



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE
LA MUTACIÓN D614G EN EL GENOMA
DE SARS-COV-2 Y LA PRESENCIA DE
DISFUNCIONES QUIMIOSENSORIALES
EN PACIENTES CON COVID-19 EN
LIMA, 2021-2022

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRA EN CONTROL DE
ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y
TROPICALES

BIA MARGARITA PEÑA PERALTA

LIMA – PERÚ

2025

ASESORA

Theresa Jean Ochoa Woodell, MD, PhD

CO ASESORES

Guillermo Santos Salvatierra Rodríguez, DVM, PhD

Claudio Franco Lanata de las Casas, MD, MPH

JURADO DE TESIS

DRA. CLAUDIA INES GLORIA MACHICADO RIVERO

PRESIDENTE

MG. KAREN ELISABETH LUHMANN

VOCAL

DR. PABLO TSUKAYAMA CISNEROS

SECRETARIO

DEDICATORIA

A la persona que creyó en mí desde que era una niña pequeña: Tío Nelson, desde donde estés, sé que celebras mis logros con orgullo. A mis padres, Víctor y Miryan, por enseñarme que la constancia y disciplina abren muchos caminos. A mi hermana Carla, por ser la guía y fortaleza de sus hermanos y el apoyo constante de nuestros padres; y a mi hermano Víctor, por demostrar que la perseverancia vence cualquier obstáculo. Finalmente, a mi tía Iliana y primos Guisella y Coco, por estar presentes cuando más los necesité. Su apoyo, cuidado y generosidad me sostuvieron en los momentos más difíciles.

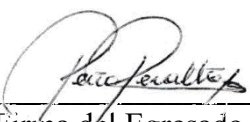
AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Claudio Lanata y la Mg. Ana Gil, por todo el apoyo y aliento brindado para lograr este objetivo; por ser mis guías y un modelo a seguir. A mis asesores, la Dra. Theresa Ochoa, el Dr. Guillermo Salvatierra y el Dr. Lanata, por su guía y enseñanzas durante el desarrollo de este proyecto. A mis amigos del Instituto de Investigación Nutricional, por acompañarme a lo largo de este proceso. A Rubelio Cornejo, por ayudarme a poner orden con sus conocimientos de R, y por evitar más de una vez que mi computadora volara por la ventana. Agradezco especialmente al equipo del programa PREVENT —Dr. Lanata, Dra. Ochoa, Dr. Carlos Grijalva y Dra. Leigh Howard— por brindarme la oportunidad de cursar la maestría que hoy hace posible esta tesis.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Tesis autofinanciada

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA	23	MAYO	2025
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	BIA MARGARITA PEÑA PERALTA		
PROGRAMA DE POSGRADO	MAESTRÍA EN CONTROL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TROPICALES		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2023		
TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LA MUTACIÓN D614G EN EL GENOMA DE SARS-COV-2 Y LA PRESENCIA DE DISFUNCIONES QUIMIOSENSORIALES EN PACIENTES CON COVID-19 EN LIMA, 2021-2022		
MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO	Tesis		
Declaración del Autor El presente Trabajo de Grado es original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	942848046		
E-mail	bia.pena@upch.pe		



 Firma del Egresado
 DNI 45155168

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
I.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	5
II. OBJETIVOS	6
II.1 OBJETIVO GENERAL	6
II.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
III. HIPÓTESIS.....	7
IV. METODOLOGÍA	8
IV.1 DISEÑO DE ESTUDIO.....	8
IV.1.1 Diseño del estudio madre	8
IV.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	12
IV.2.1 Criterios de inclusión	12
IV.2.2 Criterios de exclusión.....	12
IV.2.3 Tamaño de la muestra	13
IV.2.4 Potencia estadística	13
IV.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES	15
IV.3.1 Variable dependiente:.....	15
IV.3.2 Variable(s) independiente(s) de mayor interés:	15
IV.3.3 Otras co-variables:	15
IV.3.4 Operacionalización de variables:	16
IV.4 DIAGRAMA CAUSAL O DAG	18
IV.5 PLAN DE MANEJO DE DATOS	19
IV.6 PLAN DE ANALISIS	20
IV.6.1 Análisis bioinformático.....	20
IV.6.2 Análisis estadístico.....	23
IV.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS	24
V. RESULTADOS.....	26
VI. DISCUSIÓN	35
VII. CONCLUSIONES	42
VIII.LIMITACIONES	43
IX. RECOMENDACIONES	44

X.	REFERENCIAS BIBLIGRÁFICAS.....	45
XI.	ANEXO.....	

RESUMEN

El presente estudio evaluó la asociación entre la mutación D614G en el genoma del SARS-CoV-2 y la presencia de disfunciones quimiosensoriales (pérdida o alteración del gusto y/o olfato) en pacientes con COVID-19, utilizando datos del estudio madre “Caracterización molecular de SARS-CoV-2, síntomas y eventos post COVID-19 en una población de Lima durante los años 2021 y 2022”. Este proporcionó información del secuenciamiento viral y encuesta de síntomas, de las cuales se analizaron 365 datos en un estudio de diseño transversal. Las secuencias fueron procesadas con Porechop y NanoPlot, generando genomas consenso mediante el protocolo ARTIC y Medaka, usando como referencia MN908947. La población estuvo conformada por el 54.1% mujeres y 45.9% varones. De los 133 pacientes que reportaron disfunciones quimiosensoriales, el 89.5% refirió que estas tuvieron una duración menor a un mes. El análisis bivariado no encontró asociación significativa entre la mutación D614G y las disfunciones quimiosensoriales ($p = 0.090$). No obstante, se encontraron asociaciones significativas con la variante viral ($p < 0.001$), la presencia de otros síntomas respiratorios ($p = 0.005$) y la duración máxima de síntomas ($p < 0.001$). En el análisis multivariado, tampoco se encontró asociación significativa con la mutación D614G ($p = 0.958$). Tampoco fueron significativas las variables sexo ($p = 0.187$), edad ($p = 0.212$), otros síntomas respiratorios ($p = 0.215$), vacunación ($p = 0.134$) ni duración máxima de síntomas ($p = 0.837$). En cambio, se observó asociación significativa con la variante viral: los pacientes infectados con Lambda tuvieron 2.51 veces más probabilidad de presentar disfunciones quimiosensoriales respecto a Ómicron (IC 95%: 1.28-4.88; $p = 0.007$). Delta, Gamma y otros no fueron significativas. Los hallazgos sugieren

que la aparición de disfunciones quimiosensoriales se asocia con la variante Lambda, no a la mutación D614G ni otras variables clínicas o demográficas evaluadas.

PALABRAS CLAVE

SARS-COV-2, COVID-19, DISFUNCIONES QUIMIOSENSORIALES,
MUTACIÓN

ABSTRACT

This study evaluated the association between the mutation D614G of the SARS-CoV-2 genome and the presence of chemosensory dysfunctions (loss or alteration of taste and/or smell) in patients with COVID-19, using data from the parent study “Molecular characterization of SARS-CoV-2, symptoms, and post-COVID-19 events in a population from Lima during 2021 and 2022”, providing information on viral sequencing and symptom surveys, of which 365 data were analyzed in a cross-sectional study. The sequences were processed with Porechop and NanoPlot, generating consensus genomes using the ARTIC and Medaka protocol, using MN908947 as reference. The population consisted of 54.1% females and 45.9% males. Of the 133 patients who reported chemosensory dysfunctions, 89.5% reported that it lasted less than one month. Bivariate analysis showed no significant association between the mutation D614G and chemosensory dysfunctions ($p = 0.090$). However, statistically significant associations were found with viral variants ($p < 0.001$), presence of other respiratory symptoms ($p = 0.005$), and maximum symptom duration ($p < 0.001$). In the multivariate analysis, no significant association was found between the mutation D614G and the development of chemosensory dysfunctions ($p = 0.958$). The variables sex ($p = 0.187$), age ($p = 0.212$), other respiratory symptoms ($p = 0.215$), vaccination ($p = 0.134$), and maximum symptom duration ($p = 0.837$) were also not significant. In contrast, a significant association was found between the viral variant: patients infected with the Lambda were 2.51 times more likely to develop chemosensory dysfunctions than those infected with Omicron (95% CI: 1.28–4.88; $p = 0.007$). Delta, Gamma and other variants were not significant. The findings suggest that the occurrence of

chemosensory dysfunctions in COVID-19 patients is associated with the Lambda variant, not with the mutation D614G or other clinical or demographic variables evaluated.

KEYWORDS

SARS-COV-2, COVID-19, CHEMOSENSORY DYSFUNCTIONS, MUTATION

I. INTRODUCCIÓN

Desde su aparición en el 2019 en Wuhan, China hasta octubre del 2023, el coronavirus tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo (SARS-CoV-2) ha sido el responsable de alrededor de 771 millones de casos y casi 7 millones de muertes a nivel mundial (1,2). Del total de casos reportados en el mundo, 4.5 millones de casos le corresponden a Perú, para el mismo periodo de tiempo (3).

SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo, con un genoma de aproximadamente 30,000 nucleótidos que codifica proteínas estructurales y no estructurales esenciales para su replicación y patogenicidad (4,5). Los virus ARN presentan altas tasas de mutación debido a errores de replicación, lo que puede conferirles propiedades de adaptación a su hospedero, como mayor transmisibilidad, ser más contagiosos, entre otras características (6–8). No obstante, los coronavirus poseen una exonucleasa con actividad correctora (NSP14) que les permite reducir en cierta medida esta frecuencia mutacional (9,10). Aun así, el gran tamaño de población infectada durante la pandemia ha favorecido la evolución y adaptación del SARS-CoV-2 a su huésped (11).

La aparición de variantes ha mostrado implicancias tanto a nivel de transmisibilidad como en la presentación clínica de la enfermedad. Algunas variantes han sido asociadas con mayor capacidad de inflamación en el tejido nervioso, induciendo alteraciones en la neurotransmisión (12–14).

Asimismo, estudios previos indicaron una posible asociación en la ubicación de mutaciones en el genoma viral y cuadros moderados y severos de COVID-19 mientras que otros reportes han evaluado la cantidad de mutaciones puntuales en el genoma del virus y su asociación con la severidad de la enfermedad, encontrando

una mayor cantidad de mutaciones en pacientes que desarrollaron síntomas leves en comparación de aquellos que tuvieron cuadros moderados a graves (15,16). Aun así, son pocos los estudios que han evaluado la relación entre mutaciones del virus con la severidad de la enfermedad (17).

Durante la pandemia de COVID-19, especialmente en su etapa inicial, uno de los síntomas reportados con mayor frecuencia fueron las disfunciones quimiosensoriales, definidas como la reducción o alteración de la capacidad olfativa (anosmia/hiposmia) o gustativa (ageusia/hipogeusia). Estas alteraciones no sólo impactan la calidad de vida de los pacientes, sino que también se asocian con el desarrollo de trastornos mentales como depresión y ansiedad, e incluso con el incremento de mortalidad (18–20). En general, la pérdida de olfato se ha descrito en infecciones virales de las vías respiratorias altas como las ocasionadas por adenovirus, rinovirus, coronavirus y virus de influenza, entre otros (21). A nivel biológico, uno de los mecanismos propuestos en la pérdida olfatoria involucra la interacción de los virus con los receptores del hospedero, particularmente ACE2 y TMPRSS2, cuya expresión en el epitelio olfatorio podría contribuir a la disfunción quimiosensorial observada (22).

Entre las mutaciones estudiadas en SARS-CoV-2 se encuentra D614G en la proteína spike (S), causada por un cambio nucleotídico de A a G en la posición 23,403 del genoma del virus (MN908947.3) (23). Esta mutación ha cobrado particular relevancia por su asociación con mayor infectividad (24). Meta-análisis realizados demostraron que la prevalencia de disfunciones quimiosensoriales varía según factores como edad, género, severidad de la enfermedad y la etnia, encontrando que los caucásicos presentaban una mayor prevalencia que los

asiáticos (25). Además, estudios enfocados en una misma etnia y durante periodos donde sólo circulaba una variante, encontraron que la mutación D614G en la proteína S, estaba asociada a una mayor prevalencia de disfunciones quimiosensoriales (26). Aunque la proporción de estos síntomas difiere según la variante del SARS-CoV-2, en general, la prevalencia de la pérdida o alteraciones del olfato puede ser de 5.14% a 98.33% y gusto puede variar de 5.61% a 92.65% (27,28). Investigaciones recientes han reportado que variantes como Ómicron muestran una menor frecuencia de disfunciones quimiosensoriales en comparación con otras variantes, sugiriendo el papel que cumplen las mutaciones en la modulación de este fenotipo (29,30).

En el contexto peruano, la información sobre la prevalencia de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 es limitada. Un estudio transversal realizado en Tumbes tras la primera ola de la pandemia identificó a las disfunciones quimiosensoriales como síntomas asociados significativamente con resultados positivos en pruebas rápidas de anticuerpos, aunque con limitaciones de tamaño muestral (31). En ese sentido, aunque constituye un antecedente local valioso, persiste una brecha de conocimiento respecto a la magnitud real de estos fenotipos en la población peruana, lo que refuerza la necesidad de investigaciones adicionales.

En el presente estudio se busca evaluar la presencia de la mutación D614G en el genoma del virus y su posible asociación con el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19, correspondientes a la población de Lima (Perú), durante los años 2021 y 2022. Este estudio contribuirá a determinar si lo reportado previamente sobre esta mutación y

su relación con la presencia de disfunciones quimiosensoriales es extrapolable a otros grupos poblacionales. Asimismo, podría proveer evidencia útil para hacer frente a la aparición de otros agentes con características similares.

