

Detección e identificación de variantes SARS-CoV-2 en comunidad UG y análisis estadísticos emitidos por LUDIMUG

Detection and identification of SARS-CoV-2 variants in the UG community and
statistical analysis issued by the LUDIMUG

Barrón Figueroa Dafne Belén¹, Picón Rodríguez Isaac Noé de Jesús², Prieto Reyes Julio Antonio³, Ríos Rojas Juan José⁴, Rosas López Gloria Isabel⁵, Ortiz Ciénega Juana Beatriz⁶

^{1,2,4,5,6} Escuela de Nivel Medio Superior de León. ³Departamento de Medicina y Nutrición. Universidad de Guanajuato.
db.barronfigueroa@ugto.mx¹, indj.piconrodriguez@ugto.mx², ja.prietoreyes@ugto.mx³, jj.riosrojas@ugto.mx⁴, gi.rosaslopez@ugto.mx⁵,
jb.ortiz@ugto.mx⁶

Resumen

A partir del año 2021, el laboratorio Universitario de Diagnóstico Molecular de la Universidad de Guanajuato (LUDIMUG), surge como la mejor opción para realizar una detección oportuna del virus SARS-CoV-2, a fin de contribuir a minimizar riesgos en la población universitaria, contando para ello con personal profesional y experto en el manejo de las pruebas diagnósticas. Posteriormente, LUDIMUG en su segunda etapa de crecimiento abre sus puertas al servicio de la población general y posteriormente a las empresas, detectando enfermedades como: Influenza H1N1 y SARS-CoV-2. En el año 2022 el LUDIMUG fue reconocido con el premio Armando Olivares Carrillo por su gran desempeño y dedicación al cuidado de la salud en la comunidad UG, posteriormente realizan su primera colaboración internacional implementando la estrategia Lolli en conjunto con el instituto de virología de la Universidad de Colonia en Alemania. A finales del 2022, LUDIMUG firma un contrato de exclusividad para brindar sus servicios al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Lo anteriormente descrito ha permitido contar con un vasto banco de muestras para la investigación y desarrollo en colaboración con instituciones nacionales e internacionales, en este proyecto, los estudiantes realizarán una revisión documental para la preparación de insumos y reactivos de tal manera que puedan identificar el tipo de cepa predominante en la comunidad UG, así mismo, se realizará el análisis estadístico para identificar la tendencia dominante de la cepa en los casos positivos detectados en la comunidad UG.

Palabras clave: SARS-CoV2, COVID-19, LUDIMUG, variantes, muestras.

Introducción

A finales del 2019 en Wuhan, China comenzaron a reportarse casos de neumonía que aumentaban a gran velocidad, pero no se tenía certeza de la causa de esta alarmante situación. Una vez que el virus causante fue aislado, se le asignó el nombre de "2019-nCoV" y posteriormente fue designado como SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2).⁵

La Coronaviridae es una gran familia de ARN monocatenarios positivos que son detectados como virus que infectan una amplia gama de vertebrados, esta familia cuenta con 4 géneros:

- Alphacoronavirus,
- Betacoronavirus,
- Deltacoronavirus, y
- Gammacoronavirus.³

⁵ Vasireddy et al.

³ Klein et al.

Los géneros Alpha y Beta son integrados por virus zoonóticos, es decir, que pueden transmitirse de animales a humanos; el SARS-CoV-2 es un Betacoronavirus que está formado por las siguientes proteínas estructurales: la nucleocápside (N), la membrana (M), la envoltura (E) y la glicoproteína spike (S). Esta última interviene en la unión del virus a la célula huésped en el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2; de esta forma, y después de una serie de más reacciones, el virus logra entrar a las células y se aloja en el organismo, modificando la membrana para formar vesículas de doble membrana, que se utilizan como sitios dedicados para la replicación del ARN viral.⁵

Aunque ya se tenía registro de enfermedades causadas por la familia de coronavirus como el MERS-CoV (middle eastern respiratory syndrome coronavirus), el SARS-CoV-2 al ser un virus nuevo, no se contaba con tratamiento alguno para la enfermedad, además, por su alta transmisibilidad no se pudo contener en China y rápidamente se extendió a todo el mundo provocando la pandemia de COVID-19.³

