



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS

**Análisis evolutivo del virus sincicial respiratorio de los
tipos A y B.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADO(A) EN:

CIENCIAS GENÓMICAS

PRESENTA:

KARINA TORRES RIVERA

DIRECTOR(A) DE TESIS

Dra. Claudia Selene Zárate Guerra

**POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS**

Ciudad de México, Abril de 2025.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

**Universidad Autónoma de la Ciudad de México
Plantel Del Valle**

Integración de Jurado

Presidente	Dra. Rosa Martha Yocupicio Monroy, Universidad Autónoma de la Ciudad de México
Secretario	Dra. Claudia Selene Zárate Guerra, Universidad Autónoma de la Ciudad de México
Vocal	Dra. Paola Marcela Everardo Martínez, Universidad Autónoma de la Ciudad de México

DIRECTOR(A)

Dra. Claudia Selene Zárate Guerra
Universidad Autónoma de la
Ciudad de México

Índice General

0. Resumen

1. Introducción

1.1 Historia del Virus Respiratorio Sincicial (RSV, por sus siglas en inglés)

1.2 Generalidades moleculares

1.2.1 Estructura de la partícula viral

1.3 Ciclo replicativo

1.4 Respuesta inmunológica

1.5 Epidemiología del RSV

1.5.1 Factores de riesgo asociados a la infección grave por RSV

1.5.2 Clínica de la infección por RSV

2. Antecedentes particulares

2.1 Importancia del RSV

2.2 Estudios filodinámicos y diversidad genética

2.3 Evolución molecular y selección natural

2.3.1 Variabilidad genética en la proteína G

2.3.2 Selección natural en la proteína F

2.3.3 Tasas evolutivas del RSV

2.4 Implicaciones para el desarrollo de vacunas y terapias

2.4.1 Avances de la vacunación contra el RSV

3. Justificación

4. Hipótesis

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

5.2 Objetivos particulares

6. Estrategia Experimental

7. Metodología

7.1 Análisis de datos demográficos

7.2 Obtención y selección de secuencias

7.3 Alineamientos múltiples de secuencias

7.4 Reconstrucción filogenética

7.5 Análisis de ancestría de cepas de RSV

7.6 Análisis de selección natural penetrante en RSV-A y RSV-B

7.7 Análisis de selección natural Episódica en RSV-A y RSV-B

8. Resultados

8.1 Ancestría de cepas de RSV

8.2 Análisis demográficos de RSV

8.3 Reconstrucción filogenética de secuencias de RSV

8.4 Selección penetrante en cepas de RSV

8.4.1 Presión selectiva en RSV-A

8.4.2 Presión selectiva en RSV-B

8.4.3 Implicaciones evolutivas y funcionales de las cepas de RSV

8.4.4 Interpretación de los resultados entre RSV-A y RSV-B

8.5 Selección episódica en cepas de RSV

9. Discusión

10. Conclusión

11. Referencias bibliográficas

12. Anexos

Índice de figuras

- Figura 1:** Esquema del genoma y estructura de la partícula viral RSV.
- Figura 2:** Representación gráfica del ciclo replicativo del virus RSV.
- Figura 3:** La respuesta inmune frente a la infección por RSV.
- Figura 4:** Distribución porcentual de los principales virus respiratorios detectados durante la temporada de influenza estacional 2023-2024 en la República Mexicana.
- Figura 5:** Diagrama esquemático de las estrategias de prevención para la infección por RSV.
- Figura 6:** Enfoques de vacunación contra el RSV y población objetivo.
- Figura 7:** Estrategia de trabajo para llevar a cabo este proyecto “in silico”.
- Figura 8:** Distribución de pacientes positivos para RSV-A por rango de edad y género.
- Figura 9:** Distribución de pacientes positivos para RSV-B por rango de edad y género.
- Figura 10:** Reconstrucción filogenética en RSV-A.
- Figura 11:** Reconstrucción filogenética en RSV-B.
- Figura 12:** Reconstrucción de Estados Ancestrales del Sitio de Muestreo de RSV-A.
- Figura 13:** Reconstrucción de Estados Ancestrales del Sitio de Muestreo de RSV-B.
- Figura 14:** Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-A.
- Figura 15:** Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-B.

Índice de tablas

Tabla 1: Proteínas del RSV

Tabla 2: Síntomas comúnmente asociados a la infección por RSV

Tabla 3: Análisis de selección positiva: sitio por sitio en RSV-A

Tabla 4: Análisis de selección positiva: sitio por sitio en RSV-B

Tabla 5: Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-A

Tabla 6 :Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-A

Abreviaturas

RSV: Respiratory Sincicial Virus (Virus Sincicial Respiratorio)

RNA: Ácido Ribonucleico

TLR4: Receptor tipo Toll 4

RSV-A: Virus Respiratorio Sincicial del tipo A

RSV-B: Virus Respiratorio Sincicial del tipo B

CX3CR1: Receptor para la quimiocina fractalquina

IgA: Inmunoglobulina A

GISAID: Global Initiative on Sharing All Influenza Data. (Iniciativa Global para Compartir Todos los Datos sobre la Influenza)

MAFFT: Multi Alignment using Fast Fourier Transform (Alineamiento Múltiple utilizando la Transformada Rápida de Fourier)

FASTA: no es propiamente un acrónimo, pero se usa como nombre para un formato de secuencias biológicas y también para un algoritmo de alineamiento. Por lo tanto, el formato FASTA se usa para representar secuencias de DNA, RNA o proteínas

NCBI: National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Información Biotecnológica)

PastTML: past- Reconstrucción de eventos pasados, ML- Máxima Verosimilitud (método estadístico que utiliza la inferencia)

FEL: Fixed Effects Likelihood (Probabilidad de Efectos Fijos)

MEME: Mixed Effects Model of Evolution (Modelo de Efectos Mixtos de Evolución)

Dedicatoria

A veces creemos que las metas son como escaleras interminables que debemos subir sin descanso. Pero con el tiempo, entendí que no se trata de correr hasta la cima, sino de valorar cada escalón. Desde pequeña, aprendí a avanzar con mucho miedo, pero también con determinación. En esta etapa de mi vida, he comprendido que es necesario detenerse, respirar y abrazar aquellos momentos en los que, por más que lo intentara, las respuestas no estaban en mis manos.

Hoy, miro atrás y veo todo con una nueva perspectiva. El valor de una persona no se mide en logros acumulados, sino en la capacidad de abrazar su propio proceso.

Abrazo mi vulnerabilidad, porque ha sido parte de mi en cada paso de este camino.

Me despido de esta etapa de la manera más sana posible, con gratitud por la enseñanza y con la certeza de que cada escalón recorrido ha valido la pena.

Agradecimientos

A la **Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM)**, por abrirme sus puertas y convertirse en mi hogar académico, en el lugar donde aprendí y me formé como profesionista. Gracias por darme la oportunidad de descubrir y afianzar mi camino en la ciencia.

A mi directora de tesis, la **Dra. Claudia Selene Zárate Guerra**, por su paciencia infinita, por su guía llena de conocimiento y por la confianza que depositó en mí desde que inicié en el trabajo de investigación, el servicio social y ahora en esta tesis. Seguir en la línea de la bioinformática ha sido un reto y una gran satisfacción, todo ello ha sido posible gracias a su apoyo constante.

A las **Doctoras y Mujeres** que conforman el posgrado en Ciencias Genómicas de la UACM, porque muchas de ustedes han sido mi inspiración y mi motor para seguir adelante en este sueño científico. Su pasión, entrega y fortaleza me han recordado que las mujeres seguimos rompiendo barreras, conquistando la investigación y dejando huella en la ciencia.

A mi equipo de estudio que se convirtió en una familia a lo largo de esta carrera: **Bere, Karen, Katia, Jaime y Javier**. Gracias por las desveladas, las risas, los desahogos, el apoyo incondicional y por hacer de este camino algo más llevadero y significativo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de bioinformática, quienes me regalaron no solo conocimientos, sino también una bonita amistad. **Brenda, Oscar y Laura**, gracias por su compañía en cada paso de este viaje. Y también un profundo agradecimiento a la mancuerna que se formó con otros compañeros del posgrado: **Kevin, Ceci y Angela**. Cada uno de ustedes dejó una huella importante en esta etapa.

A **mis padres**. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en los que yo dudaba. Por esas noches de desvelo en las que me vieron estudiar, por las palabras de aliento en los días difíciles y por acompañarme en cada logro, por pequeño que fuera. Nada de esto habría sido posible sin ustedes

A mi mejor amiga, **Paulina**, porque solo nosotras sabemos las batallas que enfrentamos juntas. Gracias por ser esa persona que, sin importar la tormenta, siempre estuvo ahí para recordarme que podía seguir adelante.

A **César**, mi compañero de vida, porque en los momentos en los que todo parecía complicado, siempre encontró una manera de ayudarme, ya fuera con su internet, su casa o su apoyo incondicional para que yo pudiera seguir avanzando. Gracias por ser mi refugio y mi impulso.

A mi **bebé**, que aún habita en mí, me ha dado la mayor fuerza y motivación que no puedo expresarlo en palabras. Gracias por hacer que mamá siga de pie.

A **Micha**, mi compañera felina que me recordó la importancia de no sentirme sola en el proceso.

Y finalmente, en memoria de mi tía **Gabriela**, porque este logro es también tuyo. Te extraño cada día, y sé que donde quiera que estés, estarás sonriendo con orgullo.

0. Resumen

El virus sincicial respiratorio (RSV) es una de las principales causas de enfermedades respiratorias en niños, así como en la población vulnerable: adultos mayores y embarazadas. Se convierte en un virus de gran interés en epidemiología molecular debido a su alta tasa de mutación y diversidad. El RSV tiene una gran importancia en la salud pública, sin embargo, en México los estudios sobre su evolución y dinámica circulante son escasos. En este estudio se realizó un análisis filogenético y evolutivo del RSV en los tipos A y B utilizando secuencias genómicas de distintas regiones del mundo, incluyendo a México, y se examinó cómo la selección natural, influye en su diversidad genética. Se utilizaron diversas técnicas bioinformáticas para evaluar: Demografía, ancestría, reconstrucción filogenética, y eventos de selección natural (penetrante y episódica). Con el objetivo de comprender mejor la evolución del virus.

Es importante implementar medidas de monitoreo para anticipar futuras adaptaciones del virus y su impacto en la salud pública, tanto local como globalmente. Ya que el estudio demostró que el RSV particularmente en México ha evolucionado bajo fuertes presiones selectivas con variantes Europeas, por tanto, el identificar sitios específicos bajo selección natural y episódica incorpora la idea de que el virus está en constante adaptación debido a cambios en el ambiente, así como, en su presión inmunológica. La vigilancia genómica del RSV es esencial para comprender su evolución, estrategias de control (epidemiología) y diseños en la vacunación a pesar de que ya existe un avance en ello.

1. Introducción

1.1 Historia del RSV

El virus sincicial respiratorio (RSV, por sus siglas en inglés) fue identificado por primera vez en 1956, y desde entonces es considerado como una causa importante de infecciones respiratorias, cuyos síntomas incluyen resfriados, bronquiolitis y neumonía principalmente en bebés y niños. A lo largo de los años, se han realizado avances en la comprensión de su epidemiología, biología y tratamientos, ya que pese a tener una tasa menor de letalidad que otros virus respiratorios, como la influenza, el RSV sigue siendo de preocupación en la salud pública debido a su alta tasa de incidencia a nivel mundial (Branche et., al 2021). Los niños con enfermedad pulmonar crónica, cardiopatía congénita y prematuridad tienen tasas de letalidad más altas (0-37%) en comparación con los niños por lo demás sanos (<1%) (Welliver et al., 2010). Los niños inmunodeprimidos también tienen un mayor riesgo de malos resultados, incluida la mortalidad (Asner et al., 2013). La mortalidad relacionada con el RSV en los EE. UU. es variable, con tasas de letalidad que oscilan entre el 0-1,7% para el RSV y el 0-0,17% para la bronquiolitis por todas las causas (Bylsma et al., 2022). Además, se observan tasas de mortalidad más altas entre los bebés prematuros, los ingresados en unidades de cuidados intensivos y los niños con seguro público (Bylsma et al., 2022).

El RSV es un virus con un genoma de RNA monocatenario de sentido negativo de 15.2 kb, perteneciente al género *Orthopneumovirus* de la familia *Pneumoviridae* (*Human Orthopneumovirus*). Este virus fue aislado por primera vez en 1955 de un chimpancé con una infección respiratoria del tracto superior (Nair.H Lancet, 2010). Su genoma codifica para diez genes que se traducen en once proteínas. Existen dos subgrupos antigénicos de este virus (A y B) que se diferencian en la región hipervariable del gen que codifica para la glicoproteína de superficie, llamada proteína G.

Además, las nuevas variantes RSV son una de las principales causas de infecciones del tracto respiratorio inferior, lo que presenta un desafío importante en el desarrollo de terapias efectivas (Jorquera, 2017). Si bien las variantes específicas y su impacto no se analizan en la literatura disponible, la necesidad de tratamientos específicos es clara. También se destaca el potencial de la terapia antiviral combinada para contrarrestar la

aparición de mutantes de escape del RSV. El Palivizumab y Ribavirina son opciones disponibles para el tratamiento de la infección (Jorquera, 2017). Cabe mencionar, que un estudio retrospectivo en pacientes pediátricos de alto riesgo, demostró que la terapia combinada de palivizumab intravenoso y ribavirina fue bien tolerada, además de asociarse con una reducción significativa en la mortalidad, en comparación con los resultados reportados en estudios previos (Chávez-Bueno et al., 2007). Por otra parte, el grupo de consenso sueco recomienda el uso de Palivizumab como profilaxis en ciertos bebés prematuros y sugiere considerar la administración de Ribavirina por inhalación en lactantes de alto riesgo que presenten síntomas graves de infección por RSV. Asimismo, proponen la combinación de ribavirina con inmunoglobulina intravenosa como tratamiento para pacientes trasplantados que desarrollan neumonía leve a moderada causada por RSV (Ewald, 2001). La reinfección por el RSV en adultos conlleva el riesgo de generar enfermedades de relevancia clínica, y aunque las terapias antivirales exhiben beneficios limitados, la perspectiva más alentadora para mitigar su impacto radica en estrategias de inmunización (Walsh, 2011). La mayoría de los casos presentan síntomas leves, su gravedad en grupos vulnerables subraya la necesidad de comprender su dinámica evolutiva. Asimismo, aunque se han desarrollado sistemas de detección y se realizan investigaciones prometedoras en diagnóstico clínico y vigilancia epidemiológica, la implementación de estos avances en la práctica clínica continúa siendo un desafío significativo (Babbage 2013).

De acuerdo a la literatura, el número de infecciones y muertes por RSV ha aumentado significativamente, particularmente en las naciones en vías de desarrollo (Hall, 2010). El RSV es un patógeno importante en adultos, con aproximadamente 11,000 a 17,000 muertes al año en los EE. UU. (Walsh, 2012). En los adultos mayores, la infección por RSV causa aproximadamente 10,000 muertes cada año en EE. UU (Falsey, 2005). En los bebés, el RSV hospitaliza a entre el 1% y el 2% cada invierno y, a nivel mundial, es la tercera causa más importante de neumonía infantil mortal (Meng, 2014). Estos hallazgos sugieren un aumento sustancial de los casos y muertes por RSV en diferentes grupos de edad. Las estadísticas de mortalidad indican que el RSV representa una causa significativa de fallecimiento en la infancia debido a IRAB (Infecciones Respiratorias Agudas Bajas), ubicándose detrás de la neumonía neumocócica y el *Haemophilus influenzae* tipo b en términos de incidencia letal. En lo que respecta a México, las estadísticas de mortalidad

por el virus RSV son limitadas pero en un estudio realizado por Rodríguez Auad en 2012, se encontró que el RSV causaba altas hospitalizaciones e ingreso a unidades de cuidados intensivos, particularmente en niños con enfermedades subyacentes (cáncer, VIH, obesidad, tuberculosis, etc.) y lactantes (aquellos comprendidos desde el nacimiento hasta sus dos años de edad), asimismo, el estudio reportó 14 muertes de infantes, directamente atribuidas a la infección por RSV. Estos estudios resaltan la necesidad de investigación y vigilancia continua del RSV y otros virus respiratorios en México. También, es necesario impulsar con prontitud la formulación de nuevas estrategias de prevención y abordaje terapéutico como una prioridad estratégica (Nair, H., 2010).

1.2 Generalidades moleculares del RSV

El RSV es un virus de RNA de cadena sencilla y polaridad negativa, que contiene aproximadamente 15,000 nucleótidos y pertenece a la familia *Pneumoviridae* y al género *Orthopneumovirus*. Su genoma posee 10 marcos de lectura abiertos. Al igual que otros virus de RNA, el RSV presenta una alta tasa de mutación, atribuida a que su RNA polimerasa dependiente de RNA carece de mecanismos de corrección y edición. Esta característica intrínseca del virus permite la acumulación de mutaciones durante la replicación genómica lo que ha resultado en la aparición de variaciones genéticas y antigénicas que dificultan su control y prevención (Falsey, A. R. & Walsh, E. E., 2000).

El RSV se clasifica en dos subgrupos: tipo A (RSV-A) y tipo B (RSV-B). Esta clasificación se fundamenta en su variabilidad antigénica, un fenómeno que se refiere a las diferencias en las proteínas virales que permiten al RSV evadir la respuesta inmunológica del hospedero permitiendo que ocurran reinfecciones.

1.2.1: Estructura de la partícula viral

El RSV es un virus con estructura esférica o pleomórfica, con un diámetro promedio de 150-200 nm. Está rodeado por una bicapa lipídica derivada de la célula huésped, en la cual se encuentran las proteínas de superficie G, F y SH que facilitan la entrada del virus en las células epiteliales del huésped y contribuyen a la evasión inmunológica. Debajo de la envoltura se encuentra la proteína de matriz (M), que proporciona soporte estructural y participa en el ensamblaje viral. El interior del genoma viral consiste en RNA monocatenario negativo (-ssRNA) asociado con proteínas como: la fosfoproteína (P) y RNA polimerasa (L), que forman el complejo de replicación; y las proteínas regulatorias

M2-1 y M2-2, involucradas en la transcripción y replicación viral, como se muestra en la Figura 1. Esta organización estructural permite al RSV infectar eficientemente el tracto respiratorio, replicarse y evadir las defensas del hospedero.

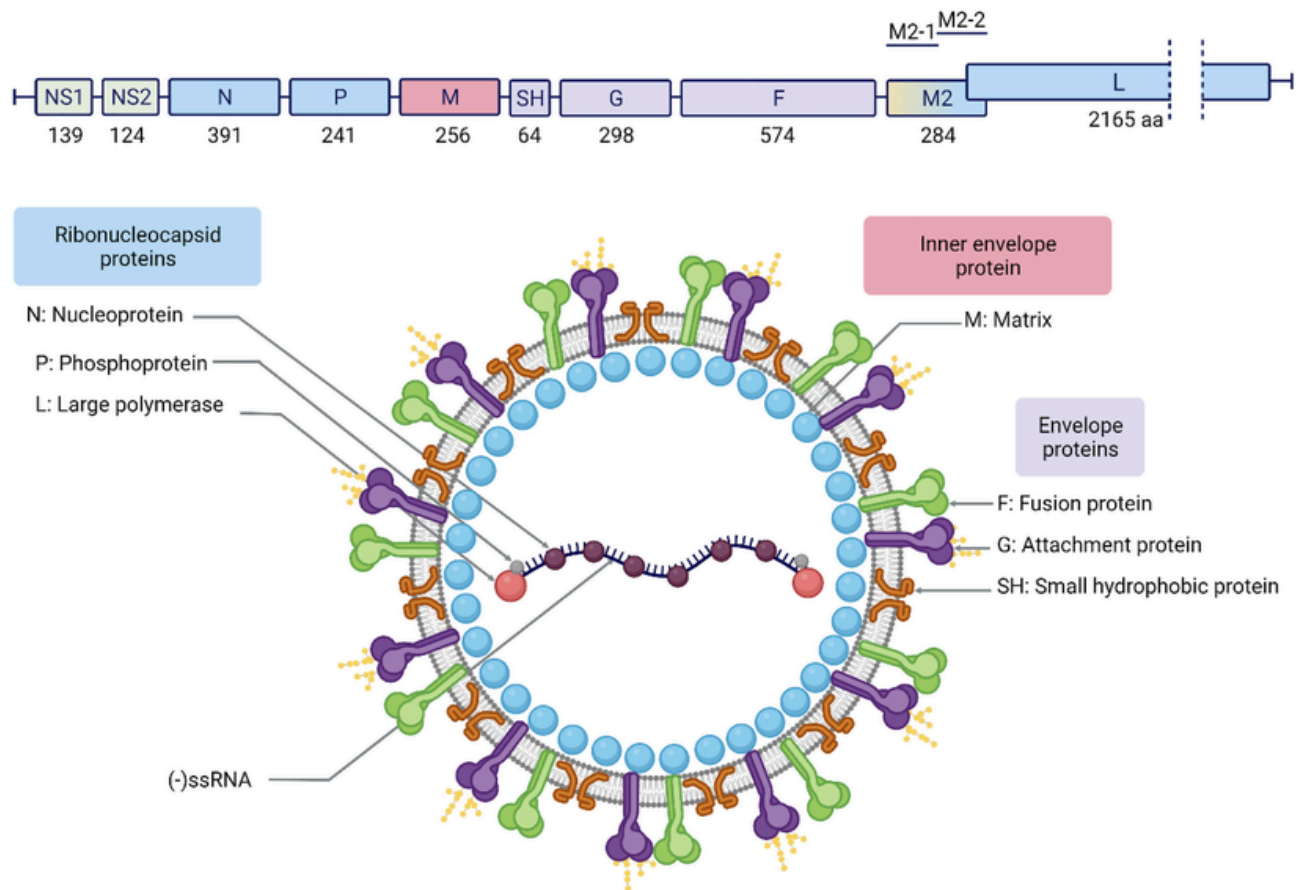


Figura 1. Esquema del genoma y estructura de la partícula viral RSV. (a) Genes codificados por el genoma de RSV, que se traducen en 11 proteínas. (b) Representación esquemática del virión del RSV que muestra la organización de sus principales componentes. La bicapa lipídica contiene las proteínas de superficie: G (glicoproteína de adhesión), F (proteína de adhesión) y SH (proteína hidrofóbica pequeña). Debajo de la envoltura se encuentra la proteína de matriz (M), que da el soporte estructural al virión. En el interior, se encuentra el genoma de RNA monocatenario negativo (-ssRNA) está asociado con la nucleoproteína (N), la fosfoproteína (P) y la RNA polimerasa (L). Imagen tomada de: Córdova-Dávalos, L. E., Hernández-Mercado, A., Barrón-García, C. B., Rojas-Martínez, A., Jiménez, M., Salinas, E., & Cervantes-García, D. (2022).

