

Características virológicas y diagnóstico del SARS-CoV-2

Virological characteristics and diagnosis of SARS-CoV-2

Jordi Reina, Pablo Fraile

Unidad de Virología. Hospital Universitario Son Espases

Correspondencia

Jordi Reina

Unidad de Virología. Hospital Universitario Son Espases

E-mail: jorge.reina@ssib.es

Recibido: 25 -VIII - 2020

Aceptado: 23 - X - 2020

doi: 10.3306/MEDICINABALEAR.35.04.62

Resumen

El 31 de diciembre de 2019 se detectó en la ciudad de Wuhan (China) un brote de neumonía de etiología desconocida. Una semana después se aisló en estos pacientes un nuevo coronavirus, designado inicialmente como 2019-nCoV y posteriormente SARS-CoV-2. Este virus pertenece al género Coronavirus y subgénero Sarbecovirus (beta-coronavirus, beta-2b). Presenta un genoma ARN de una sola cadena de unos 30.000 nucleótidos y seis ORF. La principal proteína, tanto funcional (unión receptor ACE2 celular) como inmunogénica, es la denominada S o espícula, siendo la base para el diagnóstico y la futura vacuna. El SARS-CoV-2 tiene como reservorio natural a los murciélagos salvajes y como posible huésped intermedio se postula el pangolín. La proteína S del nuevo coronavirus presenta <75% de semejanza con la de los otros coronavirus conocidos pero una identidad del 93% con la procedente del coronavirus del murciélago (BatCoV RaTG13). El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 se realiza preferentemente mediante una RT-PCR basada en los genes S (cribado), RpRd y N que le dan una elevada sensibilidad y especificidad. La serología puede ser útil es el diagnóstico de enfermedad y en los estudios de seroprevalencia.

Palabras clave: SARS-CoV-2, características virológicas, diagnóstico.

Abstract

On December 31, 2019, an outbreak of pneumonia of unknown etiology was detected in the city of Wuhan (China). A week later, a new coronavirus, initially designated as 2019-nCoV and later SARS-CoV-2, was isolated from these patients. This virus belongs to the genus Coronavirus and subgenus Sarbecovirus (beta-coronavirus, beta-2b). It has a single-stranded RNA genome of about 30,000 nucleotides and six ORFs. The main protein, both functional (cellular ACE2 receptor binding) and immunogenic, is the so-called S or spicule, being the basis for diagnosis and the future vaccine. SARS-CoV-2 has wild bats as its natural reservoir and the pangolin is postulated as a possible intermediate host. The S protein of the new coronavirus presents <75% similarity with that of the other known coronaviruses but 93% identity with that of the bat coronavirus (BatCoV RaTG13). The diagnosis of SARS-CoV-2 infection is preferably carried out by means of RT-PCR based on the S (screening), RpRd and N genes that give it high sensitivity and specificity. Serology can be useful in the diagnosis of disease and in seroprevalence studies.

Keywords: SARS-CoV-2, virological characteristics, diagnosis.

Introducción

Hasta 2019 se conocía la existencia de dos coronavirus que también habían infectado de forma epidémica a la población humana. El SARS-CoV apareció en 2002 en la provincia china de Guangdong y se extendió por todo el sudeste asiático. El último caso confirmado fue en septiembre de 2003. Este virus infectó a unas 8000 personas y causó 774 fallecimientos (tasa de letalidad del 9.5%). Su índice de contagiosidad presentó un valor de cerca de 4, lo que facilitó su rápida expansión^{1,2}.

En 2012 apareció en Oriente Medio un nuevo coronavirus que causó procesos respiratorios graves y que fue designado como MERS-CoV. En todos los casos en

que está implicado este virus puede encontrarse un vínculo epidemiológico con la península arábiga, aunque un importante brote se exportó a Corea del Sur^{3,4}. A diferencia del SARS-CoV, el MERS-CoV sigue circulando en la actualidad y presenta una tasa de letalidad cercana al 35% y una contagiosidad no superior a 1 y por ello no ha mostrado una capacidad de difusión excesiva, estando confinado a la zona geográfica de origen²⁻⁴.