El desarrollo de una vacuna contra la COVID-19 fue un factor determinante para el control de la pandemia, por lo que un gran número de laboratorios alrededor del mundo se dedicaron exhaustivamente a crear una vacuna en tiempo récord para frenar el aumento de contagios y disminuir el riesgo de muerte, esto no fue una tarea sencilla, ya que para generar una vacuna con un alto porcentaje de efectividad se debían tomar en cuenta múltiples factores como: las constantes mutaciones del virus, los efectos secundarios que podría producir a corto y largo plazo, su producción y distribución, entre otros. Entre las vacunas que se lograron desarrollar se encuentran Pfizer, BioNTech, AstraZeneca, Sputnik V, Jansen, CanSino, Moderna, Novavax; ninguna de estas vacunas tiene 100% de efectividad en la prevención de la enfermedad por COVID-19 y un reducido grupo de toda la población vacunada será susceptible a desarrollar la enfermedad en distintos grados.⁵

La emergencia sanitaria generada por este virus ha cobrado la vida de casi siete millones de personas en todo el mundo, aunque la cifra real es desconocida debido a que algunos países solo reportaban las muertes ocurridas en los hospitales, mientras que otros, además de estas muertes, también reportaban las ocurridas en casa. Un factor que influyó en esta problemática fue que el SARS-CoV-2 podía generar otras complicaciones como pulmonías o insuficiencia orgánica múltiple, lo que dificultaban atribuir correctamente las muertes al virus. Además, otro obstáculo fue la dificultad de realizar pruebas de detección eficaces contra el virus, pues, a lo largo de la pandemia ya mencionada, el virus sufrió de distintas mutaciones, lo que generó diversas variantes.⁴

Hay múltiples formas en que se clasifican los virus del SARS-CoV-2, a menudo se discute en el contexto de linajes, es decir, un grupo de virus estrechamente relacionados con un ancestro común; en un contexto más amplio, los linajes o grupos de linajes relacionados pueden ser clasificados usando letras griegas (como Ómicron) misma clasificación que fue usada por la Organización Mundial de la Salud (OMS).¹

El Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos estableció un Grupo Interagencial sobre el SARS-CoV-2, el cual caracteriza las variantes emergentes y monitorea su impacto potencial en las vacunas, la terapéutica y el diagnóstico de la siguiente forma:¹

- Variante de interés (VOI). Principalmente incluyen aquellas que tienen: cambios en el dominio de unión al receptor RBD, reducción de la eficacia de los tratamientos o pruebas y aumento previsto de la transmisibilidad o gravedad de la enfermedad.
- Variante preocupante (COV). Además de los posibles atributos de una variante de interés, incluyen: aumento de la transmisibilidad, enfermedad más grave (por ejemplo, aumento de hospitalizaciones o muertes) y reducción de la eficacia de los tratamientos o vacunas, o fallos de detección diagnóstica.
- Variante de alta consecuencia (VOHC). Además de los posibles atributos de una variante preocupante, incluyen: evidencia que sugiere una reducción significativa en la efectividad de la vacuna, un número desproporcionadamente alto de infecciones en personas vacunadas o una protección muy baja inducida por la vacuna contra la enfermedad grave; enfermedad clínica más severa y aumento de hospitalizaciones.
- Variante en proceso de supervisión (VBM). Una variante de interés o de preocupación puede degradarse a esta lista después de que ya no esté circulando a niveles sostenidos y no represente un riesgo significativo.¹

⁵ Vasireddy et al.

³ Klein et al.

⁴ Mathieu, E.

