



Análisis comparativo del Sars-CoV-2 en México en los años 2020 y 2021 - BT1013

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey

Desirée Espinosa Contreras - A01425162

Dulce Nahomi Bucio Rivas - A01425284

Introducción

La pandemia de COVID-19, provocada por el virus SARS-CoV-2, tuvo su inicio en el año 2020, cuando la Organización Mundial de la Salud declaró la epidemia originalmente situada en China como una emergencia de salud internacional, para posteriormente ser declarada como pandemia. En la actualidad, la pandemia continúa en un estado activo, habiendo alcanzado una cifra estimada de 676,609,955 casos de coronavirus a nivel mundial, con un total de 6,881,955 lamentables muertes, según la Universidad Johns Hopkins. Asimismo, en México, se estima un total de 7,483,444 casos diagnosticados y 333,188 muertes por COVID-19.

Propuesta

Para el proyecto, se hará un análisis de las secuencias del virus en México de febrero a diciembre de 2020, y de febrero a diciembre de 2021.

Objetivo

Encontrar los cambios que experimentó el SARS-CoV-2 en su estructura durante estos períodos de tiempo. Analizaremos principalmente los genes S, M, E y N, los cuales han demostrado tener un papel importante en la construcción de la estructura del virus, especialmente el gen S.

Hipótesis

Se encontrará una cantidad relevante de mutaciones en el gen S, lo cual podría implicar que dichas mutaciones estuvieron involucradas en el aumento de la transmisibilidad del virus y/o en la efectividad de las vacunas. Además, se podrá obtener información valiosa sobre la evolución del virus.

Marco Teórico

Para el enfoque del estudio, es importante definir qué es una variante. Una variante es un genoma viral (código genético) que puede incluir una o más mutaciones. La primera variante detectada fue la Alfa B.1.1.7, que se observó por primera vez en el suroeste de Inglaterra y se caracteriza por ser entre un 30% y un 70% más contagiosa que el virus original.

A continuación, se presentan algunas de las variantes más relevantes descubiertas en distintas regiones del mundo:

Variante Alfa B.1.1.7: Descubierta en Reino Unido, fue la variante dominante a nivel mundial hasta el año 2021, con una frecuencia mayor al 80% en regiones como Europa y América del Norte.

Variante Beta B.1.351: Detectada en Sudáfrica, fue mayoritariamente dominante en esa región, pero en otras no superó una frecuencia del 20%. Se caracteriza únicamente por tener mayor carga vírica, pero no se encontró ni se demostró nada más acerca de su transmisibilidad.

Variante Gamma P1: Procedente de la Amazonas brasileña, se convirtió en la más dominante en América del Sur, mientras que en otras regiones su frecuencia no supera el 10%. Se caracteriza por ser más contagiosa.

Variante DELTA B.1.617.2: Encontrada en la India, esta variante dio señales de ser más contagiosa y resistente a vacunas y tratamientos. Fue responsable del colapso del sistema sanitario en ese país, así como de su propagación por 26 países de la región europea de la OMS.

Desarrollo

Iniciaremos el análisis de las secuencias. Tras leer las secuencias seleccionadas con el período de tiempo dado, haremos un análisis de cómo mutó cada una de las iniciales, o sea las del 2020 y las del 2021.

```
length(mx_2020)
```

```
## [1] 60
```

```
length(mx_2021)
```

```
## [1] 2400
```

Consideremos que los 11 genes del SARS-COV-2 son representados en los archivos proporcionados como el ORF1ab separado, por lo que tenemos un vector de 12 genes por cada secuencia. Entonces, tenemos que analizar 5 secuencias del 2020 contra 200 del 2021.