Las proteínas codificadas por el genoma viral de RSV y sus características se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Proteínas del RSV

Proteína	Tipo	Característica
N	estructural	Se une al RNA viral, formando el complejo de

		ribonucleoproteína (RNP). Protege el RNA y sirve como andamio para la replicación y transcripción viral.
P	estructural	Actúa como cofactor de la RNA polimerasa dependiente de RNA polimerasa (proteína L). Es esencial para la síntesis de RNA, uniendo la proteína y el complejo RNP.
L	estructural	Subunidad catalítica de la RNA polimerasa dependiente de RNA. Impulsa la replicación del genoma viral y la transcripción del mRNA.
M2: M2-1 / M2-2	estructural	M2-1: Garantiza que la polimerasa viral permanezca unida a la plantilla de RNA durante la transcripción, lo que permite la síntesis de mRNAs de longitud completa. M2-2: Regula el cambio de la transcripción viral a la

		replicación modulando la actividad de la polimerasa.
M	estructural	Organiza los componentes virales durante el ensamblaje, media en las interacciones entre el complejo RNP y las proteínas de la envoltura (F, G, SH).
F	estructural	Media la entrada viral fusionando la envoltura viral con las membranas de la célula huésped. Desencadena la formación de sincitios (fusión célula-célula), ayudando a la evasión inmune.
G	estructural	Se une a los receptores de la célula huésped (CX3CR1) para la unión inicial. Altamente glicosilado, contribuyendo a la evasión inmune al enmascarar sitios antigénicos.
SH	estructural	Forma canales iónicos en las membranas del huésped,

		alterando el equilibrio iónico celular. Puede inhibir la apoptosis y reducir la detección inmune.
NS1	no estructural	Suprime la señalización del interferón (IFN) del huésped y las respuestas inmunes innatas. Inhibe la expresión de genes antivirales para promover la replicación viral.
NS2	no estructural	Funciona sinérgicamente con NS1 para bloquear la producción y señalización de IFN. También altera la función mitocondrial para limitar la apoptosis de las células infectadas.

1.3 Ciclo replicativo

El ciclo replicativo del RSV incluye varias etapas clave: primero, el virión se adhiere a receptores específicos en la superficie de células epiteliales bronquiales y alveolares del tracto respiratorio mediante sus proteínas F y G (adsorción). Luego, ingresa a la célula hospedera por endocitosis mediada por receptores (entrada). Una vez dentro, el RNA viral es liberado y replicado en el citoplasma (descapsidación y liberación del genoma viral). La replicación y transcripción, son mediadas por una RNA polimerasa viral, y generan RNA genómico y subgenómico; este último sirve de templado para la síntesis de proteínas virales. Estas proteínas se producen en el citoplasma y se ensamblan en complejos de replicación y transcripción (síntesis de proteínas virales). Posteriormente, las nuevas partículas virales se ensamblan en la membrana celular y son liberadas mediante gemación, causando daño a la célula huésped (ensamblaje y liberación). Finalmente, las partículas virales liberadas infectan células vecinas y repiten el ciclo (propagación) (**Figura 2**).

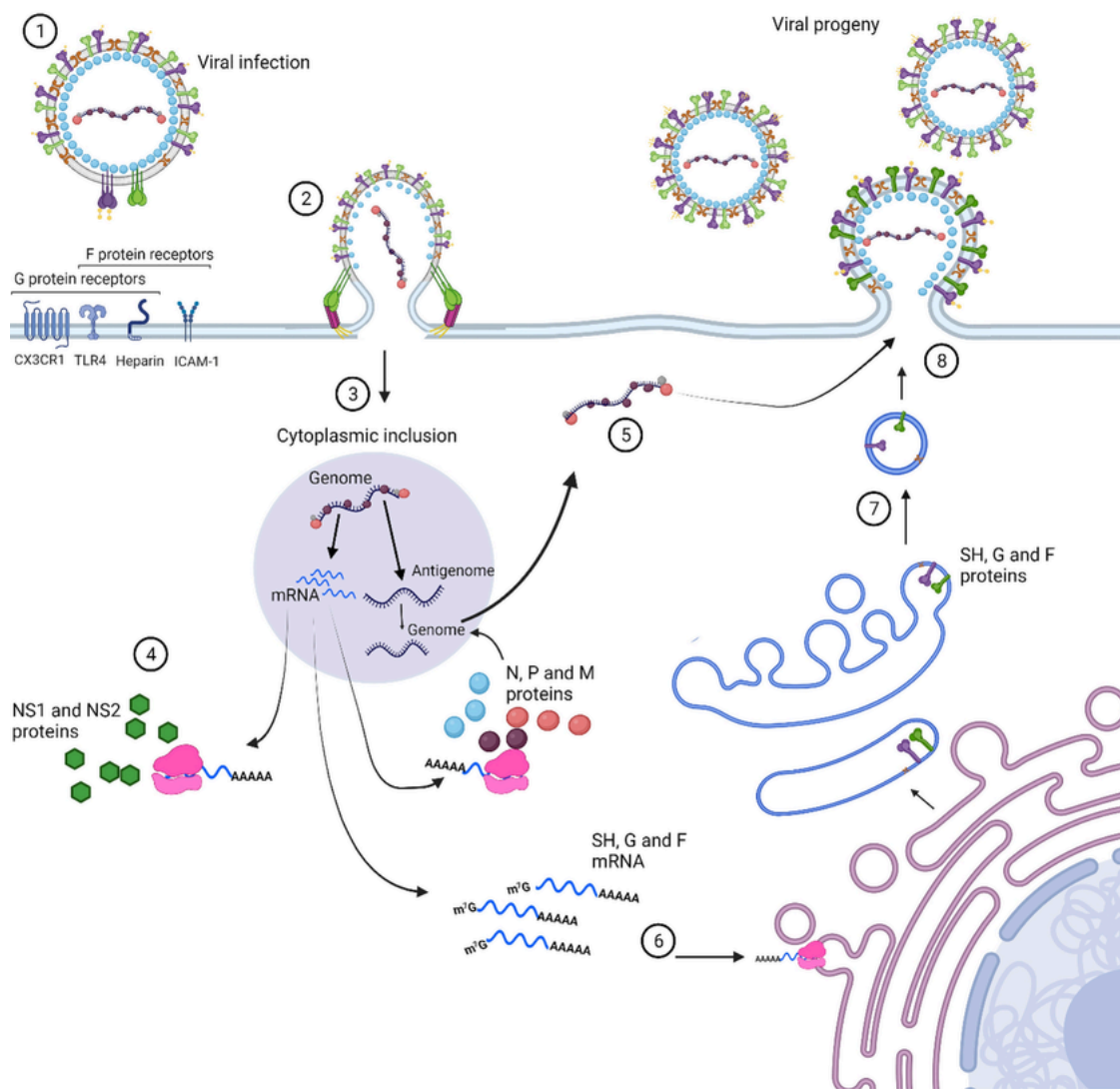


Figura 2. Representación gráfica del ciclo replicativo del virus RSV. (1) El virión se une a la superficie de la célula huésped mediante la interacción de las glucoproteínas G y F con sus receptores CX3CR1, TLR4, heparina e ICAM-1 (2) La proteína de fusión (F) expone el péptido de fusión y adopta una conformación que facilita la fusión de la membrana viral con la membrana celular, liberando la nucleocápside en el citoplasma (3) El genoma viral se dirige a las inclusiones citoplasmáticas, donde ocurre la transcripción primaria para generar RNA mensajero (4) Estos RNA virales se traducen en los ribosomas citoplasmáticos, produciendo las proteínas estructurales y no estructurales (5) A continuación, se lleva a cabo la replicación del genoma viral (6) Las proteínas de superficie (SH, F y G) se procesan a través del retículo endoplásmico. (7) Posteriormente, son transportadas al aparato de Golgi para su maduración (8) Finalmente, las proteínas virales y el genoma se ensamblan en filamentos virales en la superficie celular, lo que da lugar al proceso de gemación y a la liberación de nuevos viriones. Imagen tomada de: Córdova-Dávalos, L. E., Hernández-Mercado, A., Barrón-García, C. B., Rojas-Martínez, A., Jiménez, M., Salinas, E., & Cervantes-García, D. (2022).

Las células infectadas por RSV pueden fusionarse a través de las proteínas F expuestas en la membrana plasmática, formando los sincitios característicos de la infección por RSV. Se considera que las proteínas de superficie F y G son los mejores blancos para una vacuna,

especialmente para la inducción de anticuerpos neutralizantes (E. Kinneer & Ryan F. Russell 2021). El RSV es capaz de replicarse en las células epiteliales del tracto respiratorio, lo que provoca inflamación y daño tisular característico de las infecciones por este virus. La replicación viral y la respuesta inmunitaria del hospedero pueden contribuir a los síntomas clínicos de la infección. Por tanto, el ciclo replicativo del RSV implica la unión a receptores en células del tracto respiratorio, la entrada en la célula, la replicación y transcripción del RNA viral, la síntesis de proteínas virales, el ensamblaje y la liberación de partículas virales así como la propagación a otras células. La replicación del RSV puede causar enfermedades respiratorias en el hospedero, especialmente en niños pequeños y en personas con sistema inmunológico comprometido.

1.4 Respuesta inmunológica

La infección por RSV desencadena una compleja interacción con la respuesta inmune innata y adaptativa, aunque su capacidad para evadir parcialmente estas respuestas contribuye a su persistencia y a la alta incidencia de reinfecciones.

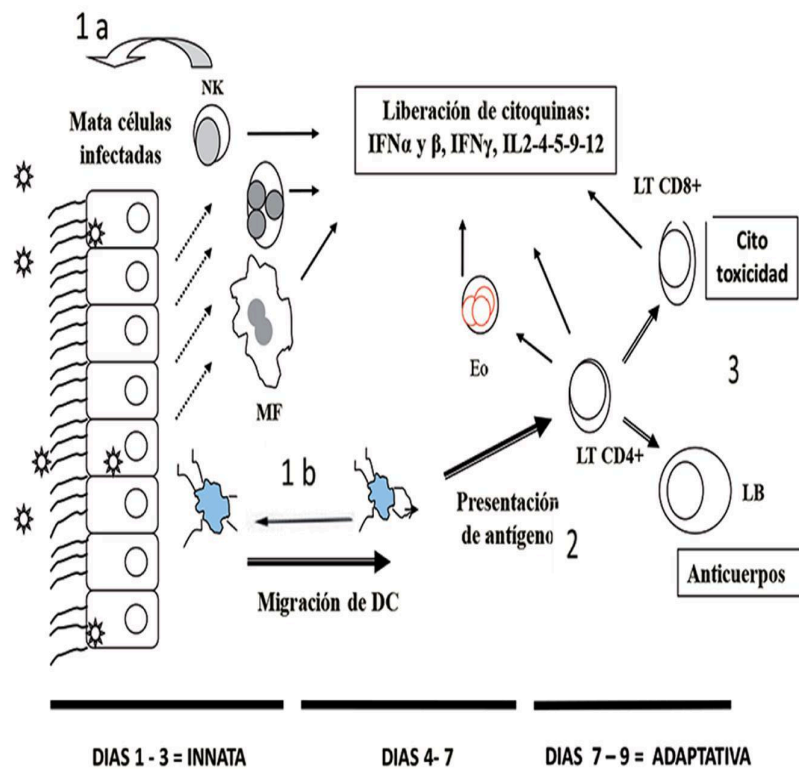


Figura 3. La respuesta inmune frente a la infección por RSV. En la fase inicial (1a) de la infección, durante los primeros tres días, el RSV activa la respuesta inmune innata en las células epiteliales de la mucosa a través de las proteínas virales F y G. Estas proteínas interactúan con los receptores TLR-4 y CX3CR1, respectivamente, estimulando células ciliares, macrófagos y células dendríticas para producir interferón tipo 1 alfa/beta (IFN- α / β). Este proceso también activa factores que inducen la producción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e interleucina-1-beta (IL-1 β). Durante (1b) las células dendríticas presentes en la vía aérea transportan diversos antígenos del RSV a sitios activos del sistema linfático asociado a mucosas (BALM) donde se refuerza la respuesta innata con un aumento en la migración de células a la mucosa. En la segunda fase, presentación de antígenos; (2) a través de este primer contacto del virus con el sistema inmune se orquesta la respuesta efectora adaptativa específica de LT CD4, LT CD8 y LB desde el día siete. Esta respuesta adquirida, contribuye a la eliminación de la infección, especialmente por acción de linfocitos T CD8 e IFN γ induciendo la respuesta mediada por anticuerpos (3) y células T sensibilizadas que protegerán contra futuras reinfecciones (Russell, C. D., Unger, S. A., Walton, M., & Schwarze, J. (2017).

1.5 Epidemiología de RSV

Factores como la exposición al humo del tabaco y enfermedades subyacentes, como cardiopatías congénitas, aumentan la gravedad de las infecciones por RSV (Wong-Chew et al., 2017; Rodríguez-Auad et al., 2012). En México, investigaciones multicéntricas han detectado al RSV en un 25.7% de niños con neumonía adquirida (Wong-Chew et al., 2017). A nivel mundial, las infecciones por el RSV presentan un patrón estacional que varía según las condiciones climáticas de cada región. En zonas templadas, los picos de infección suelen registrarse durante el invierno, mientras que en regiones tropicales estas infecciones alcanzan su punto máximo durante la temporada de lluvias (Law et al., 2002). En la figura 5 se muestra el porcentaje de infecciones por este virus en el punto máximo durante la temporada de influenza estacional, dentro de la República Mexicana.

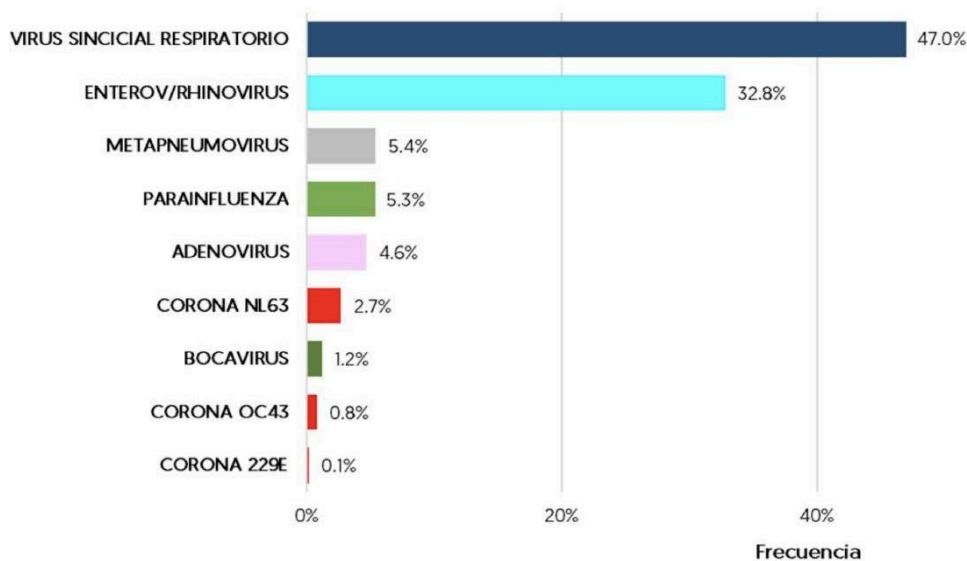


Figura 4. Distribución porcentual de los principales virus respiratorios detectados durante la temporada de influenza estacional 2023-2024 en la República Mexicana. El Virus Sincial Respiratorio representa el mayor porcentaje de detecciones (47,0%), seguido por Enterovirus/Rinovirus (32,8%), Metapneumovirus (5,4%), Parainfluenza (5,3%), Adenovirus (4,6%) y Coronavirus NL63 (2,7. %), Bocavirus (1,2%), Coronavirus OC43 (0,8%) y Coronavirus 229E (0,1%). Imagen tomada de: SINAVE/DGE/Vigilancia Epidemiológica de Enfermedad Respiratoria Viral,2023.

En condiciones normales, el patrón estacional del virus es predecible; sin embargo, la pandemia de COVID-19 alteró significativamente esta dinámica. Durante este período, se observaron brotes atípicos de RSV en el verano de algunas regiones, lo cual se atribuye a la

relajación de las intervenciones no farmacéuticas implementadas para controlar la pandemia (Hernández-Rivas et al., 2021; Stein y Zar, 2023).

1.5.1 Factores de riesgo asociados a la infección grave por RSV

La gravedad de las infecciones por el virus sincicial respiratorio (RSV) está influenciada por diversos factores, entre los que destacan la edad, el entorno y las condiciones subyacentes de los individuos afectados.

Entre los principales factores de riesgo, se encuentra una edad menor de 3 meses, especialmente en lactantes prematuros y menores de 6 meses, quienes presentan una mayor susceptibilidad debido a la inmadurez de su sistema inmunológico (Lución et al., 2014). Adicionalmente, algunas condiciones médicas subyacentes como las enfermedades cardíacas o pulmonares crónicas, así como inmunodeficiencias, incrementan significativamente el riesgo de complicaciones graves en infecciones por RSV.

El entorno también juega un papel importante. Factores como el sexo masculino, el nacimiento durante la primera mitad de la temporada de RSV, el hacinamiento y la exposición a otros lactantes e infantes que puedan portar el virus en guarderías aumentan la probabilidad de infecciones severas (Bont et al., 2016). Asimismo, la exposición al humo del tabaco, ya sea activa o pasiva, es un factor crítico que agrava las infecciones por RSV en los niños.

1.5.2 Clínica de la infección por RSV

Los factores mencionados en el apartado anterior destacan la necesidad de estrategias preventivas específicas para los grupos de riesgo, particularmente en los contextos pediátricos y de poblaciones vulnerables. Aunque las tasas de letalidad son generalmente bajas (<0,5%), el RSV sigue siendo una carga importante para los sistemas de atención de salud (Bont et al., 2016).

Las manifestaciones clínicas pueden abarcar desde síntomas leves en las vías respiratorias superiores hasta enfermedades graves en las vías respiratorias inferiores, como bronquiolitis y neumonía (Rostad, 2019). Cabe destacar que los lactantes y los recién nacidos son quienes experimentan las manifestaciones clínicas más graves (Jiang et al., 2023).

El daño se concentra principalmente en los bronquiolos debido a la toxicidad directa por la infección viral, lo que provoca lesión del epitelio bronquial y alveolar, acompañado de compromiso intersticial, edema de la mucosa e hipersecreción. Estos procesos conducen a una obstrucción bronquial difusa, hiperinsuflación pulmonar y/o atelectasia. Es común que se presente una alteración en la relación ventilación/perfusión (V/Q), lo que resulta en hipoxemia e hipercapnia, es decir, a una insuficiencia respiratoria.

Outcomes	Effect (95% CI)	I^2 (%)	P value	Number of included studies
Mild	0.51 (0.39–0.64)	100.0	< 0.001	14
Cough	0.92 (0.88–0.95)	97.9	< 0.001	10
Nasal congestion	0.58 (0.4–0.76)	98.6	< 0.001	5
Rhinorrhea	0.53 (0.05–1.00)	100.0	< 0.001	5
Fever	0.41 (0.34–0.49)	98.2	< 0.001	13
Vomiting	0.22 (0.11–0.32)	99.2	< 0.001	4
Diarrhea	0.20 (0.12–0.27)	98.1	< 0.001	6
Moderate	0.37 (0.30–0.45)	100.0	< 0.001	20
Shortness of breath	0.50 (0.31–0.69)	99.8	< 0.001	9
Dyspnea	0.47 (0.05–0.88)	99.8	< 0.001	4
Wheezing	0.39 (0.30–0.48)	99.6	< 0.001	16
Pneumonia	0.28 (- 0.06–0.62)	100.0	< 0.001	6
Oxygen supplementation	0.26 (- 0.01–0.54)	100.0	< 0.001	5
Otitis media	0.13 (0.12–0.15)	0.0	0.642	2
Severe	0.07 (0.07–0.08)	99.8	< 0.001	19
Respiratory failure	0.29 (0.16–0.41)	98.8	< 0.001	5
Sepsis	0.10 (- 0.03–0.23)	99.4	< 0.001	3
ICU admission	0.09 (0.07–0.10)	99.8	< 0.001	15
Mechanical ventilation	0.02 (0.02–0.03)	99.1	< 0.001	8

RSV respiratory syncytial virus, CI confidential interval, ICU intensive care unit

Tabla 2. Síntomas comúnmente asociados a la infección por RSV. En esta tabla se muestran los síntomas más comunes que se asocian con la infección por el virus respiratorio sincicial (RSV) los cuales incluyen tos (92 %), congestión nasal (58 %), rinorrea (53 %), dificultad para respirar (50 %) y disnea (47 %). Datos tomados de: Jiang, MY., Duan, YP., Tong, XL. *et al.* 2023.