El 31 de diciembre de 2019 se detectó en la ciudad de Wuhan (China) un brote de neumonía de etiología desconocida que fue rápidamente comunicado a la OMS. Una semana después, el 7 de enero de 2020 se aisló

de estos pacientes un nuevo coronavirus, designado inicialmente como 2019-nCoV^{5,6}. El 11 de Febrero de 2020 la OMS estableció el nombre de la enfermedad como COVID-19 (*coronavirus disease-2019*) y se designó provisionalmente al coronavirus causante como SARS-CoV-2⁷. Sin embargo Jiang et al.⁸ han sugerido que se denomine como PARS (*pneumonia-associated respiratory syndrome*) y al nuevo coronavirus como PARS-CoV, para mantener la terminología utilizada en los dos anteriores coronavirus. Pero tras algunas discrepancias han sugerido designar a esta nueva enfermedad como TRAS (*transmissible acute respiratory syndrome*) y al virus como TRAS-CoV; sin embargo esta designación no ha sido aceptada por el Comité Taxonómico Internacional^{1,4}.

constituyen multitud de especies animales (mamíferos y aves), debiendo considerarse su infección humana como una zoonosis. Fueron descritos por primera vez en 1966 a partir de las secreciones nasales de un paciente con rinitis^{8,9}. Los incluidos en el grupo de los alfa-coronavirus como el 229E (1a) y el NL63 (1b) producen infecciones respiratorias leves o moderadas, mientras que algunos de los miembros del grupo beta-coronavirus como el OC43 (2a) y el HKU1 (2a) también producen este tipo de infecciones. Mientras que el resto de este subgrupo, como el SARS-CoV (2b) y el SARS-CoV-2 (2b) y el MERS-CoV (2c) son causantes de epidemias e infecciones respiratorias graves (**Figura 2**)^{4,9,10}.

Características generales del SARS-CoV-2

Los coronavirus son unos virus redondeados de unos 120-160 nm de diámetro rodeados de una envoltura lipídica externa derivada de la membrana citoplasmática de la célula que infectan. Reciben su nombre de "corona" por el aspecto que presentan en microscopía electrónica, en la cual el gran tamaño de la proteína externa o espícula les confiere un aspecto de corona alrededor del cápside del virus (**Figura 1**).

Los coronavirus son capaces de infectar al ser humano, pero sus huéspedes naturales preferentes los

Figura 1: Imagen de microscopía electrónica del SARS-CoV-2 en la que se observan las espículas de la envoltura que le dan un aspecto de corona.