Usaremos la siguiente serie de funciones para encontrar las mutaciones necesarias:

```
aminoacido = function(codon) {  
  aminoacid = switch(  
    codon,  
    "GCU" = "A", "GCC" = "A", "GCA" = "A", "GCG" = "A",  
    "CGU" = "R", "CGC" = "R", "CGA" = "R", "CGG" = "R",  
    "AGA" = "R", "AGG" = "R", "AAU" = "N", "AAC" = "N",  
    "GAU" = "D", "GAC" = "D", "UGU" = "C", "UGC" = "C",  
    "CAA" = "Q", "CAG" = "Q", "GAA" = "E", "GAG" = "E",  
    "GGU" = "G", "GGC" = "G", "GGA" = "G", "GGG" = "G",  
    "CAU" = "H", "CAC" = "H", "AUU" = "I", "AUC" = "I",  
    "AUA" = "I", "UUA" = "L", "UUG" = "L", "CUU" = "L",  
    "CUC" = "L", "CUA" = "L", "CUG" = "L", "AAA" = "K",  
    "AAG" = "K", "AUG" = "M", "UUU" = "F", "UUC" = "F",  
    "CCU" = "P", "CCC" = "P", "CCA" = "P", "CCG" = "P",
```

```

    "UCU" = "S", "UCC" = "S", "UCA" = "S", "UCG" = "S",
    "AGU" = "S", "AGC" = "S", "ACU" = "T", "ACC" = "T",
    "ACA" = "T", "ACG" = "T", "UGG" = "W", "UAU" = "Y",
    "UAC" = "Y", "GUU" = "V", "GUC" = "V", "GUA" = "V",
    "GUG" = "V"
  )
  return (aminoacid)
}

```

Esta primera función llamada “aminoacido” devuelve la abreviación establecida de los distintos aminoácidos según una entrada dada. Esta función es posteriormente utilizada en la siguiente función que muestra las mutaciones para indicar el cambio de proteína.

```

mutaciones = function(arnOriGenX, arnMexaGenX, inicioOri, gen){
  # Obtener las posiciones donde hay nucleótidos diferentes
  diff = which(arnOriGenX != arnMexaGenX)
  for (x in diff){
    # Formar un string con el cambio de nucleótido
    muta = paste(arnOriGenX[x], "to", arnMexaGenX[x], sep="")
    # Calcular el inicio del codón
    inicioCodon = x - (x-1)%3
    # Calcular la posición global
    posGlobal = inicioCodon + inicioOri
    # Calcular el número del codón
    numCodon = as.integer((x-1)/3+1)
    # Calcular el inicio del codón
    indiceCodon = x - (x%3) + 1
    # Concatena los nucleotidos para crear el codon a comparar
    codonOri = paste(arnOriGenX[indiceCodon], arnOriGenX[indiceCodon+1],
                     arnOriGenX[indiceCodon+2], sep="")
    codonMex = paste(arnMexaGenX[indiceCodon], arnMexaGenX[indiceCodon+1],
                     arnMexaGenX[indiceCodon+2], sep="")
    codon = paste(codonOri, "to", codonMex, sep="") #Compara el cambio
    # Aplica la función "aminoácido" para obtener la abreviación
    aminoOri = aminoacido(codonOri)
    aminoMex = aminoacido(codonMex)
    # Resume el cambio con el aminoácido obtenido
    amino = paste(aminoOri, numCodon, aminoMex, sep="")
    # Agrega los datos al data frame
    obs = list(muta, posGlobal, codon, amino, gen)
    mutations[nrow(mutations)+1, ] = obs
  }
  return(mutations)
}

```

Después, con esta función “mutaciones”, se extraen las distintas observaciones necesarias para el análisis, como la posición de inicio de cada gen, que se obtiene a partir de las anotaciones del archivo que contiene la secuencia original del virus. Otras de las observaciones que devuelve esta función es la posición donde se da el cambio de nucleótido, y con ello se obtiene la posición del codón, así como las mutaciones con la abreviatura correspondiente. Además de devolver dichas observaciones, indica también a qué gen corresponde cada una de las anteriormente mencionadas.