-Estrategias de prevención de la infección por RSV

Las estrategias actuales para prevenir la infección por RSV comprenden un conjunto de medidas destinadas a reducir su transmisión y proteger a los grupos vulnerables. Entre estas medidas, destacan las prácticas de higiene estrictas, la promoción de la lactancia materna y la inmunización pasiva mediante el uso de palivizumab, un anticuerpo monoclonal (mAb) indicado específicamente para lactantes con alto riesgo de complicaciones graves (Messina et al., 2022; Esposito et al., 2022). Sin embargo, la aplicación de palivizumab presenta limitaciones significativas debido a su costo y

disponibilidad, lo que resulta en una protección insuficiente para la mayoría de los lactantes (Esposito et al., 2022).

En respuesta a estas limitaciones, las estrategias emergentes de prevención han evolucionado con el objetivo de proporcionar una cobertura más amplia, particularmente durante la primera temporada de exposición al RSV. Dentro de estas estrategias, la inmunización materna y el desarrollo de anticuerpos monoclonales de acción prolongada han emergido como enfoques altamente prometedores debido a su capacidad para ofrecer protección pasiva extendida y reducir la incidencia de infecciones severas (Esposito et al., 2022). Asimismo, otras líneas de investigación incluyen el diseño de vacunas dirigidas a lactantes mayores y niños, el desarrollo de anticuerpos monoclonales con mayor afinidad y eficacia, así como la implementación de tratamientos antivirales específicos (Weisman, 2002; Glowinski et al., 2021).

Resulta inevitable continuar con la investigación y el desarrollo de estrategias preventivas que no solo sean eficaces y seguras, sino también accesibles y escalables para proteger a toda la población pediátrica susceptible (Esposito et al., 2022). De acuerdo con la Sociedad Canadiense de Pediatría se deben adoptar diferentes estrategias atendiendo a diversos tipos de grupos prioritarios, tal como se muestra en la figura 5 . En esta figura se detallan dos enfoques principales: el uso de **Nirsevimab, anticuerpo monoclonal, y la vacuna RSVpreF (ABRYSVO)** para la prevención de la infección.

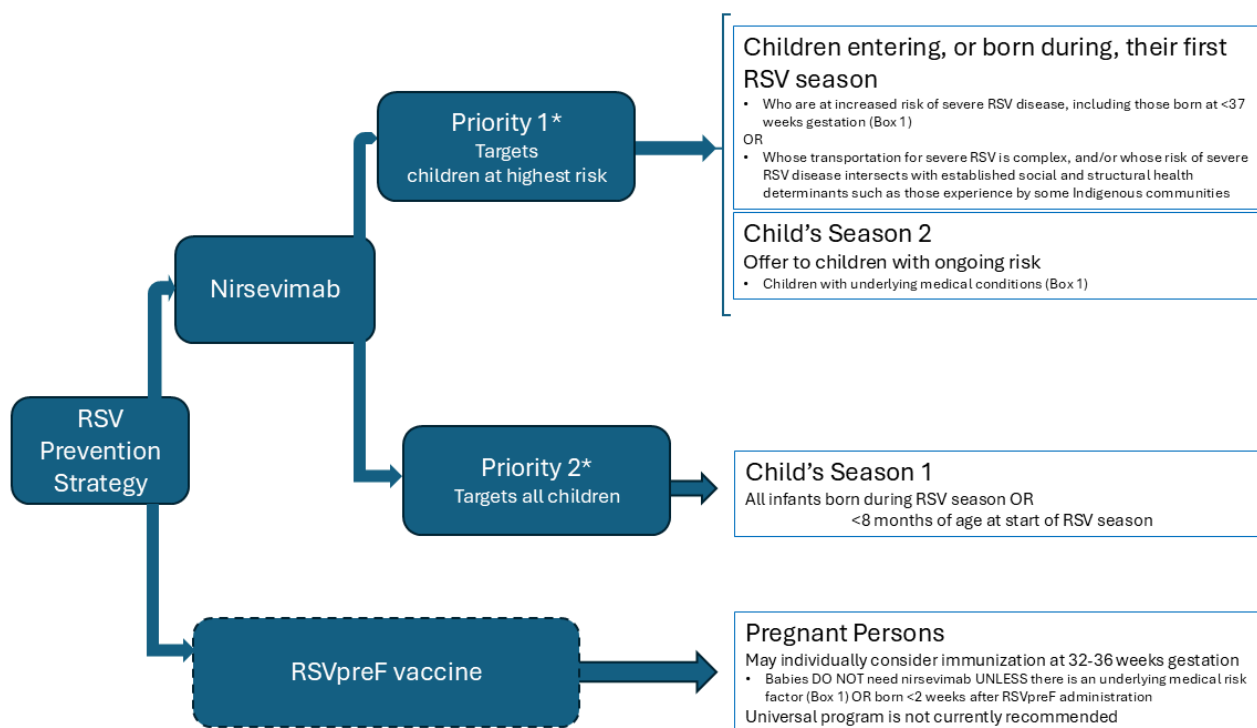


Imagen tomada de: Friedman JN, Rieder MJ, Walton JM; Sociedad Canadiense de Pediatría 2021.

Figura 5. Diagrama esquemático de las estrategias de prevención para la infección por RSV. Las estrategias de prevención para la infección por RSV se estructuran en dos niveles de prioridad. La **prioridad 1** está orientada a niños con mayor riesgo de resultados adversos graves; durante la primera temporada de exposición al RSV, incluye a lactantes con factores de riesgo como condiciones médicas subyacentes, prematuridad (<37 semanas de gestación) o determinantes sociales y estructurales que limitan el acceso a cuidados críticos. En temporadas subsecuentes, esta prioridad se extiende a niños con riesgo persistente debido a condiciones médicas preexistentes. Por otro lado, la **prioridad 2** se dirige a todos los lactantes, incluyendo a los recién nacidos durante la temporada de RSV o a menores de 8 meses al inicio de esta temporada. Además, se contempla la inmunización materna con la vacuna RSVpreF (ABRYSVO) entre las semanas 32 y 36 de gestación como un enfoque individualizado, aunque su implementación como programa universal no está actualmente recomendada. Cabe señalar que los lactantes nacidos menos de dos semanas después de la administración de esta vacuna o aquellos con factores de riesgo subyacentes podrían requerir la administración de Nirsevimab para garantizar una protección adecuada.

2. Antecedentes particulares

2.1 Importancia del Virus Respiratorio Sincicial (RSV)

A nivel mundial, se estima que el RSV causa alrededor de 33 millones de infecciones graves cada año, resultando en más de 3 millones de hospitalizaciones y 120.000 muertes, principalmente en países de ingresos bajos y medios (Rodríguez-Auad et al., 2012) . Además,

representa una carga significativa para los sistemas de salud debido al manejo clínico de casos severos y la falta de tratamientos específicos de bajo costo.

2.2 Estudios filodinámicos y diversidad genética

Los estudios filodinámicos han proporcionado información valiosa sobre la dinámica evolutiva del RSV. Martinelli (2014) y Tan (2012) encontraron evidencia de la diversidad genética y las tasas evolutivas de RSV A y B, identificando al gen G como un objetivo importante de la selección diversificadora. Estos estudios resaltan la importancia de monitorear los cambios en las secuencias codificantes del RSV para la identificación de cepas endémicas y el desarrollo de vacunas. Martinelli (2014) exploró la estabilidad del RSV, encontrando que su estructura secundaria y terciaria son lábiles al pH y a la temperatura, con estabilidad óptima cerca del pH neutro y temperatura. Por último, Stec (1991) analizó exhaustivamente al gen L, que codifica para la polimerasa del RSV, revelando sus relaciones evolutivas con otros *Paramixovirus*. Estos hallazgos subrayan la compleja interacción entre la diversidad genética, la estabilidad y la dinámica evolutiva del RSV, elementos clave para futuras investigaciones.

El RSV exhibe una notable diversidad genotípica, evidenciada por la identificación de múltiples cepas (Cane, 2001). Desde una perspectiva de epidemiología molecular, los estudios han identificado patrones de agrupamiento geográfico y una evolución continua de las cepas de RSV (Tabor et al., 2020). En particular, los genotipos ON1 y BA9 han sido los subtipos A y B del RSV, respectivamente (Tabor et al., 2020; Cantú-Flores et al., 2022).

2.3 Evolución molecular y selección natural

El RSV es un virus con una alta tasa de mutación, lo que lo convierte en un patógeno genéticamente diverso y evolutivamente dinámico. Este fenómeno es impulsado principalmente por errores durante la replicación viral, debido a la falta de una actividad correctora de su polimerasa viral (Hause et al., 2017). La evolución molecular del RSV se manifiesta en cambios genéticos en sus proteínas clave, como la proteína de fusión (F) y la glicoproteína G, que desempeñan roles esenciales en la infección viral y la evasión del sistema inmunológico.

2.3.1 Variabilidad genética en la proteína G

La glicoproteína G es una de las principales dianas de la selección diversificadora debido a su exposición al sistema inmunológico del huésped. Estudios han identificado múltiples sitios bajo selección positiva en esta proteína, lo que permite al RSV adaptarse

continuamente a las presiones inmunológicas. En particular, el RSV-B muestra una mayor frecuencia de cambios genéticos en comparación con el RSV-A, lo que podría explicar las diferencias en la prevalencia y severidad de los brotes causados por ambos subtipos (Yu et al., 2021).

Las mutaciones en la glicoproteína G también afectan su función en la adhesión celular, ya que esta proteína es responsable de la unión inicial del virus a las células epiteliales del tracto respiratorio. La alta plasticidad genética de la proteína G no solo facilita la evasión inmunológica, sino que también plantea desafíos para el desarrollo de vacunas basadas en esta proteína (Martinelli et al., 2014).

2.3.2 Selección natural en la proteína F

La proteína de fusión (F) es otro componente esencial del RSV que ha sido objeto de intensos estudios evolutivos. Esta proteína desempeña un papel crucial en la entrada viral, mediante la fusión de la membrana del virus con la célula huésped. Los estudios han identificado que los sitios de prefusión de la proteína F están bajo una fuerte selección positiva, lo que indica su importancia en la adaptación viral (Yu et al., 2021).

Además, las mutaciones en la proteína F pueden influir en la antigenicidad del RSV, afectando la eficacia de las respuestas inmunológicas inducidas por infecciones previas o vacunas. Por ejemplo, los estudios de (Yu et al., 2021) reportaron una frecuencia de mutaciones del 100 % en estos sitios en cepas recientes de RSV-B, lo que resalta la necesidad de un seguimiento continuo de estas variantes.

2.3.3 Tasas evolutivas del RSV

La tasa evolutiva del RSV se ha estimado que oscila en un rango de 1.48×10^{-3} a 1.92×10^{-3} sustituciones de nucleótidos por sitio por año, dependiendo del subtipo y las regiones genómicas analizadas (Hause et al., 2017; Sullender, 2000). Estas tasas son comparables a las de otros virus de RNA respiratorios como el virus de la influenza, lo que sugiere que el RSV tiene una alta capacidad de adaptación en entornos diversos.

2.4 Implicaciones para el desarrollo de vacunas y terapias

La evolución molecular del RSV tiene importantes implicaciones para el diseño de estrategias de prevención y tratamiento. Las mutaciones en las proteínas F y G no sólo complican el desarrollo de vacunas, sino que también influyen en la efectividad de los anticuerpos monoclonales y otros tratamientos dirigidos. Por esta razón, la vigilancia genética global del RSV es crucial para identificar variantes emergentes y anticipar cambios en la antigenicidad viral (Adhikari et al., 2022).

Además, los avances en herramientas bioinformáticas y análisis filogenéticos han permitido rastrear la diseminación de cepas específicas en tiempo real. Estas herramientas no solo facilitan la identificación de variantes relevantes, sino que también ayudan a comprender cómo las presiones selectivas y los cuellos de botella poblacionales afectan la evolución del RSV. Se ha reportado que, la secuenciación del genoma completo ha revelado la cocirculación de múltiples clados del RSV a nivel mundial, predominando los genotipos A23 y B6 en los últimos años (Pangesti et al., 2023). Por otra parte, se han desarrollado nuevos esquemas de secuenciación basados en amplicones para el RSV A y B, lo que permite una secuenciación de alto rendimiento y un análisis filogenético en diferentes países (Maloney et al., 2024). Estos métodos han demostrado una agrupación geográfica mínima de las secuencias del RSV, lo que enfatiza la propagación global del virus. Las estimaciones de la tasa evolutiva para los genomas del RSV A y B se han calculado en aproximadamente $6,72 \times 10^{-4}$ y $7,69 \times 10^{-4}$ sustituciones/sitio/año, respectivamente (Bose et al., 2015).

2.4.1 Avances de la vacunación contra el RSV

A lo largo de los años, se han realizado avances significativos en la comprensión de la epidemiología, biología y tratamientos del virus respiratorio sincial (RSV), lo que ha llevado al desarrollo de nuevas herramientas preventivas dirigidas a las poblaciones más vulnerables. Recientemente, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) aprobó varias intervenciones preventivas, incluidas vacunas y anticuerpos monoclonales, que representan un hito en la lucha contra esta enfermedad. En particular, la vacuna Abrysvo, desarrollada por Pfizer™, ha sido autorizada tanto para mujeres embarazadas, permitiendo conferir inmunidad a los recién nacidos mediante inmunización materna, como para adultos mayores de 60 años (Howes, 2023; Ellis y Weiss, 2023). En el caso de las gestantes, esta vacuna se administra entre las semanas 32 y 36 de

gestación, alcanzando una eficacia del 82% en la prevención de infecciones graves de las vías respiratorias inferiores en los bebés durante los primeros 90 días de vida (Ellis y Weiss, 2023). Por otra parte, Arexvy, desarrollado por GSK™, también está indicado para adultos mayores de 60 años y ha demostrado eficacia en la prevención de enfermedades del tracto respiratorio inferior relacionadas con el RSV (Swathi, 2024). Ambas vacunas se dirigen a la forma prefusión de la proteína F viral, un objetivo clave en el desarrollo de inmunizaciones contra este patógeno, y requieren una dosis única para inducir inmunidad (Lee et al., 2023; Ellis y Weiss, 2023). Durante el ensayo clínico de fase 3 RENOIR, Abrysvo demostró una eficacia del 67% en la protección de adultos mayores contra infecciones graves por RSV (Ellis y Weiss, 2023).

Además, para la protección de infantes, la FDA aprobó el uso del anticuerpo monoclonal Beyfortus (nirsevimab), diseñado específicamente para proteger a los recién nacidos y lactantes, incluidos los prematuros tardíos, contra infecciones graves del tracto respiratorio inferior asociadas al RSV. Este tratamiento mostró una eficacia del 83% en la prevención de hospitalizaciones durante el primer año de vida, según los resultados del ensayo clínico HARMONIE (Abubakar Nazir et al., 2023; Howes, 2023; Ellis y Weiss, 2023). Nirsevimab está indicado para bebés nacidos a partir de las 35 semanas de gestación (Lee et al., 2023). Entre los efectos secundarios comunes de Arexvy se incluyen dolor en el lugar de la inyección, fatiga, mialgia, cefalea y artralgia (Swathi, 2024). En conjunto, estas innovaciones destacan como herramientas cruciales para abordar la carga global del RSV, un patógeno responsable de aproximadamente 60,000 muertes anuales en niños pequeños a nivel mundial (Ellis y Weiss, 2023).

La disponibilidad de nuevas opciones preventivas refuerza la importancia de implementar estrategias integrales para reducir el impacto de esta enfermedad en los grupos de mayor riesgo, incluyendo niños pequeños y adultos mayores

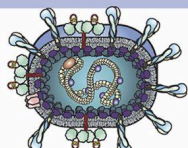



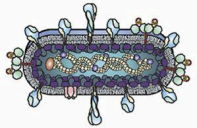

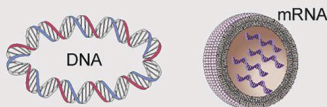

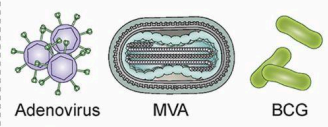





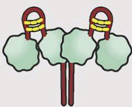



	Vaccine Platform	Target population	Immunogenicity and Potential or Actual** Clinical Outcomes
FI-RSV			Disproportionate increase in binding antibody with poor neutralization capacity. ERD following natural infection resulting in severe illness and two deaths
F-specific mAb			No induction of adaptive immunity. Transferred antibody provides passive protection from severe illness.
Live-attenuated and Chimeric			Induction of mucosal antibody and T cell responses. Prevention of severe upper and lower respiratory tract disease, and potential for sterilizing immunity.
Nucleic Acid			Induction of both antibody and T cell responses and prevention of upper and lower respiratory tract disease.
Vector-based			Induction of both antibody and T cell responses and prevention of upper and lower respiratory tract disease.
Post-F Subunit*			Increase in antibodies to moderately neutralization-sensitive sites. Failure to meet primary efficacy objectives in several clinical trials.
Stabilized Pre-F Subunit*			Increase in antibodies to highly neutralization-sensitive sites and improved serum neutralizing potency.
G Subunit			Increase in antibodies that neutralize virus by binding central conserved domain or block immunomodulatory effects.
SH Subunit			Induction of SH-binding antibodies that mediate ADCC.

Figura 6. Enfoques de vacunación contra el RSV y población objetivo: Se muestran diversas estrategias de vacuna, diseñadas para poblaciones pediátricas, maternas y de edad avanzada. Estas incluyen plataformas basadas en proteínas de subunidad (pre-F o post-F), vectores virales, ácidos nucleicos y virus atenuados vivos, así como anticuerpos monoclonales. Los ensayos clínicos en curso aprovechan las lecciones aprendidas de la vacuna FI-RSV y de la profilaxis pasiva, buscando principalmente la generación de anticuerpos neutralizantes potentes y en paralelo respuestas de células T adecuadamente dirigidas en lactantes y mayores de edad. Los enfoques utilizan partículas similares a virus (VLP) y nanopartículas con proteínas pre-F o post-F para mejorar la inmunogenicidad a través de la multimerización. Las letras en negritas, resaltan los resultados reales de la vacuna FI-RSV y los estudios de eficacia clínica a gran escala. Imagen tomada de: Tracy J. Ruckwardt, Kaitlyn M. Morabito, Barney S. Graham (2019).

2.5.5 Consideraciones futuras

En el contexto de la evolución molecular, es fundamental desarrollar estrategias integrales que combinen estudios filodinámicos, vigilancia epidemiológica y desarrollo de

inmunizaciones efectivas. A medida que surgen nuevas tecnologías, como la edición genética y la vacunología estructural, se abren oportunidades para abordar los desafíos planteados por la alta tasa de evolución del RSV.

3. Justificación

No existen estudios sobre los genotipos circulantes de RSV en México ni su distribución, y las secuencias reportadas hasta ahora son escasas. Esta falta de datos representa una barrera significativa para comprender la dinámica evolutiva y epidemiológica del virus en el país.

Por lo tanto, se propone realizar un análisis de datos de secuenciación viral de ambos tipos RSV A y B, con el objetivo de determinar su dinámica circulante. Las metodologías bioinformáticas, en particular el análisis filogenético, han demostrado ser cruciales para comprender la evolución de virus de RNA como el RSV (Shi 2010, Moya 2004). Estos métodos han revelado la diversidad genética y la dinámica de transmisión del RSV, arrojando luz sobre su historia evolutiva y su impacto epidemiológico (Shi 2010).

Dado que los virus de RNA, como el RSV, presentan una alta tasa de mutación, se convierten en modelos valiosos para estudiar la evolución viral. Las herramientas bioinformáticas han sido fundamentales para estas investigaciones (Moya 2004). Además, la filogenética en epidemiología molecular ha proporcionado información clave sobre los orígenes, la evolución y la propagación del RSV dentro de las poblaciones humanas (Lam 2010). Sin embargo, la aplicación de métodos filogenéticos avanzados en la investigación del RSV sigue siendo limitada a especialistas en el campo (Lam 2010).