I.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La pandemia de COVID-19 ha demostrado el impacto que las mutaciones del SARS-CoV-2 pueden tener en la transmisión y la expresión clínica de la enfermedad (12). Una de ellas es la mutación D614G en la proteína S, que ha sido asociada con mayor infectividad y su posible relación con un mayor riesgo de desarrollar disfunciones quimiosensoriales (24,26). Estas disfunciones además de ser uno de los síntomas característicos al inicio de la pandemia, se han visto relacionados al deterioro de la calidad de vida, mayor riesgo del desarrollo de trastornos psicológicos y, en algunos casos, con desenlaces adversos de salud (18–20).

Si bien existe evidencia de otros países que vinculan la mutación D614G con la presencia de disfunciones quimiosensoriales, la magnitud de esta asociación no se encuentra completamente establecida y los hallazgos varían entre poblaciones y contextos epidemiológicos (25,26). En el Perú, la información disponible es limitada y proviene de estudios con tamaños de muestra reducidos, lo que restringe la extrapolación de resultados (31). Esta brecha de conocimiento hace necesario generar evidencia local que permita comprender mejor el impacto de las mutaciones del virus en la clínica de los pacientes.

Además, el contexto epidemiológico peruano ofrece características particulares que hacen necesario un análisis propio. En el Perú, la variante Lambda (C.37) llegó a

ser la variante predominante durante uno de los primeros picos de la pandemia, lo que configuró un escenario clínico y virológico distinto al reportado en regiones donde predominaron otras variantes (32). Este hecho resalta la importancia de generar evidencia local, ya que la asociación entre mutaciones como la D614G y las disfunciones quimiosensoriales podría expresarse de manera diferente en nuestra población, dadas las condiciones propias del contexto nacional.

En este contexto, el presente estudio se justifica en la necesidad de evaluar la asociación de la mutación D614G y el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en pacientes de Lima con diagnóstico de COVID-19 durante 2021 y 2022. Los resultados permitirán determinar si lo descrito en otras regiones es aplicable en nuestra población y aportar información relevante para la vigilancia molecular, la caracterización clínica y la preparación frente a la emergencia de nuevas variantes virales.

I.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En pacientes que presentaron COVID-19 confirmado por prueba antigénica o RT-PCR durante el periodo 2021-2022 en Lima ¿La presencia de la mutación D614G del SARS-CoV-2 está asociada al desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en comparación con aquellos que no presentaron estos síntomas?

II. OBJETIVOS

II.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la asociación de la presencia de la mutación D614G del genoma de SARS-CoV-2 con disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado durante el periodo 2021-2022 en Lima.

II.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia y duración de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado.
- Caracterizar la cantidad de mutaciones presentes en el gen S de los genomas de SARS-CoV-2 secuenciados en muestras de pacientes con COVID-19 confirmado.
- Determinar otros factores asociados con la presentación de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado.

III. HIPÓTESIS

- **Ho:** La presencia de la mutación D614G del genoma de los SARS-CoV-2 que circularon en Lima no está asociada con disfunciones quimiosensoriales en pacientes con confirmación de COVID-19 por prueba rápida o RT-PCR, durante los años 2021 y 2022.
- **Ha:** La presencia de la mutación D614G del genoma de los SARS-CoV-2 que circularon en Lima está asociada con disfunciones quimiosensoriales en pacientes con confirmación de COVID-19 por prueba rápida o RT-PCR, durante los años 2021 y 2022.

IV. METODOLOGÍA

IV.1 DISEÑO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo transversal, empleando la base de datos del estudio madre “Caracterización molecular de SARS-CoV-2, síntomas y eventos post COVID-19 en una población de Lima durante los años 2021 y 2022”. El estudio madre consolidó la siguiente información: (i) síntomas reportados por los participantes mediante encuestas, (ii) resultados del secuenciamiento viral que permitieron identificar la variante de SARS-CoV-2 detectada, y (iii) los archivos crudos de secuenciamiento en formato FastQ. Toda esta información fue organizada en una base de datos centralizada, con los datos de los participantes codificados en el software RStudio, y puesta a disposición para el presente estudio.

IV.1.1 Diseño del estudio madre

El estudio madre titulado “Caracterización molecular de SARS-CoV-2, síntomas y eventos post COVID-19 en una población de Lima durante los años 2021 y 2022” tuvo un diseño transversal y el objetivo de evaluar las variantes que se presentaron durante el periodo de muestreo y explorar si la excreción del virus por periodos mayores a 14 días se asocia a la aparición de mutantes de SARS-CoV-2. Para ello, realizaron el análisis de las alícuotas de muestras de hisopados nasales y nasofaríngeos que se encontraban almacenadas a -80°C en el laboratorio de investigación de biología molecular del Instituto de Investigación Nutricional (IIN), las mismas que fueron obtenidas a partir de 3 cohortes llevadas a cabo por el IIN en la ciudad de Lima durante los años 2021 y 2022, descritos a continuación (Figura 1):

- Cohorte 1 (Estudio 1): Ensayo clínico aleatorizado doble ciego de fase 2 de una vacuna ARNm contra SARS-CoV-2 donde el IIN formó parte, teniendo a su cargo un site del estudio, ubicado en La Molina. Se incluyeron hombres o mujeres no embarazadas de 18 años a más, en buen estado de salud o con condiciones crónicas de salud controladas, con IMC ≥ 18 y ≤ 32 kg/m², indistinto de sus resultados de SARS-CoV-2. Mujeres fértiles deberían comprometerse a usar métodos de control de natalidad aprobados en lo que duró el estudio. Como criterio de exclusión a este estudio, se consideró a sujetos que hicieron uso de cualquier producto en investigación o sin registro (incluido vacunas contra COVID-19) 28 días antes y durante el estudio, así como el uso de inmunosupresores o cualquier otro medicamento modificador de la inmunidad (33).
- Cohorte 2 (Estudio 2): Ensayo clínico aleatorizado doble ciego de fase 2b/3 de una vacuna ARNm contra SARS-CoV-2. El IIN tuvo a su cargo 3 sites del estudio en Perú (2 en San Juan de Lurigancho y 1 en La Molina). Para el estudio se reclutaron adultos de 18 años a más, en buen estado de salud, con enfermedades crónicas controladas, mujeres sin potencial de tener hijos (estériles o postmenopáusicas), o mujeres fértiles que usen métodos de control de natalidad desde 2 semanas antes del inicio del ensayo hasta 3 meses luego de la última administración. No se incluyeron al estudio sujetos con confirmación virológica histórica de COVID-19, mujeres embarazadas o dando de lactar, personas que hicieron uso de productos de investigación (vacunas o medicamentos) 28 días antes de la administración de la vacuna del estudio, haber sido inmunizado con vacunas autorizadas 28 días (vacunas vivas) o 14 días (vacunas inactivadas u otras) antes de la administración de la vacuna del estudio, administración previa

de alguna vacuna en investigación contra SARS-CoV-2 u otro coronavirus (SARS-CoV, MERS-CoV), cualquier tratamiento con inmunosupresores u otros medicamentos modificadores de la inmunidad, sujetos con diagnóstico de condiciones inmunosuprimidas o inmunodeficientes basados en la historia médica y la examinación médica, historia de angioedema, discapacidad intelectual múltiple, alergia a cualquiera de los componentes de la vacuna del estudio, administración de inmunoglobulinas, participantes con enfermedades psiquiátricas, crónicas o agudas significativas que podían interferir con la participación del sujeto en el ensayo (34).

- Cohorte 3 (Trabajadores del IIN): Personal que laboraba en el IIN durante la realización de los dos ensayos clínicos anteriormente mencionados. Fueron incluidos trabajadores con cuadros sospechosos de COVID-19 a los que se les realizó una prueba de RT-PCR en tiempo real o prueba de antígeno para confirmación y posterior aislamiento tanto del centro de labores como en sus hogares. No se incluyeron miembros que no presentaban vínculos laborales con el IIN.

Los participantes de las dos primeras cohortes estuvieron en vigilancia epidemiológica para detectar casos sospechosos de COVID-19, tomándose un hisopado nasofaríngeo para descartar la presencia del virus SARS-CoV-2 por RT-PCR en tiempo real. Para participar en el estudio madre, seleccionaron participantes de las 3 cohortes que contaban con una muestra respiratoria positiva a SARS-CoV-2, confirmada por RT-PCR en tiempo real o por prueba de antígeno, y de la cual existía una alícuota almacenada a -80°C. Los participantes elegibles fueron posteriormente contactados por el personal del estudio madre, a quienes se les

solicitó su consentimiento para el secuenciamiento del virus presente en sus muestras respiratorias. Para ello, firmaron un formato de información y consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética en Investigación del IIN. Luego de su consentimiento, les solicitaron llenar una encuesta de síntomas presentados durante su episodio de COVID-19 (Figura 1). Las encuestas (Anexo 1) fueron aplicadas en intervalos de 230 a 595, 122 a 616 y 0 a 582 días para las cohortes 1, 2 y 3, respectivamente. Esto les dio en general un intervalo de tiempo que iba desde 16 a 616 días de aplicación de la encuesta, después de tomada la muestra respiratoria que resultó positiva. Toda la información contenida del estudio madre fue consolidada en una base de datos, con los datos de los participantes codificada en el software RStudio.

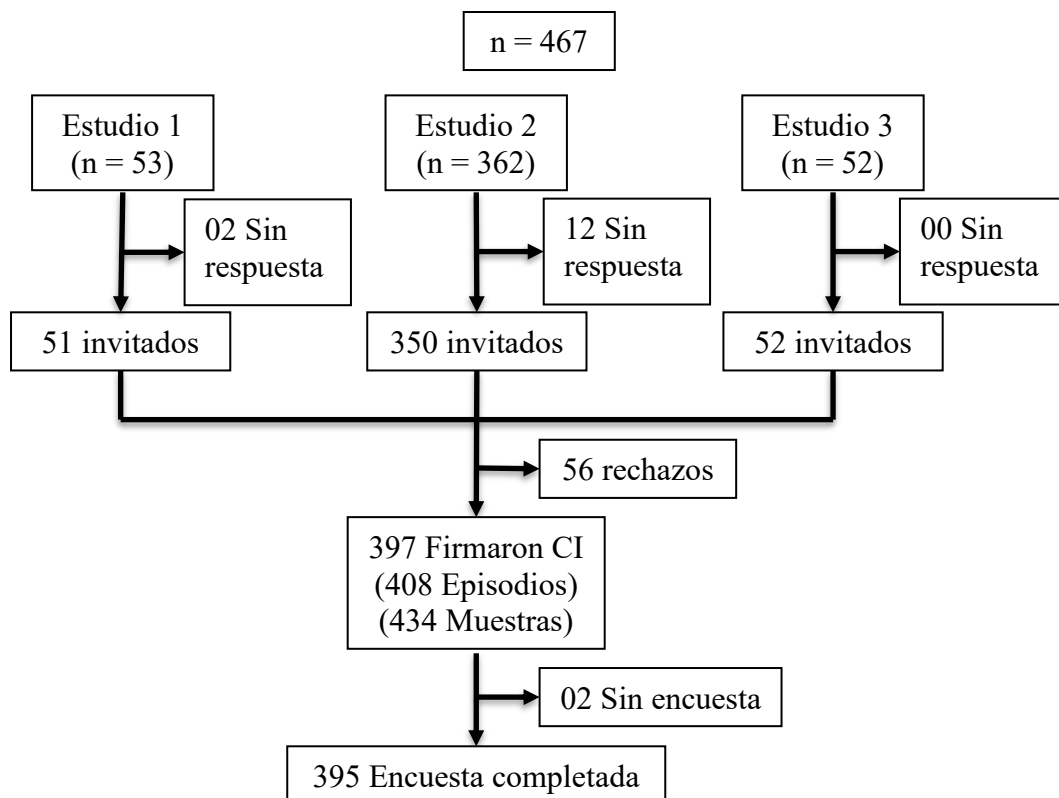


Figura 1. Diagrama de flujo de invitación de los participantes al estudio madre “Caracterización molecular de SARS-CoV-2, síntomas y eventos post COVID-19

en una población de Lima durante los años 2021 y 2022”. Los participantes pertenecían a 3 cohortes: Cohorte 1 (estudio 1), cohorte 2 (estudio 2), cohorte 3 (estudio 3). Una vez obtenida la lista de participantes que habían tenido muestras respiratorias positivas (n=467), procedieron a invitarlos telefónicamente a formar parte del estudio, no pudiendo contactarse con la totalidad de participantes (sin respuesta). De los participantes que pudieron ser contactados (invitados), 56 rechazaron formar parte del estudio. Se obtuvieron 395 participantes con encuesta de síntomas culminada y muestras respiratorias procesadas para el secuenciamiento del genoma completo del SARS-CoV-2

IV.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

IV.2.1 Criterios de inclusión

Participantes del estudio madre con encuesta de síntomas completa y datos de secuenciamiento del SARS-CoV-2 a partir de sus muestras respiratorias. Este criterio nos aseguró la disponibilidad de información clínica reportada por el participante en el estudio madre que sea suficiente para evaluar la presencia de disfunciones quimiosensoriales y datos de secuenciamiento que nos permitan realizar el análisis de los genomas para evaluar la presencia de la mutación D614G.

IV.2.2 Criterios de exclusión

Muestras de segundos episodios de COVID-19, con el fin de evitar sesgos relacionados con reinfecciones. Esto se justifica porque los casos de reinfección podrían presentar perfiles clínicos distintos, la expresión clínica en reinfecciones puede estar modulada por la inmunidad natural o comorbilidades adquiridas tras la primera infección, lo que dificultaría la atribución de los hallazgos a una mutación específica como D614G. Asimismo, incluir más de un episodio por persona hubiera introducido dependencia estadística entre observaciones, reduciendo la validez del análisis.

