

59

Fecha de presentación: julio, 2021
Fecha de aceptación: septiembre, 2021
Fecha de publicación: octubre, 2021

EVOLUCIÓN GENÉTICA

DE LOS CORONAVIRUS, DESAFÍOS PARA LA SALUD PÚBLICA

GENETIC EVOLUTION OF CORONAVIRUSES, CHALLENGES FOR PUBLIC

Raúl González Salas¹

E-mail: rauljoelis68@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1623-3709>

Mildre Mercedes Vidal del Río¹

E-mail: mriovidal69@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3496-5057>

Iván Pimienta Concepción¹

E-mail: dr.ivan.pimienta@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7623-7499>

Aldemar Alejandro Monsalve Guamán¹

E-mail: aldomonsag@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9517-3489>

¹ Universidad Regional Autónoma de Los Andes. Ecuador.

Cita sugerida (APA, séptima edición)

González Salas, R., Vidal del Río, M. M., Pimienta Concepción, I., & Monsalve Guamán, A. A. (2021). Evolución genética de los coronavirus, desafíos para la salud pública. *Revista Universidad y Sociedad*, 13(S2), 494-500.

RESUMEN

Los coronavirus humanos se conocen desde la década de 1960, considerados virus endémicos potencialmente inofensivos con distribución estacional antes de finales de 2002. Los CoV se encuentran en una gran cantidad de animales salvajes y domésticos. La primera pandemia causada por el coronavirus causado por el SARS-CoV se reconoció a fines de 2002 en la provincia de Guangdong y resultó en una morbilidad y mortalidad generalizadas. A esto le siguió MERS-CoV, que comenzó en 2012 en la península arábiga con múltiples brotes relacionados con ella en varias partes del mundo. Varios estudios han sugerido el mecanismo por el cual estos virus ingresaron desde sus reservorios naturales a través de huéspedes intermedios como civetas y camellos en el caso de SARS-CoV y MERS-CoV respectivamente. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión de los conocimientos más novedosos acerca del origen y la evolución de los principales coronavirus patógenos y se destaca la diversidad y el potencial de propagación de estos microorganismos, transmitidos por diversos hospederos intermediarios.

Palabras clave: Evolución viral, Coronavirus, huésped intermedio.

ABSTRACT

Human coronaviruses have been known since the 1960s, considered potentially harmless endemic viruses with seasonal distribution before the end of 2002. CoVs are found in a large number of wild and domestic animals. The first pandemic caused by the SARS-CoV coronavirus was recognized in late 2002 in Guangdong Province and resulted in widespread morbidity and mortality. This was followed by MERS-CoV, which began in 2012 on the Arabian Peninsula with multiple outbreaks related to it in various parts of the world. Several studies have suggested the mechanism by which these viruses entered from their natural reservoirs through intermediate hosts such as civets and camels in the case of SARS-CoV and MERS-CoV respectively. The objective of this work was to carry out a review of the newest knowledge about the origin and evolution of the main pathogenic coronaviruses, highlighting the diversity and the potential for the spread of these microorganisms, transmitted by various intermediate hosts.

Keywords: Viral evolution, Coronavirus, intermediate host.

INTRODUCCIÓN

Los coronavirus causan infecciones respiratorias e intestinales en animales y humanos, considerándose altamente patógenos para los seres humanos a partir del brote del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS) en 2002 y 2003 en la provincia de Guangdong, China (Liu et al., 2020), (Kim et al., 2020) ya que los coronavirus que circulaban antes de ese momento en los seres humanos causaron principalmente Infecciones leves en personas inmunocompetentes. Diez años después del SARS, otro coronavirus altamente patógeno, el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) surgió en los países de Oriente Medio (Krammer, 2020).

Existen diversas teorías sobre la evolución de los virus, debatiéndose por la comunidad científica el rol de los animales silvestres y domésticos en su presentación, en momentos donde el mundo entero está afectado a causa de la pandemia por COVID-19 que sigue similar camino del SARS y el MERS, y parece ser más grave. Además de los humanos, se informa que varias especies de animales han sido infectadas con estos virus potencialmente mortales. Las posibles vías de transmisión y sus potencialidades zoonóticas son objeto de intensa investigación (Amanat & Krammer, 2020).

