <a href="#">G489S</a>
		NSP4 WIV04	99.2%	<a href="#">100%</a>	4	<a href="#">L264E</a> , <a href="#">T327I</a> , <a href="#">L438E</a> , <a href="#">T492I</a>
		NSP5 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">P132H</a>
		NSP6 WIV04	100%	<a href="#">99.0%</a>	3	<a href="#">S106del</a> , <a href="#">G107del</a> , <a href="#">E108del</a>
		NSP7 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP8 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP9 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP10 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP11 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		NSP12 WIV04	99.8%	<a href="#">99.0%</a>	2	<a href="#">P323L</a> , <a href="#">G671S</a>
		NSP13 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">S36P</a> , <a href="#">R392C</a>
		NSP14 WIV04	99.8%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">I42V</a>
		NSP15 WIV04	99.7%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T112I</a>
		NSP16 WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes
		Spike WIV04	97.0%	<a href="#">99.7%</a>	42	<a href="#">T19I</a> , <a href="#">L24del</a> , <a href="#">P25del</a> , <a href="#">P26del</a> , <a href="#">A27S</a> , <a href="#">V83A</a> , <a href="#">G142D<sup>S</sup></a> , <a href="#">Y144del<sup>S</sup></a> , <a href="#">H146Q<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q183E</a> , <a href="#">V213E</a> , <a href="#">G252V</a> , <a href="#">G339H<sup>S</sup></a> , <a href="#">R346T<sup>S</sup></a> , <a href="#">L368I<sup>S</sup></a> , <a href="#">S371E<sup>S</sup></a> , <a href="#">S373P<sup>S</sup></a> , <a href="#">S375E<sup>S</sup></a> , <a href="#">T376A<sup>S</sup></a> , <a href="#">D405N<sup>S</sup></a> , <a href="#">R408S<sup>S</sup></a> , <a href="#">K417N<sup>S</sup></a> , <a href="#">N440K<sup>S</sup></a> , <a href="#">V445P<sup>S</sup></a> , <a href="#">G446S<sup>S</sup></a> , <a href="#">N460K<sup>S</sup></a> , <a href="#">S477N<sup>S</sup></a> , <a href="#">I478K<sup>S</sup></a> , <a href="#">E484A<sup>S</sup></a> , <a href="#">E486P<sup>S</sup></a> , <a href="#">E490S<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q498R<sup>S</sup></a> , <a href="#">N501Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">Y505H<sup>S</sup></a> , <a href="#">D614G<sup>S</sup></a> , <a href="#">H655Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">N679K</a> , <a href="#">P681H<sup>S</sup></a> , <a href="#">N764K</a> , <a href="#">D796Y<sup>S</sup></a> , <a href="#">Q954H</a> , <a href="#">N969K</a>
		NS3 WIV04	99.6%	<a href="#">100%</a>	1	<a href="#">T223I</a>
		E WIV04	97.3%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">T9I</a> , <a href="#">T11A<sup>S</sup></a>
		M WIV04	99.1%	<a href="#">100%</a>	2	<a href="#">Q19E</a> , <a href="#">A63I</a>
NS6 WIV04	100%	<a href="#">98.4%</a>	0	no aa changes		
NS7a WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS7b WIV04	100%	<a href="#">100%</a>	0	no aa changes		
NS8 WIV04	100%	<a href="#">5.8%</a>	1	<a href="#">G8stop</a>		
N WIV04	99.0%	<a href="#">99.3%</a>	7	<a href="#">P131<sup>S</sup></a> , <a href="#">E31del</a> , <a href="#">R32del</a> , <a href="#">S33del</a> , <a href="#">R203K</a> , <a href="#">G204R</a> , <a href="#">S413R</a>		