¹ Centers for Disease Control and Prevention

Tabla 1. Variantes principales del SARS-CoV-2¹

Etiqueta de la OMS	Linaje Pango	Estado actual	Fecha de designación
Alfa	Linajes B.1.1.7 y Q	VBM	VOC: diciembre 29, 2020
			VBM: septiembre 21, 2021
Beta	B.1.351 y linajes descendientes	VBM	VOC: 29 de diciembre de 2020
			VBM: 21 de septiembre de 2021
Gamma	P.1 y linajes descendientes	VBM	VOC: 29 de diciembre de 2020
			VBM: 21 de septiembre de 2021
Delta	B.1.617.2 y linajes descendientes	VBM	VOC: junio 15, 2021
			VBM: abril 14, 2022
Épsilon	B.1.427 y B.1.429	VBM	VOC: 19 de marzo de 2021
			VOI: 26 de febrero de 2021
			VOI: junio 29, 2021
Eta	B.1.525	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
			VOI: 26 de febrero de 2021
Jota	B.1.526	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
			VOI: 26 de febrero de 2021
Kappa	B.1.617.1	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
			VOI: 7 de mayo de 2021
N/A	B.1.617.3	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
			VOI: 7 de mayo de 2021
Ómicron	B.1.1.529 y linajes descendientes	VOC	VOC: noviembre 26, 2021
			VOC: noviembre 26, 2021
Zeta	P.2	VBM	VOI: 26 de febrero de 2021
			VBM: 21 de septiembre de 2021
Mu	B.1.621, B.1.621.1	VBM	VBM: 21 de septiembre de 2021
			VBM: 21 de septiembre de 2021

La importancia de conocer cuáles son los síntomas que caracterizan a cada variante, radica en la determinación de los mecanismos por los cuales el SARS-CoV-2 interviene al estar en íntimo contacto con el organismo, pues, al ser una enfermedad que ha cobrado la vida de millones de personas en el mundo, es valioso contar con información que puede ser útil para aportar mejoras en los cuidados, tratamientos, medidas de prevención u otras aplicaciones clínicas y/o epidemiológicas.²

¹ Centers for Disease Control and Prevention

² Genes2life.

Materiales y métodos

A fin de lograr los objetivos establecidos en este proyecto de verano se realizaron una serie de prácticas que permitieron adquirir las habilidades necesarias para poder desarrollar los experimentos de manera adecuada. Posteriormente, se describen los materiales y métodos realizados para la identificación de las variantes.

1. Práctica con micropipeta.

Materiales

- Micropipetas
 - A) 10 μ l
 - B) 200 μ l
 - C) 1000 μ l
- Puntas para micropipetas
 - A) 10 μ l
 - B) 100 μ l
 - C) 200 μ l
 - D) 1000 μ l
- Tinta china
- Agua destilada
- Medio viral (MV)*
- Tubos Eppendorf de 2 ml
- Trozo de parafilm
- Placa para PCR

Nota:

*MV: medio viral, es un medidor de PH y temperatura de color rojo a menos de una alteración

Procedimiento

1. Usar las micropipetas en volúmenes de 200, 150, 10, 5 y 1 μ l.
2. Tomar agua y verterla sobre el trozo de parafilm para mejorar el pulso y familiarizarse con las herramientas.
3. Medir 50 μ l de tinta china y a continuación depositarla correctamente en los tubos de Eppendorf.
4. Repetir el paso 3, con volúmenes de 10 y 5 μ l.
5. Utilizar la placa de PCR (Polymerase Chain Reaction) para colocar una fila de tinta china y una de MV, esto para detectar cualquier contaminación que pudiera existir.



Figura 1. Gotas de agua de diversos volúmenes para practicar el uso correcto de la micropipeta.
Fuente: propia.

2. Identificación de pruebas positivas en base de datos.

Materiales

- Computadora.
- bitácora del LUDIMUG.

- Base de datos electrónica.
- Archivos digitales e impresos.
- Muestras positivas recolectadas.

Procedimiento

1. Tomar un rango de pruebas COVID-19 desde Agosto 2021 hasta Diciembre 2022, previamente analizadas por el equipo LUDIMUG durante la pandemia.
2. Por fechas y con ayuda de la gráfica del programa Design and Analysis Software v1.5.2, QuantStudio 3 and 5 systems, registrar en un archivo de Excel las muestras positivas con un CT (Cycle Threshold) igual o menor a 31, junto con el folio del paciente y el gen detectado.
3. Cotejar los datos colectados en el paso 2 con las muestras almacenadas en LUDIMUG y con los archivos del laboratorio. Es importante comparar los resultados obtenidos con las muestras guardadas y con los archivos del laboratorio, esto permite verificar la fiabilidad de los resultados y comprobar que no ha habido errores durante el proceso.
4. En otro archivo de Excel, registrar los datos del estudio epidemiológico de caso sospechoso de enfermedad respiratoria viral, los cuales ayudarán a identificar a los pacientes presentaron síntomas comunes asociados al coronavirus tales como: fiebre, tos, cefalea, disnea, irritabilidad, dolor torácico, escalofríos, odinofagia, mialgia, artralgia, anosmia, disgeusia, rinorrea, conjuntivitis, diarrea, polipnea, dolor abdominal, vomito, malestar general. Así como las siguientes comorbilidades: diabetes, EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica), asma, inmunosupresión, hipertensión, VIH/SIDA, enfermedad cardiovascular, obesidad, insuficiencia renal crónica, tabaquismo, otros.