Para usar la función en todas las secuencias aplicamos el siguiente ciclo:

```

# Iteramos el conjunto de genes obtenidos del 2020
for (k in seq(1, length(mx_2020))) {
  arnMexa2020 = as.vector(mx_2020[[k]])
  # Convertimos a ARN
  arnMexa2020[arnMexa2020=="t"] = "u"
  arnMexa2020 = toupper(arnMexa2020)
  # Iteramos el conjunto de genes obtenidos del 2021
  for (j in seq(1, length(mx_2021))) {
    # Solamente hacemos la comparación si son el mismo gen
    if (k%%12 == j%%12) {
      arnMexa2021 = as.vector(mx_2021[[j]])
      arnMexa2021[arnMexa2021 == "t"] = "u"
      arnMexa2021 = toupper(arnMexa2021)
      # Esto lo usamos para que tome las anotaciones del gen 12 del original
      vect = j%%12
      if (vect == 0) {
        vect = 12
      }
      if (j==2) next
      # Extraemos las anotaciones y características que nos importan
      # como el número de inicio del gen y su nombre
      anotaciones = attr(original[[vect]], "Annot")
      atributos = unlist(strsplit(anotaciones, "\\[|\\]|:|=|\\.|\\(|\\)"));
      geneName = atributos[which(atributos=="gene")+1]
      if (length(which(atributos=="join"))>0)
        inicioGen = as.integer(atributos[which(atributos=="join")+1])
      else inicioGen = as.integer(atributos[which(atributos=="location")+1])
      # Usamos la función "mutaciones" con los parámetros adquiridos en este ciclo
      mutations = mutaciones(arnMexa2020, arnMexa2021, inicioGen, geneName)
    }
  }
}

```

Empezamos iterando las muestras del 2020 para comparar cada una de ellas con las del 2021 que correspondan al mismo lugar módulo 12, con el fin de comparar cada gen correspondientemente. Es importante destacar que se cambió el nucleótido “T” por “U” para convertir la secuencia en ARN. Obuvimos una serie de datos de todas las mutaciones de la siguiente longitud:

```
str(mutations)
```

```

## 'data.frame':   158501 obs. of  5 variables:
## $ mutation : chr "AtoU" "GtoU" "UtoC" "UtoC" ...
## $ pos_global : num 1302 8178 12786 18486 20931 ...
## $ cambioCodon: chr "GAGtoGAG" "CAAtoCAA" "AUAtoACA" "AUAtoAUA" ...
## $ cambioAmino: chr "E346E" "Q2638Q" "I4174T" "I6074I" ...
## $ gen : chr "ORF1ab" "ORF1ab" "ORF1ab" "ORF1ab" ...

```

Podemos notar que existen muchas observaciones, entre las cuales algunas pueden aparecer en una cantidad mínima de veces y ser insignificantes para el estudio posterior. Por lo tanto, filtraremos aquellas que aparecieron más de 10 veces.

```

mutaciones_filtradas = filter(
  summarise(
    select(
      # agrupa por columna de aminoacido
      group_by(mutations, cambioAmino),
      mutation:gen
    ),
    mutation = first(mutation),
    cambioCodon = first(cambioCodon),
    gen = first(gen),
    # establece una cuenta para verificar el número de registros que tenemos
    Cuenta = n()
  ),
  Cuenta>10
)