4. Hipótesis

Los sitios que han evolucionado bajo selección positiva en la proteína G del RSV se encuentran en regiones altamente glicosiladas.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar el papel de la selección natural en la evolución del virus sincicial respiratorio de los tipos A y B

5.2 Objetivos específicos

1. Determinar la filogenia del RSV A y B
2. Analizar el papel de la selección natural penetrante en la evolución del RSV de los tipos A y B
3. Analizar el efecto de la selección natural episódica en el RSV de los tipos A y B

6. Estrategia Experimental

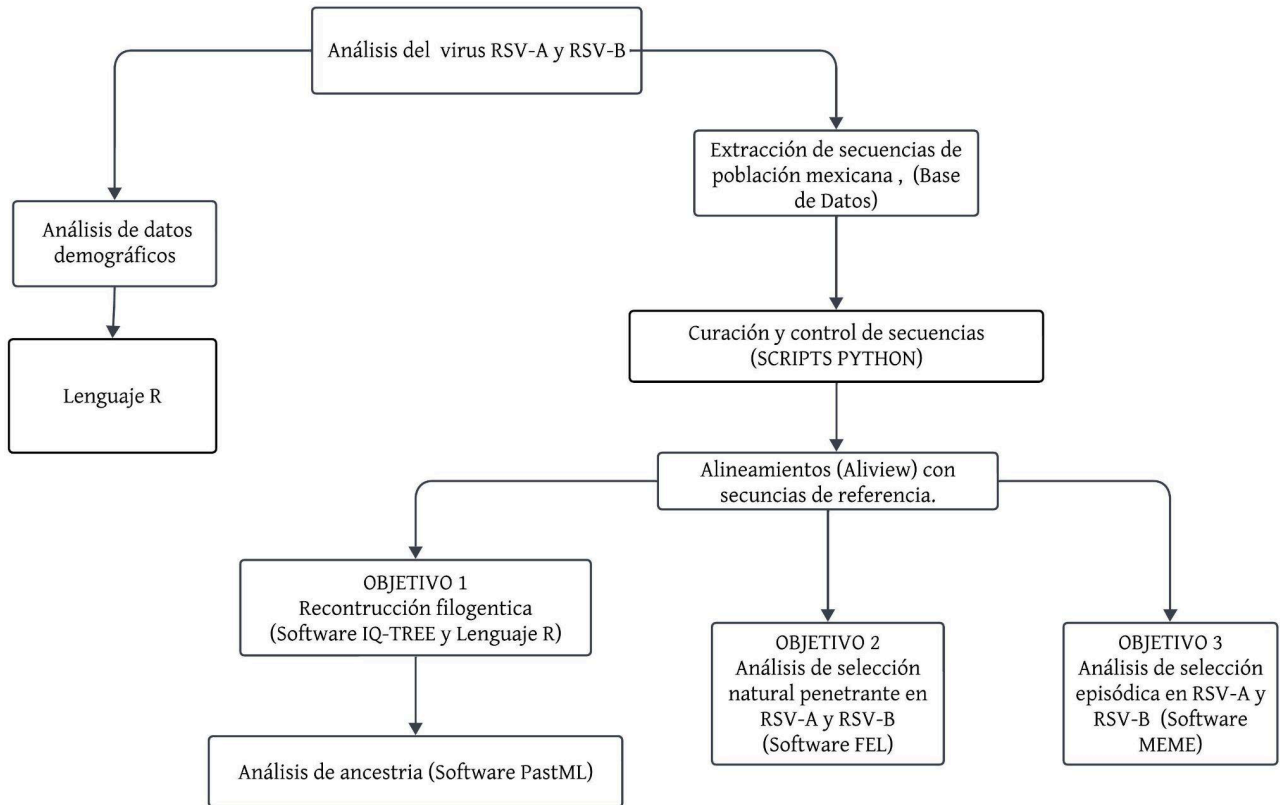


Figura 7 . Estrategia de trabajo para llevar a cabo este proyecto “*in silico*”.

7. Metodología

7.1 Análisis de datos demográficos

Se llevó a cabo un estudio exhaustivo de las características demográficas de los pacientes cuyas muestras fueron incluidas en este análisis. Los datos analizados incluyen información relativa a la edad y al sexo de los pacientes, aspectos que se consideran determinantes para comprender patrones epidemiológicos asociados con los subtipos de este virus. Se generaron dos gráficas de barras para RSV-A y RSV-B utilizando la librería ggplot2 (Wickham H 2016.), del lenguaje de programación R versión 3.3.0 R Core Team (2016). Este análisis se hizo con el propósito de identificar y analizar posibles diferencias demográficas entre los pacientes infectados por los diferentes tipos del virus respiratorio sincicial (RSV). Los metadatos originales recopilados se presentan en detalle correspondiente del **Anexo III**, los cuales representan un conjunto de datos crudos fundamentales para contextualizar y sustentar este análisis. A fin de garantizar un enfoque estructurado y simplificado para su interpretación, los datos utilizados fueron seleccionados **Anexo IV**, específicamente para incluir las variables mencionadas, excluyendo cualquier otro factor no relevante a los objetivos planteados en este apartado del estudio. Finalmente en el **Anexo V** se presenta el script utilizado para la realización y visualización de este análisis.

7.2 Obtención y Selección de Secuencias

A partir de 203 muestras de pacientes hospitalizados en México, se obtuvieron secuencias completas del gen G correspondientes a los subgrupos A y B del virus respiratorio sincicial (RSV). Adicionalmente, para complementar los análisis, se descargaron 1,963 secuencias de RSV disponibles en la base de datos GISAID (<https://gisaid.org/>). De estas secuencias 971 corresponden al tipo A y 992 al tipo B.

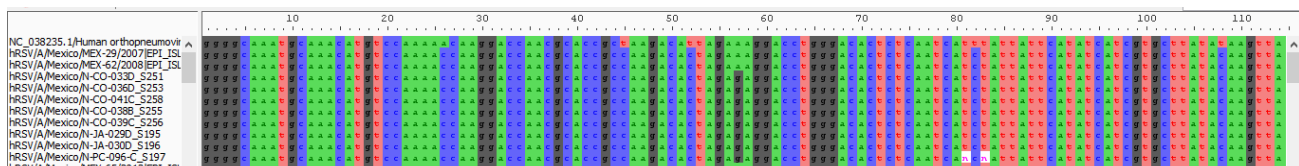
Debido al formato original proporcionado por la base de datos, se realizaron modificaciones en los nombres de las secuencias con el objetivo de homogeneizarlas y organizarlas de manera más estructurada. En el **Anexo I** se presenta la tabla de metadatos generada a partir de las muestras analizadas, mientras que en el **Anexo II** se detalla la organización de los nombres de las secuencias por región.

7.3 Alineamiento múltiple de secuencias

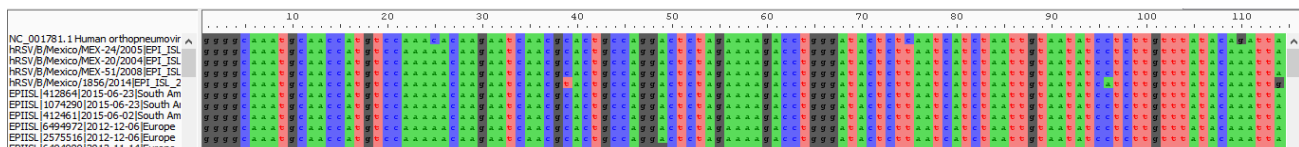
Con el fin de garantizar la calidad de las secuencias analizadas, se llevó a cabo un alineamiento múltiple utilizando la herramienta MAFFT, versión 7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/software/source.html>). Las secuencias se alinearon contra referencias de alta calidad correspondientes a: NC_038235.1: *Human orthopneumovirus* Subgrupo A, genoma completo y NC_001781.1: *Human orthopneumovirus* Subgrupo B, genoma completo.

Posteriormente, el alineamiento fue revisado en el software Aliview. Durante este proceso, se eliminaron aquellas secuencias que presentaban más del 5% de nucleótidos no determinados ("N"). Además, las secuencias fueron recortadas para incluir únicamente la región codificante del gen G.

RSV-A



RSV-B



Con el propósito de evitar posibles errores en el marco de lectura, se realizó una búsqueda adicional en la base de datos NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) para identificar y confirmar el marco de lectura correcto en ambas cepas con los siguientes números de acceso, en RSV- A:NC_ 002288.3 y RSV-B:NC_007598.2. Este análisis permitió eliminar codones de paro prematuros presentes en las secuencias. Finalmente, el alineamiento fue ajustado para conservar exclusivamente las regiones correspondientes a la proteína G codificante.

7.4 Reconstrucción filogenética

Se llevaron a cabo reconstrucciones filogenéticas de los subtipos RSV-A y RSV-B, utilizando el enfoque de máxima verosimilitud implementado en el software IQ-TREE} (Bui Quang,2020).

Las secuencias genómicas empleadas fueron previamente alineadas y sometidas a un proceso de curación, con el propósito de garantizar la integridad y calidad de los datos así como la precisión en los resultados.

Los árboles filogenéticos generados se visualizaron utilizando la versión 4.3.1 del lenguaje de programación R, R Core Team (2023) y el software especializado FigTree V1.4.4 (Rambaut, A. 2018). En el **Anexo VI** se incluye el script detallado empleado para la construcción y visualización de los árboles filogenéticos, proporcionando el flujo de trabajo. El objetivo principal de este análisis fue inferir las relaciones filogenéticas de los subtipos estudiados. Las representaciones gráficas obtenidas revelan nodos que corresponden a ancestros comunes y ramas que reflejan distancias genéticas, aportando información valiosa sobre los patrones de propagación geográfica, eventos de introducción y divergencias evolutivas. Estos hallazgos ofrecen una perspectiva integral de las dinámicas evolutivas del virus en diferentes regiones geográficas, incluido México.

7.5 Análisis de ancestría de cepas de RSV

Con el alineamiento curado de las secuencias de ambas cepas, y solo con la proteína G de interés, se realizó un análisis de ancestría en el servidor web *PASTML* (<https://pastml.pasteur.fr/>) con la finalidad de representar la evolución o el flujo de variantes de las secuencias a través del tiempo y el espacio, en este caso entre los continentes y/o regiones: South América, Oceanía, Europa, Asia, Africa, North America y México. Los círculos y hexágonos representan nodos que corresponden a grupos de las secuencias. El tamaño de los nodos indica el número de secuencias de ese grupo. Los nodos más grandes representan un número mayor de secuencias. Finalmente los colores en los nodos representan y/o están relacionados con la región de origen de las secuencias, por tanto, cada uno representa su región.

7.6 Análisis de selección natural penetrante en RSV-A y RSV-B

Con el propósito de determinar el papel de la selección natural penetrante en la evolución de los subtipos de RSV, se realizaron análisis, utilizando la herramienta bioinformática FEL (*Fixed Effects Likelihood*) de la plataforma *Datamonkey* (<https://www.datamonkey.org/>). Este enfoque permite identificar sitios específicos bajo selección positiva diversificante o selección purificadora mediante la comparación de tasas de sustitución sinónimas y no

sinónimas en secuencias alineadas. Previo a la utilización de la plataforma, se utilizó el servidor web CD-HIT disponible en (<https://github.com/weizhongli/cdhit/blob/master/doc/cdhit-user-guide.wiki>) con la finalidad de eliminar redundancia y duplicado de las secuencias a utilizar, ya que, FEL solo permite un número limitado de secuencias. Por lo tanto, se incluyeron un total de 236 secuencias de RSV-A y 414 de RSV-B. Posteriormente FEL determinó y/o evaluó los sitios no invariantes para identificar presiones de selección positiva diversificante ($p \leq 0.1$) y selección purificadora ($p \leq 0.1$).

7.7 Análisis de selección natural episódica en RSV-A y RSV-B

Para analizar el efecto de la selección natural episódica del RSV se utilizó la herramienta bioinformática MEME (*Mixed Effects Model of Evolution*) de la plataforma Datamonkey (<https://www.datamonkey.org/>), esta herramienta permite identificar sitios específicos en las secuencias genómicas bajo presión de selección positiva episódica, es decir, sitios que experimentan eventos de selección positiva de manera intermitente a lo largo del tiempo y/o de su historia evolutiva. Las secuencias que se utilizaron, son las mismas que se emplearon en el anterior objetivo. Los resultados generados por MEME fueron descargados en formato JSON y se analizaron a través de la herramienta de visualización complementaria (<http://vision.hyphy.org/MEME>). De esta manera se permitió interpretar gráficamente los sitios bajo selección positiva, facilitando el análisis comparativo entre los subtipos A y B del virus.

8. Resultados

8.1 Análisis de datos demográficos

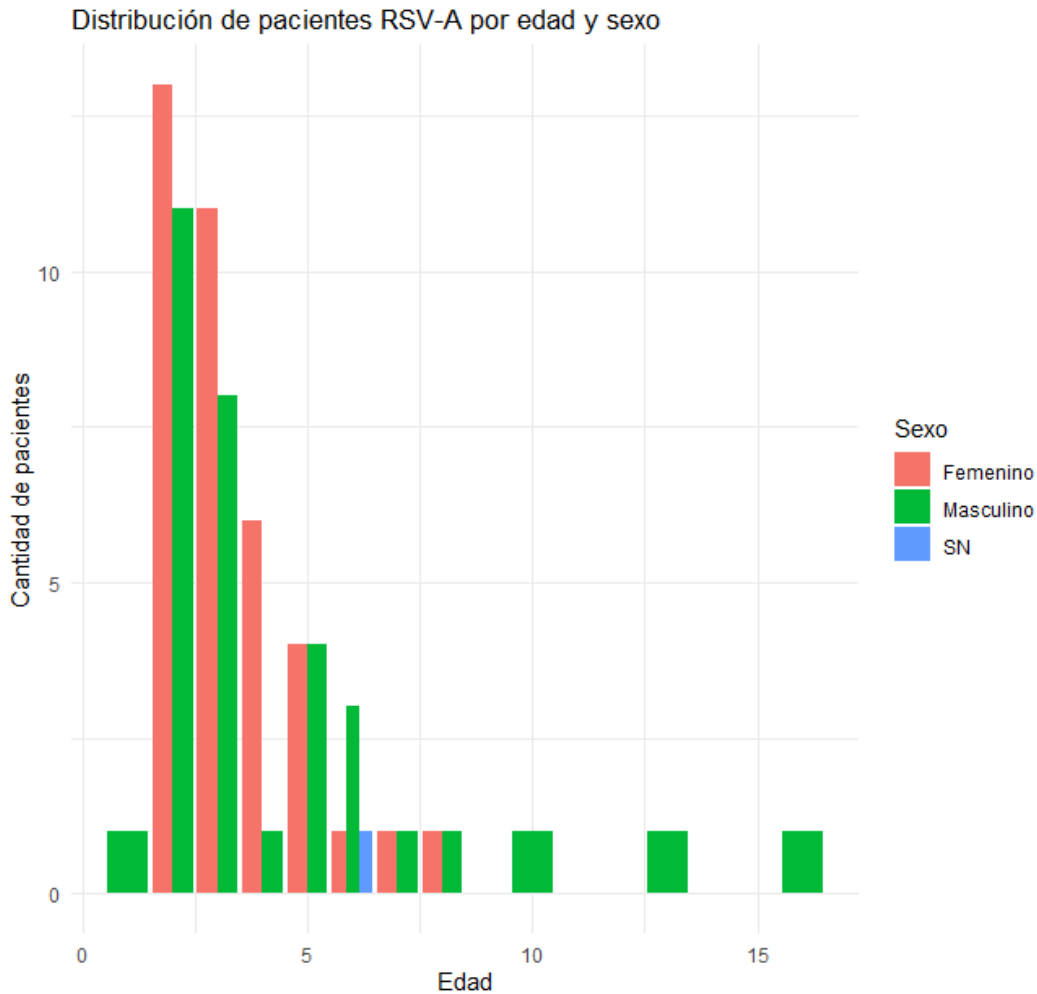


Figura 8. Distribución de pacientes positivos para RSV-A por rango de edad y género. Esta figura muestra las diferencias demográficas de pacientes infectados por RSV-A. El color rojo corresponde al sexo femenino y el color verde corresponde al masculino, el color azul corresponde a: SN (género no especificado). En el eje Y se observa la cantidad mientras que en el eje X las edades de los pacientes. Gráfica de barras construida con el software R versión 3.3.0.

En la figura 8 podemos observar que la mayoría de los pacientes son niños entre 0 y 5 años. En este gráfico los pacientes de sexo femenino son más frecuentes en el rango de edad de 0 a 2 años. En niños mayores de 5 años parece haber un ligero aumento en la proporción de pacientes del género masculino. SN da referencia a género no especificado de la base de datos y está presente en pacientes entre 5 y 10 años.

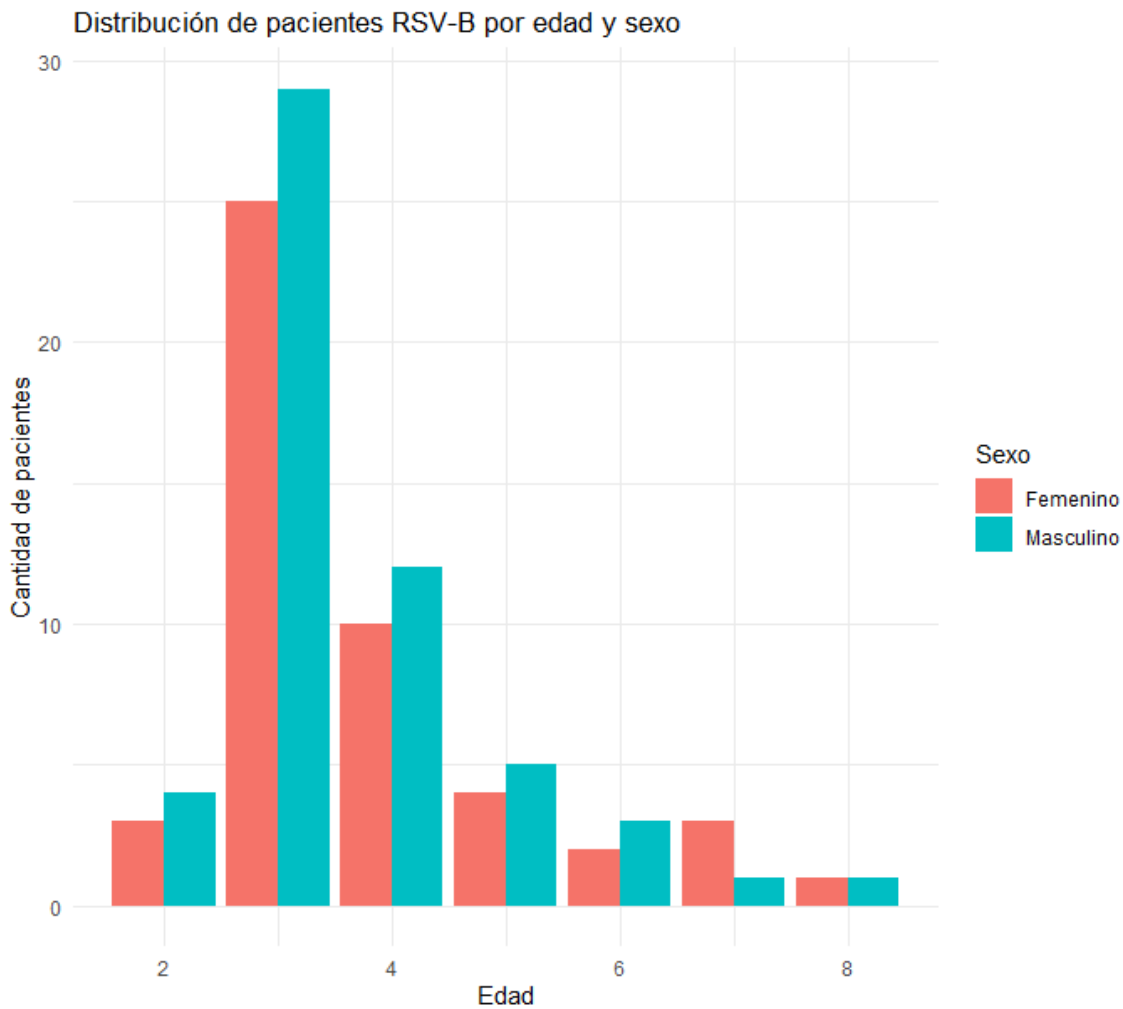


Figura 9. Distribución de pacientes positivos para RSV-B por rango de edad y género. Esta figura muestra las diferencias demográficas de pacientes infectados por RSV-B. El color rojo corresponde al sexo femenino y el color azul corresponde al masculino. En el eje Y se observa la cantidad mientras que en el eje X las edades de los pacientes. Gráfica de barras construida con el software R versión 3.3.0.

En la figura 9 se observa que, para la cepa RSV-B, parece haber una mayor proporción de pacientes masculinos en los rangos de 2 a 6 años, mientras que, en el caso de RSV-A, se identifica un ligero aumento en la frecuencia de pacientes femeninos. Cabe destacar que, tanto para RSV-A como para RSV-B, la mayor cantidad de infecciones se presenta en edades tempranas, principalmente en infantes menores de 5 años.