IV.2.3 Tamaño de la muestra

Se incluyó un total de 365 participantes en el estudio, los cuales tenían secuenciamiento genómico del SARS-CoV-2 y encuesta de síntomas completa.

IV.2.4 Potencia estadística

Al tratarse de un estudio de análisis de bases de datos secundarias, se realizó el cálculo de la potencia estadística, tomando en cuenta el número de participantes que cumplan con los criterios de inclusión para el análisis en un estudio de diseño transversal. Para ello, se utilizó como valor de referencia la prevalencia reportada en un meta-análisis previo (27), seleccionando el estudio con mejor tamaño de muestra, que reportó una prevalencia del 85.6%, correspondiente a un estudio multicéntrico europeo que incluyó 417 pacientes con COVID-19 leve a moderado confirmados por laboratorio y evaluó las disfunciones quimiosensoriales con cuestionarios validados (35).

Este valor fue utilizado como estimación de la proporción de disfunción en la población expuesta (aquellos con mutación D614G del virus). Debido a que no se contaban con datos previos sobre la proporción en la población no expuesta (sin la mutación), se realizaron simulaciones en el programa Epidat v4.2, considerando un tamaño de muestra de 365. Se fue variando la prevalencia en el grupo no expuesto hasta identificar la diferencia mínima entre poblaciones necesaria para alcanzar al menos un 80% de potencia estadística, con un nivel de significancia de 0.05.

El análisis determinó que, para detectar una diferencia del 12% entre ambas poblaciones (85.6% vs. 73.6%), se alcanza una potencia estadística de 81.3% para detectar una asociación con un *p-value* menor a 0.05, para la presencia de la

mutación D614G del SARS-CoV-2 y el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales.

La fórmula aplicada fue:

$$1 - \beta = \Phi(z_{1-\beta})$$

donde

$$z_{1-\beta} = \frac{|P_1 - P_2| \sqrt{\phi n_1} - z_{1-\alpha/2} \sqrt{(1 + \phi) \bar{P}(1 - \bar{P})}}{\sqrt{P_1(1 - P_1) + P_2(1 - P_2)}}$$

P_1, P_2 : Proporciones esperadas en cada población.

ϕ : Razón entre tamaños muestrales (n_2/n_1).

n_1, n_2 : Tamaños muestrales en los grupos 1 y 2.

$\bar{P}$: Proporción combinada (ponderada por la razón de tamaños).

$$\bar{P} = \frac{P_1 + \phi P_2}{1 + \phi}$$

α : Nivel de significancia.

$z_{1-\alpha/2}$: Valor crítico de lo normal estándar para α .

Φ : Función de distribución acumulada de lo normal estándar (CDF).

$z_{1-\beta}$: Estadístico de potencia bajo la hipótesis alternativa.

Comparación de proporciones independientes:

Proporción esperada en la población 1:	85.600%
Proporción esperada en la población 2:	73.600%
Razón entre tamaños muestrales:	1.00
Nivel de confianza:	95.0%

Tamaño de muestra	Potencia (%)
365	81.3

IV.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES

IV.3.1 Variable dependiente:

Disfunción quimiosensorial: Definido como reporte de pérdida o alteración de los sentidos del gusto y/o del olfato en los participantes cuando tuvieron su episodio de COVID-19.

Esta información no fue recolectada directamente en el presente estudio, sino que provino de la encuesta de síntomas aplicada en el estudio madre. En dicho cuestionario —elaborado para el registro sistemático de síntomas asociados a la infección por SARS-CoV-2 —incluyó ítems específicos sobre la presencia o ausencia de alteraciones en el gusto y/o olfato. Para este análisis, se consideró como “con disfunción quimiosensorial” a los participantes que reportaron al menos la pérdida o alteración del gusto y/o olfato en la encuesta, y como “sin disfunción quimiosensorial” a quienes no reportaron ningún cambio en cualquiera de esos sentidos. Cabe señalar que la aplicación de la encuesta en el estudio madre se realizó entre los 16 a 616 días posteriores al episodio de COVID-19.

IV.3.2 Variable(s) independiente(s) de mayor interés:

Mutación D614G: Presencia de la mutación D614G en genomas de SARS-CoV-2 secuenciados a partir de muestras respiratorias de pacientes con COVID-19. Este dato fue obtenido a través del análisis bioinformático del presente estudio indicado en las siguientes secciones.

IV.3.3 Otras co-variables:

Género, edad, mutaciones acumuladas, variante, tipo de estudio, otros síntomas respiratorios o sistémicos, duración de los síntomas y vacunación.

IV.3.4 Operacionalización de variables:

Variable	Definición		Valores posibles	Criterios de medición	Tipo de variable	Fuente
	Conceptual	Operacional				
Disfunción quimiosensorial	Pérdida o alteración del gusto y/o olfato	Síntomas reportados por el participante durante su tiempo de enfermedad.	Sí / No	Reporte del participante	Variable dependiente. Nominal dicotómica	Base de datos del estudio madre
Mutación D614G	Cambios nucleotídicos en el genoma analizado en comparación con el virus de referencia de SARS-CoV-2	Detección de la mutación por cambio nucleotídico de Adenina a Guanina en la posición 23,403 del genoma del SARS-CoV-2	Sí / No	Análisis de secuencias	Variable independiente. Nominal dicotómica	Análisis bioinformático
Mutaciones acumuladas	Cambios nucleotídicos en el genoma	Conteo de mutaciones detectadas en ambos grupos. Se considerará todo tipo de mutaciones detectadas en el gen S	1-∞	Análisis de secuencias	Covariable. Numérica discreta	Base de datos del estudio madre
Variante	Variante detectada en las muestras de los participantes del estudio.	Resultado de la variante según lo analizado en la plataforma EPI2ME agent. No se incluyen linajes.	Ómicron, Lambda, Delta, Gamma, Otros (20A, Alfa Mu)	Reporte de la plataforma EPI2ME agent	Variable confusora. Nominal politómica	Base de datos del estudio madre
Género	Género del participante	Sexo del participante	Femenino/ Masculino	Medición directa	Covariable. Nominal dicotómica	Base de datos del estudio madre
Edad	Edad en años	Años cumplidos a la fecha que el participante enfermó.	Edad medida en años	Medición directa	Covariable. Cuantitativa discreta	Base de datos del estudio madre
Otros síntomas respiratorios o sistémicos	Síntomas asociados al desarrollo	Síntomas leves reportados por los	Sí / No	Reporte del participante	Variable mediadora. Nominal dicotómica	Base de datos del estudio madre

	del <i>outcome</i> estudiado(36)	participantes relacionados al desarrollo de disfunciones quimiosensoriales: Tos, dolor de cabeza y/o dolor de pecho				
Duración de síntomas	Tiempo de duración de los síntomas en los participantes de estudio	Considerado como el tiempo que duró el síntoma con mayor persistencia durante el episodio de COVID-19 reportado por el participante.	Tiempo de duración de los síntomas , medido en días [0-500]	Reporte del participante	Variable colisionadora Cuantitativa discreta	Base de datos del estudio madre
Vacunación	Inmunización contra SARS-CoV-2	Vacunación recibida contra SARS-CoV-2, registrado en la historia clínica de los estudios iniciales, por reporte de los participantes . Categorizado según el número de dosis recibidas.	1: 1 dosis 2: 2 dosis 3: 3 dosis 4: 4 dosis 5: 5 dosis 9: Sin datos	Reporte del participante	Variable mediadora	Historia clínica de los estudios de donde provienen las cohortes

IV.4 DIAGRAMA CAUSAL O DAG

Para representar las relaciones causales entre la mutación D614G y la presencia de disfunciones quimiosensoriales se elaboró un diagrama acíclico dirigido (DAG) (Figura 2). En este modelo, la exposición corresponde a la mutación D614G en el genoma del SARS-CoV-2 y el desenlace son las disfunciones quimiosensoriales. Se incluyeron como confusores potenciales la edad, el género, la etnia y el estado de vacunación, dado que estas variables afectan el desenlace y podrían estar asociadas a la exposición (25,27,28). La variante viral se consideró como un mediador, ya que es consecuencia de la acumulación de mutaciones y, a su vez, se asocia a la presencia de disfunciones quimiosensoriales. La presencia de otros síntomas respiratorios o sistémicos también fue incluido como mediador, al estar determinados por mutaciones y variante viral, y al mismo tiempo estar vinculados con el desenlace (36).

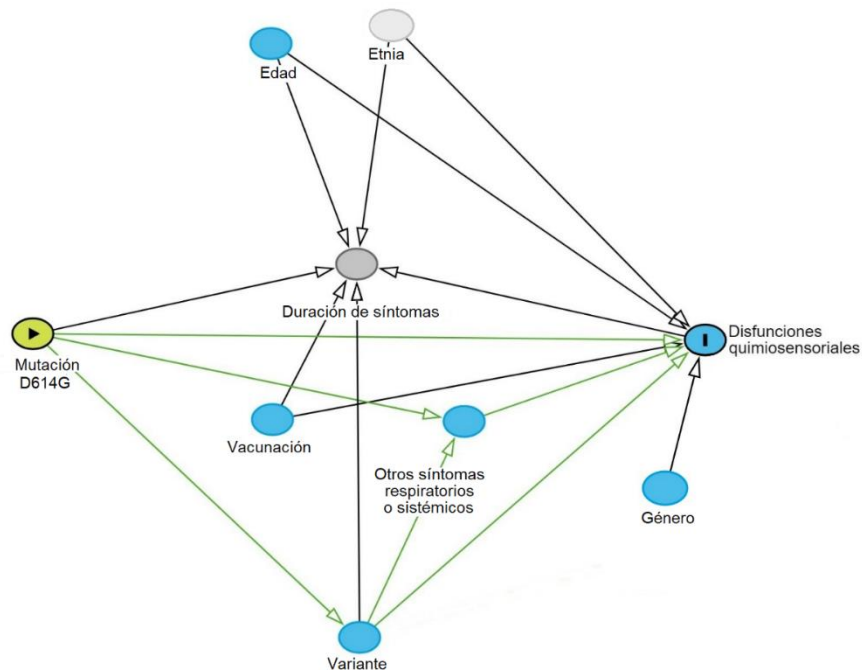


Figura 2. Modelo causal (DAG) propuesto para el estudio de la asociación entre la mutación D614G de SARS-CoV-2 y disfunciones quimiosensoriales.

IV.5 PLAN DE MANEJO DE DATOS

De acuerdo con la base proporcionada en el estudio madre y con el programa RStudio, se filtraron los pacientes positivos a SARS-CoV-2 cuya muestra haya sido secuenciada y que cuenten con la encuesta completa de síntomas.

IV.6 PLAN DE ANALISIS

IV.6.1 Análisis bioinformático

El flujo de análisis bioinformático se encuentra graficado en la figura 3. El secuenciamiento de los genomas de SARS-CoV-2 fue realizado por el estudio madre usando el protocolo de Oxford Nanopore Technologies (ONT) “PCR tiling of SARS-CoV-2 virus with rapid barcoding and Midnight RT- PCR Expansion”. Para la obtención de cDNA a partir de ARN total, se utilizó el kit EXP-MRT001, para la preparación de la librería se utilizó el kit SBK-RBK110.96. El llamado de bases (*basecalling*) lo llevaron a cabo desde los archivos Fast5, empleando el programa GUPPY (v6.1.5), utilizando el modelo *High accuracy basecalling* (HAC), qscore >8, longitud de lecturas filtradas <200 y >1200 pares de bases; además, el mismo programa realizó la demultiplexación de las lecturas obtenidas. Finalmente se obtuvieron los archivos en formato FastQ que fueron exportadas a un USB y posteriormente transferidos a una computadora que contaba con el programa EPI2ME agent desktop. Para la detección de variantes, usaron el flujo de trabajo (*workflow*) FastQ QC + ARTIC + NextClade en el programa EPI2ME agent (v5.1.3). En este flujo, las lecturas fueron alineadas al genoma de referencia Wuhan-Hu-1 (MN908947.3) utilizando el algoritmo minimap2 (v2.24), y las secuencias consenso se generaron mediante el pipeline ARTIC (v1.2.1) con el esquema de cebadores *Midnight*. Además, accedieron al portal de NextClade (v2.7.0) para la comprobación de las variantes y revisión del control de calidad de los genomas secuenciados (37).

Dada la actualización de la información de clasificación de variantes, el presente estudio realizó la verificación independiente de los resultados originales, repitiendo

el flujo de análisis bioinformático descrito previamente usado por el estudio madre en el programa EPI2ME labs (v1.1.0) usando los archivos del secuenciamiento brindados por el estudio madre en formato FastQ.

Para la identificación de la mutación de interés y otras mutaciones de los genomas, se eliminaron los adaptadores en los extremos de las lecturas de Oxford Nanopore utilizando Porechop (v0.2.4), y se evaluó la calidad de las lecturas con NanoPlot (v1.0.0). El genoma consenso fue generado siguiendo el protocolo descrito por el consorcio ARTIC, utilizando Medaka (v2.0.1) con el modelo "r941_min_fast_g303" y un umbral mínimo de 400 pb. Como referencia se utilizó el genoma del SARS-CoV-2 (MN908947.3). La asignación del linaje pango y control de calidad del genoma en formato FASTA se realizó con Nextstrain (v3.9.1).