3. Extracción.

Materiales

- Tubos de Eppendorf con compuesto de sílice.
- Centrifugadora.
- Soluciones eluyentes
 - AW1 500 µl (Solución amortiguadora)
 - AW2 500 µl (Solución amortiguadora)
 - AVE 50 µl (Solución de elución)
 - AVL 560 µl (Buffer para la lisis viral)
- Agitador Vortex.

Procedimiento

1. Atemperar las muestras
2. Colocar 560 µl de la solución de trabajo AVL+ 5.6 L de ACARREADOR RNA-AVE en un microtubo de 1.5 ml rotulado
3. Adicionar 140µl de muestra a la solución de trabajo del paso anterior y mezclar en el Vortex durante 15 segundos.
4. Centrifugar por un minuto a 6000 x g, incubar a temperatura ambiente por 10 min. En este paso se inactiva cualquier agente infeccioso.
5. Agregar 560 µl de etanol (96-100%) a la muestra y mezclar en el Vortex 15 segundos. Después de mezclar, centrifugar por un minuto a 6000 x g para desprender las gotas de la tapa.
6. Rotular las columnas con el folio de las muestras correspondientes y agregar 630 µl de la mezcla anterior.
7. Centrifugar a 6000 x g por 1 minuto. Colocar la columna dentro de un tubo colector de 1.5 ml nuevo y desechar el tubo que contiene el filtrado. Si la solución no ha pasado completamente por la columna, centrifugar a una mayor velocidad.
8. Agregar a la columna el volumen restante y repetir el paso 7.
9. Agregar 500 µl de solución amortiguadora AW1 a la columna con un tubo colector nuevo, cerrar la tapa y centrifugar a 6000 x g por 1 minuto. Colocar la columna dentro de un tubo colector nuevo, desechar el tubo que contiene el filtrado.

10. Agregar 500 μl de solución amortiguadora AW2 a la columna, cerrar la tapa y centrifugar a 16000 x g por 3 minutos.
11. Colocar nuevamente la columna en un tubo colector de 1.5 ml nuevo y centrifugar a 16 000 x g por 1 minuto para eliminar el exceso de solución amortiguadora. Si es necesario, repetir este paso para garantizar que la columna quede seca. Evitar un frenado rápido de la centrifuga.
12. Retirar la columna y colocarla en microtubo de 1.5 ml nuevo, desechar el tubo que contiene el filtrado.
13. Abrir la columna y colocar 50 μl de solución amortiguadora AVE, cerrar la tapa e incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugar a 6000 x g por 1 minuto. Centrifugar 6000 x g por 1 minuto.
14. Preservar el microtubo con el filtrado de RNA en refrigeración si será amplificado el mismo día; En caso de que la amplificación no se realice el mismo día preservar el RNA viral a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y desechar una vez que se obtenga

Nota: El RNA de muestras positivas podrá conservarse en alícuotas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y usarse como control positivo.

4. Preparación de Master Mix.

Materiales

- Kit Master Mix 1 y 2
 - a. Primer 82 μl
 - b. Buffer 164 μl
 - c. Diluyente 349 μl
 - d. Enzima 21 μl
- Gradilla
- Micropipeta
- Puntas de micropipeta
- Tubos Eppendorf
- Campana extractora

Procedimiento

1. Sacar el kit de preparación de Master Mix del congelador y atemperar los reactivos para poderlos utilizar.
2. Ajustar la micropipeta al volumen indicado.
3. Destapar tubo Eppendorf y colocarlo en la gradilla.
4. Destapar un reactivo del kit.
5. Colocar la punta a la micropipeta.
6. Tomar el volumen y colocarlo en el tubo.
7. Repetir los pasos anteriores con todos los reactivos.
8. Centrifugar.