El brote de neumonía viral en Wuhan está asociado con un historial de exposición al reservorio del virus en el mercado mayorista de mariscos de Huanan, lo que sugiere una posible zoonosis. El mercado de mariscos también vendía animales vivos como serpientes, pájaros, marmotas, erizos y ranas (Amanat & Krammer, 2020). Actualmente, no hay evidencia que sugiera un hospedador de vida silvestre específico como reservorio de virus.

Los estudios de sesgo de uso de codones sinónimos relativos (RSCU) entre virus y sus anfitriones sugieren que los virus tienden a desarrollar un sesgo de uso de codones que es comparable a sus anfitriones. Los estudios realizados sugieren que COVID-19 tiene la información genética más similar con el coronavirus de murciélago y tiene el sesgo de uso de codones más similar con la serpiente (Wu et al., 2020).

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de los conocimientos más novedosos acerca del origen y la evolución de los principales coronavirus patógenos y se destaca la diversidad y el potencial de propagación de estos microorganismos, transmitidos por diversos hospederos intermediarios.

DESARROLLO

Se realizó una revisión de artículos publicados en inglés y español en revistas indexadas en Elsevier, Springer,

Pubmed y Scimago que aportaron el conocimiento obtenido referente a los principales coronavirus patógenos, su origen y evolución en la pandemia por COVID – 19. El periodo analizado consta de enero 2005 a septiembre 2020. Se usaron los términos: Coronavirus, zoonosis emergentes, barrera de especie, pandemia, SARS-CoV-2, hospedero intermediario, mamíferos, patógeno animal, exposición humana, evolución viral.

Las enfermedades virales de reciente aparición son amenazas importantes para la salud pública, en particular, los virus de los huéspedes silvestres, los cuales han causado enfermedades emergentes de alto impacto como el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS), la fiebre del Ébola y la influenza en humanos. La aparición de estas y muchas otras enfermedades humanas estuvieron relacionadas con el comportamiento de un virus animal establecido, el cual cambió de hospedador a humanos y posteriormente se transmitió dentro de las poblaciones humanas, mientras que las transferencias de hospedadores en varias especies animales condujeron a la aparición análoga de enfermedades epizooticas.

La importancia del cambio de hospedador viral es subrayada por las recientes epizootias aviarias, caracterizada por cepas de alta patogenicidad de la influenza A H5N1, en las que se han documentado cientos de casos y muertes humanas indirectas. Los datos epidemiológicos sugieren que el costo de las poblaciones humanas sería enorme si el virus H5N1 adquiriera una transmisibilidad eficiente de persona a persona mientras conservaba una alta patogenicidad humana (Hu et al., 2021).

Una célula infectada libera millones de nuevos coronavirus, todos son copias creadas a partir del ARN genómico original. Cuando la célula infectada copia el genoma viral suele cometer errores que generalmente consisten en una sola letra equivocada. Estos errores son llamados mutaciones o variantes (cuando se producen en una sola letra se las denomina mutaciones de nucleótido único).

A medida que los coronavirus se transmiten de persona a persona y se produce el sucesivo copiado, acumulan mutaciones al azar. Estas mutaciones son las que utilizan los investigadores para rastrear la propagación del virus por el mundo. Las nuevas mutaciones se acumulan en los virus a un ritmo más o menos regular, por lo que a partir de la tasa de mutación viral se pudo inferir que el origen del brote fue anterior a diciembre de 2019.

Un genoma secuenciado a continuación, proveniente de otro de los primeros pacientes de Wuhan, era idéntico al primer caso, excepto por una mutación. En la posición 186 del ARN viral se encontraba una U en lugar de una C.