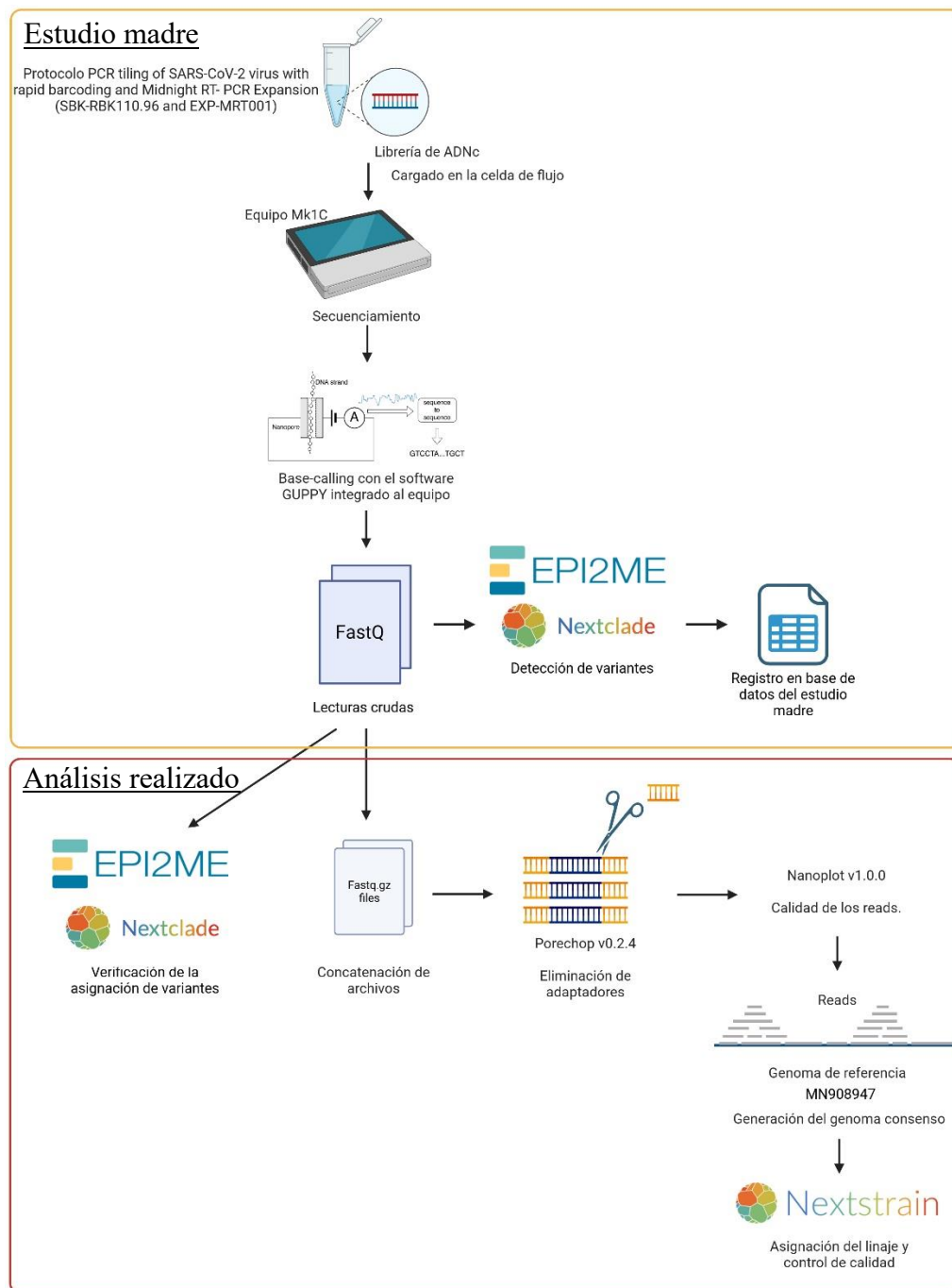


Figura 3. Flujo de análisis bioinformático indicando los procedimientos realizados por el estudio madre (amarillo) y los analizados en el presente estudio (rojo)

IV.6.2 Análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo de las variables de estudio que incluía el cálculo de frecuencias para disfunciones quimiosensoriales, presencia de la mutación de interés, variante detectada, género, vacunación y otros síntomas y mediana para edad y duración máxima de síntomas reportados. Se realizó el análisis bivariado, con la prueba de chi-cuadrado para determinar si hay una asociación significativa entre la presencia de la mutación D614G del genoma de SARS-CoV-2 y la ocurrencia de disfunción quimiosensorial. Además, se aplicaron las pruebas Fisher y chi-cuadrado para evaluar si existe una asociación entre la presencia de la mutación D614G y el sexo, variante detectada, otros síntomas respiratorios detectados y dosis de vacunas. Adicional a ello, se aplicó la suma de rangos de Wilcoxon para evaluar la asociación entre la presencia de la mutación de interés y la edad y la duración máxima de síntomas. Finalmente, para determinar si la presencia de la mutación está asociada de manera significativa con la presencia de disfunciones quimiosensoriales, ajustando por las otras variables del estudio, se aplicó un Modelo Lineal Generalizado (GLM), familia Poisson, enlace Log con varianza robusta, calculándose la razón de prevalencia (RP) para estimar la probabilidad relativa de presentar disfunciones quimiosensoriales. Antes de su aplicación, se evaluaron los supuestos del modelo, incluyendo la independencia de las observaciones, la adecuación del tipo de variable dependiente y la presencia de sobre dispersión, para garantizar la validez de los resultados. Adicionalmente, se extendió el análisis de asociación a mutaciones específicas presentes en el gen S de la variante Lambda (G75V, T76I, L452Q, delección 246–253 y F490S), con el fin de evaluar si la asociación con la disfunción quimiosensorial se mantenía al

considerar estas mutaciones características. Para ello, se empleó el software RStudio versión 4.2.3, 2024. Para los análisis se consideró un nivel de confianza del 95% y valor $p < 0.05$.

IV.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se solicitó la aprobación a los Comité Institucional de Ética (CIE) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y del Instituto de Investigación Nutricional (IIN) para la realización del presente protocolo, el cual es un análisis de bases secundarias del estudio madre - “Caracterización molecular de SARS-CoV-2, síntomas y eventos post COVID-19 en una población de Lima durante los años 2021 y 2022”. Ambos comités aprobaron el protocolo bajo la categoría de exento con las constancias CIEI-297-26-24 de UPCH y carta 016-2025/CIEI-IIN del IIN.

El estudio madre, de donde se basa el presente proyecto, cuenta con aprobación del Comité de Ética en Investigación del IIN con el protocolo No. 419-2022/CIEI-IIN. La información de los participantes se encuentra protegida desde el estudio madre donde las alícuotas de muestras almacenadas en el laboratorio se encontraban identificadas mediante un código que utiliza el laboratorio para el registro, análisis y reporte de resultados en la base de datos que almacena el centro de cómputo. Los códigos no contienen ninguna identificación de los participantes (por ejemplo, nombre o información de contacto). La información personal que puede vincularse a estos códigos se encuentra en una computadora protegida en el centro del cómputo, a la que sólo los investigadores del estudio madre y otros miembros autorizados tienen acceso para identificar y por lo que pudieron contactar a los participantes a ser parte del estudio inicial. Ningún miembro del estudio madre que

estuvo involucrado en el análisis de muestras en el laboratorio tuvo acceso a la información personal de los participantes. Los datos obtenidos del estudio madre (laboratorio, secuencias y encuestas) fueron almacenados en archivos bloqueados, en armarios cerrados con llave y computadoras con contraseña aseguradas del IIN, a los que sólo los investigadores del estudio madre y miembros autorizados tienen acceso. El Data Manager controla el acceso a los datos electrónicos. De la misma manera, ninguna identificación personal se dará a conocer en presentaciones de resultados o publicaciones nacionales o internacionales tanto del estudio madre como el presente.

V. RESULTADOS

El proceso de selección de las muestras incluidas en el análisis se resume en la Figura 4. Inicialmente, se identificaron 432 muestras provenientes del estudio madre. De estas, se excluyeron 67 muestras por no cumplir con los criterios de elegibilidad previamente establecidos, quedando así 365 muestras seleccionadas. Posteriormente, se realizó una depuración adicional de los datos. Se eliminaron 86 muestras debido a la ausencia de información sobre la mutación de interés y la no inclusión de una muestra identificada como recombinante, lo que dio como resultado un total de 279 muestras con datos de la mutación D614G del genoma de SARS-CoV-2.

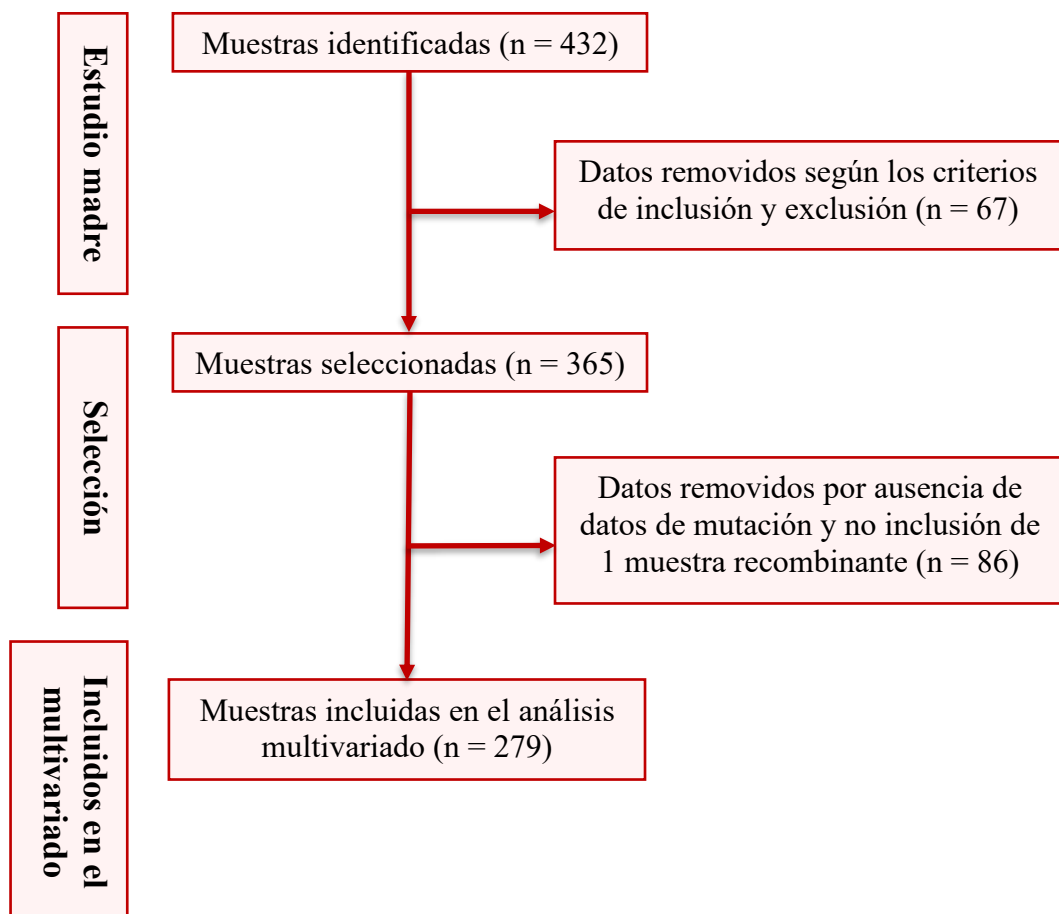


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de selección de muestras para el análisis estadístico

La distribución de los genomas secuenciados según variante de SARS-CoV-2 incluidos en el análisis se resume en el Anexo 2.

De la información obtenida, se realizó la caracterización de las mutaciones presentes en el gen S de los genomas de SARS-CoV-2 secuenciados. Las métricas de cobertura de las secuencias incluidas se presentan en el Anexo 3. El análisis genómico de las 279 secuencias analizadas reveló un total de 5,611 mutaciones incluyendo *frameshift*, sustituciones, inserciones y deleciones, con una mediana de 14 mutaciones por paciente (IQR: 8–34). La distribución de las mutaciones fue heterogénea; algunos genomas presentaron hasta 37 mutaciones, mientras que otros carecían de estas. Del total de mutaciones identificadas, la mayoría correspondió a sustituciones (74.4%), seguidas por deleciones (23.6%), y en menor proporción inserciones y *frameshift* (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de tipos de mutación, mutaciones más frecuentes y carga mutacional por variante

	n (%)
Tipo de mutación	
Sustitución	4,175 (74.4%)
Delección	1,322 (23.6%)
Inserción	81 (1.4%)
<i>Frameshift</i>	33 (0.6%)
Mutaciones más frecuentes	
D614G	232 (4.1%)
H69-	145 (2.6%)
V70-	145 (2.6%)
N501Y	136 (2.4%)
T478K	133 (2.4%)
T95I	132 (2.4%)
Y144-	121 (2.2%)
A67V	118 (2.1%)
S373P	118 (2.1%)
S375F	118 (2.1%)
Carga mutacional por variante [†]	

Ómicron	33 (8 - 36)
Lambda	14 (13 - 15)
Delta	10 (10 - 11)
Gamma	9 (8 - 10)
Otros	8 (6 - 10)

†Mediana y rango intercuartil

Entre las mutaciones más frecuentes destacaron D614G (n=232), así como la delección de la histidina en la posición 69 de la proteína Spike o H69- (n=145) y la delección de la valina en la posición 70 de la proteína o V70- (n=145). El detalle de las mutaciones detectadas se presenta en el Anexo 4.

Al analizar la carga mutacional del gen S por variante, se observó que la variante Ómicron presentó la mayor mediana de mutaciones, con un valor de 33 (IQR: 8–36). La variante Lambda, por su parte, mostró una mediana elevada de 14 mutaciones (IQR: 13–15), observándose una carga mutacional también considerable pero más homogénea. Las variantes Delta, Gamma y "Otros" mostraron una menor carga mutacional (Tabla 1) (Figura 5).