```

Debido a que los genes de nuestro interés son los estructurales, entonces los separaremos:

```

mutations_S = subset(mutaciones_filtradas, gen == "S")
mutations_M = subset(mutaciones_filtradas, gen == "M")
mutations_E = subset(mutaciones_filtradas, gen == "E")
mutations_N = subset(mutaciones_filtradas, gen == "N")

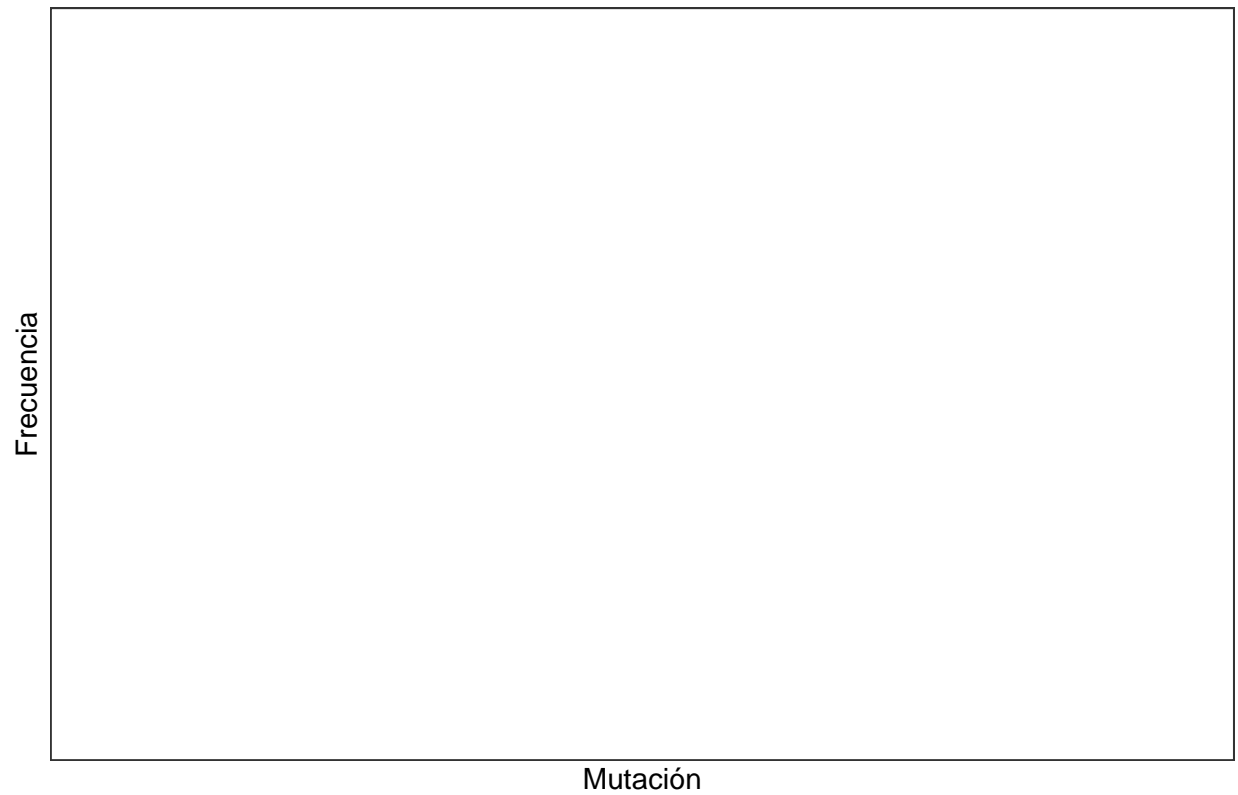
```

Resultados

A partir de los datos obtenidos anteriormente y con el fin de visualizarlos mejor, generamos las siguientes gráficas:

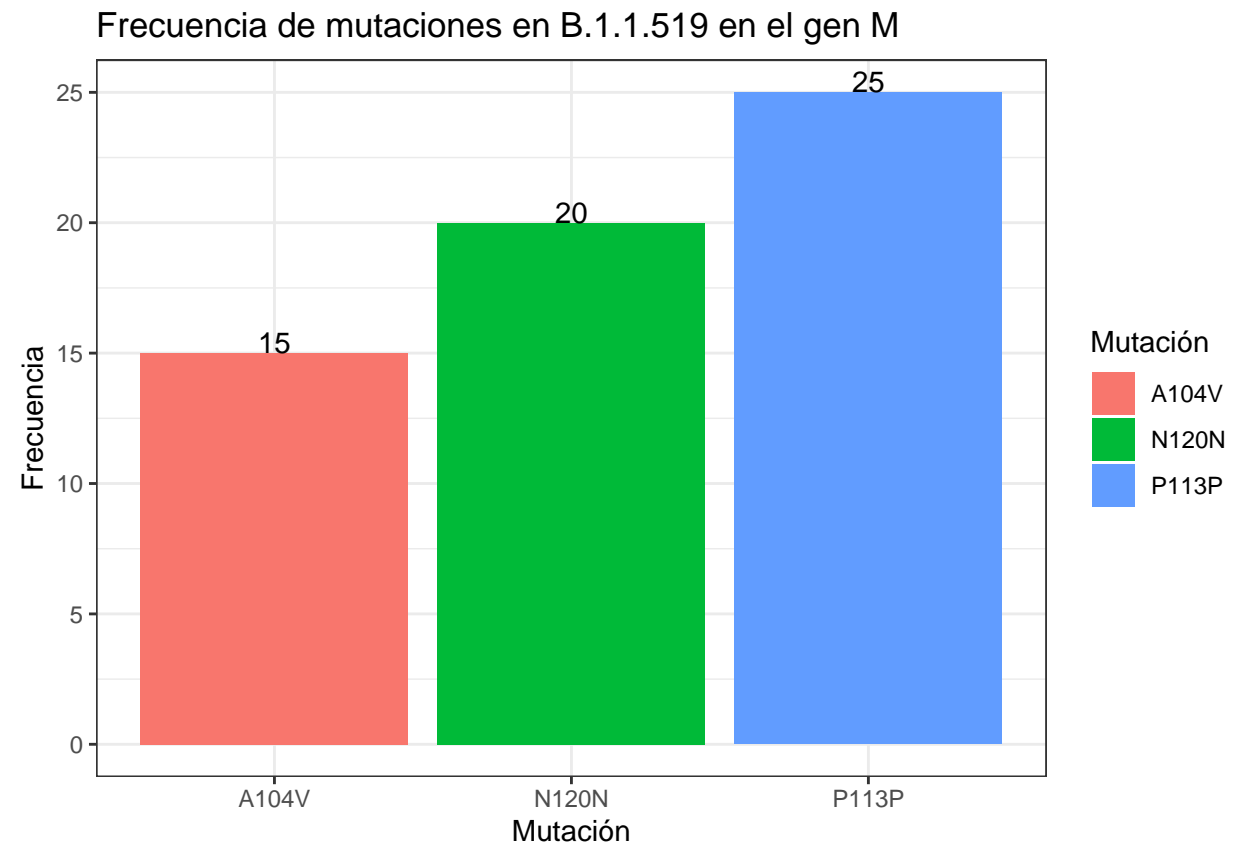
grafica_E

Frecuencia de mutaciones en B.1.1.519 en el gen E

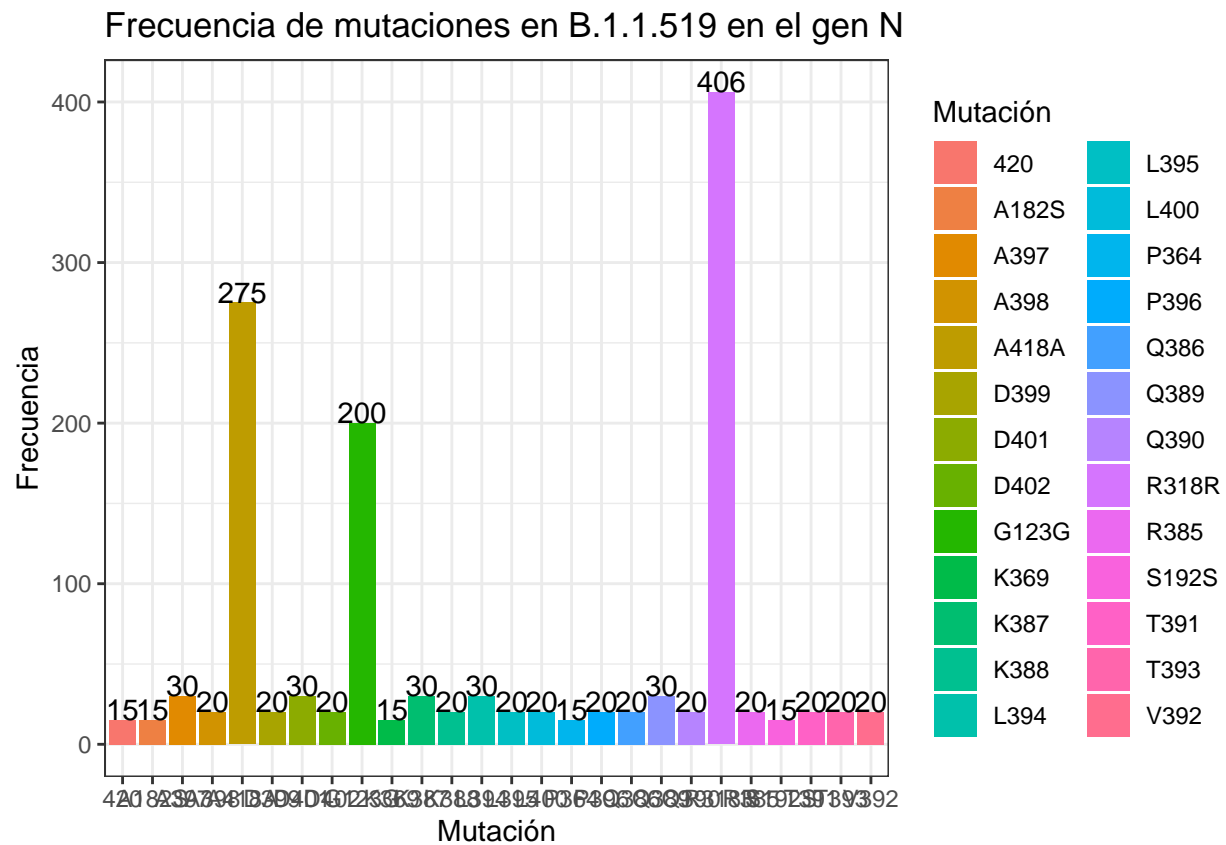


Cabe destacar en este caso no hubo ninguna mutación que apareciera más de 10 veces.

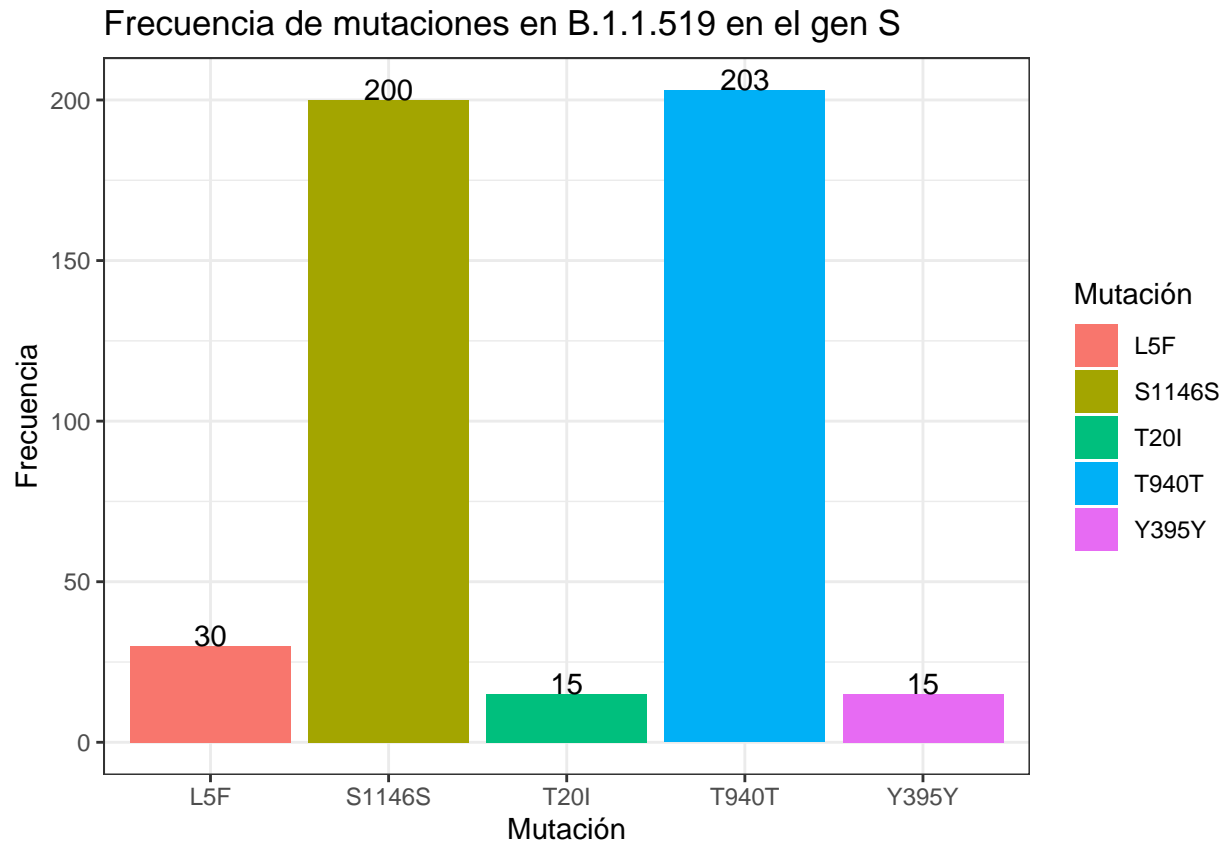
grafica_M



grafica_N



grafica_S



Los resultados mostrados en las gráficas indican que los genes con mayor número de mutaciones fueron el gen S y el gen N, mientras que el M tuvo una menor cantidad de mutaciones y el gen E no presentó mutaciones.