Esta misma mutación se encontró en una muestra recolectada casi dos meses después en la región de China denominada Guangzhou. Este hecho nos da una idea que la muestra de Guangzhou sería descendiente directa de la primera muestra de Wuhan o que tanto la muestra de Wuhan como la de Guangzhou compartían un ancestro común. También podría ser el caso de que en ambos genomas hubiera ocurrido azarosamente la misma mutación de novo, un fenómeno conocido como homoplasia. Sin embargo, la acumulación de las mismas mutaciones de novo en dos aislamientos virales separados temporal y geográficamente es un fenómeno poco probable, por lo que dos muestras que han adquirido las mismas variantes con respecto al genoma de referencia probablemente se encuentren emparentadas.

El coronavirus del SARS (SARS-CoV) utiliza la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor e infecta principalmente las células epiteliales bronquiales ciliadas y los neumocitos mientras que el MERS-CoV utiliza la dipeptidilpeptidasa 4 (DPP4); también conocida como CD26 (Chen et al., 2020). El SARS-CoV y el MERS-CoV se transmitieron directamente a los humanos a partir de civetas comerciales y dromedarios, respectivamente y se cree que ambos virus se originaron en murciélagos (Andersen et al., 2020).

Según Paretó (Peretó, 2020) La transferencia horizontal de genes y genomas forma parte de la naturaleza de las cosas y del canon contemporáneo de la biología evolutiva, aspecto que se evidencia desde la segunda mitad de siglo pasado, es una manifestación a su vez de la naturalidad en la transferencia vertical de información genética, con el intercambio de información entre linajes (Arias et al., 2021), (Cornelio et al., 2019). A veces, esto pasa entre organismos muy alejados evolutivamente, como en el origen de las células complejas con núcleo, o eucariontes, cuando una bacteria y una arquea unieron sus destinos y generaron una diversidad de seres complejos que incluyen, entre otros muchos, los hongos, las plantas y los animales (Leyva-Vázquez et al., 2020).

Un papel crucial en la evolución han tenido los virus, como atestiguan las improntas que han dejado incrustadas en los genomas celulares, muestra de esta afirmación es que el genoma humano contiene tres veces más de secuencias de origen vírico que de genes humanos. Otro aspecto significativo de estos microorganismos ha sido su papel como causantes de enfermedades en humanos, plantas y los animales domesticados, destacándose en todos los casos su extraordinaria capacidad de mutar a gran velocidad, a veces moviéndose al filo de su extinción.

Otra propiedad inherente a los virus es que pueden *aprender* a saltar de una especie a otra, para que ocurra este proceso el virus acumula mutaciones que le permiten reconocer las células de otra especie, a su vez el salto es viable cuando existe contacto físico entre individuos de las diferentes especies. En el caso de los humanos, se habla de zoonosis cuando se produce el salto desde una especie animal al hombre, lo que da lugar a la emergencia y aparición de nuevas enfermedades, adquiriendo proporciones epidémicas si el virus también consigue una buena transmisión entre humanos.

Aún no está claro su origen, pero los estudios filogenéticos revisados hasta la fecha de este informe apuntan a que muy probablemente el virus provenga de murciélagos y que de allí haya pasado al ser humano a través de mutaciones o recombinaciones sufridas en un hospedador intermediario, probablemente algún animal vivo del mercado de Wuhan (donde aparte de marisco se vendían otros animales vivos).

Los virus causantes de los primeros casos asociados al mercado de Wuhan, se aislaron en cultivos de células del tracto respiratorio humano. Una vez observado el efecto citopático, los virus cultivados fueron purificados hasta obtener su secuencia genómica. La secuencia obtenida coincidía con la que se obtuvo directamente de las muestras respiratorias de varios pacientes en estudio.

En total, se pudo obtener la secuencia de ARN completa de 8 muestras correspondientes a 8 pacientes infectados por este agente. Una vez realizada la caracterización genómica y su secuenciación, se observó una alta homología con virus del género Betacoronavirus, concretamente un 88% de identidad con un virus SARS-like detectado en murciélagos, un 79% de identidad con el SARS-CoV y un 50% de identidad con el MERS-CoV.