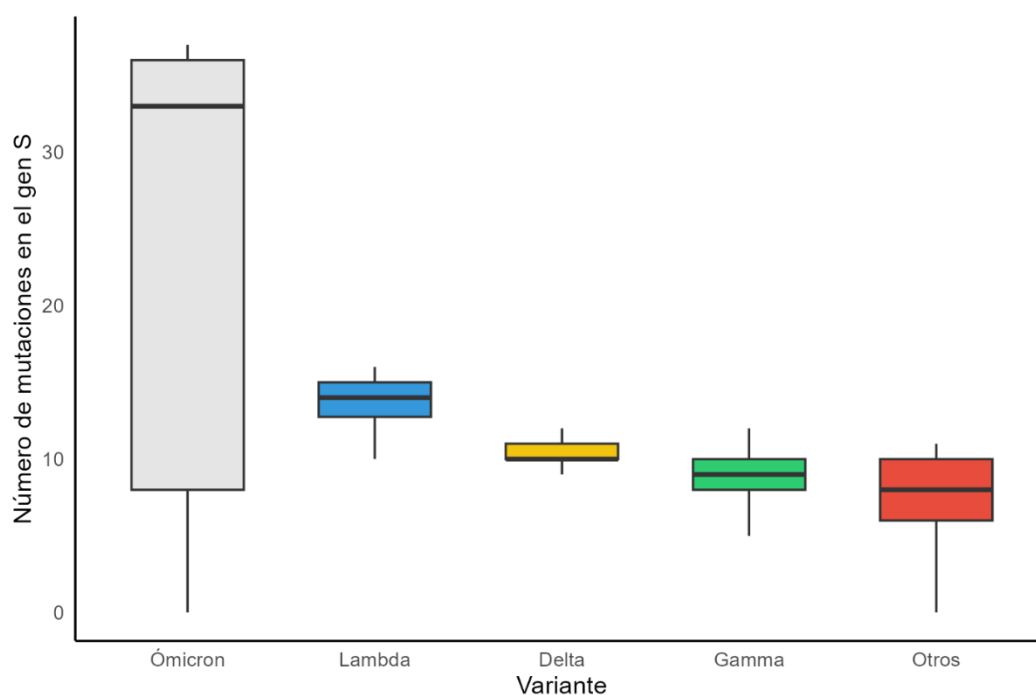


Figura 5. Carga mutacional del gen S por variante

La Tabla 2 presenta el análisis bivariado de variables demográficas, como sexo, edad y estudio de procedencia, entre participantes con y sin disfunción quimiosensorial durante su episodio de COVID-19. Se observa que los participantes provienen de tres estudios, con una mayoría perteneciente al Estudio 2. La mediana de edad de la muestra es de 44 años. En relación con la disfunción quimiosensorial, 133 sujetos (36.4 %) la presentaron, mientras que 232 (63.6 %) no reportaron dicha alteración. Al desagregar los datos por sexo, se identificó que 77 mujeres (39.1 %) manifestaron disfunciones quimiosensoriales y 120 (60.9 %) no las presentaron. En el caso de los hombres, 56 (33.5 %) reportaron la disfunción y 111 (66.5 %) no la presentaron.

Se observa que la presencia de disfunciones quimiosensoriales no muestran diferencias significativas según el sexo, la edad, el número de dosis de vacuna recibidas ni la presencia de la mutación D614G. Sin embargo, sí se encontraron asociaciones significativas con la variante de SARS-CoV-2 identificada ($p < 0.001$), la presencia de otros síntomas respiratorios o sistémicos ($p = 0.005$) y la duración máxima de síntomas durante el cuadro de COVID-19 ($p < 0.001$). En particular, la mutación analizada es ligeramente más frecuente en los participantes sin disfunción quimiosensorial en comparación de los que la presentaron (56.9% vs. 43.1%), aunque esto no fue significativo. Asimismo, la mayoría de los participantes con disfunción quimiosensorial también reportaron otros síntomas respiratorios o sistémicos en comparación de los que no reportaron estos síntomas (91% vs. 9%). Finalmente, la variante Lambda es más prevalente en este grupo

(41.4%), mientras que Ómicron es más frecuente en quienes no presentaron estos síntomas (77.9%) (Figura 6).

Tabla 2. Análisis bivariado de las variables del estudio

	Disfunción quimiosensorial			p-value
	No, n = 231 (63.5%)	Sí, n = 133 (36.5%)	Total, n = 364 (100.0%)	
Sexo (*)				0.300
Femenino	120 (60.9%)	77 (39.1%)	197 (100.0%)	
Masculino	111 (66.5%)	56 (33.5%)	167 (100.0%)	
Edad (años) (**)	44 (31, 57)	42 (30, 56)	44 (30, 57)	0.400
Estudio (*)				0.800
Estudio 1	26 (68.4%)	12 (31.6%)	38 (100.0%)	
Estudio 2	178 (63.1%)	104 (36.9%)	282 (100.0%)	
Estudio 3	27 (61.4%)	17 (38.6%)	44 (100.0%)	
Mutación D614G (*)				0.090
Sí	132 (56.9%)	100 (43.1%)	232 (100.0%)	
No	33 (70.2%)	14 (29.8%)	47 (100.0%)	
No determinado	66	19	85	
Variante (*)				<0.001 [†]
Ómicron	180 (77.3%)	53 (22.7%)	233 (100.0%)	
Lambda	37 (40.2%)	55 (59.8%)	92 (100.0%)	
Delta	8 (44.4%)	10 (55.6%)	18 (100.0%)	
Gamma	5 (31.2%)	11 (68.8%)	16 (100.0%)	
Otros	1 (20.0%)	4 (80.0%)	5 (100.0%)	
20A	0	1	1	
Alfa	0	1	1	
Mu	1	2	3	
Otros síntomas respiratorios o sistémicos (*)				0.005 [†]
Sí	184 (60.3%)	121 (39.7%)	305 (100.0%)	
No	47 (79.7%)	12 (20.3%)	59 (100.0%)	
Duración de síntomas (días) (**)	7 (4, 30)	24 (10, 230)	14 (5, 61)	<0.001 [†]
Dosis de vacuna (***)				0.400
1	12 (63.2%)	7 (36.8%)	19 (100.0%)	
2	129 (72.5%)	49 (27.5%)	178 (100.0%)	
3	1 (50.0%)	1 (50.0%)	2 (100.0%)	
4	8 (72.7%)	3 (27.3%)	11 (100.0%)	
5	5 (50.0%)	5 (50.0%)	10 (100.0%)	

(*)Pearson's Chi-squared test; (**)Wilcoxon rank sum test; (***)Fisher's exact test

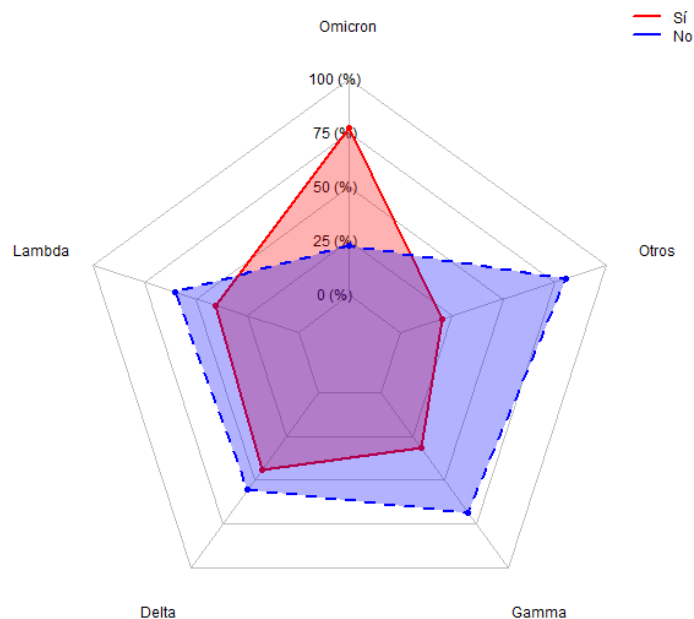


Figura 6. Spider plot de la distribución de personas con y sin disfunciones quimiosensoriales según variante agrupada de SARS-CoV-2.

La Tabla 3 presenta el análisis multivariado mediante un GLM Poisson Log con varianza robusta, estimándose razones de prevalencia crudas (RPc) y ajustadas (RPa) con intervalos de confianza al 95% y *p-value* correspondientes.

La mutación no mostró una asociación estadísticamente significativa con la disfunción ni en el análisis crudo (RPc: 1.45; IC95%: 0.91–2.30; $p = 0.1179$) ni en el ajustado (RPa: 1.01; IC95%: 0.51–2.27; $p = 0.9584$). Sin embargo, una de las variables que sí presentó una asociación estadísticamente significativa fue la variante del virus. En particular, la variante Lambda se asoció con una mayor prevalencia de disfunción en comparación con la variante Ómicron (RPa: 2.51; IC95%: 1.28–4.88; $p = 0.0065$). Otras variantes como Gamma, Delta y "otros" también mostraron asociaciones elevadas en el análisis crudo, pero perdieron significancia estadística tras el ajuste, lo que indica la posible influencia de factores de confusión.

Tabla 3. Asociación entre la mutación D614G de SARS-CoV-2 y el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado durante el periodo 2021-2022 en Lima (n=279)

Variable	RPc	IC 95%	p-value	RPa	IC 95%	p-value
Sexo						
Femenino	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Masculino	0.86	(0.65-1.13)	0.276	0.68	(0.38-1.20)	0.187
Edad (años)	1.00	(0.99-1.01)	0.399	0.99	(0.97-1.01)	0.212
Variante						
Ómicron	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Lambda	2.63	(1.97-3.51)	< 0.001[†]	2.51	(1.28-4.88)	0.007[†]
Delta	2.44	(1.52-3.93)	0.0002[†]	1.74	(0.50-4.69)	0.316
Gamma	3.02	(2.01-4.54)	< 0.001[†]	2.45	(0.57-7.36)	0.155
Otros	3.52	(2.14-5.79)	< 0.001[†]	3.88	(0.57-15.78)	0.092
Otros síntomas respiratorios						
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	1.95	(1.15-3.29)	0.012[†]	1.82	(0.78-5.33)	0.215
Duración máxima de síntomas (días)	1.00	(1.00-1.00)	< 0.001[†]	1.00	(1.00-1.00)	0.837
Dosis de vacuna	1.10	(0.88-1.38)	0.400	1.30	(0.90-1.80)	0.134
Mutación D614G						
No	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Sí	1.45	(0.91-2.30)	0.118	1.01	(0.51-2.27)	0.958

Variables como el sexo, la edad, la duración máxima de síntomas, la presencia de otros síntomas respiratorios y la dosis de vacuna no mostraron asociaciones estadísticamente significativas con la disfunción en el modelo ajustado. Estos resultados indican que, si bien la mutación por sí sola no se asoció con un mayor riesgo de disfunción, la variante viral podría desempeñar un papel importante en la manifestación clínica del desenlace evaluado. De manera complementaria, al evaluar mutaciones específicas de la variante Lambda (G75V, T76I, L452Q, delección 246–253 y F490S), no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas con la presencia de disfunciones quimiosensoriales.

La Tabla 4 indica la frecuencia y duración de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado observando que la mayoría de los participantes que experimentaron estos síntomas, reportaron una duración menor o igual a 1 mes, representando el 89.5% (n=119) del total. Sin embargo, se observaron casos aislados con síntomas persistentes a largo plazo.

Estos datos reflejan una alta tasa de recuperación temprana, pero también ponen en evidencia la presencia de casos con alteraciones sensoriales de larga duración.

Tabla 4. *Frecuencia y duración de disfunciones quimiosensoriales en pacientes que reportaron estos síntomas*

Duración de disfunción quimiosensorial	n (%)
≤ 1 mes	119 (89.5%)
3 meses	3 (2.3%)
4 meses	1 (0.8%)
5 meses	2 (1.5%)
8 meses	1 (0.8%)
16 meses	1 (0.8%)
17 meses	1 (0.8%)
18 meses	2 (1.5%)
19 meses	3 (2.3%)

La figura 7A muestra un diagrama de caja y bigotes que representa la distribución de la duración de la disfunción quimiosensorial, en días, para el total de casos.

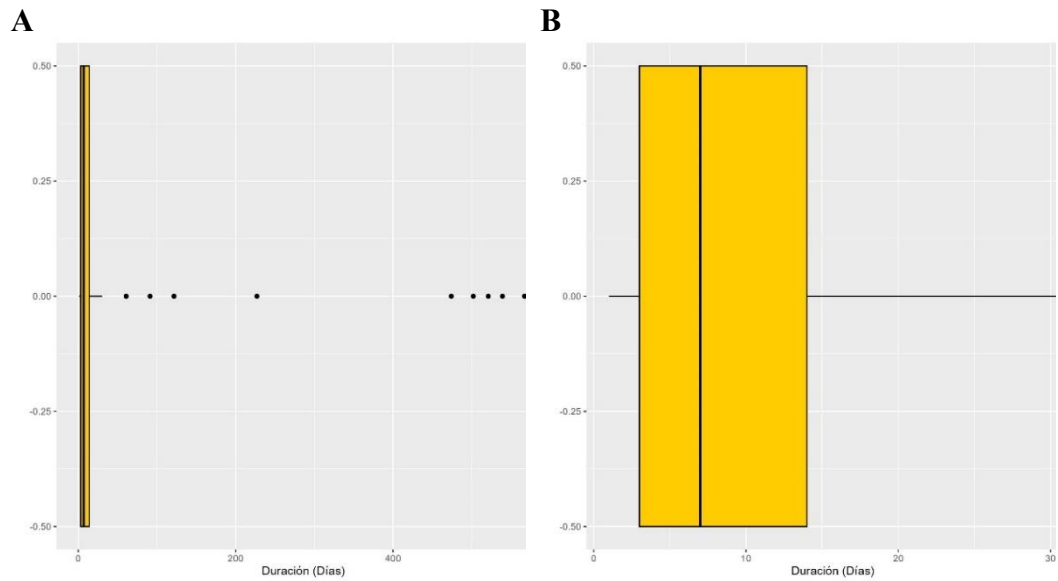


Figura 7. Distribución de la duración (en días) de disfunciones quimiosensoriales reportadas. (A) Todos los casos reportados, incluyendo duraciones prolongadas.
(B) Casos con duración de 1 a menos de 1 mes

La inclusión de casos con duraciones prolongadas generaba una dispersión considerable en los datos, lo cual dificultaba la interpretación visual de las tendencias principales por lo que en la Figura 7B están representados los datos de duración de disfunción menor o igual a 1 mes. Observamos una distribución asimétrica positiva, con una mediana de 7 días, mientras que el primer cuartil se sitúa alrededor en los 3 días y el tercer cuartil cerca de los 14 días. Existen algunos valores atípicos hacia el extremo superior, cercanos a los 30 días, lo cual indica la presencia de casos menos frecuentes con una mayor duración.