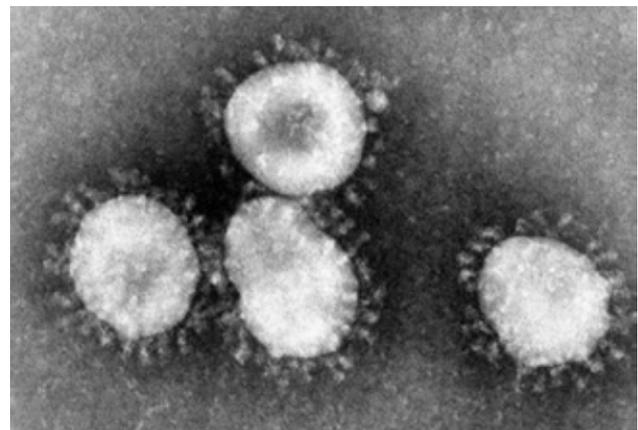
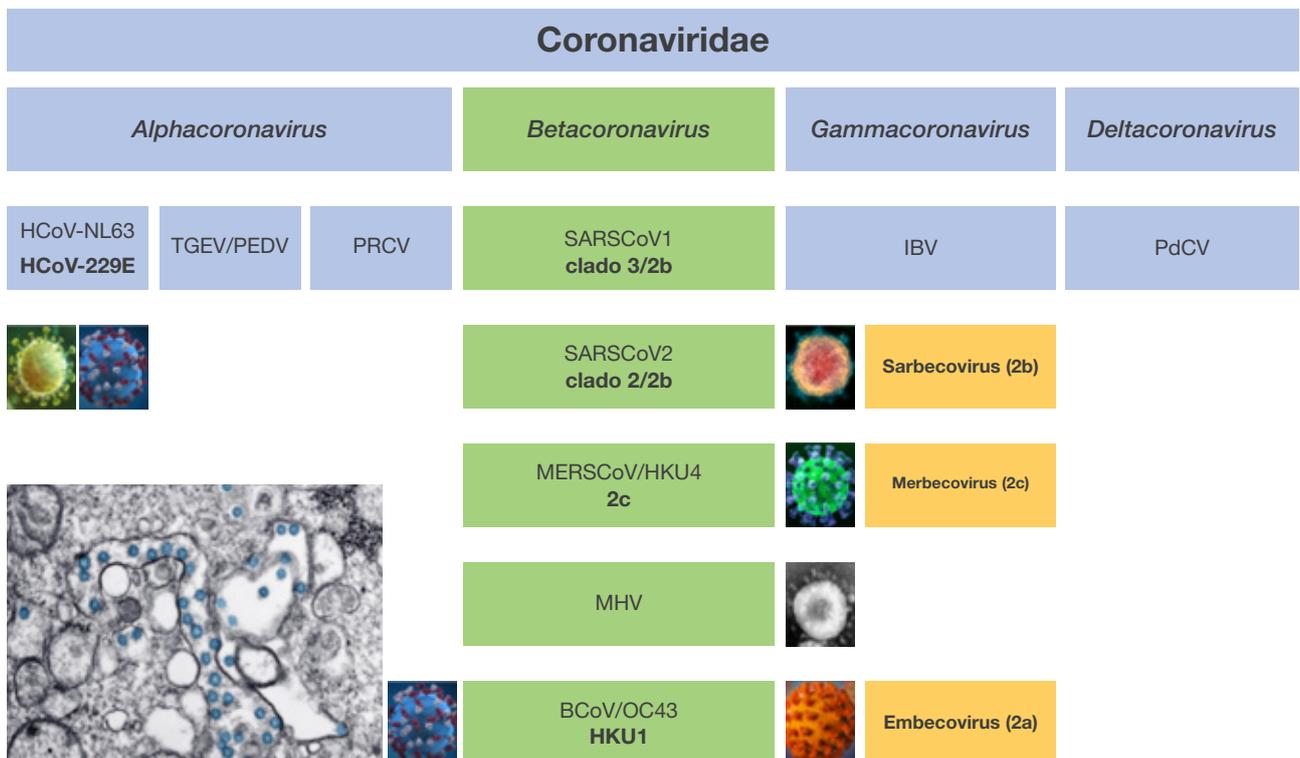
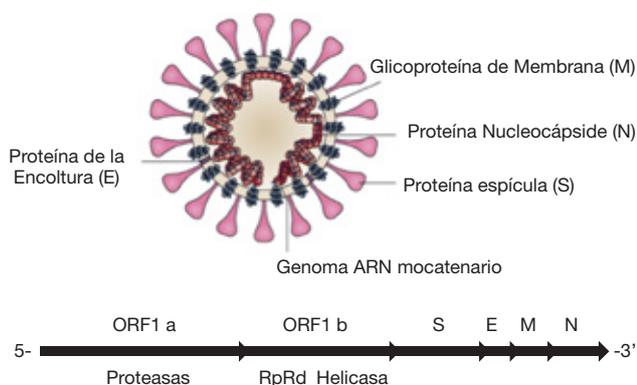


Figura 2: Clasificación taxonómica actual de la familia Coronaviridae y sus diferentes géneros y clados (modificado de Cui et al.¹²).



El SARS-CoV-2 es un nuevo virus que pertenece al orden *Nidovirales*, familia *Coronaviridae* y subfamilia *Orthocoronavirinae*, género *Coronavirus* y al subgénero *Sarbecovirus* (beta-coronavirus, beta-2b) y dentro de ellos al clado o linaje 2, que está mucho más próximo genéticamente a los coronavirus de los murciélagos que del SARS humano¹⁰ (**Figura 2**). El genoma del SARS-CoV-2 está formado por un ARN de una sola cadena (monocatenario) de unos 30.000 nucleótidos y seis ORF (open reading frames), idénticos al resto de coronavirus, que codifican las proteínas del nucleocápside (N), de la envoltura lipídica (E), de la membrana (M) y de la espícula externa (S), además de varios genes adicionales de carácter regulador^{5,6,10} (**Figura 3**).

Figura 3: Estructura esquemática general de los coronavirus humanos y su organización genómica con las cuatro principales proteínas (modificado de Cui et al.¹²).