Se realizó una RT-PCR genérica ya empleada para detectar la región RdRp (gen RdRp de la ARN polimerasa dependiente de ARN) presente en cualquiera de los miembros de la familia de los coronavirus siendo esta positiva y demostrando la pertenencia de este nuevo virus al género Betacoronavirus. Aun siendo este nuevo agente aislado similar a otros betacoronavirus detectados en murciélagos, es diferente del SARS-CoV y del MERS-CoV, y conforma un nuevo linaje del subgénero Sarbecovirus dentro del género Betacoronavirus. Donde más diferencias se han observado entre las especies de coronavirus detectados de murciélagos cuya secuencia es conocida y la secuencia del nuevo 2019-nCoV es en el gen S que codifica la glicoproteína de la envoltura, responsable del tropismo celular.

El SARS-CoV-2, como todos los virus corona, tiene un genoma de ARN monocatenario con polaridad positiva. El genoma, que es relativamente grande para un virus de ARN, comprende 29844 nucleótidos con dos regiones no traducidas de 265 nt y 229 nt de longitud en los extremos 5' y 3'. El genoma contiene ORF (marcos de lectura abiertos) para varias proteínas putativas. El ARN viral tiene una estructura de 5'cap y una cola 3'poliadenilado. El ARN genómico viral se acepta directamente en el ribosoma como plantilla y traduce la poliproteína pp1a y pp1b, que procesa en 16 proteínas no estructurales y pertenece al complejo de replicación y transcripción (RTC) del ARN viral y el ARN mensajero para las proteínas no estructurales.

Al igual que otros virus corona, el SARS-CoV-2 tiene cuatro proteínas estructurales conocidas como S (espiga), E (envoltura), M (membrana) y N (nucleocápside). La proteína N protege y contiene el genoma de ARN y las proteínas S, E y M forman la envoltura del virus con la membrana bicapa. La proteína S es responsable de la unión a la membrana celular de la célula huésped. Aclarar qué factores celulares utiliza el SARS-CoV-2 para ingresar podría proporcionar información sobre la transmisión del virus y revelar objetivos terapéuticos. El SARS-CoV-2 produce al menos tres factores de virulencia. Estos son responsables del hecho de que los nuevos viriones se diseminan desde las células huésped y al mismo tiempo se inhibe la respuesta inmune del cuerpo.

Los coronavirus (CoV) evolucionan mediante recombinación y mutaciones puntuales, tal como se observa en el gran genoma del ARN viral junto con la baja fidelidad de RdRp (nsp12) permite la aparición de mutaciones espontáneas durante la replicación del virus, aunque a tasas más bajas que otros ARN virus (Barnes et al., 2020), porque los CoV tienen un mecanismo de corrección de pruebas que parece causar la tasa de sustitución más baja en comparación con otros virus similares.

La tasa de mutación de CoV es variable, se ha estimado que las tasas de mutación del virus de la hepatitis murina (MHV) y el IBV son $0,44-2,77 \times 10^{-2}$ y $0,67-1,33 \times 10^{-5}$ por sitio por año, respectivamente, mientras que la tasa de evolución del SARS-CoV-2 se estimó en $\sim 9 \times 10^{-4}$ sustitución por sitio por año. Además, la tasa de mutación de los CoV puede aumentarse más de cinco veces bajo presión inmunitaria (por ejemplo, vacunación) o tras la transmisión entre especies (Gouilh et al., 2018).

Es importante destacar que los CoV están sujetos a eventos de recombinación de alta frecuencia con tasas de alrededor del 20% durante la infección mixta de células con virus estrechamente relacionados. Tal recombinación en *mosaico* fue responsable de la evolución natural de

nuevos virus como se informa en el SARS-CoV y MERS-CoV además de otros CoV. In vitro, se ha descrito con frecuencia la generación de coronavirus quiméricos con alta eficacia de replicación en células humanas. Estos hallazgos confirman la posibilidad de recombinación natural en la aparición de patógenos potenciales para los seres humanos. Por lo tanto, la recombinación del genoma del virus es una vía importante para la evolución de CoV con una capacidad de transmisión entre especies o intraespecies eficiente o una mayor virulencia.