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó la asociación entre la presencia de la mutación D614G del genoma del SARS-CoV-2 y el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19. Si bien esta mutación estuvo presente en una proporción considerable de casos, el análisis multivariado no evidenció una asociación estadísticamente significativa con el desenlace ni en el análisis crudo ni en el ajustado. Aunque la mutación D614G ha sido ampliamente estudiada por mejorar la replicación viral y el incremento de la transmisibilidad del virus, nuestros hallazgos sugieren que su impacto sobre los síntomas sensoriales podría ser limitado o estar modulado por otros factores virales y del huésped (38). Este hallazgo, aunque contrasta con algunos reportes que sugieren que la mutación D614G se encuentra asociada con el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales, puede indicar que su papel en los cambios fenotípicos relacionados con estos síntomas no es universalmente consistente en todas las poblaciones o puede estar sujeto a la modulación de otros factores genéticos del virus y del huésped así como epidemiológicos (26,39). Es plausible que, en nuestra población de estudio, la contribución principal de la mutación D614G fuera la propagación viral, con un impacto directo menos marcado en las disfunciones quimiosensoriales, lo cual sugiere que el perfil clínico observado dependería más de la combinación de mutaciones presentes en cada variante que de una sola mutación aislada. Por lo tanto, este hallazgo subraya la importancia de que las futuras investigaciones se centren en otras mutaciones específicas dentro de la proteína S, que han sido propuestas como potenciales moduladoras de los síntomas clínicos que presentan distintas variantes, así como la investigación de mutaciones en genes no

estructurales como el ORF7, que han sido relacionados con anosmia e inflamación (26,40,41).

De manera complementaria, el análisis a mutaciones específicas de Lambda tampoco mostró una asociación significativa con disfunciones quimiosensoriales, lo que sugiere que sus efectos actúan de forma sinérgica más que individual. Estudios previos han mostrado que combinaciones de mutaciones pueden modificar el tropismo viral, la replicación en el epitelio olfatorio o la respuesta inflamatoria (26,39). En Lambda, mutaciones como G75V, T76I, L452Q, la delección 246–253 y F490S se asocian principalmente con la infectividad y la evasión inmune (42). Sin embargo, su interacción podría influir en la presentación clínica, aunque no se detecte un efecto aislado. Este fenómeno también se ha visto en variantes anteriores, donde D614G se relacionó con anosmia, mientras que en Ómicron la frecuencia de disfunciones quimiosensoriales fue menor (43,44). En consecuencia, el perfil mutacional completo, más que mutaciones puntuales, podría ser determinante para la manifestación de estos síntomas y debería ser abordado en futuras investigaciones.

Por otro lado, se encontró una asociación significativa entre la variante del SARS-CoV-2 y la presencia de disfunciones quimiosensoriales. En particular, la infección por la variante Lambda se asoció con una mayor prevalencia de disfunciones quimiosensoriales, incluso tras el ajuste por factores de confusión, con una razón de prevalencia ajustada de 2.51 (IC95%: 1.28–4.88; $p = 0.0065$). Este hallazgo subraya que el efecto clínico observado no necesariamente depende de una sola mutación, sino del conjunto de mutaciones que caracterizan a cada variante (45).

La circulación de Lambda, que predominó en Perú en el primer semestre del 2021 posee un conjunto distintivo de mutaciones en su proteína S, particularmente en el dominio N-terminal (NTD) y el dominio de unión al receptor (RBD) (32,46,47). Por ejemplo, mutaciones específicas como T61I y L452Q en la proteína S, se han asociado con una mayor infectividad de esta variante (42). Además, se ha descrito que una delección de 7 aminoácidos (RSYLTPGD246-253N) en el NTD de Lambda favorece la evasión de los anticuerpos neutralizantes y podría potenciar la infección mediada por anticuerpos, lo que contribuiría a una propagación viral amplia (42). Aunque algunos estudios sugieren que mutaciones en la región RBD de Lambda como F490S/L452Q, no modificarían de forma significativa la afinidad de unión a ACE2, la combinación de una mayor infectividad y evasión inmunitaria podría dar lugar a una persistencia viral sostenida y alterar la interacción entre el huésped y el virus (48). Esto podría favorecer que las disfunciones quimiosensoriales se mantengan con mayor frecuencia, no de manera directa por las mutaciones, sino a través de mecanismos inflamatorios inducidas por la infección.

La variante Lambda, no mostró una disminución en la frecuencia de disfunciones quimiosensoriales en comparación con las variantes anteriores (49). Esto contrasta con la variante Ómicron, reportada en la literatura por presentar una menor frecuencia de estas manifestaciones (43,44). Esto podría explicarse por cambios en el patrón de replicación o al desplazamiento del sitio primario de infección hacia las vías respiratorias superiores (50,51). Según esto, nuestros resultados sugieren que Lambda presentaría una mayor frecuencia de disfunciones sensoriales que Ómicron, lo que concuerda así con otros estudios.

Más allá de Perú, la variante Lambda mostró una prevalencia considerable en otros países sudamericanos, representando un porcentaje sustancial de infecciones en Chile y con casos reportados en Argentina (52). Esta circulación coincide con reportes que señalan que la presencia de disfunciones quimiosensoriales fueron más comunes durante los primeros periodos de la pandemia, cuando prevalecían variantes como Lambda, en comparación con las olas de variantes posteriores (43,53). Es por ello que es posible pensar que el perfil mutacional único de Lambda, al influir en la propagación viral y la respuesta inmunitaria del huésped, haya contribuido a los patrones de disfunciones quimiosensoriales observados en los países latinoamericanos afectados. Esto resalta la importancia de desarrollar estudios epidemiológicos que relacionen las características virológicas de Lambda con los perfiles clínicos observados en estas poblaciones.

Variantes como Gamma, Delta y otras también mostraron asociaciones elevadas en el análisis crudo, aunque estas perdieron significancia en el modelo ajustado, lo cual puede indicar una influencia compartida con otras variables clínicas o epidemiológicas. Estos resultados apoyan la idea de que ciertas variantes del virus pueden tener mayor tropismo por el epitelio olfatorio o afectar de forma diferenciada los mecanismos neurosensoriales responsables de estas funciones (54,55).

Las disfunciones quimiosensoriales, particularmente la disfunción olfativa no es exclusiva de la COVID-19, pues ya había sido descrita como secuela de otras infecciones virales del tracto respiratorio superior (18). Virus como influenza, rinovirus, parainfluenza y otros coronavirus se han asociado con anosmia, ya sea por afectar directamente el epitelio olfativo o propagarse hacia el sistema nervioso

central (21,56). Este contexto más amplio de pérdida quimiosensorial inducida por otros virus refuerza la hipótesis de un tropismo viral diferencial hacia el epitelio olfatorio.

Al analizar la distribución de las mutaciones en el gen S por variante, se observó que la variante Ómicron presentaba una mayor mediana de mutaciones, seguido por Lambda, Delta, Gamma y, finalmente otros. Este hallazgo concuerda con lo reportado en la literatura, donde se ha descrito que Ómicron acumuló más de 30 mutaciones en la proteína S, muchas de las cuales afectan regiones clave para el reconocimiento por anticuerpos neutralizantes y la unión al receptor ACE2 (57). Además, nuestros hallazgos reflejan la evolución activa del gen S, blanco principal de la respuesta inmune y de estrategias terapéuticas y vacunales (57,58). La variabilidad observada entre las variantes también podría contribuir a explicar la heterogeneidad clínica en los desenlaces, como las disfunciones quimiosensoriales. Por otra parte, no se evidenció una relación significativa con variables clínicas como el sexo, la edad, la presencia de otros síntomas respiratorios, el número de dosis de vacuna o la duración de los síntomas. Nuestros hallazgos contrastan lo afirmado por estudios anteriores quienes evidenciaron asociaciones de la presencia de estos síntomas dichos factores (25). En poblaciones con menor variabilidad étnica y durante periodos dominados por una sola variante viral, la mutación D614G, presente en múltiples variantes incluida Lambda, se asocia con una mayor frecuencia de disfunciones quimiosensoriales (26). Sugiriendo que, en nuestro contexto, el perfil mutacional completo de la variante puede tener mayor relevancia que una mutación aislada.

Algunas de las variables evaluadas, como la vacunación, mostraron una tendencia que podría alcanzar significancia con una muestra mayor. De ser el caso, sería posible que la protección conferida por las vacunas o el sesgo en el recuerdo de síntomas sensoriales hayan influido en los resultados. Es importante considerar que algunos de nuestros hallazgos podrían estar influenciados por limitaciones inherentes del estudio, como el tamaño muestral, que podría haber limitado la potencia estadística. Asimismo, la presencia de disfunciones quimiosensoriales fue autorreportada, abriendo la posibilidad de un sesgo de recuerdo en la medición del desenlace. Además, no se incluyeron variables adicionales como comorbilidades específicas o factores genéticos del huésped que también podrían influenciar en la variabilidad observada de los síntomas.

Desde una perspectiva de aplicabilidad clínica y de salud pública, la integración de información genómica con datos clínicos y epidemiológicos se ha propuesto como una herramienta complementaria para la evaluación temprana de síntomas y el seguimiento de pacientes. Estudios previos han demostrado que el uso del secuenciamiento genómico puede contribuir a la estratificación de riesgo y a la identificación de perfiles clínicos específicos, siempre que su aplicación esté guiada por marcos estandarizados y evidencia sólida sobre su utilidad clínica(59–61). En el contexto del SARS-CoV-2, la vigilancia genómica no solo permite monitorear la circulación de variantes, sino que también puede aportar información relevante para comprender diferencias en la expresión clínica de la enfermedad. En este estudio, la asociación observada entre la variante Lambda y las disfunciones quimiosensoriales sugiere que el análisis genómico a nivel de variante podría apoyar la identificación de grupos con mayor probabilidad de presentar

determinados síntomas, complementando la evaluación clínica tradicional. No obstante, la interpretación de estos hallazgos debe realizarse con cautela, considerando las limitaciones en la penetrancia de las variantes y los desafíos actuales en la traducción de la información genómica a la práctica clínica rutinaria (59).

Finalmente, en conjunto, estos hallazgos contribuyen a una mejor comprensión de los factores asociados a las disfunciones quimiosensoriales en el contexto del COVID-19, especialmente en poblaciones latinoamericanas. Además, resaltan la importancia de la vigilancia genómica continua y su conexión con la práctica clínica, esto dado que al identificar variantes con mayor tropismo sensorial podría ayudar en la evaluación temprana de pacientes, así como el diseño de estrategias de salud pública.

VII. CONCLUSIONES

- Respecto al objetivo general, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la mutación D614G en el genoma de SARS-CoV-2 y el desarrollo de disfunciones quimiosensoriales en pacientes con COVID-19 confirmado por prueba rápida o RT-PCR durante el periodo 2021-2022 en Lima.
- En relación al primer objetivo específico, se observó que la mayoría de los pacientes con disfunción quimiosensorial reportaron una duración menor de un mes.
- Sobre el segundo objetivo específico, se evidenció que la variante Ómicron presentó una mayor cantidad de mutaciones acumuladas en el gen S en comparación con las otras variantes evaluadas.
- Respecto al tercer objetivo específico, no se encontraron factores adicionales asociados a la presencia de disfunciones quimiosensoriales más allá de la variante reportada.
- Adicional a ello se identificó una asociación significativa entre la variante Lambda y la presentación de disfunciones quimiosensoriales.

VIII. LIMITACIONES

Sesgo de memoria por la encuesta realizada a los participantes en el estudio madre, luego de 16 a 616 días de haber presentado la enfermedad habiendo la posibilidad que los casos más leves minimicen la duración de sus síntomas y los moderados o severos lo prolonguen. Además que, sobre todo los adultos mayores, no recuerden adecuadamente los síntomas que presentaron durante la infección de COVID-19. Esto podría generar un subregistro y subestimación de los síntomas y su duración, respectivamente.

Sobre la duración de los síntomas: si bien se registró duración de los síntomas (días, semanas, meses), también se dio la opción de elegir “continúa”. Esto no brindó un punto de partida para establecer un aproximado de la duración de los síntomas. Por lo tanto, el estudio madre optó por considerar desde el inicio del episodio hasta el día en que se realizó la encuesta, tomando así por defecto la mayor duración posible para dichos síntomas. Esta información puede dar lugar a datos de duración de síntomas poco precisos.