8.2 Reconstrucción filogenética de secuencias de RSV

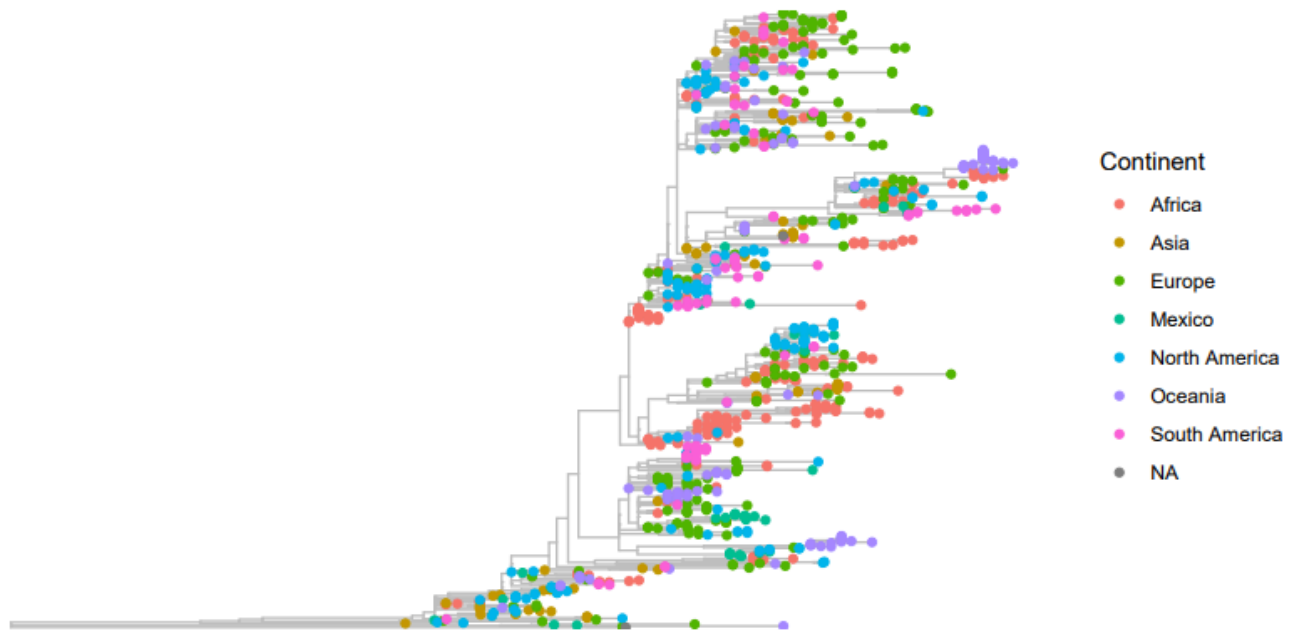


Figura 10. Reconstrucción filogenética en RSV-A.Árbol construido con un método de máxima verosimilitud con la región genómica correspondiente de la proteína G. Se muestra la filogenia construida con IQTREE, utilizando el modelo de sustitución GTR+F+R3, escalado por fecha de recolección. Los colores muestran la región de origen de las secuencias.

En la figura 10 se observan varios clados definidos entre los diferentes continentes, lo que podría estar relacionado con la propagación de divergencias geográficamente. Además, se observa que las secuencias de México (azul claro) parecen estar más dispersas en el árbol, sugiriendo así que las cepas de RSV en esta región han tenido múltiples eventos de introducción, así como una evolución independiente. En cuanto a la distancia genética en este árbol (RSV-A), las longitudes de las ramas parecen más largas, especialmente en los extremos derechos (no asociados a una parte del genoma, sino, a las secuencias más divergentes o más alejadas de la raíz). Esto indica que las cepas han acumulado una mayor cantidad de diferencias genéticas, probablemente debido a divergencias evolutivas prolongadas.

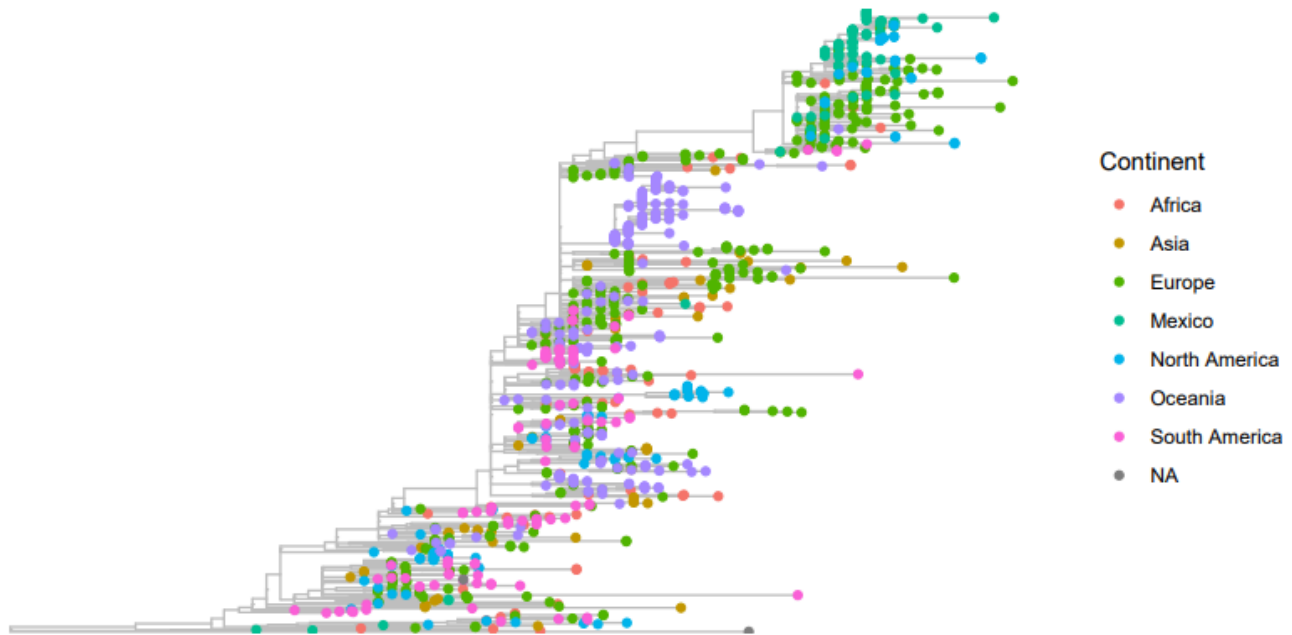


Figura 11. Reconstrucción filogenética en RSV-B. Árbol construido con el método de máxima verosimilitud con la región correspondiente de la proteína G. Se muestra la filogenia construida con IQTREE, utilizando el modelo de sustitución GTR+F+R4, escalado por fecha de recolección. Los colores muestran la región de origen de las secuencias.

En la figura 11 se observa una gran diversidad en las secuencias representadas por los puntos de colores que indican los diferentes continentes. Las secuencias de las distintas regiones parecen estar agrupadas en distintas subramas, lo que sugiere que existe diferenciación evolutiva por región, por tanto, los agrupamientos parecen ser relativamente claros, indicando divergencias evolutivas consistentes y posiblemente debido a la propagación geográfica y la evolución independiente de cada región. En cuanto a la distancia genética en este árbol (RSV-B) la longitud de las ramas indica el número de cambios de nucleótidos. Las secuencias más cercanas a la raíz (parte izquierda) son más similares al ancestro común, mientras que las que tienen ramas largas (parte derecha) han experimentado más divergencias evolutivas. Las distancias parecen relativamente cortas para la mayoría de las secuencias, pero en algunos grupos la mayor longitud de las ramas indica mayor divergencia genética dentro de esos grupos.

De manera general, en ambos árboles, el hecho de que los puntos de colores correspondientes a diferentes regiones no se mezclen completamente indica que, aunque existe transmisión global, las cepas tienden a evolucionar dentro de las áreas geográficas específicas.

Azul oscuro (secuencias de Asia), Rojo claro (secuencias de North América) y Naranja claro (secuencias de South América).

Como se observa en la figura 12 hay una gran distribución de las secuencias entre África, Oceanía y Europa, representados por nodos relativamente grandes. Los nodos de México aparecen en verde más oscuro y están conectados con Europa, lo que sugiere que las secuencias que pertenecen a México están genéticamente más relacionadas con las variantes europeas. Las conexiones entre los nodos (líneas) indican las trayectorias evolutivas, si una línea conecta dos nodos significa que hay una relación evolutiva entre esas secuencias. Se puede observar que hay una conexión fuerte entre los nodos que representan a las regiones geográficas de México y Europa.

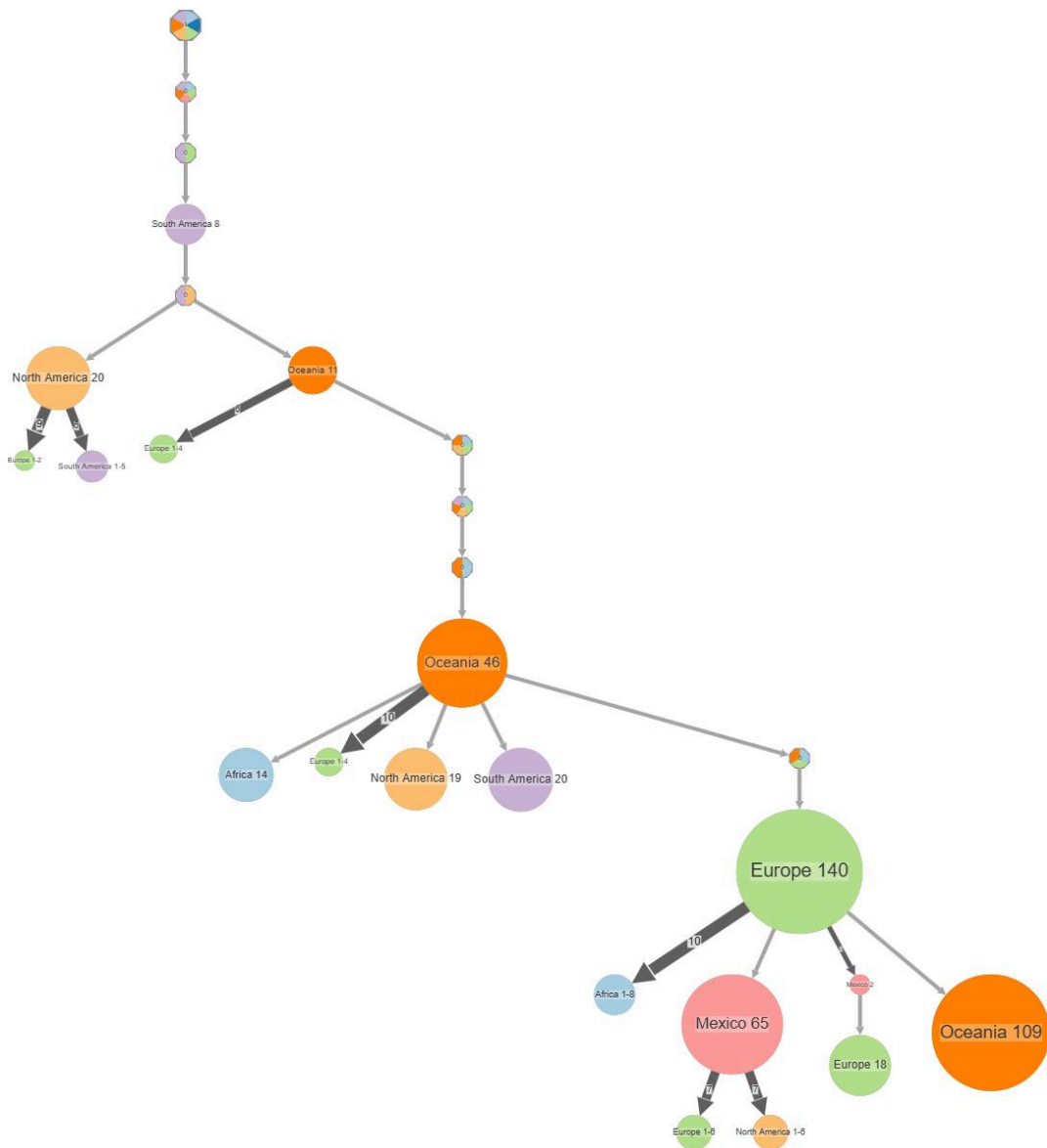


Figura 13. Reconstrucción de Estados Ancestrales del Sitio de Muestreo de RSV-B. En esta figura se presenta la reconstrucción de los sitios de muestreo correspondientes a las secuencias de RSV-B calculado con *PastML*. Los colores corresponden a la región geográfica de origen de las secuencias, el tamaño de los nodos corresponde al número de secuencias (entre más grande el nodo, mayor número de secuencias). Finalmente el hexágono (nodo interno) corresponde al ancestro común de las secuencias. Rojo claro (secuencias de México), Verde claro (secuencias de Europa), Azul claro (secuencias de África), Morado (secuencias South América y Naranja oscuro (secuencias de Oceanía) y Naranja claro (secuencias de North América)

Como se observa en la figura 13, los nodos correspondientes a secuencias de México están conectados con secuencias provenientes de Europa y en menor medida, con nodos de África y Oceanía. Los nodos europeos aparecen agrupados con otras secuencias, lo que sugiere una posible influencia significativa de Europa en la distribución de variantes. Este patrón contrasta con lo observado en el gráfico correspondiente a RSV-B, donde la influencia de Europa parece menos marcada.

Por tanto, en ambos árboles de reconstrucción ancestral en RSV-A y RSV-B México parece estar principalmente conectado con Europa, lo que puede indicar que las variantes en México han tenido una fuerte influencia europea. También hay una presencia significativa de conexiones con Oceanía y África, lo que sugiere un intercambio genético con esas regiones. Las reconstrucciones de nodos ancestrales muestran propagación evolutiva entre las regiones geográficas, en donde Europa se muestra como un punto importante de origen o relacionado con el resto de las regiones.

8.4 Selección natural penetrante en cepas de RSV

En selección positiva diversificante se detectaron 15 sitios en RSV-A y 18 sitios en RSV-B. Estos sitios indican una presión evolutiva que favorece la variabilidad en estas posiciones, lo que podría estar relacionado con mecanismos de evasión inmune o adaptación a nuevas condiciones ambientales. Mientras que, en selección purificadora se identificaron 72 sitios en RSV-A y 112 sitios en RSV-B. Estos resultados se observan en las tablas 3 y 4. Análisis de selección positiva sitio por sitio en ambas subtipos de RSV, y nos sugieren que mutaciones en estas posiciones podrían ser deletéreas, lo que lleva a la conservación de secuencias esenciales para la función viral. Asimismo, Las tablas 3 y 4 sugieren que varios sitios específicos en los genomas de los subtipos RSV-A y RSV-B están bajo presión selectiva positiva.

8.4.1 Presión selectiva en RSV-A

En el análisis de las regiones codificantes de las secuencias del subtipo RSV-A, los siguientes codones que presentan presión selectiva positiva: **Codón 278**: p -Value = 0.0001, **Codón 327**: p -Value = 0.0004 y **Codón 289**: p -Value = 0.0046. son los que presentan los valores de p más bajos, indicando alta significancia estadística. Estos codones están sujetos a una fuerte presión selectiva positiva, particularmente los codones 278 y 327, que muestran una significancia estadística excepcionalmente alta. Si estos codones se encuentran en regiones críticas de las proteínas F o G, es posible que las mutaciones en estas posiciones estén promoviendo alteraciones funcionales, como la variación en las regiones de interacción con receptores celulares o anticuerpos del huésped.

Tabla 3. Análisis de selección positiva: sitio por sitio en RSV-A

Partición	Codón	Tasa de sustituciones sinónimas (Alpha)	Tasa de sustituciones no sinónimas (Beta)	Sitios que pueden estar bajo selección positiva o purificadora (Alpha=Beta)	Prueba de razón de verosimilitud (LRT)	Nivel de significancia (P-Value)	Longitud total de la rama	clase
1	20	0.000	0.955	0.522	3.617	0.0572	1.078	Diversificadora
1	106	0.000	1.165	0.968	3.350	0.0672	1.998	Diversificadora
1	108	0.000	0.663	0.968	3.372	0.0663	0.634	Diversificadora

1	120	0.300	1.391	0.958	2.895	0.0889	1.978	Diversificadora
1	127	0.259	1.370	0.883	3.575	0.0586	1.822	Diversificadora
1	260	0.000	2.488	1.070	11.746	0.0006	2.209	Diversificadora
1	278	0.305	5.023	2.696	16.514	0.0000	5.565	Diversificadora
1	279	1.805	5.981	4.711	4.987	0.0255	9.725	Diversificadora
1	289	0.000	1.342	0.689	8.038	0.0046	1.422	Diversificadora
1	302	0.269	2.968	1.620	9.614	0.0019	3.344	Diversificadora
1	303	1.112	3.424	2.790	2.907	0.0882	5.758	Diversificadora
1	313	0.829	2.757	1.978	3.030	0.0817	4.084	Diversificadora
1	319	0.680	3.545	2.451	7.134	0.0076	5.060	Diversificadora
1	326	0.000	3.003	2.395	3.190	0.0741	4.943	Diversificadora
1	327	0.385	5.057	3.033	12.643	0.0004	6.260	Diversificadora

8.4.2 Presión selectiva en RSV-B

En el análisis de las regiones codificantes de las secuencias del subtipo RSV-B, los siguientes codones que presentan presión selectiva positiva: **Codón 159**: p -Value = 0.0035, **Codón 257**: p -Value = 0.0358, **Codón 222**: p -Value = 0.0005 y **Codón 273**: p -Value = 0.0003 son los que presentan los valores de p más bajos. Entre estos, los codones 222 y 296 destacan por su alta significancia estadística. En particular, el codón 222 ha sido asociado en otros estudios con cambios en las propiedades de unión al receptor lo que podría influir en la interacción del virus con los receptores celulares del huésped. (Chutinimitkul et al., 2010 ; Belser et al., 2011). Las mutaciones en estas posiciones, especialmente por su localización en la proteína F, podrían afectar directamente la eficiencia de fusión del virus y su capacidad para infectar nuevas células. Aunque los codones 257 y 159 muestran menor significancia estadística, también están bajo selección positiva.

Tabla 4 . Análisis de selección positiva: sitio por sitio en RSV-B.

Partición	Codón	Tasa de sustituciones sinónimas (Alpha)	Tasa de sustituciones no sinónimas (Beta)	Sitios que pueden estar bajo selección positiva o purificadora (Alpha=Beta)	Prueba de razón de verosimilitud (LRT)	Nivel de significancia (P-Value)	Longitud total de la rama	clase
-----------	-------	---	---	---	--	----------------------------------	---------------------------	-------

1	9	0.000	0.942	0.509	4.904	0.0268	1.833	Diversificadora
1	17	0.000	0.328	0.158	2.922	0.0874	0.567	Diversificadora
1	20	0.000	0.541	0.225	3.498	0.0615	0.810	Diversificadora
1	95	0.000	1.237	0.797	7.055	0.0079	2.866	Diversificadora
1	103	0.368	1.672	1.050	5.043	0.0247	3.780	Diversificadora
1	159	0.000	1.162	0.493	8.548	0.0035	1.775	Diversificadora
1	198	0.000	0.541	0.225	3.493	0.0616	0.811	Diversificadora
1	222	0.479	4.094	2.888	16.184	0.0001	10.391	Diversificadora
1	236	0.000	2.245	1.885	3.139	0.0765	6.783	Diversificadora
1	257	0.938	4.812	4.304	4.406	0.0358	15.489	Diversificadora
1	270	0.726	3.922	3.425	4.756	0.0292	12.325	Diversificadora
1	273	0.964	3.918	2.682	13.098	0.0003	9.652	Diversificadora
1	286	0.195	1.168	0.518	2.900	0.0886	1.865	Diversificadora
1	290	0.278	5.612	3.676	23.578	0.0000	13.28	Diversificadora
1	296	0.000	0.931	0.508	4.869	0.0273	1.827	Diversificadora
1	308	0.193	1.818	1.137	8.593	0.0034	4.093	Diversificadora
1	315	0.481	1.581	1.190	3.124	0.0772	4.282	Diversificadora
1	319	0.173	1.048	0.642	4.226	0.0398	2.310	Diversificadora

8.4.3 Implicaciones evolutivas y funcionales de las cepas de RSV

Los sitios identificados bajo selección positiva en ambos subtipos de RSV, particularmente aquellos con valores de significancia estadística extremadamente alta (278, 327, 222 y 296), son de gran interés. Estas posiciones podrían estar desempeñando un papel clave en la adaptación del virus a las presiones del entorno, incluyendo la interacción con el sistema inmune del huésped. Además, se ha planteado que estas mutaciones podrían generar cambios estructurales y funcionales en las proteínas F y G, impactando directamente en la capacidad del virus para evadir el sistema inmune y aumentar su eficiencia de transmisión. (Huong et al., 2024).

8.4.4 Interpretación de los resultados entre RSV-A y RSV-B

Ambos subtipos de RSV presentan sitios bajo selección positiva y purificadora, lo que refleja un equilibrio entre las presiones adaptativas y la conservación funcional en el genoma viral. Sin embargo, el subtipo RSV-B mostró un mayor número de sitios bajo selección purificadora, lo que sugiere una mayor estabilidad y conservación en ciertas regiones genómicas en comparación con RSV-A. Este patrón podría estar asociado con diferencias en las estrategias evolutivas y funcionales entre los subtipos, lo que refuerza la importancia de la investigación de los procesos de selección natural en la evolución diferencial de ambos. Por lo tanto, los resultados subrayan el papel central de la selección natural en la adaptación del RSV y destacan la necesidad de profundizar en el análisis de los sitios identificados, con el fin de comprender mejor los mecanismos evolutivos y desarrollar intervenciones más efectivas contra este virus.

8.5 Selección episódica en cepas de RSV

Tabla 5. Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-A.