Conclusión

Gracias a las diversas herramientas de análisis estadístico de datos que ofrece R, se pudo observar que no solo el gen S, como se había hipotetizado, sino también los genes N y M, presentan mutaciones. A partir de los resultados y de investigaciones adicionales, se puede afirmar entonces que la gran cantidad de mutaciones en el gen N, en el gen M y en la proteína de espiga podrían tener efectos sobre la capacidad del virus para infectar las células humanas, lo que puede aumentar la transmisibilidad de este. Además, se ha comprobado que las mutaciones en estos genes pueden afectar también la habilidad de los anticuerpos para combatir el virus, lo que potencialmente afectaría la eficacia de las vacunas. Por esto, podemos explicar la aparición de nuevas variantes cada vez más transmisibles de 2020 a 2021, como la variante Delta.

Es crucial destacar que vigilar de forma continua las mutaciones del virus es esencial para prevenir la propagación de variantes más contagiosas y peligrosas. Los expertos en salud de todo el mundo trabajan arduamente para comprender cómo las mutaciones afectan la propagación, la gravedad de la enfermedad y la eficacia de las medidas de prevención y tratamiento. Detectar rápidamente las mutaciones y tomar medidas de control oportunas puede ser clave para evitar una mayor propagación del virus y reducir su impacto en la salud pública y la economía global. Por lo tanto, es fundamental que se mantenga una vigilancia constante y coordinada a nivel mundial para monitorear la evolución del virus y sus mutaciones. En esta tarea, herramientas como R pueden ser de gran ayuda al facilitar la identificación temprana de mutaciones y permitir una respuesta rápida y efectiva.

Bibliografía

- Abu-Raddad, L. J., et al. (2020). An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), 533-534. Recuperado el 9 de mayo, de [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30457-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30457-6)
- COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. (s.f.). Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. Recuperado el 25 de abril, de <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- Ferrer, R. (2020). Pandemia por COVID-19: el mayor reto de la historia del intensivismo. *Medicina Intensiva*, 44(6), 323-324. Recuperado el 25 de abril, de <https://doi.org/10.1016/j.medin.2020.04.002>
- Grubaugh, N. D., et al. (2020). Genomic epidemiology reveals multiple introductions of SARS-CoV-2 into the United States. *Science*, 368(6491), 1-8. Recuperado el 9 de mayo, de <https://doi.org/10.1126/science.abc2942>
- Gu, H., et al. (2020). Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*, 369(6500), 1603-1607. Recuperado el 9 de mayo, de <https://doi.org/10.1126/science.abc4730>
- National Center for Biotechnology Information. (s. f.). Virus Variation Resource - SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). Recuperado el 25 de abril, de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/virus?SeqType_s=Nucleotide&VirusLineage_ss=Severe%20acute%20respiratory%20syndrome%20coronavirus%202,%20taxid:2697049&utm_source=data-hub
- Plante, J. A., et al. (2021). The variant gambit: COVID-19's next move. *Cell Host & Microbe*, 29(2), 197-198. Recuperado el 9 de mayo, de <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.01.017>
- Pulido, S. (2021). Variantes Covid por países: Un análisis completo y experiencias en Reino Unido y ee.uu con Los Test Genéticos. Recuperado el 25 de abril de 2023, de <https://economiadelasalud.com/topics/difusion/variantes-covid-por-paises-un-analisis-completo-y-experiencias-en-reino-unido-y-ee-uu-con-los-test-geneticos/>
- Updated working definitions and primary actions for SARSCOV2 variants. (s.f.). Recuperado el 25 de abril de 2023, de <https://www.who.int/publications/m/item/historical-working-definitions-and-primary-actions-for-sars-cov-2-variants>