Las 16 proteínas no estructurales de los virus corona tienen una amplia gama de tareas. Además de la formación de las vesículas de doble membrana y el complejo de replicación y transcripción (ARN polimerasa dependiente de ARN, ARN helicasa), también hay varias ribonucleasas, proteasas y componentes de proteínas que bloquean activamente las funciones de la célula huésped y el sistema inmune.

El SARS-CoV-2 se identificó como una nueva cepa de coronavirus beta 2 del grupo 2B. Tiene una similitud genética del 70 % con el SARS-CoV de la epidemia en 2002/2003. La similitud genética del SARS-CoV-2 con un coronavirus de murciélago es del 96 %. Por lo tanto, se sospecha que el virus de COVID-19 también proviene de murciélagos.

Los murciélagos son un problema que puede tener consecuencias de largo alcance. Los murciélagos pueden transportar una amplia gama de virus zoonóticos, que tienen las tasas de mortalidad más altas en humanos. Estos incluyen SARS, MERS, rabia, ébola y aparentemente también SARS-CoV-2.

El sistema inmunitario de los murciélagos es muy activo y, cuando se infecta con un virus, reacciona inmediatamente con la liberación de interferón. Esto a su vez hace que las células vecinas entren en un estado antiviral. Los virus tienen que adaptarse a esta situación y esto lleva a una imagen de infección en la que muchas células no mueren debido a la infección, sino que cambian a un estado persistente. Las células segregan los virus activos en un grado manejable, pero sobreviven en el proceso. Si estos virus entran en contacto con otros organismos cuyo sistema inmunitario reacciona de manera menos agresiva, estos virus tienen una clara ventaja de selección.

En cualquier edad se puede desarrollar una insuficiencia respiratoria severa, la mortalidad se relaciona con la edad con la mayor mortalidad 14-20% en ≥ 80 años, menos niños tienden a sufrir enfermedades graves (5,2%) o enfermedades críticas (0,2%).

Hasta marzo de 2020, no se reportaron muertes directamente por COVID en niños <9 años, sin embargo, ahora

hay informes emergentes de muertes de niños, en los medios de comunicación, la tasa de letalidad es aproximadamente del 50% en casos críticos. La presencia de enfermedad coexistente es más común en pacientes con enfermedad grave, que incluye: Enfermedad cardiovascular, diabetes, enfermedad respiratoria crónica, hipertensión y cáncer.

En Italia, de los que fallecieron, el 0,8% no tenía enfermedad asociada, el 25,1% tenía una sola enfermedad, el 25,6% tenía dos enfermedades, el 48,5% tenía tres o más enfermedades, la población pediátrica desarrolla formas muy leves con riesgo muy bajo de fallecer; hasta el 14 de abril de 2020, solo se ha informado de un pequeño número de muertes pediátricas en todo el mundo en asociación con la infección por SARS-CoV-2.

Las tasas de transmisión vertical parecen bajas (como con el SARS-CoV). La infección por SARS-CoV-2 no parece estar asociada con una mayor tasa de resultados adversos maternos, a diferencia de la pandemia de gripe H1N1 en la que las embarazadas estaban sobre-representadas en la mortalidad. Existe poca evidencia directa sobre el impacto de la infección por COVID-19 en pacientes inmunocomprometidos.

Se han realizado investigaciones conducentes a explorar la zoonosis asociada al SARS-CoV-2 y los mecanismos que explican su transmisión inicial de animales a humanos, estudios que permitirán conocer con eficacia las vías de propagación de este virus, así como diseñar y desarrollar estrategias de prevención y control adecuadas para contrarrestar el COVID-19.

La comunidad científica internacional se ha dado a la tarea de unir esfuerzos para desarrollar vacunas contra la infección por coronavirus humano en las últimas décadas. Un factor que se toma en cuenta es el limitado grado de protección cruzada proporcionado por tales vacunas, debido a la amplia diversidad de variantes antigénicas, incluso dentro de las cepas de un subgrupo filogenético. En cuanto a los coronavirus MERS y SARS, hasta ahora no existe ningún tratamiento o vacuna antiviral específica con licencia disponible, sin embargo, los avances obtenidos hasta el momento en el desarrollo de vacunas y terapias para el SARS-CoV y el MERS-CoV podrían aprovecharse para contrarrestar el 2019-nCoV.