La mayoría de estos genes sólo presentan una homología del 80% con el antiguo virus SARS-CoV; sin embargo los genes implicados en la replicación (ORF1a y b) presentan una homología del 94% con este virus^{1,11-13}. A pesar de ello la secuenciación completa de los genomas de los coronavirus detectados en pacientes, y especialmente el gen de la ARN-polimerasa ARN-dirigida (RnRd, gen ORF 1b) y el gen S, muestran que las cepas humanas constituyen un linaje distinto del SARS-CoV, pero muy cercano al linaje detectado en algunos murciélagos (BatCoV RaTG13). La proteína S del nuevo coronavirus presenta <75% de semejanza con la de los otros coronavirus conocidos pero una identidad del 93% con la procedente del coronavirus del murciélago anterior. Estas semejanzas genéticas parecen confirmar el origen del SARS-CoV-2, que sería algún murciélago salvaje del sudeste asiático. Según Zhou et al.^{6,12} este coronavirus sería un recombinante genético entre una cepa de murciélago (80-85%) y el de otra especie animal (quizás el del huésped intermediario).

La proteína S de la superficie de los coronavirus es la encargada de su unión al receptor celular y del proceso de fusión con la misma, determinando con ello el tropismo y la capacidad de transmisión en un nuevo

huésped, además de ser el antígeno inmunodominante y el reconocido más intensamente por el sistema inmune del huésped^{14,15}. Para que la proteína S pueda ejercer su función debe ser hidrolizada por las proteasas pulmonares dando lugar al fragmento S1, responsable de la unión al receptor, y al fragmento S2, responsable del proceso de fusión. A pesar de que el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 se encuentran en diferentes linajes genéticos, poseen alrededor de 50 aminoácidos conservados en la posición S1, mientras que la mayoría de los procedentes de murciélagos muestran importantes variaciones antigénicas en esta zona sensible^{10,11}.

La capacidad de la proteína S1 para unirse a la célula se localiza en el dominio C-terminal de la misma. Los estudios filogenéticos de esta zona han demostrado que la perteneciente al SARS-CoV-2 es casi idéntica a la del SARS-CoV y está más alejada de la cepa homóloga del murciélago, lo cual hace pensar en un proceso evolutivo de adaptación a los receptores de las células humanas siguiendo el mismo proceso que hizo el SARS-CoV en 2002¹¹. Al igual que muchos otros virus con genoma ARN, la tasa de mutación de los coronavirus es de 10⁻⁴ sustituciones nucleotídicas/por posición/año, produciéndose básicamente en los primeros ciclos replicativos. Es por ello sorprendente que las secuencias genéticas de los SARS-CoV-2 de diferentes pacientes sean absolutamente idénticas (99.9%). Este dato sugiere que este nuevo coronavirus se originó de una única fuente en un período de tiempo muy corto y fue detectado de forma muy precoz en los primeros días de su diseminación humana^{11,14-17}.

En el estudio realizado por Tang et al.¹⁸ sobre más de 100 secuencias genéticas del SARS-CoV-2 se ha demostrado la existencia inicial de dos variantes o tipos genómicos denominados S y L. Se postula que la variante S, algo más corta, podría ser la original iniciadora de la epidemia y procedente del huésped intermedio. Mientras que la variante L evolucionó a partir de la anterior y representaría la forma genómica adaptada a la especie humana. Al inicio de la epidemia existía un ligero predominio de la forma S pero a mediados de enero la variante L representaba el 70% de las detectadas en los pacientes. Se ha postulado que este variante se ha convertido en predominante por su mayor capacidad de transmitirse o de replicarse a nivel celular humano¹⁸.

El SARS-CoV-2 infecta y se replica de forma eficiente en los neumocitos, macrófagos y células dendríticas de las partes más profundas del parénquima pulmonar en las que reside el receptor celular ACE-2 (*angiotensin converting enzyme II*) que es utilizado por este virus para unirse a estas células e iniciar el proceso infeccioso^{5,10,11}. Este receptor celular es el mismo que utilizó el SARS-CoV para infectar al ser humano; de modo que la patofisiología del nuevo coronavirus a nivel pulmonar probablemente sea muy parecida, con un predominio

evidente de las neumonías graves y baja afectación del tracto respiratorio superior¹⁹⁻²¹. Diferentes estudios han demostrado la presencia de este receptor ACE2 en otros territorios corporales como el corazón, intestino, riñón y vejiga urinaria (22) y más recientemente a nivel cerebral²³. Este hecho podría explicar alguna de las manifestaciones clínicas de la infección aunque no se ha podido comprobar que en estos territorios existan las proteasas capaces de activar a la proteína S del nuevo coronavirus. Aunque se ha observado que esta proteína posee un punto de corte o activación diferente al descrito en el SARS-CoV que le permite ser activado por las denominadas proteasas transmembrana de serina o furina-like que sí están ampliamente distribuidas en las células de estas zonas orgánicas^{22,23}.