Sitio	Partición	Tasa de sustitución sinónima (ds) (α)	Tasa de sustitución no sinónima (dn) (β -)	Porción de ramas (p -)	sitio está bajo selección positiva (β +))	La proporción de ramas está experimentando o selección positiva en ese sitio. (p +))	Estadístico de prueba de razón de verosimilitud (LRT)	Valor de significancia estadística asociada al LRT (P-value)	#Ramas bajo selección	#Longitud total de las ramas
260	1	0.0	0.0	0.0	10.44	1.0	11.75	0.0	4.0	0.0
302	1	01.07	0.56	0.0	24.19	1.0	9.64	0.0	0.0	0.0
168	1	01.06	0.3	0.0	1014.66	1.0	10.18	0.0	1.0	0.0
278	1	1.21	0.1	0.0	20.16	1.0	16.52	0.0	10.0	0.0
327	1	1.83	0.74	0.0	2477.76	1.0	50.59	0.0	11.0	0.0
78	1	0.9	0.12	0.0	7581.09	1.0	07.04	0.01	3.0	0.0
289	1	0.0	0.0	0.0	5.41	1.0	08.05	0.01	5.0	0.0
319	1	2.68	0.23	0.0	14.19	1.0	7.13	0.01	0.0	0.0
326	1	0.0	0.0	0.0	78.47	1.0	5.83	0.02	3.0	0.0
279	1	7.28	0.15	0.0	24.49	1.0	4.98	0.04	5.0	0.0
255	1	02.05	0.0	0.0	60.63	1.0	4.35	0.05	6.0	0.0

291	1	1.69	0.0	0.0	50.48	1.0	4.2	0.06	5.0	0.0
183	1	7.54	0.0	0.0	202.52	1.0	4.24	0.06	2.0	0.0
127	1	01.03	0.06	0.0	5.49	1.0	3.58	0.08	0.0	0.0
20	1	0.0	0.0	0.0	3.77	1.0	3.62	0.08	2.0	0.0

Tabla 5. Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-A. Este análisis se realizó con la herramienta MEME de *Datamonkey*, se muestran los parámetros de selección natural episódica para diferentes sitios en las secuencias de RSV-A. (α) Tasa de sustitución sinónima dS que representa la tasa de evolución bajo selección purificadora o neutral), (β -) tasa de sustitución no sinónima dN cuando se asume que el sitio está bajo selección purificadora o neutral, (p -) porción de ramas que siguen el modelo $\beta \rightarrow \alpha$ selección negativa o neutralidad (β +) Tasa de sustitución no sinónima cuando el sitio está bajo selección positiva, (**LRT**) Estadístico de prueba de razón de verosimilitud utilizado para evaluar si hay evidencia de selección positiva en un sitio determinado (**P-value**) Valor de significancia asociado al LRT, que indica si la selección positiva es estadísticamente significativa en ese sitio

En la tabla 5 se observa, que el sitio 20 (sombreado) es estadísticamente significativo ($p < 0.05$) y presentan posiciones bajo presión de selección episódica positiva. Por lo tanto, el análisis muestra que el sitio 20 tiene un p -value significativo (0.08), lo que indica que este sitio está influenciado por selección positiva episódica en al menos algunas ramas del árbol filogenético, que arroja también MEME. Este fenómeno sugiere que el sitio puede ser clave en procesos evolutivos y que confieren ventajas adaptativas intermitentes, posiblemente relacionadas con interacciones específicas con el huésped o la evasión de la respuesta inmune. El valor elevado de beta+ (3.77) refuerza esta idea, indicando tasas de sustitución no sinónima positivas en este sitio, comparativamente mayores que las tasas de sustitución sinónima.

Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-A

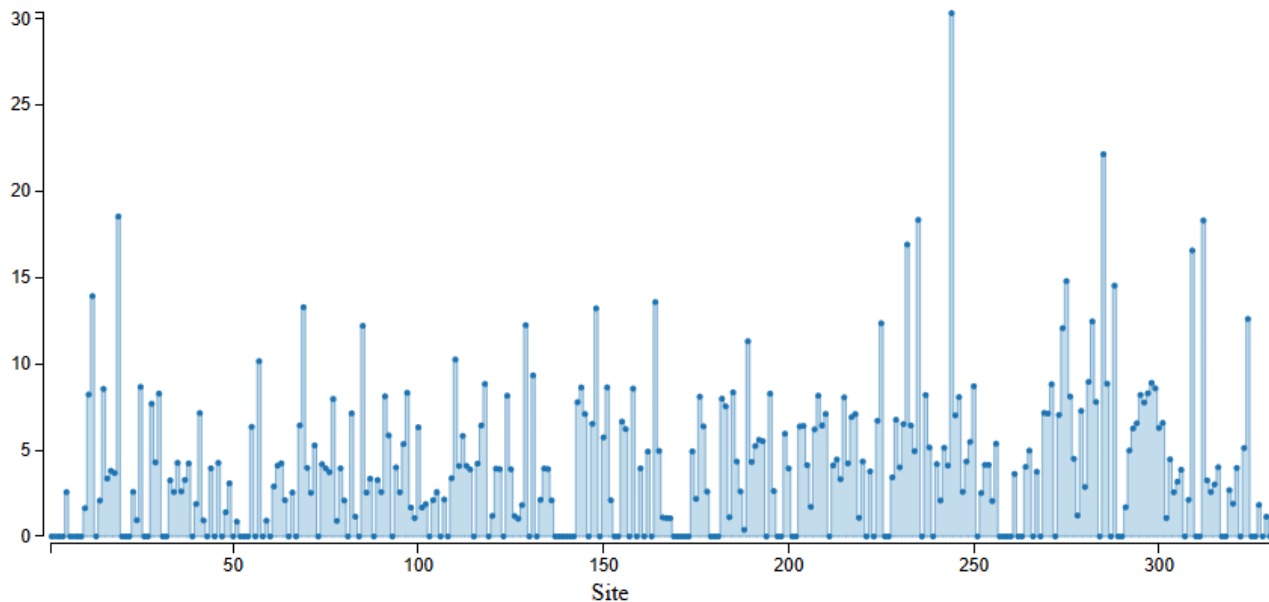


Figura 14. Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-A. En esta figura se muestra la distribución de los valores de selección episódica en cada sitio analizado. El eje X representa la posición del sitio de secuencia, mientras que, el eje Y indica la magnitud del parámetro de selección positiva episódica (β^+). Los picos corresponden a sitios con mayores tasas de sustitución no sinónimas bajo selección positiva episódica en cada sitio.

El gráfico de la Figura 14 muestra una distribución heterogénea de selección natural episódica a lo largo de los sitios de las secuencias del subtipo RSV-A, además, con varios picos prominentes que reflejan sitios sometidos a presiones selectivas. Los sitios con valores altos de β^+ como se muestra en la figura, son aquellos cercanos a las posiciones 250 y 327, sugiriendo que se trata de regiones genómicas que experimentan cambios adaptativos, ahora bien, los picos menores que se observan, sugiere que, otras posiciones también contribuyen a la evolución adaptativa del virus, aunque de forma menos consistente. Dependiendo de factores como el sistema inmune del hospedero, o de las condiciones ambientales, este patrón es consistente con virus altamente dinámicos que enfrentan presiones selectivas específicas. Estos resultados nos sugieren que, las regiones identificadas podrían tener relación con funciones biológicas con el virus (interacción con receptores del hospedero, y/o evasión de la respuesta inmunológica).

Tabla 6. Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-B.

Sitio	Partición	Tasa de sustitución sinónima (ds) (α)	Tasa de sustitución no sinónima (dn) (β -)	Porción de ramas (p -)	sitio está bajo selección positiva (β +)	La proporción de ramas está experimentando selección positiva en ese sitio. (p +)	Estadístico de prueba de razón de verosimilitud (LRT)	Valor de significancia estadística asociada al LRT (P-value)	#Ramas bajo selección	#Longitud total de las ramas
273	1	4.54	0.18	0.0	18.53	1.0	13.1	0.0	0.0	0.0
290	1	1.31	0.11	0.0	26.53	1.0	23.58	0.0	13.0	0.0
222	1	2.3	0.14	0.0	19.37	1.0	16.18	0.0	11.0	0.0
308	1	0.89	0.0	0.0	100.93	1.0	12.28	0.0	12.0	0.0
230	1	9.39	1.95	0.0	1384.59	1.0	8.14	0.01	14.0	0.0
158	1	3.17	0.0	0.0	9472.75	1.0	8.32	0.01	1.0	0.0
317	1	4.14	0.0	0.0	140.55	1.0	7.36	0.01	8.0	0.0
159	1	0.0	0.0	0.0	5.7	1.0	8.55	0.01	5.0	0.0
95	1	0.0	0.0	0.0	5.77	1.0	07.05	0.01	8.0	0.0
103	1	1.77	0.61	0.0	39.18	1.0	6.34	0.02	1.0	0.0
9	1	0.0	0.0	0.0	4.53	1.0	4.9	0.04	3.0	0.0
270	1	3.46	0.37	0.0	18.57	1.0	4.76	0.04	0.0	0.0
236	1	0.0	0.0	0.0	74.96	1.0	5.14	0.04	8.0	0.0
296	1	0.0	0.0	0.0	4.48	1.0	4.87	0.04	4.0	0.0
257	1	4.46	0.37	0.0	22.78	1.0	4.41	0.05	0.0	0.0
254	1	1.89	0.3	0.0	44.35	1.0	4.42	0.05	12.0	0.0
119	1	5.2	0.0	0.0	158.05	1.0	4.59	0.05	3.0	0.0
319	1	0.84	0.2	0.0	4.91	1.0	4.22	0.06	7.0	0.0
315	1	2.22	0.58	0.0	146.27	1.0	04.08	0.06	9.0	0.0
161	1	2.46	0.0	0.0	2396.71	1.0	3.75	0.07	2.0	0.0
198	1	0.0	0.0	0.0	2.61	1.0	3.49	0.08	2.0	0.0
20	1	0.0	0.0	0.0	5.61	1.0	3.51	0.08	2.0	0.0

Tabla 6 Análisis de selección natural episódica en sitios específicos de RSV-B: En la la tabla se muestran los resultados obtenidos mediante MEME de Datamonkey, donde se muestran los parámetros de selección

episódica para diferentes sitios en las secuencias de RSV-B. (α) Tasa de sustitución sinónima dS que representa la tasa de evolución bajo selección purificadora o neutral), (β -) tasa de sustitución no sinónima dN cuando se asume que el sitio está bajo selección purificadora o neutral, (p -) porción de ramas que siguen el modelo $\beta \rightarrow \alpha$ selección negativa o neutralidad (β +) Tasa de sustitución no sinónima cuando el sitio está bajo selección positiva, (LRT) Estadístico de prueba de razón de verosimilitud utilizado para evaluar si hay evidencia de selección positiva en un sitio determinado (P-value) Valor de significancia asociado al LRT, que indica si la selección positiva es estadísticamente significativa en ese sitio

En la tabla 6 se observa que el sitio 9 muestra un valor estadísticamente significativo ($p=0.04$) y un valor de β + elevado (4.53) así como, el sitio 20 con un valor significativo ($p=0.08$) con un valor de β + de (5.61). Lo que nos indica que ambos sitios están bajo selección episódica positiva. Cabe mencionar que, aunque los sitios próximos también se pueden considerar bajo selección positiva sitio 103 (β + = 39.18, $p=0.02$) y el 273 (β + = 18.53, $p=0.00$), su significancia no es tan alta.

Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-B

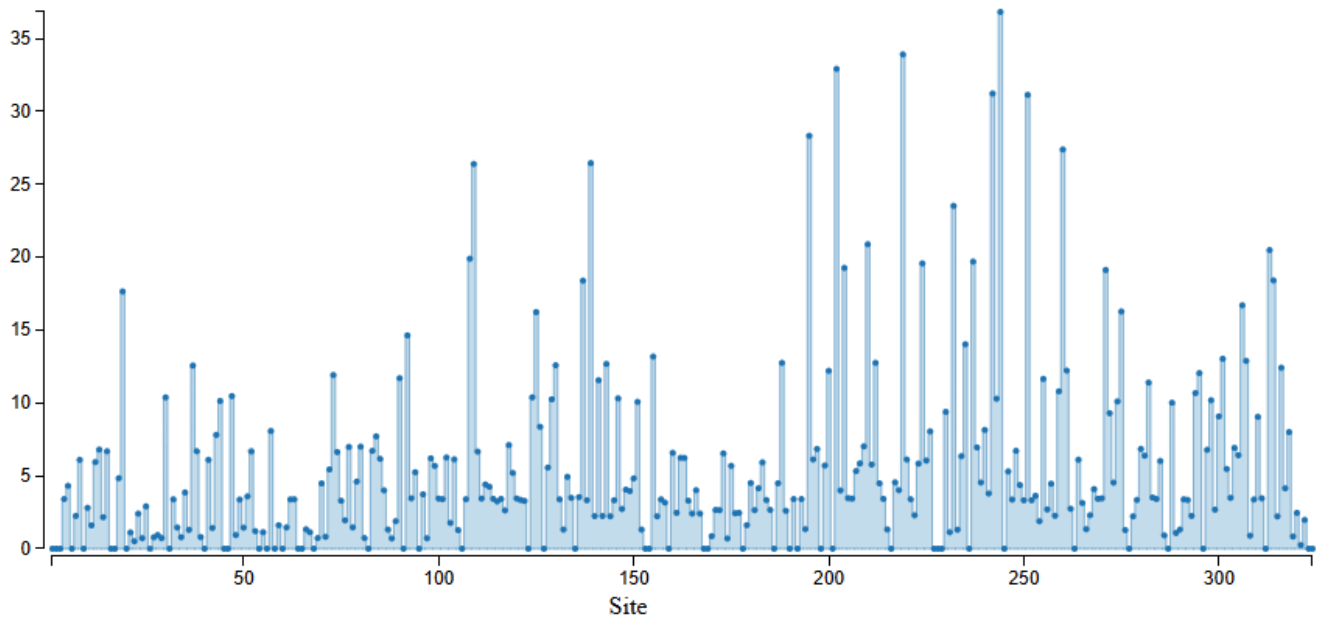


Figura 15. Gráfico del análisis de selección episódica en sitios específicos en RSV-B. En esta figura se muestra la distribución de los valores de selección episódica en cada sitio analizado. El eje X representa la posición del sitio de secuencia, mientras que, el eje Y indica la magnitud del parámetro de selección positiva episódica (β +). Los picos corresponden a sitios con mayores tasas de sustitución no sinónimas bajo selección positiva episódica en cada sitio.

En la figura 15 se observa que la gráfica destaca varios picos a lo largo de los sitios genómicos, indicando regiones sometidas a una fuerte selección positiva episódica, en el sitio 200 y 250 los valores son más altos, y permiten inferir que están relacionados a funciones o adaptaciones del virus, particularmente en RSV-B. Aunque hay varios picos sobresalientes, a diferencia de RSV-A, muchos sitios muestran valores bajos o nulos, lo que sugiere que la selección episódica es puntual y específica en ciertas regiones genómicas. Ambas gráficas tanto en RSV-A como en RSV-B apoyan los resultados tabulados, identificando visualmente los sitios bajo presión selectiva. Se hace mención de los valores de β^+ , ya que estos son de interés para estudios funcionales o estructurales.

9. Discusión

En el presente estudio se aporta evidencia importante sobre la dinámica evolutiva del RSV en México, un país con escasa representación en estudios genómicos globales.

-Dinámica evolutiva y diversidad genética

Las reconstrucciones filogenéticas muestran que las cepas de RSV-A y RSV-B presentan múltiples introducciones desde Europa, con evolución independiente posterior. Este patrón concuerda con estudios globales que identifican a Europa como un nodo crítico en la dispersión de variantes de RSV, favorecido por la conectividad geográfica y flujos poblacionales. (Nair et al., 2010; Agoti et al., 2015). Sin embargo, la dispersión observada en clados de las secuencias mexicanas sugiere adaptaciones locales, un fenómeno reportado previamente en países con alta diversidad viral como Brasil y Sudáfrica (Roca et al., 2001). La mayor longitud de ramas en RSV-A (Figura 10) respalda su tasa evolutiva más acelerada ($\sim 6.72 \times 10^{-4}$ sustituciones/sitio/año) comparada con RSV-B ($\sim 7.69 \times 10^{-4}$), consistente con la plasticidad genética descrita para este subtipo (Bose et al., 2015; Pangesti et al., 2023).

-Selección natural en proteínas clave

Se identificaron 15 y 18 sitios bajo selección positiva diversificante en RSV-A y RSV-B, respectivamente, localizados predominantemente en la proteína G. Sitios como el codón 278 (RSV-A) y 222 (RSV-B) mostraron significancia estadística excepcional ($p > 0.001$), coincidiendo con regiones hipervariables asociada a evasión inmune (Falsey & Walsh, 200; Yu et al., 2021). Estos resultados validan estudios funcionales que demuestran que mutaciones en la proteína G alteran la unión a receptores CX3CR1 y reducen la neutralización por anticuerpos (DeFord et al., 2019; Krivitskaya et al., 2021). Particularmente, el sitio 327 en RSV-A ($\beta^+ = 2477.76$) se localiza en un dominio de glicosilación, mecanismo que enmascara epítomos inmunodominantes, tal como se observó en variantes ON1 y BA9 (Tabor et al., 2020; Cantu-Flores et al., 2022).

-Selección episódica y presiones ambientales

Los análisis con MEME detectaron selección positiva episódica en sitios como el codón 20 (RSV-A) y 273 (RSV-B), asociados a brotes estacionales. Esto refleja adaptaciones intermitentes a cambios en la inmunidad poblacional o condiciones climáticas, un

fenómeno documentado durante la pandemia de la COVID-19, donde relajaciones en medidas sanitaria alteraron la estacionalidad del RSV (Hernandez et al., 2021; Stein & Zar 2023). Estudio en Kenia y Australia han vinculado estos patrones a fluctuaciones en la humedad y temperaturas, que modulan la transmisibilidad viral (Pitzer et al., 2015; Maloney et al., 2024).

-Otros hallazgos: Implicaciones para vacunas y terapias

La identificación de sitios bajo selección positiva en las proteínas G y F refuerza la necesidad de diseñar vacunas multivalentes que abarquen variantes circulantes. Los avances recientes, como la vacuna Abrysvo (dirigida a la prefusión de F), han demostrado eficacia del 82% en lactantes (Fleming-Dutra et al., 2023), pero su eficacia a largo plazo podría verse limitada por la deriva antigénica en los sitios aquí identificados. Esto subraya la urgencia de integrar vigilancia genómica en programas de inmunización, tal como se ha implementado para influenza (GISAID,2023). Además, el éxito de anticuerpos monoclonales como el Nirsevimab (83% de eficacia) resalta el potencial de terapias combinadas que ataquen tanto F como G (Nazir et al., 2023).

10. Conclusiones

Los resultados de este estudio enfatizan la importancia de implementar sistemas de vigilancia genética para monitorear la evolución del RSV y su impacto en la salud pública. La influencia predominante de las variantes europeas en México sugiere que las estrategias de control deben considerar la conectividad global y la posibilidad de reintroducción de variantes desde otras regiones.

A nivel local, la falta de estudios sistemáticos sobre la diversidad genética y los patrones filogenéticos del RSV en México representa una limitación significativa. Los resultados obtenidos destacan la necesidad de establecer programas de investigación y vigilancia que permitan identificar y caracterizar las variantes circulantes en el país. Esto no solo contribuiría a una mejor comprensión de la dinámica evolutiva del virus, sino que también abonará al diseño de intervenciones adaptadas a las necesidades locales. Los resultados de este estudio proporcionan evidencia robusta sobre la importancia de la diversidad genética y las presiones selectivas en la evolución del RSV. Estos hallazgos no solo enriquecen nuestra comprensión del virus, sino que también subrayan la necesidad de estrategias de vigilancia y control integrales que consideren tanto el contexto global como las particularidades locales, sobre todo en México.