Otra estrategia que se vislumbra como perspectiva terapéutica a largo plazo son los procesos de recombinación, los cuales podrían ser objetivos factibles para desarrollar nuevos antivirales, tal como expresan las investigaciones realizadas por Jensen y Lynch (Jensen & Lynch, 2020), quienes destacaron el papel de la *fusión mutacional*

como estrategia para restringir la expansión de COVID-19 en poblaciones humanas.

La fusión mutacional es un proceso genético de poblaciones bien conocido que explica el proceso a través del cual una población puede extinguirse debido a la acumulación de mutaciones deletéreas, esto ocurre debido a un aumento suficientemente grande de la tasa de mutación que puede conducir a una espiral de disminución de la aptitud que eventualmente provoque la extinción de la población.

Los virólogos se refieren a ese proceso como *mutagénesis letal* en el contexto del aumento inducido por fármacos en la tasa de mutación viral. Basado en ese concepto, el desarrollo de terapias farmacológicas para inducir errores durante la replicación del virus, ya sea reduciendo su fidelidad a la ARN polimerasa o usando análogos de bases, puede convertirse en una estrategia prometedora para combatir virus (como el SARS-CoV-2).

Hasta la fecha, no se conoce ningún fármaco dirigido al proceso de recombinación en coronavirus y su desarrollo no va a ser posible de forma inmediata. Sin embargo, los estudios coinciden en que la tasa de recombinación en los virus de ARN está determinada por una variedad de factores del huésped que afectan el metabolismo del ARN, el silenciamiento del ARN y la estructura de los compartimentos donde se replican los virus. Esta evidencia sugiere que los procesos de recombinación podrían ser objetivos factibles para desarrollar nuevos antivirales.

La recombinación también puede afectar la propagación de virus en las poblaciones humanas a través del efecto de coinfecciones, como bien saben los epidemiólogos y a su vez documentado para el SARS-CoV-2. Se espera que las coinfecciones por diferentes genotipos aporten como resultado la generación de nuevas variantes adaptativas. Paralelamente, considerando que la mayoría de mutaciones son deletéreas, los principios generales descritos anteriormente también pueden contemplarse desde una perspectiva epidemiológica. Hasta cierto punto, las transmisiones consecutivas entre miembros de la comunidad muestran una mayor carga de mutaciones deletéreas.

La etapa actual que vive la humanidad a causa de la actual pandemia por Covid – 19, donde existe un número considerable de personas fallecidas y cuantiosas pérdidas económicas globales, posiciona a las vacunas de CoV en un estatus altamente deseado y necesario, ya que no existen medicamentos antivirales disponibles contra CoV. Las áreas exploradas para la búsqueda de una vacuna ideal contra el SARS-CoV, incluyen vacunas de virus inactivados, vacunas de virus recombinantes, vacunas de subunidades, vacunas de ADN y vacunas atenuadas.

Aunque las vacunas de ADN funcionan eficientemente durante las etapas preclínicas, su eficacia en condiciones de campo es bastante insatisfactoria y tienen menor inmunogenicidad, en comparación con otras vacunas como las vacunas de virus inactivados y vivos atenuados y necesitan mejoras adicionales con respecto a la eficacia.

CONCLUSIONES

Los coronavirus (CoV) evolucionan mediante recombinación y mutaciones puntuales, un aspecto clave que le confiere su envoltura de ARN, teniendo altas tasas de mutación que, además de crear nuevas cepas, les permiten adaptarse a una amplia gama de huéspedes. Por tanto, basándose en las secuencias del genoma, todos los CoV humanos conocidos han surgido de fuentes animales.