5. Montaje de placa de PCR con muestras positivas.

Materiales

- Placa de PCR
- Micropipeta de 1-10 μl
- Puntas de micropipeta
 - 5 μl
 - 10 μl
- Placa de frio
- Gradilla
- Mater Mix
- Muestras positivas
- Recipiente de RPBI (residuos peligrosos biológico-infecciosos)

Procedimiento

1. Para esta práctica, el primer paso fue organizar en una tabla como se dividiría tanto el trabajo como las pruebas :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	x1	x9	x17	x25	x33	CN		x1	x9	x17	x25	x33
B	x2	x10	x18	x26	x34			x2	x10	x18	x26	x34
C	x3	x11	x19	x27	x35			x3	x11	x19	x27	x35
D	x4	x12	x20	x28	x36			x4	x12	x20	x28	x36
E	x5	x13	x21	x29				x5	x13	x21	x29	CN
F	x6	x14	x22	x30		CPOS		x6	x14	x22	x30	
G	x7	x15	x23	x31				x7	x15	x23	x31	
H	x8	x16	x24	x32		CPOS		x8	x16	x24	x32	
	M1 (Master Mix 1)											
	M2 (Master Mix 2)											

Figura 2. Acomodo de las muestras y controles en la placa de PCR. CN: Control Negativo. CPOS: Control Positivo
Fuente: propia.

2. Colocar la placa de PCR sobre la placa de frío.
3. Depositar Master Mix 1 y 2 en los pocillos correspondientes (se realizó este paso dos veces con volúmenes de 10 µl y 5 µl al no contar con micropipetas de 15 µl).
4. Ajustar micropipeta a 5 µl y tomar punta.
5. Destapar muestra, extraer volumen y cerrar el tubo.
6. Colocar en el pocito correspondiente.
7. Desechar la punta.
8. Repetir los pasos anteriores con todas las muestras.

Notas:

1. Colocar un dedo debajo del eje eyector sirve en caso de temblar.
2. Cuidado con la fuerza al tomar la punta de la micropipeta de la caja.

Resultados

Se analizaron 36 muestras positivas pertenecientes a 18 mujeres y a 18 hombres, quienes en su estudio epidemiológico reportaron residir en el estado de Guanajuato y no haber salido del país en el momento de haber contraído el virus, siendo únicamente dos quienes viajaron a la ciudad de México. La persona de mayor edad contaba con 74 años a la fecha de la toma de su muestra y la menor tenía 13 años. Como se muestra en la Figura 3, la mayoría de las muestras pertenecen a personas que radican en las ciudades de Guanajuato y León.

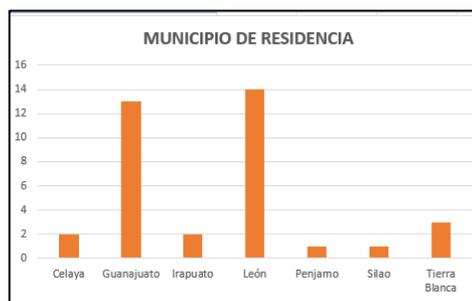


Figura 3. Municipios de residencia de la población de las personas con muestras positivas.
Fuente: propia.

Para mayor confiabilidad la PCR se realizó dos veces arrojando los resultados mostrados en la figura 4, los cuales ya han sido interpretados para que pueda apreciarse la variante de SARS-CoV-2 padecida por cada persona.

Muestra	Reacción M1				Reacción M2				Variante
	FAM	HEX	RED	QUASAR	FAM	HEX	RED	QUASAR	
495	+								Ómicron
501	+								Ómicron
26	+								Ómicron
47	+								Ómicron
52	+					+			Ómicron
257	+					+			Ómicron
35	+								Ómicron
104	+								Ómicron
320									Ninguna de las anteriores
325	+								Ómicron
353									Ninguna de las anteriores
367	+								Ómicron
377	+								Ómicron
443	+								Ómicron
444	+								Ómicron
464	+								Ómicron
4	+								Ómicron
134	+								Ómicron
178	+								Ómicron
301	+					+			Ómicron
305	+								Ómicron
306	+								Ómicron
310	+								Ómicron
314									Ninguna de las anteriores
650					+				Kappa/Épsilon
108								+	Delta
144								+	Delta
366								+	Delta
65								+	Delta
540								+	Delta
576								+	Delta
1									Ninguna de las anteriores
1010								+	Delta
625	+								Delta Plus
612									Kappa/Épsilon
786									Kappa/Épsilon

	Positivo
	Negativo

Figura 4. Variantes del SARS-CoV-2 presentes en las muestras analizadas de la comunidad UG.
Fuente: propia.