Sesgo de selección, la base brindada por el estudio madre sólo proporcionó información de aquellos que dieron su consentimiento informado (CI), los que no dieron su CI, pudo deberse probablemente a que no los encontraron o presentaron algún desenlace más severo que los que sí aceptaron participar (no se encontró un caso por fallecimiento, viaje fuera del país, o no pudieron ser contactados). Con esto se pudo dar una subestimación de los casos con los síntomas medidos.

IX. RECOMENDACIONES

A partir de los hallazgos obtenidos en el presente estudio, se recomienda continuar con investigaciones que evalúen la relación entre mutaciones tanto específicas como agrupadas del genoma del SARS-CoV-2 y manifestaciones clínicas como las disfunciones quimiosensoriales, empleando diseños longitudinales que permitan analizar la duración y evolución de estos síntomas a lo largo del tiempo. Esta información sería de utilidad para conocer patrones mutacionales que, adicional a un mejor entendimiento de la fisiopatología del virus, también podrían servir como insumo para la vigilancia genómica y la detección temprana de variantes con potencial clínico relevante como lo son las estudiadas en el presente trabajo.

Además, recomendamos ampliar el tamaño muestral para asegurar una mayor representatividad de cada variante viral y fortalecer el análisis estadístico, así como incorporar el estudio de mutaciones adicionales del gen S y de otros genes virales que podrían tener un rol en la aparición de disfunciones quimiosensoriales. De igual manera, sugerimos incorporar variables clínicas y epidemiológicas adicionales como la presencia de comorbilidades, el tipo de vacuna recibida y la carga viral al momento del diagnóstico, así como utilizar medidas objetivas de evaluación olfatoria y gustativa (por ejemplo, pruebas estandarizadas como UPSIT o tiras de sabores) que permitan cuantificar de manera reproducible la función sensorial y que complementen el autorreporte de síntomas.

Finalmente, el identificar asociaciones entre ciertos patrones genómicos y características clínicas de importancia, podría aportar información relevante para la vigilancia y preparación ante virus emergentes, facilitando una respuesta sanitaria oportuna y dirigida.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar 12;579(7798):270–3.
2. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard [Internet]. Available from: <https://covid19.who.int/>
3. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades - MINSA. Sala Situacional COVID-19. Perú; 2024 Apr p. 41.
4. Alexandersen S, Chamings A, Bhatta TR. SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNAs in diagnostic samples are not an indicator of active replication. *Nat Commun*. 2020 Nov 27;11(1):6059.
5. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host & Microbe*. 2020 Mar;27(3):325–8.
6. Mahilkar S, Agrawal S, Chaudhary S, Parikh S, Sonkar SC, Verma DK, et al. SARS-CoV-2 variants: Impact on biological and clinical outcome. *Front Med*. 2022 Nov 10;9:995960.
7. Whitaker M, Elliott J, Bodinier B, Barclay W, Ward H, Cooke G, et al. Variant-specific symptoms of COVID-19 in a study of 1,542,510 adults in England. *Nat Commun*. 2022 Nov 11;13(1):6856.
8. Sanjuán R, Domingo-Calap P. Mechanisms of viral mutation. *Cell Mol Life Sci*. 2016 Dec;73(23):4433–48.
9. Ogando NS, Zevenhoven-Dobbe JC, Van Der Meer Y, Bredenbeek PJ, Posthuma CC, Snijder EJ. The Enzymatic Activity of the nsp14 Exoribonuclease Is Critical for Replication of MERS-CoV and SARS-CoV-2. Gallagher T, editor. *J Virol*. 2020 Nov 9;94(23):e01246-20.
10. Mack AH, Menzies G, Southgate A, Jones DD, Connor TR. A Proofreading Mutation with an Allosteric Effect Allows a Cluster of SARS-CoV-2 Viruses to Rapidly Evolve. Leitner T, editor. *Molecular Biology and Evolution*. 2023 Oct 4;40(10):msad209.
11. Maurya R, Mishra P, Swaminathan A, Ravi V, Saifi S, Kanakan A, et al. SARS-CoV-2 Mutations and COVID-19 Clinical Outcome: Mutation Global Frequency Dynamics and Structural Modulation Hold the Key. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Mar 21;12:868414.
12. Yang JH, Yang MS, Kim DM, Kim B, Tark D, Kang SM, et al. Delta (B.1.617.2) variant of SARS-CoV-2 induces severe neurotropic patterns in K18-hACE2 mice. *Sci Rep*. 2023 Feb 27;13(1):3303.
13. Bholá S, Trisal J, Thakur V, Kaur P, Kulshrestha S, Bhatia SK, et al. Neurological toll of COVID-19. *Neurol Sci*. 2022 Apr;43(4):2171–86.
14. Proust A, Queval CJ, Harvey R, Adams L, Bennett M, Wilkinson RJ. Differential effects of SARS-CoV-2 variants on central nervous system cells and blood–brain barrier functions. *J Neuroinflammation*. 2023 Aug 3;20(1):184.
15. Nagy Á, Pongor S, Györfy B. Different mutations in SARS-CoV-2 associate with severe and mild outcome. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2021 Feb;57(2):106272.
16. Martínez-González B, Soria ME, Vázquez-Sirvent L, Ferrer-Orta C, Lobo-Vega R, Mínguez P, et al. SARS-CoV-2 Point Mutation and Deletion Spectra and

- Their Association with Different Disease Outcomes. Martinez MA, editor. *Microbiol Spectr*. 2022 Apr 27;10(2):e00221-22.
17. Alquraan L, Alzoubi KH, Rababa'h SY. Mutations of SARS-CoV-2 and their impact on disease diagnosis and severity. *Informatics in Medicine Unlocked*. 2023;39:101256.
 18. Bussiere N, Mei J, Levesque-Boissonneault C, Blais M, Carazo S, Gros-Louis F, et al. Persisting chemosensory impairments in 366 healthcare workers following COVID-19: an 11-month follow-up. *Chemical Senses*. 2022 Jan 1;47:bjac010.
 19. Javed N, Ijaz Z, Khair AH, Dar AA, Lopez ED, Abbas R, et al. COVID-19 loss of taste and smell: potential psychological repercussions. *Pan Afr Med J* [Internet]. 2022 [cited 2024 Nov 23];43. Available from: <https://www.panafrican-med-journal.com/content/article/43/38/full>
 20. Mullol J, Alobid I, Mariño-Sánchez F, Izquierdo-Domínguez A, Marin C, Klimek L, et al. The Loss of Smell and Taste in the COVID-19 Outbreak: a Tale of Many Countries. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2020 Oct;20(10):61.
 21. Hummel T, Whitcroft KL, Andrews P, Altundag A, Cinghi C, Costanzo RM, et al. Position paper on olfactory dysfunction. *Rhin*. 2017 Mar 1;54(26):1–30.
 22. Bilinska K, Jakubowska P, Von Bartheld CS, Butowt R. Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Jun 3;11(11):1555–62.
 23. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020 Aug;182(4):812-827.e19.
 24. Saxena SK, Kumar S, Ansari S, Paweska JT, Maurya VK, Tripathi AK, et al. Characterization of the novel SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant of concern and its global perspective. *Journal of Medical Virology*. 2022 Apr;94(4):1738–44.
 25. Von Bartheld CS, Hagen MM, Butowt R. Prevalence of Chemosensory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis Reveals Significant Ethnic Differences. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Oct 7;11(19):2944–61.
 26. Von Bartheld CS, Hagen MM, Butowt R. The D614G Virus Mutation Enhances Anosmia in COVID-19 Patients: Evidence from a Systematic Review and Meta-analysis of Studies from South Asia. *ACS Chem Neurosci*. 2021 Oct 6;12(19):3535–49.
 27. Tong JY, Wong A, Zhu D, Fastenberg JH, Tham T. The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngol--head neck surg*. 2020 Jul;163(1):3–11.
 28. Boscolo-Rizzo P, Tirelli G, Meloni P, Hopkins C, Madeddu G, De Vito A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19)–related smell and taste impairment with widespread diffusion of severe acute respiratory syndrome–coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Omicron variant. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2022 Oct;12(10):1273–81.

29. Reiter ER, Coelho DH, French E, Costanzo RM, N3C Consortium. COVID-19-Associated Chemosensory Loss Continues to Decline. *Otolaryngol--head neck surg.* 2023 Nov;169(5):1386–9.
30. Kouris EC, Mirea SI, Covaci S, Luminos ML, Miron VD. Unraveling Dysgeusia in SARS-CoV-2 Infection: Clinical and Laboratory Insights from Hospitalized COVID-19 Patients in Romania. *Pathogens.* 2025 Mar 21;14(4):300.
31. Moyano LM, Toledo AK, Chirinos J, Vilchez Barreto PMQ, Cavalcanti S, Gamboa R, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence on the north coast of Peru: A cross-sectional study after the first wave. Marques ETA, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 2023 Jun 28;17(6):e0010794.
32. Toyama M, Vargas L, Ticliahuanca S, Quispe AM. Regional clustering and waves patterns due to COVID-19 by the index virus and the lambda/gamma, and delta/omicron SARS-CoV-2 variants in Peru. *Gates Open Res.* 2023 Nov 20;6:74.
33. Sáez-Llorens X, Lanata C, Aranguren E, Celis CR, Cornejo R, DeAntonio R, et al. Safety and immunogenicity of mRNA-LNP COVID-19 vaccine CVnCoV in Latin American adults: A phase 2 randomized study. *Vaccine: X.* 2022 Aug;11:100189.
34. Kremsner PG, Ahuad Guerrero RA, Arana-Arri E, Aroca Martinez GJ, Bonten M, Chandler R, et al. Efficacy and safety of the CVnCoV SARS-CoV-2 mRNA vaccine candidate in ten countries in Europe and Latin America (HERALD): a randomised, observer-blinded, placebo-controlled, phase 2b/3 trial. *The Lancet Infectious Diseases.* 2022 Mar;22(3):329–40.
35. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020 Aug;277(8):2251–61.
36. Johnson BJ, Salonen B, O’Byrne TJ, Choby G, Ganesh R, Stokken JK, et al. Patient factors associated with COVID -19 loss of taste or smell patient factors in smell/taste loss COVID -19. *Laryngoscope Investig Oto.* 2022 Dec;7(6):1688–94.
37. Aksamentov I, Roemer C, Hodcroft E, Neher R. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *JOSS.* 2021 Nov 30;6(67):3773.
38. Chakraborty C, Saha A, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS, Agoramoorthy G. D614G mutation eventuates in all VOI and VOC in SARS-CoV-2: Is it part of the positive selection pioneered by Darwin? *Molecular Therapy - Nucleic Acids.* 2021 Dec;26:237–41.
39. Butowt R, Bilinska K, Von Bartheld CS. Chemosensory Dysfunction in COVID-19: Integration of Genetic and Epidemiological Data Points to D614G Spike Protein Variant as a Contributing Factor. *ACS Chem Neurosci.* 2020 Oct 21;11(20):3180–4.
40. De Melo GD, Perraud V, Alvarez F, Vieites-Prado A, Kim S, Kergoat L, et al. Neuroinvasion and anosmia are independent phenomena upon infection with SARS-CoV-2 and its variants. *Nat Commun.* 2023 Jul 26;14(1):4485.
41. Krishnakumar HN, Momtaz DA, Sherwani A, Mhapankar A, Gonuguntla RK, Maleki A, et al. Pathogenesis and progression of anosmia and dysgeusia

during the COVID-19 pandemic. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2023 Feb;280(2):505–9.

42. Kimura I, Kosugi Y, Wu J, Zahradnik J, Yamasoba D, Butlertanaka EP, et al. The SARS-CoV-2 Lambda variant exhibits enhanced infectivity and immune resistance. *Cell Reports*. 2022 Jan;38(2):110218.

43. Sørensen AIV, Spiliopoulos L, Bager P, Nielsen NM, Hansen JV, Koch A, et al. A Danish questionnaire study of acute symptoms of SARS-CoV-2 infection by variant, vaccination status, sex and age. *Sci Rep*. 2023 Nov 14;13(1):19863.

44. Butowt R, Bilińska K, Von Bartheld C. Why Does the Omicron Variant Largely Spare Olfactory Function? Implications for the Pathogenesis of Anosmia in Coronavirus Disease 2019. *The Journal of Infectious Diseases*. 2022 Oct 17;226(8):1304–8.

45. Aguilar-Gamboa FR, Suclupe-Campos DO, Vega-Fernández JA, Silva-Díaz H. Diversidad genómica en SARS-CoV-2: Mutaciones y variantes. *Rev Cuerpo Med HNAAA*. 2021 Dec 31;14(4):572–82.

46. Padilla-Rojas C, Jimenez-Vasquez V, Hurtado V, Mestanza O, Molina IS, Barcena L, et al. Genomic analysis reveals a rapid spread and predominance of lambda (C.37) SARS-COV-2 lineage in Peru despite circulation of variants of concern. *Journal of Medical Virology*. 2021 Dec;93(12):6845–9.

47. Romero PE, Dávila-Barclay A, Salvatierra G, González L, Cuicapuza D, Solís L, et al. The Emergence of Sars-CoV-2 Variant Lambda (C.37) in South America. Mostafa HH, editor. *Microbiol Spectr*. 2021 Oct 31;9(2):e00789-21.

48. Liu S, Huynh T, Stauf CB, Wang TT, Luan B. Structure–Function Analysis of Resistance to Bamlanivimab by SARS-CoV-2 Variants Kappa, Delta, and Lambda. *J Chem Inf Model*. 2021 Oct 25;61(10):5133–40.