El estudio de Wan et al.¹⁴ indica la posibilidad de que una única mutación en la posición N501T de la proteína S1 pueda incrementar de forma significativa la capacidad para unirse al receptor ACE2; debiendo monitorizarse la evolución de la misma. Así mismo ha comprobado, de acuerdo con la afinidad de la proteína S1 por el ACE2, que el nuevo coronavirus no es capaz de infectar a la civeta (intermediario del SARS-CoV) ni tampoco a los ratones, por ello no se podrán utilizar como modelos experimentales salvo que se modifiquen genéticamente. Los animales que si han mostrado capacidad para ser infectados por el SARS-CoV-2 son los cerdos, hurones, gatos y primates no humanos, de modo que podrían ser huéspedes intermediarios y/o modelos de experimentación¹⁴⁻¹⁷.

Reservorio y huésped intermedio

De acuerdo con los conocimientos obtenidos con los coronavirus causantes del SARS y el MERS, también el SARS-CoV-2 debería presentar como reservorio natural alguna de las múltiples especies de murciélagos que habitan el sudeste asiático, o quizás en la profundidad de África. Los análisis genéticos y filogenéticos han mostrado su elevada relación con varios coronavirus de estos mamíferos y muy estrechamente con los relacionados con el causante del SARS^{1,2,5}.

A pesar de la importancia de los murciélagos en la biología evolutiva de los coronavirus, en el caso del nuevo coronavirus no parece que se haya producido el paso directo desde este animal al ser humano⁶. Las principales razones que apoyan este hecho es que: (a) el brote se inició a finales de diciembre de 2019, período en el cual la mayoría de especies de murciélagos de la región de Wuhan están hibernando; (b) según los epidemiólogos chinos en el mercado de Huanan (Wuhan) no se encontraron ni se vendían murciélagos, ya que era de pescado y mariscos, aunque si se encontraron otros mamíferos convencionales; (c) la identidad de la secuencia genética del SARS-CoV-2 y su homóloga bat-SL-CoVZC45 es inferior al 90% lo cual indica que forma una rama filogenética distinta del humano,

por lo que este virus del murciélago y su semejante (bat-SL-CoVZC21) no se pueden considerar como los ancestros directos del humano; y (d) en los coronavirus previos causantes de epidemias humanas siempre se pudo encontrar un huésped intermedio, por lo tanto en este caso también debe de existir^{11,16}.

Dos especies animales fueron inicialmente las candidatas a huésped intermediario, algunas serpientes o un mamífero con escamas denominado pangolín. El estudio de Ji et al.¹⁵ ha postulado que el nuevo coronavirus es una cepa recombinante entre una procedente del murciélago y otra de algunas especies de serpiente de la zona epidémica y que la zona afectada corresponde a los nucleótidos 21.500-24.000 del gen que codifica la proteína S1 (determinante del tropismo humano). La secuencia de este reptil le habría permitido al nuevo virus adquirir la capacidad para infectar al ser humano. Sin embargo es la primera vez que se describen a las serpientes como huéspedes de los coronavirus y el análisis de Robertson et al.²⁴ no confirma los hallazgos previos¹⁵. Por otro lado Lam et al.²⁵ mediante análisis metagenómicos, han descrito por primera vez la presencia de secuencias genéticas en el pangolín de Malasia (*Manis javanica*) filogenéticamente relacionadas con el SARS-CoV-2, especialmente en la secuencia que codifica la proteína S de unión al receptor ACE2 celular. Estos autores consideran que este mamífero debería ser considerado como el huésped intermediario y retirarlo de los mercados para prevenir nuevas transmisiones zoonótica.

Diagnóstico virológico del SARS-CoV-2

Actualmente, las pruebas de amplificación genómica o de ácidos nucleicos (RT-PCR), la tomografía computarizada (TAC) y algunos parámetros hematológicos son las herramientas principales que se utilizan para el diagnóstico clínico de la infección por el SARS-CoV-2. El diagnóstico específico de la infección por este virus debe realizarse mediante una RT-PCR en tiempo real que detecte las dianas propias de este virus (preferentemente los genes E y NP), junto al gen común de la ARN-polimerasa (RpRd)²⁶. La RT-PCR permite realizar no sólo el diagnóstico inicial, es la técnica que más precozmente detecta el virus (2-3 días de la infección) sino el seguimiento (carga viral) y la cinética replicativa del virus en cada paciente. En estos momentos se considera que es la técnica diagnóstica de referencia de mayor sensibilidad y especificidad, siempre que la muestras respiratorias (aspirado nasofaringe u otras) o de otro tipo (heces, sangre, orina) se recojan de forma adecuada. Se recomienda además para el cribado de las personas asintomáticas, monitorización de los contactos y la vigilancia activa de nuevos casos^{26,27}.