El resultado anotado como «Ninguna de las anteriores» corresponde a una variante que no pudo ser identificada con el Kit Master Mut.

De manera introductoria y exploratoria, se realizó una prueba de Chi cuadrada para indagar acerca de asociaciones entre las variables y cada uno de los síntomas. De esta manera, se encontró una asociación entre la variante Kappa/Épsilon y el síntoma diarrea ($p=0.023$). Este resultado abre nuevas posibilidades en la epidemiología en la que una infección pueda tener distintos síntomas dependiendo de que mutaciones vaya sufriendo el agente infeccioso.

Discusión y conclusiones

En su estudio epidemiológico, únicamente ocho de las 32 personas contestaron haber presentado un inicio súbito de síntomas, siendo la tos y la fiebre los que se presentaron con mayor frecuencia como puede observarse en la Figura 5.

En la misma figura también se distingue que once personas comentaron no haber sufrido algún síntoma en el transcurso de su enfermedad. Lo cual representa aproximadamente el 34% de las muestras analizadas.

De acuerdo con la Figura 7, las mujeres fueron levemente más propensas a contraer Ómicron en comparación a los hombres, siendo el caso contrario con Delta y Kappa/Épsilon.

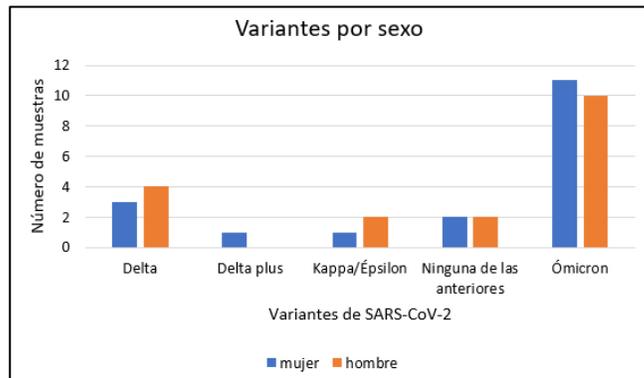
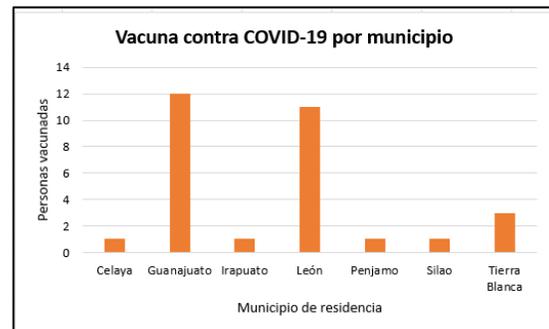
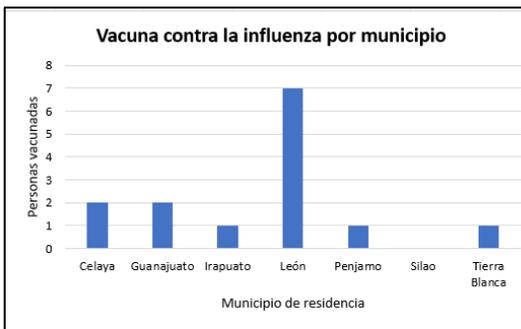


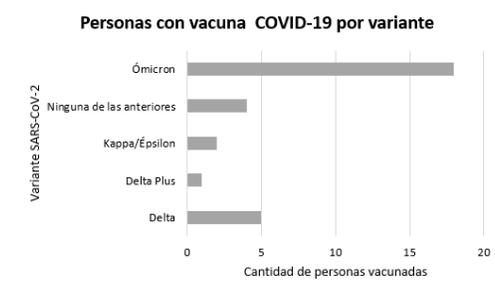
Figura 7. Variantes por sexo en las muestras analizadas.
Fuente: propia.