49. Henry BM, De Oliveira MHS, De Oliveira TB, Notarte KI, Lippi G. Symptomatology associated with the diffusion of the SARS-CoV-2 Lambda variant in Peru: An infodemiologic analysis [Internet]. 2021 [cited 2025 Apr 7]. Available from: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.08.24.21262245>

50. Shi G, Li T, Lai KK, Johnson RF, Yewdell JW, Compton AA. Omicron Spike confers enhanced infectivity and interferon resistance to SARS-CoV-2 in human nasal tissue. *Nat Commun*. 2024 Jan 30;15(1):889.

51. Li C, Huang J, Yu Y, Wan Z, Chiu MC, Liu X, et al. Human airway and nasal organoids reveal escalating replicative fitness of SARS-CoV-2 emerging variants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023 Apr 25;120(17):e2300376120.

52. Thakur V, Bhola S, Thakur P, Patel SKS, Kulshrestha S, Ratho RK, et al. Waves and variants of SARS-CoV-2: understanding the causes and effect of the COVID-19 catastrophe. *Infection*. 2022 Apr;50(2):309–25.

53. Santos PRD, Santos URD, De Santana ÍTS, Fehlberg HF, Ferreira FB, Albuquerque GR, et al. Influence of SARS-CoV-2 variants on COVID-19 epidemiological and clinical profiles: a comparative analysis of two waves of cases [Internet]. In Review; 2024 [cited 2025 Sep 27]. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-4993578/v1>

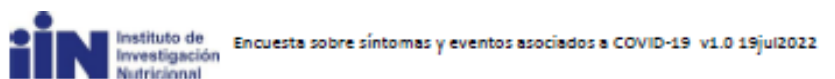
54. Behboudi E, Nooreddin Faraji S, Daryabor G, Mohammad Ali Hashemi S, Asadi M, Edalat F, et al. SARS-CoV-2 mechanisms of cell tropism in various organs considering host factors. *Heliyon*. 2024 Feb;10(4):e26577.

55. Stolp B, Stern M, Ambiel I, Hofmann K, Morath K, Gallucci L, et al. SARS-CoV-2 variants of concern display enhanced intrinsic pathogenic properties

- and expanded organ tropism in mouse models. *Cell Reports*. 2022 Feb;38(7):110387.
56. Terrier O, Si-Tahar M, Ducatez M, Chevalier C, Pizzorno A, Le Goffic R, et al. Influenza viruses and coronaviruses: Knowns, unknowns, and common research challenges. Lakdawala S, editor. *PLoS Pathog*. 2021 Dec 30;17(12):e1010106.
 57. Cao Y, Wang J, Jian F, Xiao T, Song W, Yisimayi A, et al. Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature*. 2022 Feb 24;602(7898):657–63.
 58. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Jul;19(7):409–24.
 59. Peterson JF, Roden DM, Orlando LA, Ramirez AH, Mensah GA, Williams MS. Building evidence and measuring clinical outcomes for genomic medicine. *The Lancet*. 2019 Aug;394(10198):604–10.
 60. Landstrom AP, Ferguson JF, James CA, Key KV, Lanfear D, Natarajan P, et al. Genetic and Genomic Testing in Cardiovascular Disease: A Policy Statement From the American Heart Association. *Circulation* [Internet]. 2025 Dec 16 [cited 2026 Jan 26];152(24). Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000001385>
 61. Ziegler A, Koval-Burt C, Kay DM, Suchy SF, Begtrup A, Langley KG, et al. Expanded Newborn Screening Using Genome Sequencing for Early Actionable Conditions. *JAMA*. 2025 Jan 21;333(3):232.

XI. ANEXO

ANEXO 1: Encuesta de síntomas aplicada en el estudio madre



ENCUESTA SOBRE SÍNTOMAS Y EVENTOS ASOCIADOS A COVID-19

Identificación del participante:

Código de muestra	
Iniciales	
Tipo de Participante: (1=Personal IIN, 2 = participante de ensayo clínico)	

Llenar por encuestador

Fecha de llenado de Formato: ____/____/2022 (dd/mm/aaaa)
Iniciales/Código de trabajador de campo: ____/____



*Completar solo si es Personal del IIN. Antes del episodio de COVID, ¿ya tenía alguna condición crónica de importancia? (Por ejemplo: asma, hipertensión, diabetes, obesidad, tos crónica, TBC, enfermedades pulmonares, enfermedades neurológicas, enfermedades cardíacas, ansiedad, depresión, enfermedades gastro-intestinales) ¿Cuál?		CIE/cód. (posterior a la encuesta)
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
¿Ud. es o ha sido fumador? 0=No, 1=Sí actual, 2=antecedente		cigarrillos por día
Cuando tuvo COVID y le tomamos esta muestra: (fecha de muestra por cómputo):		
Cómo describiría que fueron sus síntomas en esa ocasión: No tuvo síntomas (0) Tuve síntomas leves (no interfirieron con sus actividades diarias) (1) Tuve síntomas moderados (interfirieron con sus actividades diarias) (2) Tuve síntomas severos (requirió oxígeno, hospitalización, otras terapias) (3) Crítica (requirió ventilación mecánica) (4)		
Tuvo algún síntoma (¿Cuál?)	0=No, 1=Sí	Duración aprox.
Fiebre ($\geq 37,8^{\circ}C$)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Fiebre subjetiva (sensación de fiebre)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Escalofríos		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor muscular (mialgia)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor articular (artralgia)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Fatiga (cansancio)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Rinorrea (congestión nasal)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor de garganta		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Tos SECA (nueva aparición o empeoramiento de la tos crónica)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Tos PRODUCTIVA (nueva aparición o empeoramiento de la tos crónica)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dificultad para respirar (sensación de falta de aire)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Sibilancias		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Náuseas o vómitos		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor de cabeza		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor abdominal		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Diarrea (> 3 deposiciones sueltas / más sueltas de lo normal / 24 horas)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Alteración o pérdida del olfato		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Alteración o pérdida del gusto		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Pérdida de apetito		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Convulsiones		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Tuvo algún síntoma q (¿Cuál?)	0=No, 1=Sí	Duración aprox.





Alteración conciencia		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Cambio de estado de ánimo (tristeza, depresión, ansiedad, tensión, molesto)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Fatiga		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Desorden del sueño (insomnio, hipersomnia, sueño de mala calidad)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Pesadillas		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
alteración de peso (pérdida o aumento)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Dolor de pecho		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
disonía		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Palpitaciones		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Pérdida de concentración o memoria		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
confusión		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Mareos		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Temblores		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Hormigueo		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Entumecimiento		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
caída de cabello		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Rash cutáneo		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
sequedad de piel		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
hiperhidrosis		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Disfagia		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Constipación (estreñimiento)		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Síntomas urinarios (p. ejemplo incontinencia urinaria):		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Alteraciones de menstruación		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Conjuntivitis		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Visión borrosa		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Ojo seco		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Fotofobia		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Otros:		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Otros:		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Otros:		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
Otros:		☐ días ☐ semanas ☐ meses ☐ continúa
De todos los síntomas que tuvo cual fue el más severo durante el episodio:		
Después de haber tenido COVID-19 ¿apareció alguna nueva enfermedad? (2 semanas después de haber tenido COVID-19) ¿Cuál?	0=No, 1=Si	
Dolor musculoesquelético: Trastornos musculares, dolor articular(artralgia) dolor muscular (mialgia) Cardiovascular: hipertensión, infarto, Accidente cerebrovascular (derrame) Evento tromboembólico, Trombosis, Arritmias, miocarditis, miocardiopatías, insuficiencia cardíaca Pulmonar. Hemolítico y vascular Renal: hemorragia, problemas de coagulación, Endocrinológico: Diabetes tipo 1 / Diabetes tipo 2 /Hipotiroidismo...otros Gastro intestinal y esofágicos: Neurológico Salud mental: Ansiedad, depresión, otras enfermedades mentales, trastornos del sueño (insomnio, hipersomnia) Trastornos del olfato y el gusto Afecciones neurológicas		





Cáncer		
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
Después de haber tenido COVID-19 ¿empeoró alguna enfermedad existente? ¿Cuál?	0=No, 1=Si	
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
¿Cuántas veces ha tenido COVID-19?		
Comentarios		



ANEXO 2: Número de genomas por variante

Variante	n (%)
Omicron	153 (54.8%)
Lambda	88 (31.5%)
Delta	18 (6.5%)
Gamma	15 (5.4%)
Otros	
20A	1 (0.4%)
Alfa	1 (0.4%)
Mu	3 (1.1%)

ANEXO 3: Cobertura de las secuencias evaluadas

Métrica de cobertura (n = 279)	Valor
Cobertura promedio (x)	0.83
Mediana (IQR)	0.89 (0.78–0.94)
Cobertura mínima	0.04
Cobertura máxima	0.97

ANEXO 4: Frecuencia de mutaciones detectadas en el gen S

Mutación	n (%)
D614G	232 (4.13%)
H69-	145 (2.58%)
V70-	145 (2.58%)
N501Y	136 (2.42%)
T478K	133 (2.37%)
T95I	132 (2.35%)
Y144-	121 (2.16%)
A67V	118 (2.1%)
S373P	118 (2.1%)
S375F	118 (2.1%)
V143-	117 (2.09%)
K417N	117 (2.09%)
S477N	117 (2.09%)
E484A	117 (2.09%)
Q498R	117 (2.09%)
Y505H	117 (2.09%)
P681H	115 (2.05%)
G339D	114 (2.03%)
N679K	113 (2.01%)
N440K	111 (1.98%)
N969K	109 (1.94%)
D796Y	108 (1.92%)
N764K	107 (1.91%)
Q954H	107 (1.91%)
S371L	104 (1.85%)
G446S	104 (1.85%)
Q493R	104 (1.85%)
G496S	102 (1.82%)
T547K	102 (1.82%)
G142-	101 (1.8%)
Y145D	100 (1.78%)
L981F	97 (1.73%)
N856K	87 (1.55%)
T76I	80 (1.43%)
G75V	77 (1.37%)
N211-	77 (1.37%)
L212I	77 (1.37%)
214	75 (1.34%)
F490S	74 (1.32%)
S247-	70 (1.25%)
R246-	69 (1.23%)

Y248-	69 (1.23%)
L249-	69 (1.23%)
T250-	69 (1.23%)
P251-	69 (1.23%)
G252-	69 (1.23%)
D253N	68 (1.21%)
T859N	68 (1.21%)
L452Q	66 (1.18%)
G142D	31 (0.55%)
L452R	26 (0.46%)
E484K	18 (0.32%)
I68-	17 (0.3%)
T19R	16 (0.29%)
A67-	16 (0.29%)
Y145-	16 (0.29%)
146-1274	16 (0.29%)
D138Y	15 (0.27%)
E156-	15 (0.27%)
F157-	15 (0.27%)
R158G	15 (0.27%)
P681R	15 (0.27%)
R190S	14 (0.25%)
S371F	14 (0.25%)
T376A	14 (0.25%)
D405N	14 (0.25%)
R408S	14 (0.25%)
K417T	14 (0.25%)
D950N	14 (0.25%)
71-1274	12 (0.21%)
R346K	12 (0.21%)
T1027I	12 (0.21%)
H66-	11 (0.21%)
Q675H	10 (0.18%)
F486V	9 (0.16%)
V213G	8 (0.14%)
I714V	7 (0.12%)
L18F	5 (0.09%)
W64-	5 (0.09%)
F65-	5 (0.09%)
S71-	5 (0.09%)
G72-	5 (0.09%)
T73-	5 (0.09%)
N74-	5 (0.09%)
G75-	5 (0.09%)

R246G	5 (0.09%)
N460K	5 (0.09%)
V1176F	5 (0.09%)
T63-	4 (0.07%)
V83A	4 (0.07%)
T284I	4 (0.07%)
G339H	4 (0.07%)
L368I	4 (0.07%)
V445P	4 (0.07%)
F486S	4 (0.07%)
K1073N	4 (0.07%)
K1205R	4 (0.07%)
T20N	3 (0.05%)
H146Q	3 (0.05%)
A222V	3 (0.05%)
D253G	3 (0.05%)
N121D	2 (0.04%)
143	2 (0.04%)
Y144S	2 (0.04%)
Q183E	2 (0.04%)
210	2 (0.04%)
N211R	2 (0.04%)
L212R	2 (0.04%)
V213A	2 (0.04%)
V213E	2 (0.04%)
214	2 (0.04%)
215-1274	2 (0.04%)
D1260Y	2 (0.04%)
V3G	1 (0.02%)
T76-	1 (0.02%)
77-1274	1 (0.02%)
V120L	1 (0.02%)
Y145N	1 (0.02%)
M153I	1 (0.02%)
D215H	1 (0.02%)
Y248N	1 (0.02%)
D253-	1 (0.02%)
254-1274	1 (0.02%)
P330L	1 (0.02%)
V367F	1 (0.02%)
K444N	1 (0.02%)
Y449N	1 (0.02%)
V483A	1 (0.02%)
V551I	1 (0.02%)

A570D	1 (0.02%)
E583D	1 (0.02%)
Q613H	1 (0.02%)
Q675R	1 (0.02%)
A684V	1 (0.02%)
A688V	1 (0.02%)
A701V	1 (0.02%)
T716I	1 (0.02%)
M731L	1 (0.02%)
T791P	1 (0.02%)
S810L	1 (0.02%)
D830Y	1 (0.02%)
D843N	1 (0.02%)
I844V	1 (0.02%)
G910-	1 (0.02%)
911-1274	1 (0.02%)
S982A	1 (0.02%)
A1020S	1 (0.02%)
D1118H	1 (0.02%)
T1136S	1 (0.02%)
E1144Q	1 (0.02%)
D1153Y	1 (0.02%)
Q1201K	1 (0.02%)
L1203F	1 (0.02%)
V1228L	1 (0.02%)
M1229I	1 (0.02%)
C1250F	1 (0.02%)