11. Referencias Bibliográficas

1. Kinnear, E., Lambert, L., McDonald, J., Cheeseman, H., Caproni, L., & Tregoning, J. (2021). 738 Resident memory airway T cells protect against RSV infection in the absence of antibody.
2. Branche, A.R., Falsey, A.R. Respiratory Syncytial Virus Infection in Older Adults: An Under-Recognized Problem. *Drugs Aging* 32, 261-269 (2015). <https://doi.org/10.1007/s40266-015-0258-9>
3. Sidwell, R.W., & Barnard, D.L. (2006). Respiratory syncytial virus infections: recent prospects for control. *Antiviral research*, 71 2-3, 379-90 . <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.05.014>
4. Jorquera, P. A., & Tripp, R. A. (2017). Respiratory syncytial virus: prospects for new and emerging therapeutics. *Expert review of respiratory medicine*, 11(8), 609-615.
5. Walsh1 , 2, E. (2011). Respiratory Syncytial Virus Infection in Adults. *Semin Respir Crit Care Med*, 32, 423 - 432. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1283282>
6. Marianna Martinelli, Elena Rosanna Frati, Alessandra Zappa, Erika Ebranati, Silvia Bianchi, Elena Pariani, Antonella Amendola, Gianguglielmo Zehender, Elisabetta Tanzi, E. (2014). Phylogeny and population dynamics of respiratory syncytial virus (Rsv) A and B. *Virus research*, 189, 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.06.006>
7. Tan, L., Lemey, P., Houspie, L., Viveen, M. C., Jansen, N. J., van Loon, A. M., Wiertz, E., van Bleek, G. M., Martin, D. P., & Coenjaerts, F. E. (2012). Genetic variability among complete human respiratory syncytial virus subgroup A genomes: bridging molecular evolutionary dynamics and epidemiology. *Plo one*, 7(12), e51439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051439>
8. DeFord, D. M., Nosek, J. M., Castiglia, K. R., Hasik, E. F., Franke, M. E., Nick, B. C., Abdelnour, A. M., Haas, C. E., Junod, N. A., Latsko, K. N., Moore, M. L., Berthrong, S. T., Rostad, C. A., & Stobart, C. C. (2019). Evaluation of the role of respiratory syncytial virus surface glycoproteins F and G on viral stability and replication: implications for future vaccine design. *The Journal of general virology*, 100(7), 1112-1122. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001287>

9. Stec, D. S., Hill, M. G., 3rd, & Collins, P. L. (1991). Sequence analysis of the polymerase L gene of human respiratory syncytial virus and predicted phylogeny of nonsegmented negative-strand viruses. *Virology*, 183(1), 273–287. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90140-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90140-7)
10. Martín-Torres, F., & González-Barcala, F. J. (2022). ¿Dónde se esconde el virus respiratorio sincicial? [Where does Respiratory Syncytial Virus Hide?]. *Archivos de bronconeumología*, 58(4), 298–299. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.06.007>
11. Krilov L. (2019). Respiratory syncytial virus infection treatment & management. *Emedicine*. Retrieved February 6, 2021.
12. Centers for Disease Control and Prevention. (2018). Respiratory syncytial virus infection (RSV): trends and surveillance. Graham B, Barr F. (2020). Respiratory syncytial virus infection: Treatment. *UpToDate*. Retrieved Feb 6, 2021.
13. Díaz, P. V., Avendaño, L. F. (2017). El virus respiratorio sincicial: patógeno de niños... y de grandes. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*, 33(4), 293-302.
14. Jiang MY, Duan YP, Tong XL, et al. Clinical manifestations of respiratory syncytial virus infection and the risk of wheezing and recurrent wheezing illness: a systematic review and meta-analysis. *World J Pediatr*. 2023;19(11):1030-1040. doi:10.1007/s12519-023-00743-5
15. Braun, M. R., Noton, S. L., Blanchard, E. L., Shareef, A., Santangelo, P. J., Johnson, W. E., & Fearn, R. (2021). Respiratory syncytial virus M2-1 protein associates non-specifically with viral messenger RNA and with specific cellular messenger RNA transcripts. *PLoS pathogens*, 17(5), e1009589. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009589>
16. Tejada, S., Martínez-Reviejo, R., Karakoc, H. N., Peña-López, Y., Manuel, O., Rello, J. (2022). Ribavirin for Treatment of Subjects with Respiratory Syncytial Virus-Related Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Advances in therapy*, 39(9), 4037–4051. <https://doi.org/10.1007/s12325-022-02256-5>
17. Gonzales, T., Bergamasco, A., Cristarella, T., Goyer, C., Wojdyla, M., Oladapo, A., Sawicky, J., Yee, J., & Moride, Y. (2023). Effectiveness and Safety of Palivizumab for the Prevention of Serious Lower Respiratory Tract Infection Caused by Respiratory Syncytial Virus: A Systematic Review. *American journal of perinatology*,

10.1055/a-1990-2633. Advance online publication.
<https://doi.org/10.1055/a-1990-2633>

18. Branche, A.R., Falsey, A.R. Respiratory Syncytial Virus Infection in Older Adults: An Under-Recognized Problem. *Drugs Aging* 32, 261–269 (2015).
<https://doi.org/10.1007/s40266-015-0258-9>
19. Robert W. Sidwell, Dale L. Barnard, Respiratory syncytial virus infections: Recent prospects for control, *Antiviral Research*, Volume 71, Issues 2–3, 2006,
<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.05.014>.
20. Review | Open Access Volume 2013 | Article ID 595768 |
<https://doi.org/10.1155/2013/595768>
21. Agosti, C. N., Otieno, J. R., Munywoki, P. MM Mwihuri, A. G., Cané, P. A., Nokes, D. J., Kellam, P., & Cotten, M. (2015). Local evolutionary patterns of human respiratory syncytial virus derived from whole-genome sequencing. *Journal of virology*, 89(7), 3444–3454. <https://doi.org/10.1128/JVI.03391-14>
22. Langedijk, A. C., Harding, E. R., Konya, B., Vrancken, B., Lebbink, R. J., Evers, A., Willemsen, J., Lemey, P., & Bont, L. J. (2022). A systematic review on global RSV genetic data: Identification of knowledge gaps. *Reviews in medical virology*, 32(3), e2284. <https://doi.org/10.1002/rmv.2284>
23. Krivitskaya, V., Komissarova, K., Pisareva, M., Sverlova, M., Fadeev, A., Petrova, E., Timonina, V., Sominina, A., & Danilenko, D. (2021). Respiratory Syncytial Virus G Protein Sequence Variability among Isolates from St. Petersburg, Russia, during the 2013–2014 Epidemic Season. *Viruses*, 13(1), 119. <https://doi.org/10.3390/v13010119>
24. Katzourakis, A., Rambaut, A., & Pybus, O. G. (2005). The evolutionary dynamics of endogenous retroviruses. *Trends in microbiology*, 13(10), 463–468.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.08.004>
25. Zhong, Nan-sha. (2001). Anti-RSV polypeptides selected from a phage displayed random peptide library. *Chinese journal of microbiology and immunology*,
26. Christopher, H., Woelk., Edward, C., Holmes. (2001). Variable immune-driven natural selection in the attachment (G) glycoprotein of respiratory syncytial virus (RSV).. *Journal of Molecular Evolution*, doi: 10.1007/S002390010147
27. Jean-François, Bonfanti., Christophe, Meyer., Frederic, Marc, Maurice, Doublet., Fortin, Jerome, Michel, Claude., Philippe, Muller., Laurence, Queguiner., Tom,

- Valerius, Josepha, Gevers., Peggy, Janssens., Heidi, Szel., Rudy, Edmond, Willebrords., Philip, Timmerman., Koen, Wuyts., Pieter, Van, Remoortere., Janssens, Frans, Eduard., Piet, Wigerinck., Koen, Andries. (2008). Selection of a respiratory syncytial virus fusion inhibitor clinical candidate. 2. Discovery of a morpholinopropylaminobenzimidazole derivative (TMC353121).. *Journal of Medicinal Chemistry*, doi: 10.1021/JM701284J
28. Ha, Nui, Kim., Jinha, Hwang., Soo, Young, Yoon., Chae, Seung, Lim., Yunjung, Cho., Chang, Kyu, Lee., Myung, Hyun, Nam. (2023). Molecular characterization of human respiratory syncytial virus in Seoul, South Korea, during 10 consecutive years, 2010–2019. *PLOS ONE*, doi: 10.1371/journal.pone.0283873
29. Ming, Hao., Yan, Li., Yonghua, Wang., Shuwei, Zhang. (2011). A Classification Study of Respiratory Syncytial Virus (RSV) Inhibitors by Variable Selection with Random Forest. *International Journal of Molecular Sciences*, doi: 10.3390/IJMS12021259
30. Patricia A. Jorquera & Ralph A. Tripp (2017) Respiratory syncytial virus: prospects for new and emerging therapeutics, *Expert Review of Respiratory Medicine*, 11:8, 609-615, DOI: 10.1080/17476348.2017.1338567
31. Nair, H., Nokes, D. J., Gessner, B. D., Dherani, M., Madhi, S. A., Singleton, R. J., O'Brien, K. L., Roca, A., Wright, P. F., Bruce, N., Chandran, A., Theodoratou, E., Sutanto, A., Sedyaningsih, E. R., Ngama, M., Munywoki, P. K., Kartasasmita, C., Simões, E. A., Rudan, I., Weber, M. W., ... Campbell, H. (2010). Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*, 375(9725), 1545–1555. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60206-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60206-1)
32. Hall C. B. (2010). Respiratory syncytial virus in young children. *Lancet (London, England)*, 375(9725), 1500–1502. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60401-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60401-1)
33. Walsh, E. E., & Falsey, A. R. (2012). Respiratory syncytial virus infection in adult populations. *Infectious disorders drug targets*, 12(2), 98–102. <https://doi.org/10.2174/187152612800100116>
34. Falsey, A. R., & Walsh, E. E. (2005). Respiratory syncytial virus infection in elderly adults. *Drugs & aging*, 22(7), 577–587. <https://doi.org/10.2165/00002512-200522070-00004>

35. Una descripción general del RSV, Christopher C. Stobart, Ana L. Hotard, Martín L. Jia Meng, Publicado: 24 de abril de 2014 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004016>
36. The epidemiology and clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection in children at a public pediatric referral hospital in Mexico, Publicado: Abril 23, 2012 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.03.001>
37. Solís, P. (2020). COVID-19 Fatality and Comorbidity Risk Factors among Diagnosed Patients in Mexico
38. Bose, M.E., He, J., Shrivastava, S., Nelson, M.I., Bera, J., Halpin, R.A., Town, C.D., Lorenzi, H.A., Noyola, D.E., Falcone, V., Gerna, G., de Beenhouwer, H., Videla, C.M., Kok, T., Venter, M., Williams, J.V., & Henrickson, K.J. (2015). Sequencing and Analysis of Globally Obtained Human Respiratory Syncytial Virus A and B Genomes. PLoS ONE, 10.
39. Rodríguez-Castillo, A., Vaughan, G., Ramírez-González, J.E., González-Durán, E., Gudiño-Rosales, J.C., & Escobar-Gutiérrez, A. (2009). Genetic variation of Varicella-Zoster Virus strains circulating in Mexico City. Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 46 4, 349-53 .
40. Pedroza-Roldán, C., Paez-Magallán, V.M., Charles-Niño, C.L., Elizondo-Quiroga, D.E., Leonel De Cervantes-Mireles, R., & López-Amezcuca, M.A. (2015). Genotyping of Canine parvovirus in western Mexico. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 27, 107 - 111.
41. Roca, A., Loscertales, M., Quintó, L., Pe, P., rez-Bren, Vaz, N., Alonso, P.L., & Saiz, J.C. (2001). Genetic variability among group A and B respiratory syncytial viruses in Mozambique: identification of a new cluster of group B isolates. The Journal of general virology, 82 Pt 1, 103-11 .
42. Tinajero, A. S., Sánchez, M. I. S., Castillejos-Lopez, M., Santillán, D. P. R., Orozco, J. A. M., Vargas, E. B., ... & Cueto, E. G. (2020). Specific immunoglobulin A levels against RSV and its clinical characteristics in a cohort of infected pediatric patients in Mexico. Authorea Preprints.
43. Robledo-Aceves, M., de Jesús Moreno-Peregrina, M., Velarde-Rivera, F., Ascencio-Esparza, E., Preciado-Figueroa, F. M., Caniza, M. A., & Escobedo-Melendez, G. (2018). Risk factors for severe bronchiolitis caused by

- respiratory virus infections among Mexican children in an emergency department. *Medicine*, 97(9), e0057.
44. Contreras-Luna, M. J., Ramírez-Martínez, L. A., Sarmiento Silva, R. E., Cruz Lazo, C., Pérez Torres, A., & Sánchez-Betancourt, J. I. (2017). Evidence of respiratory syncytial virus and parainfluenza-3 virus in Mexican sheep. *Virusdisease*, 28, 102-110.
 45. Wong-Chew, R. M., Farfán-Quiroz, R., Sánchez-Huerta, J. L., Nava-Frías, M., Casasola-Flores, J., & Santos-Preciado, J. I. (2010). Frecuencia de virus respiratorios y características clínicas de niños que acuden a un hospital en México. *Salud pública de México*, 52, 528-532.
 46. Wong-Chew, R. M., García-León, M. L., Noyola, D. E., Gonzalez, L. F. P., Meza, J. G., Vilaseñor-Sierra, A., ... & Santos-Preciado, J. I. (2017). Respiratory viruses detected in Mexican children younger than 5 years old with community-acquired pneumonia: a national multicenter study. *International Journal of Infectious Diseases*, 62, 32-38.
 47. Rodríguez-Auad, J. P., Nava-Frías, M., Casasola-Flores, J., Johnson, K. M., Nava-Ruiz, A., Pérez-Robles, V., & Caniza, M. A. (2012). The epidemiology and clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection in children at a public pediatric referral hospital in Mexico. *International Journal of Infectious Diseases*, 16(7), e508-e513.
 48. Adhikari, B., Hassan, F., Harrison, C. J., Bard, J. D., Dunn, J., Kehl, S., & Selvarangan, R. (2022). A multi-center study to determine genetic variations in the fusion gene of respiratory syncytial virus (RSV) from children < 2 years of age in the US. *Journal of Clinical Virology*, 154, 105223.
 49. Yu, J. M., Fu, Y. H., Peng, X. L., Zheng, Y. P., & He, J. S. (2021). Genetic diversity and molecular evolution of human respiratory syncytial virus A and B. *Scientific Reports*, 11(1), 12941.
 50. Hause, A. M., Henke, D. M., Avadhanula, V., Shaw, C. A., Tapia, L. I., & Piedra, P. A. (2017). Sequence variability of the respiratory syncytial virus (RSV) fusion gene among contemporary and historical genotypes of RSV/A and RSV/B. *PLoS One*, 12(4), e0175792.
 51. Sullender, W. M. (2000). Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 1-15.

52. Welliver Sr, R. C., Checchia, P. A., Bauman, J. H., Fernandes, A. W., Mahadevia, P. J., & Hall, C. B. (2010). Fatality rates in published reports of RSV hospitalizations among high-risk and otherwise healthy children. *Current medical research and opinion*, 26(9), 2175-2181.
53. E Walsh, E., & R Falsey, A. (2012). Respiratory syncytial virus infection in adult populations. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 12(2), 98-102.
54. Falsey, A. R., Hennessey, P. A., Formica, M. A., Cox, C., & Walsh, E. E. (2005). Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. *New England Journal of Medicine*, 352(17), 1749-1759.
55. Meng, J., Stobart, C. C., Hotard, A. L., & Moore, M. L. (2014). An overview of respiratory syncytial virus. *PLoS pathogens*, 10(4), e1004016.
56. Moreno-Galdó, A., Pérez-Yarza, E. G., Ramilo, O., Rubí, T., Escribano, A., Torres, A., ... & Gómez-Acebo, F. (2020). Recurrent wheezing during the first 3 years of life in a birth cohort of moderate-to-late preterm infants. *Pediatric Allergy and Immunology*, 31(2), 124-132.
57. Nair, H., Nokes, D. J., Gessner, B. D., Dherani, M., Madhi, S. A., Singleton, R. J., ... & Campbell, H. (2010). Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 375(9725), 1545-1555.
58. Huang, S. H., Cao, X. J., Liu, W., Shi, X. Y., & Wei, W. (2010). Inhibitory effect of melatonin on lung oxidative stress induced by respiratory syncytial virus infection in mice. *Journal of pineal research*, 48(2), 109-116.
59. Howes, L. (2023). RSV maternal vaccine approved. *C&EN Global Enterprise*.
60. Swathi, M. (2024). Arexvy: A Comprehensive Review of the Respiratory Syncytial Virus Vaccine for Revolutionary Protection. *Viral immunology*.
61. Nazir, A., Fatima, R., & Nazir, A. (2023). FDA grants approval to the RSV vaccine (nirsevimab-alip) for all infants: a leap forward for shielding the smallest. *International journal of surgery (London, England)*, 109(12), 3745-3746. <https://doi.org/10.1097/JS9.0000000000000698>
62. Lee, C.Y., Khan, S.J., Vishal, F., Alam, S., & Murtaza, S.F. (2023). Respiratory Syncytial Virus Prevention: A New Era of Vaccines. *Cureus*, 15.

63. Fleming-Dutra, K. E., Jones, J. M., Roper, L. E., Prill, M. M., Ortega-Sanchez, I. R., Moulia, D. L., Wallace, M., Godfrey, M., Broder, K. R., Tepper, N. K., Brooks, O., Sánchez, P. J., Kotton, C. N., Mahon, B. E., Long, S. S., & McMorro, M. L. (2023). Use of the Pfizer Respiratory Syncytial Virus Vaccine During Pregnancy for the Prevention of Respiratory Syncytial Virus-Associated Lower Respiratory Tract Disease in Infants: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, 2023. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 72(41), 1115–1122. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7241e1>
64. Ellis, R., & Weiss, A.C. (2023). Human vaccines & immunotherapeutics: News August 2023. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 19.
65. Hui, D. S., Rossi, G. A., & Johnston, S. L. (Eds.). (2016). SARS, MERS and Other Viral Lung Infections: ERS Monograph (Vol. 72). European Respiratory Society.
66. Falsey, A. R., & Walsh, E. E. (2000). Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clinical microbiology reviews*, 13(3), 371–384. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.3.371>
67. Nam, H. H., & Ison, M. G. (2019). Respiratory syncytial virus infection in adults. *BMJ (Clinical research ed.)*, 366, l5021. <https://doi.org/10.1136/bmj.l5021>
68. Chávez-Bueno, S., Mejías, A., Merryman, R. A., Ahmad, N., Jafri, H. S., & Ramilo, O. (2007). Intravenous palivizumab and ribavirin combination for respiratory syncytial virus disease in high-risk pediatric patients. *The Pediatric infectious disease journal*, 26(12), 1089–1093. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181343b7e>
69. Swedish Consensus Group (2001). Management of infections caused by respiratory syncytial virus. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 33(5), 323–328. <https://doi.org/10.1080/003655401750173869>
70. Jiang, MY., Duan, YP., Tong, XL. *et al.* Clinical manifestations of respiratory syncytial virus infection and the risk of wheezing and recurrent wheezing illness: a systematic review and meta-analysis. *World J Pediatr* 19, 1030–1040 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12519-023-00743-5>
71. Messina, A., Germano, C., Avellis, V., Tavella, E., Dodaro, V., Massaro, A., Vitale, R., Masturzo, B., & Manzoni, P. (2022). New strategies for the prevention of respiratory syncytial virus (RSV). *Early human development*, 174, 105666. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2022.105666>
72. Esposito, S., Abu Raya, B., Baraldi, E., Flanagan, K., Martinon Torres, F., Tsolia, M. y Zielen, S. (2022). Prevención del VRS en todos los lactantes: ¿cuál es la estrategia más

preferible?. *Frontiers in immunology* , 13 , 880368.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.880368>

73. Weisman, L. E. (2002). Current respiratory syncytial virus prevention strategies in high-risk infants. *Pediatrics International*, 44(5), 475-480.
74. Glowinski, R., Mejias, A., & Ramilo, O. (2021). New preventive strategies for respiratory syncytial virus infection in children. *Current Opinion in Virology*, 51, 216-223.
75. Pangesti, K.N., Ansari, H.R., Bayoumi, A., Kesson, A.M., Hill-Cawthorne, G.A., & Abd El Ghany, M. (2023). Genomic characterization of respiratory syncytial virus genotypes circulating in the paediatric population of Sydney, NSW, Australia. *Microbial Genomics*, 9.
76. Maloney, D.M., Fernandes, G., Jasim, S., Williams, T.C., Namugenyi, S., Carr, M., Meyer, J.R., Sharma, A., Marshal, L., Nunley, E., Xie, H., Carvajal, M., Kunerth, H.D., O'toole, Á.N., Weixler, A., Lanter, K.R., Gonzalez, G., Sereewit, J., Guevara, R., Astbury, S., Fanning, P.M., Benítez, D., Fernandez, J.C., Cárdenas, P., Hare, D., Greninger, A., Williams, T.C., Nebbia, G., Fries, A.C., McClure, P., Roychoudhury, P., Wang, X., Saha, S., Dewar, R., Templeton, K., & Rambaut, A. (2024). ARTIC RSV amplicon sequencing reveals global RSV genotype dynamics. *bioRxiv*.
77. Bose, M.E., He, J., Shrivastava, S., Nelson, M.I., Bera, J., Halpin, R.A., Town, C.D., Lorenzi, H.A., Noyola, D.E., Falcone, V., Gerna, G., de Beenhouwer, H., Videla, C.M., Kok, T., Venter, M., Williams, J.V., & Henrickson, K.J. (2015). Sequencing and Analysis of Globally Obtained Human Respiratory Syncytial Virus A and B Genomes. *PLoS ONE*, 10.
78. Russell, C. D., Unger, S. A., Walton, M., & Schwarze, J. (2017). The Human Immune Response to Respiratory Syncytial Virus Infection. *Clinical microbiology reviews*, 30(2), 481-502. <https://doi.org/10.1128/CMR.00090-1>

12. Anexos

Anexo I. Tabla de metadatos

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Virus name	Subtype	Accession ID	Collection date	Location	Host	Additional location	Sampling strategy	Gender	Patient age	Patient status	Last vaccinated	Passage
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17215898	2020-02-27	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/A/Mexico/un- ²	A	EPI_ISL_17216168	2020-09-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17216264	2020-02-21	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17216744	2020-02-13	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17216938	2020-05-03	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17218141	2017-03-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17218932	2020-03-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17220103	2020-05-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17220635	2020-02-25	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17221016	2020-05-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/un- ²	B	EPI_ISL_17221108	2020-06-02	North America / Mex	Human			unknown	unknown	unknown		Original
hRSV/A/Mexico/ME	A	EPI_ISL_2543967	2004-12-24	North America / Mex	Human			Male	16 months	unknown		Original
hRSV/B/Mexico/ME	B	EPI_ISL_2544137	2005-12-13	North America / Mex	Human			Female	30 months	unknown		Original

Anexo II.

TABLE RSVB

Archivo Editar Ver Insertar Formato Datos Herramientas Extensiones Ayuda

100% Predet...