En referencia a la prevención, la ciudad de León reportó a más personas vacunadas contra influenza y para COVID-19 fue la ciudad de Guanajuato donde más respuestas positivas se tuvieron. Sin embargo, en las Figuras 8 y 9 se puede observar que no todas las 32 personas habían recibido ambas vacunas al momento de contagiarse con SARS-CoV-2



Figuras 8 y 9. Vacunas contra influenza y COVID-19 por municipio de residencia.
Fuente: propia.

Asimismo, la mayoría de las personas contagiadas con Ómicron ya habían recibido al menos una dosis de vacuna contra COVID-19 de acuerdo con su estudio epidemiológico. En la figura 10 puede revisarse que la mayoría de los casos si contaban con dicha vacuna.



Figuras 10. Personas con vacuna COVID-19 por variante del SARS-CoV-2.
Fuente: propia.

Todo el equipo de laboratorio junto con los estudiantes se esforzó en sacar adelante este proyecto, a pesar de que hoy en día los contagios de COVID-19 no son tan fuertes como lo fueron en su apogeo, aun es importante llevar su seguimiento.

Hubo algunas dificultades durante el análisis de datos, en varios casos no se pudo identificar de que variante se trataba ya que el Kit de Master Mut detecta solo algunas variantes

El trabajo en equipo en un laboratorio puede tener muchas fortalezas y debilidades. Por un lado, trabajar en equipo aumenta la eficiencia y la productividad. Cuando varios miembros del equipo trabajan juntos en un proyecto, pueden dividir el trabajo y resolver los problemas más rápidamente. Además, cada miembro del equipo contribuye con sus fortalezas únicas, lo que hace que el proyecto sea más completo.

Por otro lado, trabajar en equipo también puede tener debilidades. A veces, puede ser difícil comunicarse de manera efectiva dentro del equipo y mantener a todos en la misma página, pero afortunadamente hubo muy buena comunicación y se llevó a cabo el proyecto a pesar de la falta de experiencia de los estudiantes y de los errores que se llegaron a cometer, todos apoyaron en el proceso para obtener el objetivo buscado. En este caso, la detección de variantes de COVID 19 en muestras positivas

Es de gran importancia seguir estudiando el COVID-19 ya que a pesar de que han pasado varios años desde su aparición, todavía existen muchos aspectos desconocidos sobre esta enfermedad. Además, seguir estudiándolo nos permitirá estar mejor preparados para futuras emergencias sanitarias.

Agradecimientos

En primer lugar, a los integrantes del LUDIMUG: Mariela Nila Rocío, Silvia Mariela González, Erika Fabiola Rocha Baltazar, Víctor Martín Escalante, Cruz Eduardo Vázquez y Juan Alejandro de Jesús Calderas: así como al Dr. José Jorge Maldonado Salas, por todo el apoyo y las facilidades recibidos para la realización de este proyecto.

Agradecemos también a la administración de la ENMS León: Mtro. Benjamín Chávez, Mtra. Bertha Mondelo y Mtro. Christian Arzona, por acompañar y sustentar este proyecto desde sus inicios.

Por último, a los maestros Edgar Alberto Delgado y Leticia Rocha por el seguimiento a todos los trámites extraordinarios realizados.

Bibliografía/Referencias

- Centers for Disease Control and Prevention. (2023) SARS-CoV-2 Variants Classifications and Definitions. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
- Genes2Life. (s.f.). Catálogo del kit MASTER MUT. No. Catálogo: G2LMUSC-14
- Klein, S., Cortese, M., Winter, S. L., Wachsmuth-Melm, M., Neufeldt, C. J., Cerikan, B., ... & Chlanda, P. (2020). SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography. *Nature communications*, 11(1), 5885.
- Mathieu, E. (2020). Coronavirus Pandemic (COVID-19). Our World in Data. <https://ourworldindata.org/covid-deaths#confirmed-deaths> Mathieu, E. (2020, March 5). Coronavirus Pandemic (COVID-19). Our World in Data. <https://ourworldindata.org/covid-deaths#confirmed-deaths>
- Vasireddy, D., Vanaparthi, R., Mohan, G., Malayala, S. V., & Atluri, P. (2021). Review of COVID-19 variants and COVID-19 vaccine efficacy: what the clinician should know?. *Journal of Clinical Medicine Research*, 13(6), 317.