Se ha observado que la RT-PCR puede permanecer positiva hasta 30 días en personas en los cuales la sintomatología ya ha desaparecido. Por ello debe valorarse

de forma individualizada el proceso de desaislamiento de estos pacientes mientras mantengan positiva esta prueba. Debe recordarse que lo que detecta es tan solo una parte del genoma del virus de modo que no podemos saber con total seguridad si el virus posee capacidad replicativa o infectiva, aunque se ha comprobado que en ausencia del virus no hay contagiosidad. La presencia del virus en la orofaringe con elevada carga viral incluso antes de la aparición de los síntomas, aunque sin una demostrada capacidad replicativa en esta zona, es la que determina la trasmisibilidad del virus. Evidentemente asociada a los mecanismos que facilitan la expansión de los mismos como la tos, estornudo y expectoración, sin olvidar el importante papel del contacto directo a través de las manos u otros fómites de la persona infectada^{16,17}.

Zou et al.²⁸ han analizado la carga viral del SARS-CoV-2 en la faringe y fosas nasales de personas sintomáticas y no sintomáticas y han observado que las cargas mas elevadas se detectan a partir del momento de inicio de los síntomas y que es algo mayor en las fosas nasales. Es especial relevante el dato de que la carga viral de las personas asintomáticas es muy similar a la de los sintomáticos y puede persistir en algunas ocasiones hasta 5 días, lo cual apoya la posible transmisión eficiente de este tipo de personas. En otro estudio se ha comprobado que la carga viral es mas elevada en las personas de >70 años y en la enfermedad grave, además de prolongarse la excreción viral un mayor número de días, probablemente debido a la disminución de la respuesta inmune innata de estas personas²⁹.

Un estudio realizado por Zhang et al.²⁷ ha confirmado la presencia del SARS-CoV-2 en la faringe, heces y sangre de los mismos, de modo que podría transmitirse por estas tres rutas, aunque su presencia se ha detectado sólo por biología molecular y no puede asegurarse su capacidad infectiva en un nuevo huésped. También han observado como pacientes con frotis faríngeo negativo se podía detectar el virus en las heces, especialmente a los 4-5 días de inicio de la sintomatología, produciéndose un paso secuencial oro-fecal. Según estos autores no podría descartarse la infección con solo un frotis faríngeo negativo, aunque la vía aérea sigue siendo la principal ruta de transmisión del virus. Además en todos los pacientes se pudo detectar la presencia de respuesta inmune en forma de IgM e IgG específicas²⁷.

A pesar de la elevada eficacia este tipo de pruebas genómicas pueden presentar algunas limitaciones como presentar tiempos de respuesta largos, generalmente tardan unas 3-4 horas para la obtención de los resultados; su realización es complicada ya que requieren de laboratorios certificados, equipos costosos y técnicos capacitados para realización e interpretación de las mismas y además, como ya se ha mencionado, pueden presentar resultados falsos negativos si las muestras no se obtienen de forma adecuada. Todas estas limitaciones

hacen que la RT-PCR no sea adecuada para el diagnóstico y la detección rápida y simple de pacientes con sospecha clínica. Por lo tanto, existe una necesidad disponer de una prueba rápida, fácil de usar, sensible y precisa para identificar rápidamente a los pacientes infectados de SARS-CoV-2 para prevenir la transmisión del virus y asegurar el tratamiento oportuno de los pacientes²⁶⁻²⁸.