En los próximos años, se espera que ocurran más infecciones entre especies debido a la gran variedad de factores que influyen en la presentación de infecciones zoonóticas, el incremento de la densidad de población, la ecología y la proximidad entre animales y humanos, por lo cual es necesario mantener una estrecha vigilancia de los patógenos emergentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amanat, F., & Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*, *52*(4), 583-589. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761320301205>
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature medicine*, *26*(4), 450-452. https://www.nature.com/articles/s41591-020-0820-9?fbclid=IwAR3QtKR9Z6C5wyVclletOkzHgkgS_H10Sk-y8CDoTINs10NXQo4QQEU1Q
- Arias, E. B. N., Nuñez, B. M. G., Fernández, L. N., & Pupo, J. M. R. (2021). CRISP-DM y K-means neutrosófica en el análisis de factores de riesgo de pérdida de audición en niños. *Revista Asociación Latinoamericana de Ciencias Neutrosóficas*. ISSN 2574-1101(16), 73-81. <http://fs.unm.edu/NCML2/index.php/112/article/download/151/487>
- Barnes, C. O., Jette, C. A., Abernathy, M. E., Dam, K.-M. A., Esswein, S. R., Gristick, H. B., Malyutin, A. G., Sharaf, N. G., Huey-Tubman, K. E., & Lee, Y. E. (2020). SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies. *Nature*, *588*(7839), 682-687. <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2852-1>
- Cornelio, O. M., Ching, I. S., & Gulín, J. (2019). Algoritmo para determinar y eliminar nodos neutrales en Mapa Cognitivo Neutrosófico. *Neutrosophics Computing and Machine Learning*, *23*. <http://fs.unm.edu/NCML2/index.php/112/article/download/57/51>
- Chen, W.-H., Strych, U., Hotez, P. J., & Bottazzi, M. E. (2020). The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview. *Current tropical medicine reports*, *7*(2), 61-64. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40475-020-00201-6?fbclid=IwAR1nw7eZ7fbyE1XGimFqxZMdNXI3oRAQWAO9iJ62H4A2R1K0eEY5aCQnuis>
- Gouilh, M. A., Puechmaille, S. J., Diancourt, L., Vandenberghe, M., Serra-Cobo, J., Roig, M. L., Brown, P., Moutou, F., Caro, V., & Vabret, A. (2018). SARS-CoV related Betacoronavirus and diverse Alphacoronavirus members found in western old-world. *Virology*, *517*, 88-97. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682218300205>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z.-L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, *19*(3), 141-154. <https://www.nature.com/articles/s41579-020-00459-7>
- Jensen, J. D., & Lynch, M. (2020). Considering mutational meltdown as a potential SARS-CoV-2 treatment strategy. *Heredity*, *124*(5), 619-620. <https://www.nature.com/articles/s41437-020-0314-z>
- Kim, D., Lee, J.-Y., Yang, J.-S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H. (2020). The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*, *181*(4), 914-921. e910. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420304062>
- Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*, *586*(7830), 516-527. https://www.nature.com/articles/s41586-020-2798-3?source=content_type%3Areact%7Cfirst_level_url%3Aarticle%7Csection%3Amain_content%7Cbutton%3Abody_link
- Leyva-Vázquez, M., Quiroz-Martínez, M. A., Portilla-Castell, Y., Hechavarría-Hernández, J. R., & González-Caballero, E. (2020). A new model for the selection of information technology project in a neutrosophic environment. *Neutrosophic Sets and Systems*, *32*(1), 344-360. https://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1494&context=nss_journal

Liu, M., Li, Q., Zhou, J., Ai, W., Zheng, X., Zeng, J., Liu, Y., Xiang, X., Guo, R., & Li, X. (2020). Value of swab types and collection time on SARS-COV-2 detection using RT-PCR assay. *Journal of virological methods*, *286*, 113974. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093420302263>

Peretó, J. (2020). La COVID-19 y el lado oscuro de la promiscuidad de la vida. *Mètode: Revista de difusió de la Investigació*, *2*(105), 6-7. <https://metode.es/revistas-metode/opinio-revistas/la-covid-19-y-el-lado-oscuro-de-la-promiscuidad-de-la-vida.html>

Wu, D., Wu, T., Liu, Q., & Yang, Z. (2020). The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *International Journal of Infectious Diseases*, *94*, 44-48. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220301235>