C3	A	B	C	D	E	F
1	SECUENCIAS					
2	NC_001781.1 Human orthogonemovirus Subgroup B, complete genome	North America				
3	hRSV/B/Mexico/MEX-24/2005/EPI_ISL_2544137/2005-12-13	Mexico				
4	hRSV/B/Mexico/MEX-20/2004/EPI_ISL_2584821/2004-10-18	Mexico				
5	hRSV/B/Mexico/MEX-51/2008/EPI_ISL_2541136/2008-09-07	Mexico				
6	hRSV/B/Mexico/1856/2014/EPI_ISL_2544635/2014-11-21	Mexico				
7	EPI_ISL112864/2015-06-23	South America				
8	EPI_ISL11074290/2015-06-23	South America				
9	EPI_ISL142451/2015-06-02	South America				
10	EPI_ISL149497/2012-12-06	Europe				
11	EPI_ISL2575516/2012-12-06	Europe				
12	EPI_ISL1649498/2013-11-14	Europe				
13	EPI_ISL2575517/2013-11-14	Europe				
14	EPI_ISL1649499/2012-12-06	Europe				
15	EPI_ISL2575515/2012-12-06	Europe				
16	EPI_ISL2561008/2011	Asia				
17	EPI_ISL2561009/2011	Asia				
18	EPI_ISL2561010/2011	Asia				
19	EPI_ISL2575431/2012-11-23	Europe				
20	EPI_ISL1649496/12012-11-23	Europe				
21	EPI_ISL1649494/2010-11-16	Europe				
22	EPI_ISL1767335/2011-01	North America				
23	EPI_ISL1767335/2011-01	North America				
24	EPI_ISL2584835/2014-01-21	North America				
25	EPI_ISL1107408/2015-07-20	South America				
26	EPI_ISL1074251/2015-06-03	South America				
27	EPI_ISL1074216/2014-08-04	South America				
28	EPI_ISL1107428/2015-06-08	South America				
29	EPI_ISL11074221/2015-07-17	South America				
30	EPI_ISL1074076/2015-05-26	South America				
31	EPI_ISL1074080/2015-06-26	South America				
32	EPI_ISL11800992/2012-03-10	Europe				
33	EPI_ISL11800992/2011-02-11	Europe				
34	EPI_ISL2584860/2012-12-10	North America				
35	EPI_ISL1074171/2015-06-03	South America				
36	EPI_ISL11074178/2015-06-12	South America				
37	EPI_ISL2577288/2012-01-23	Europe				
38	EPI_ISL1074119/2015-06-30	South America				
39	EPI_ISL1074130/2015-07-23	South America				

TABLE RSV A

Archivo Editar Ver Insertar Formato Datos Herramientas Extensiones Ayuda

100% Predet...

A1	A	B	C	D	E	F
318	EPI_ISL1649500/2014-01-06	Europe				
317	EPI_ISL1074272/2015-06-03	South America				
316	EPI_ISL115120677/2014-11-17	Africa				
319	EPI_ISL115120676/2014-12-31	Africa				
320	EPI_ISL115120682/2015-02-27	Africa				
321	EPI_ISL115120690/2015-02-26	Africa				
322	EPI_ISL115120680/2015-02-10	Africa				
323	EPI_ISL115120683/2015-03-03	Africa				
324	EPI_ISL1799569/2014-02-03	Europe				
325	EPI_ISL2588803/2014-01-27	North America				
326	EPI_ISL11074150/2014-06-23	South America				
327	EPI_ISL11074184/2014-06-26	South America				
328	EPI_ISL11074190/2014-07-03	South America				
329	EPI_ISL115120678/2015-01-07	Africa				
330	EPI_ISL115120679/2015-02-03	Africa				
331	EPI_ISL1074260/2015-07-15	South America				
332	EPI_ISL1649479/2014-12-19	Europe				
333	EPI_ISL1799567/2015-01-20	Europe				
334	EPI_ISL2595605/2014-08-06	Oceania				
335	EPI_ISL2544038/2015-06-24	Oceania				
336	EPI_ISL2585312/2015-06-22	Oceania				
337	EPI_ISL2582653/2016-01-16	North America				
338	EPI_ISL2582648/2016-01-20	North America				
339	EPI_ISL2582650/2016-01-19	North America				
340	EPI_ISL2544039/2013-05-08	Oceania				
341	EPI_ISL2587396/2013-04-30	Oceania				
342	EPI_ISL2587398/2013-05-08	Oceania				
343	EPI_ISL1074227/2015-05-26	South America				
344	EPI_ISL2585316/2015-06-18	Oceania				
345	EPI_ISL2585318/2015-06-29	Oceania				
346	EPI_ISL2578713/2014-11-24	North America				
347	EPI_ISL2578714/2014-11-24	North America				
348	EPI_ISL115120729/2016-03-14	Africa				
349	EPI_ISL17995641/2016-02-02	Europe				
350	EPI_ISL2582646/2015-07-08	Oceania				
351	EPI_ISL1074145/2015-07-02	South America				
352	EPI_ISL1074228/2015-07-06	South America				
353	EPI_ISL2543939/2013-03-04	Asia				
354	EPI_ISL2582949/2015	North America				

Anexo III. Metadatos de los análisis demográficos

A	B	C	D	E	F	G	H	I
#	ID	Loc	Fecha de llenado	Fecha de nacimiento	Patógeno 1	CT Patógeno 1	Patógeno 2	CT Patógeno 2
1	1	CDMX	10/27/2021	44470	VSR B	34,1		
2	2	CDMX	10/27/2021	43473	VSR B	29,2		
3	3	CDMX	10/27/2021	44466	VSR B	31,5	HRV	
4	4	CDMX	10/28/2021	43298	VSR B	25,5	SP	
5	5	CDMX	10/28/2021	44444	VSR B	21,7	HRV	
6	7	CDMX	10/28/2021	44193	HRV		VSR A	29,76
7	8	CDMX	11/3/2021	44465	VSR B	34,13		
8	10	CDMX	11/3/2021	43732	VSR A	20,1	SP	
9	11	CDMX	11/5/2021	43829	VSR B	24,3	HRV	
10	15	CDMX	11/8/2021	43633	HRV		VSR B	37,28
11	18	CDMX	11/11/2021	44163	VSR B	27,46	HRV	
12	19	CDMX	11/16/2021	44166	VSR B	24,75	HI	
13	20	CDMX	11/16/2021	44305	VSR B	22,33		
14	23	CDMX	11/18/2021	44138	VSR B	33,32		
15	24	CDMX	11/18/2021	43448	VSR B	38,96	HI	
16	25	CDMX	11/18/2021	44489	VSR B	24,54		
17	26	CDMX	11/18/2021	43841	VSR B	24,04	SP	
18	28	CDMX	11/19/2021	43981	VSR B	29,96	HI	
19	29	CDMX	11/23/2021	44447	HRV		VSR B	36,65
20	31	CDMX	11/25/2021	42832	VSR B	33,13	HI	
21	32	CDMX	11/26/2021	42715	VSR B	34,54	SP	
22	33	CDMX	11/29/2021	44473	HRV		VSR B	33,46
23	34	CDMX	11/29/2021	44482	VSR B	40,04	HRV	
24	35	CDMX	11/29/2021	44251	VSR B	36,62	HRV	
25	37	CDMX	12/2/2021	44477	VSR B	31,35		
26	41	CDMX	12/7/2021	44303	VSR B	38,06		
27	46	CDMX	12/16/2021	43998	VSR B	32,28	SP	

Anexo IV. Tablas filtrada RSV-A y RSV-B

#	Loc	Patógeno	Sexo	Fecha de nacimiento	Edad						
1	CDMX	RSVA	Masculino	24/09/2019	5	50	JAL	RSVA	Femenino	27/07/2022	2
2	CDMX	RSVA	Masculino	22/01/2019	5						
3	CDMX	RSVA	Femenino	15/11/2017	7	51	JAL	RSVA	Femenino	25/08/2022	2
4	CDMX	RSVA	Femenino	25/02/2022	2						
5	CDMX	RSVA	Masculino	06/02/2020	4	52	JAL	RSVA	Masculino	04/10/2011	13
6	CDMX	RSVA	Femenino	04/12/2018	6						
7	CDMX	RSVA	Femenino	11/12/2020	4						
8	CDMX	RSVA	Masculino	24/12/2018	6	53	JAL	RSVA	Masculino	14/01/2021	3
9	CDMX	RSVA	Femenino	11/12/2019	5						
10	CDMX	RSVA	Masculino	13/08/2022	2	54	JAL	RSVA	Femenino	01/10/2020	4
11	CDMX	RSVA	Masculino	15/09/2022	2						
12	CDMX	RSVA	Femenino	14/09/2022	2	55	JAL	RSVA	Femenino	23/04/2020	4
13	CDMX	RSVA	Femenino	05/10/2019	5						
14	CDMX	RSVA	Femenino	11/11/2022	2	56	JAL	RSVA	Masculino	29/03/2021	3
15	CDMX	RSVA	Femenino	15/10/2022	2						
16	CDMX	RSVA	Femenino	05/10/2021	3	57	JAL	RSVA	Masculino	14/10/2022	2
17	SLP	RSVA	Femenino	04/04/2020	4						
18	SLP	RSVA	Masculino	01/03/2016	8	58	JAL	RSVA	Femenino	18/05/2019	5
19	SLP	RSVA	Masculino	30/04/2008	16						
20	DUR	RSVA	Masculino	08/10/2018	6	59	JAL	RSVA	Femenino	28/05/2022	2
21	DUR	RSVA	Femenino	18/09/2021	3						
22	COL	RSVA	Femenino	02/11/2021	3	60	JAL	RSVA	Femenino	11/11/2020	4
23	COL	RSVA	Masculino	30/06/2021	3						
24	COL	RSVA	Femenino	05/10/2022	2	61	JAL	RSVA	Masculino	12/06/2022	2
25	COL	RSVA	Masculino	09/06/2014	10						
26	COL	RSVA	Masculino	01/08/2022	2	62	JAL	RSVA	Masculino	10/07/2022	2
27	COL	RSVA	Masculino	21/09/2022	2						
28	COL	RSVA	Masculino	23/08/2022	2	63	CDMX	RSVA	Masculino	14/11/2019	5
29	COL	RSVA	Femenino	15/08/2021	3						
30	COL	RSVA	Femenino	14/08/2022	2	64	CDMX	RSVA	Masculino	06/09/2022	2
31	COL	RSVA	Femenino	14/10/2022	2						
32	JAL	RSVA	Femenino	03/10/2022	2	65	CDMX	RSVA	Masculino	21/08/2022	2
33	JAL	RSVA	Masculino	14/02/2019	5						
34	JAL	RSVA	Femenino	31/07/2021	3	66	CDMX	RSVA	Masculino	13/10/2017	7
35	JAL	RSVA	Femenino	03/09/2021	3						
36	JAL	RSVA	Masculino	10/05/2021	3	67	CDMX	RSVA	Masculino	28/08/2021	3
37	JAL	RSVA	Masculino	27/08/2021	3						
38	JAL	RSVA	Femenino	24/11/2020	4	68	CDMX	RSVA	Masculino	05/10/2021	3
39	JAL	RSVA	Femenino	15/10/2021	3						
40	JAL	RSVA	Femenino	15/10/2021	3	69	CDMX	RSVA	Femenino	20/04/2016	8
41	JAL	RSVA	Femenino	07/05/2019	5						
42	JAL	RSVA	SN	05/10/2018	6	70	CDMX	RSVA	Femenino	24/11/2022	2
43	JAL	RSVA	Femenino	07/12/2021	3						
44	JAL	RSVA	Masculino	16/05/2018	6	71	CDMX	RSVA	Masculino	19/04/2023	1
45	JAL	RSVA	Femenino	23/06/2021	3						
46	JAL	RSVA	Masculino	14/08/2022	2						
47	JAL	RSVA	Femenino	26/01/2021	3						
48	JAL	RSVA	Femenino	18/09/2022	2						
49	JAL	RSVA	Masculino	07/09/2021	3						

Loc	Patógeno	Sexo	Fecha de nacimiento	Edad
1 CDMX	RSVB	Masculino	01/10/2021	3
2 CDMX	RSVB	Masculino	08/01/2019	5
3 CDMX	RSVB	Femenino	27/09/2021	3
4 CDMX	RSVB	Masculino	17/07/2018	6
5 CDMX	RSVB	Masculino	05/09/2021	3
6 CDMX	RSVB	Femenino	26/09/2021	3
7 CDMX	RSVB	Femenino	30/12/2019	5
8 CDMX	RSVB	Masculino	28/11/2020	4
9 CDMX	RSVB	Masculino	01/12/2020	4
10 CDMX	RSVB	Femenino	19/04/2021	3
11 CDMX	RSVB	Femenino	03/11/2020	4
12 CDMX	RSVB	Masculino	14/12/2018	6
13 CDMX	RSVB	Femenino	20/10/2021	3
14 CDMX	RSVB	Femenino	11/01/2020	4
15 CDMX	RSVB	Femenino	30/05/2020	4
16 CDMX	RSVB	Femenino	07/04/2017	7
17 CDMX	RSVB	Femenino	11/12/2016	8
18 CDMX	RSVB	Femenino	13/10/2021	3
19 CDMX	RSVB	Masculino	24/02/2021	3
20 CDMX	RSVB	Femenino	08/10/2021	3
21 CDMX	RSVB	Masculino	17/04/2021	3
22 CDMX	RSVB	Femenino	16/06/2020	4
23 CDMX	RSVB	Masculino	21/02/2020	4
24 CDMX	RSVB	Femenino	05/01/2021	3
25 CDMX	RSVB	Femenino	23/12/2021	3
26 CDMX	RSVB	Femenino	26/07/2018	6
27 CDMX	RSVB	Masculino	11/05/2019	5
28 CDMX	RSVB	Masculino	07/05/2019	5
29 CDMX	RSVB	Femenino	11/03/2021	3
30 CDMX	RSVB	Masculino	21/10/2019	5
31 CDMX	RSVB	Femenino	24/01/2022	2
32 CDMX	RSVB	Masculino	26/08/2022	2
33 CDMX	RSVB	Masculino	15/08/2022	2
34 SLP	RSVB	Femenino	04/12/2019	5
35 SLP	RSVB	Femenino	02/07/2021	3
36 SLP	RSVB	Femenino	18/11/2020	4
37 SLP	RSVB	Femenino	04/05/2021	3
38 SLP	RSVB	Masculino	30/11/2020	4
39 SLP	RSVB	Femenino	02/01/2020	4
40 SLP	RSVB	Masculino	14/10/2021	3
41 SLP	RSVB	Masculino	06/10/2021	3

42 SLP	RSVB	Femenino	05/01/2020	4
43 SLP	RSVB	Masculino	09/09/2021	3
44 SLP	RSVB	Femenino	01/10/2021	3
45 SLP	RSVB	Masculino	22/05/2021	3
46 SLP	RSVB	Masculino	29/12/2016	8
47 SLP	RSVB	Masculino	18/05/2020	4
48 SLP	RSVB	Masculino	23/10/2021	3
49 SLP	RSVB	Masculino	29/10/2021	3
50 SLP	RSVB	Masculino	14/10/2021	3
51 SLP	RSVB	Femenino	26/09/2021	3
52 SLP	RSVB	Masculino	12/11/2021	3
53 DUR	RSVB	Masculino	15/08/2021	3
54 DUR	RSVB	Femenino	10/11/2021	3
55 DUR	RSVB	Femenino	09/09/2018	6
56 DUR	RSVB	Masculino	02/08/2021	3
57 DUR	RSVB	Femenino	07/05/2020	4
58 COL	RSVB	Masculino	27/07/2021	3
59 JAL	RSVB	Femenino	21/08/2021	3
60 JAL	RSVB	Masculino	05/01/2019	5
61 JAL	RSVB	Femenino	06/12/2017	7
62 JAL	RSVB	Masculino	25/08/2021	3
63 JAL	RSVB	Femenino	12/04/2021	3
64 JAL	RSVB	Masculino	17/04/2021	3
65 JAL	RSVB	Masculino	15/08/2021	3
66 JAL	RSVB	Femenino	07/10/2021	3
67 JAL	RSVB	Femenino	11/10/2021	3
68 JAL	RSVB	Masculino	25/04/2021	3
69 JAL	RSVB	Masculino	17/07/2021	3
70 JAL	RSVB	Masculino	27/04/2018	6
71 JAL	RSVB	Femenino	19/04/2021	3
72 JAL	RSVB	Femenino	12/09/2020	4
73 JAL	RSVB	Femenino	29/09/2021	3
74 JAL	RSVB	Femenino	29/09/2017	7
75 JAL	RSVB	Femenino	11/09/2021	3
76 JAL	RSVB	Masculino	27/05/2020	4
77 JAL	RSVB	Masculino	27/08/2021	3
78 JAL	RSVB	Masculino	18/11/2020	4
79 JAL	RSVB	Masculino	30/08/2021	3
80 JAL	RSVB	Masculino	13/10/2020	4
81 JAL	RSVB	Femenino	17/09/2021	3
80 JAL	RSVB	Femenino	09/10/2021	3
83 JAL	RSVB	Masculino	31/01/2021	3

84 JAL	RSVB	Femenino	30/08/2019	5
85 JAL	RSVB	Femenino	03/09/2021	3
86 JAL	RSVB	Masculino	21/01/2020	4
87 JAL	RSVB	Femenino	05/05/2021	3
88 JAL	RSVB	Femenino	11/11/2020	4
89 JAL	RSVB	Masculino	03/08/2021	3
90 JAL	RSVB	Masculino	04/12/2021	3
91 JAL	RSVB	Masculino	31/07/2017	7
92 JAL	RSVB	Masculino	23/12/2021	3
93 JAL	RSVB	Femenino	15/05/2022	2
94 JAL	RSVB	Masculino	30/06/2022	2
95 JAL	RSVB	Masculino	28/05/2022	2
96 JAL	RSVB	Masculino	01/02/2021	3
97 CDMX	RSVB	Masculino	17/11/2021	3
98 CDMX	RSVB	Femenino	01/02/2022	2
99 CDMX	RSVB	Femenino	09/04/2019	5
100 CDMX	RSVB	Masculino	06/03/2020	4
101 CDMX	RSVB	Masculino	18/09/2021	3
102 CDMX	RSVB	Masculino	12/04/2020	4
103 CDMX	RSVB	Masculino	10/08/2020	4

Anexo V.Script del software RStudio, para la realización de las gráficas de los análisis demográficos.

- **Instalación y carga de paqueterías**

```
if (!require(ggplot2)) install.packages("ggplot2", dependencies = TRUE)
if (!require(dplyr)) install.packages("dplyr", dependencies = TRUE)
```

```
library(ggplot2)
library(dplyr)
setwd("~/Desktop/graficas")
datos <- read.csv("A.csv")
head(datos)
```

- **Datos agrupandos por Edad y Sexo, y contando el número de pacientes**

```
datos_resumidos <- datos %>%
  group_by(Edad, Sexo) %>%
  summarise(Conteo = n()) %>%
  ungroup()
```

- **Visualización de los datos resumidos**

```
head(datos resumidos)
```

- **Creación del gráfico de barras**

```
ggplot(datos_resumidos, aes(x = Edad, y = Conteo, fill = Sexo)) +
  geom_bar(stat = "identity", position = "dodge") +
  labs(title = "Distribucion de Pacientes RSV-A por Edad y Sexo",
       x = "Edad",
       y = "Cantidad de Pacientes",
       fill = "Sexo") +
  theme_minimal()
```

- **Se guarda el gráfico como un archivo**

```
ggsave "distribucion_pacientes_rsva.pdf"
```

```
library(ggplot2)
library(dplyr)
setwd("~/Desktop/graficas")
datos <- read.csv("B.csv")
head(datos)
```

- **Datos agrupandos por Edad y Sexo, y contando el número de pacientes**

```
datos_resumidos <- datos %>%
  group_by(Edad, Sexo) %>%
  summarise(Conteo = n()) %>%
  ungroup()
```

- **Visualización de los datos resumidos**

```
head(datos resumidos)
```

- **Creación del gráfico de barras**

```
ggplot(datos_resumidos, aes(x = Edad, y = Conteo, fill = Sexo)) +
  geom_bar(stat = "identity", position = "dodge") +
  labs(title = "Distribucion de Pacientes RSV-B por Edad y Sexo",
       x = "Edad",
       y = "Cantidad de Pacientes",
       fill = "Sexo") +
  theme_minimal()
```

- **Se guarda el gráfico como un archivo**

```
ggsave "distribucion_pacientes_rsvb.pdf"
```

Anexo VI. Script del software R, con la paqueteria tree para la visualización de los árboles filogenéticos RSV-A y RSV-B

```
library(ggtree)
library(treeio)
library(ggplot2)
library(ggpubr)
library(ggnewscale)

addSmallLegend <- function(myPlot, pointSize = 1, textSize = 8, spaceLegend = 0.5) {
  myPlot +
    guides(shape = guide_legend(override.aes = list(size = pointSize)),
           color = guide_legend(override.aes = list(size = pointSize))) +
    theme(legend.title = element_text(size = textSize),
          legend.text = element_text(size = textSize),
          legend.key.size = unit(spaceLegend, "lines"))
}

tree<-read.tree("RSVA7.fasta.treefile.nwk")

state<- read.csv('TABLAA.tsv', sep = '\t', head = T)
state$CONTINENTE<- as.factor(state$CONTINENTE)

p1 <- ggtree(tree, size = 0.5, color = "grey", as.Date = TRUE) + theme_tree2()
```

```

p1 <- p1%<+%state + geom_tippoint(aes(color=CONTINENTE))
p1
library(ggtree)
library(treeio)
library(ggplot2)
library(ggpubr)
library(ggnewscale)
addSmallLegend <- function(myPlot, pointSize = 1, textSize =8, spaceLegend = 0.5) {
  myPlot +
    guides(shape = guide_legend(override.aes = list(size = pointSize)),
           color = guide_legend(override.aes = list(size = pointSize))) +
    theme(legend.title = element_text(size = textSize),
          legend.text = element_text(size = textSize),
          legend.key.size = unit(spaceLegend, "lines"))
}

```

```

tree<-read.tree("RSVB7.fasta.treefile.nwk")

```

```

state<- read.csv('TABLAB.tsv', sep ='\t', head = T)
state$CONTINENTE<- as.factor(state$CONTINENTE)

```

```

p1 <- ggtree(tree, size =0.5, color= "grey", as.Date=TRUE) + theme_tree2()
p1 <- p1%<+%state + geom_tippoint(aes(color=CONTINENTE))
p1

```