La detección de anticuerpos específicos frente al SARS-CoV-2 en la sangre del paciente es una buena opción para un diagnóstico rápido, simple y altamente sensible. Es ampliamente aceptado que la IgM proporciona la primera línea de defensa durante las infecciones virales, antes de la generación de respuestas de IgG adaptativas y de alta afinidad que son importantes para la inmunidad a largo plazo y la memoria inmunológica. Se ha observado que después de la infección por SARS, el anticuerpo IgM puede ser detectado en sangre del paciente a los 3-6 días después de la infección, mientras que la IgG puede detectarse después de 8 días. Dado que el SARS-CoV-2 pertenece a la misma familia se asume que su proceso de generación de anticuerpos es similar, y la detección de anticuerpos IgG e IgM es un marcador de infección. Además, la detección de anticuerpos IgM tiende a indicar una exposición reciente (se postula que permanecen positivos sólo durante 30 días), mientras que la detección de anticuerpos IgG indica la exposición al virus hace algún tiempo (infección pasada) y probablemente permanecerán presentes a lo largo de la vida (inmunidad duradera). Por lo tanto, la detección rápida de anticuerpos IgM e IgG puede aportar valor al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad COVID-19. La serología podría ser útil para conocer los casos asintomáticos y para los estudios de seroprevalencia dentro de una población determinada²⁹⁻³².

En la actualidad ya se ha diseñado un diagnóstico serológico (ELISA para IgG e IgM) utilizando la nucleoproteína (NP) del coronavirus del murciélago que presenta una identidad genética del 92% y no muestra reacción cruzada con la del resto de coronavirus^{11,13,28}. Los resultados demuestran que el 94.8% de los pacientes presentaban IgM e IgG positivas de forma simultánea en el momento del estudio serológico y que a los 5 días del inicio de la clínica el 50% de los pacientes ya presentaban una IgG-positiva y a los 14 días el 100% de los mismos^{26,27}. Sin embargo parece que en el futuro el mejor antígeno para detectar la máxima sensibilidad de los estudios serológicos se obtendrá con la utilización de la proteína S del SARS-CoV-2, ya que es la proteína más externa del virus y la que induce la máxima respuesta inmunológica; además se ha observado in vitro que los anticuerpos dirigidos contra esta proteína poseen capacidad de neutralizar al virus e impedir la infección de nuevas células²⁹⁻³². Sin embargo debe recordarse que la sensibilidad y especificidad de los ensayos serológicos es variable dependiendo del antígeno utilizado y del sistema de lectura. De este modo los tests rápidos

(inmunocromatografía) poseen una menor sensibilidad que la serología convencional (enzimoinmunoensayos o quimioluminiscencia)^{31,32}.

Los estudios sobre la utilidad de la detección de antígenos propios del virus en las muestras respiratorias, parecen demostrar que presentan mayor sensibilidad en las muestras nasales debido a la mayor carga viral presente en ella. Estas pruebas se basan en la detección de alguna de las proteínas del virus obtenidas tras un proceso de lisis y purificación de los mismos. Por lo tanto la eficacia de los mismos va a variar ampliamente entre las diferentes alternativas comerciales, aunque experiencias previas con otros virus como la gripe, predicen sensibilidades entre el 30-40%. En un reciente estudio comparativo, en el que se detectaba como antígeno viral la proteína N (nucleocápside), cuando la RT-PCR era positiva a <40 Ct (baja carga viral) la sensibilidad era tan solo del 68%, aunque la especificidad del 100%. Pero en las muestras de alta carga (Ct <30) la sensibilidad alcanzó al 98%, manteniendo la especificidad del 100%³³. Además en este estudio se pudo detectar la presencia de este mismo antígeno en el 73.8% de los orinas de pacientes positivos en muestras respiratorias³³.

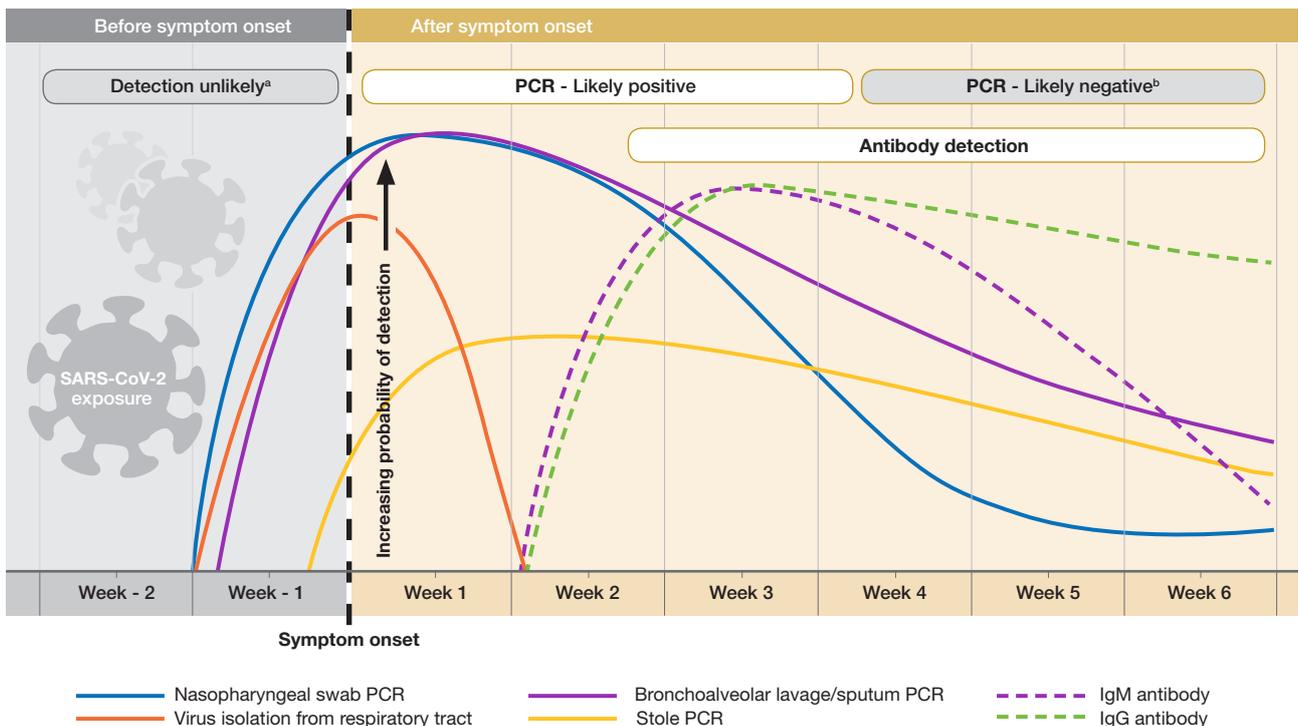
Debido por lo tanto a estas discrepancias y variabilidad analítica de las técnicas de detección antigénica rápidas es muy importante analizar previamente la sensibilidad y especificidad de las mismas antes de utilizarlas de una forma rutinaria. Tanto las técnicas serológicas rápidas como las antigénicas (individuales) presentan además el inconveniente de no permitir el estudio de gran cantidad de muestras de forma simultánea y no pueden aplicarse

para estudios de seroprevalencia para el diagnóstico de confirmación, por ello la interpretación de todas estas pruebas debe seguir los protocolos establecidos por las autoridades sanitarias³⁴, en base a las recomendaciones internacionales (**Figura 4**)³⁵.

Existe también la posibilidad de utilizar como metodología diagnóstica el aislamiento de este virus en cultivos celulares utilizando las líneas Vero y Huh7. El efecto citopático se detecta a los 3 días de incubación y puede detectarse mediante una inmunofluorescencia dirigida contra la NP¹⁹. Sin embargo para utilizar los cultivos celulares es preciso disponer de medidas extremas de bioseguridad que no están al alcance de todos los laboratorios. Podrían ser útiles en aquellos pacientes que a pesar de la mejoría clínica total siguen presentando una RT-PCR positiva durante un largo período de tiempo, en este caso el no aislamiento del SARS-CoV-2 en el cultivo celular indicaría la presencia de fragmentos genómicos y ausencia de virus replicativo e infeccioso con lo cual la capacidad de contagio sería mínima^{19,20}.

Estamos frente al reto que nos ofrece una nueva pandemia de infección respiratoria aguda causada por un nuevo coronavirus, el SARS-CoV-2. Todavía desconocemos muchos aspectos virológicos, epidemiológicos y clínicos de esta infección, por ello a medida que aparezcan nuevos estudios podremos ir actualizando nuestro conocimiento. Una vez más nos enfrentamos a una nueva pandemia viral sin antivirales específicos ni vacuna, y de nuevo sólo las recomendaciones epidemiológicas clásicas (aislamiento, vigilancia y seguimiento) permitirán hacerle frente como ha ocurrido en otras situaciones parecidas.

Figura 4: Resumen del diagnóstico virológico y serológico del SARS-CoV-2 (tomado de Sethurahan et al.³⁵).



Bibliografía

- Velavan TP, Meyer CG. The Covid-19 epidemic. *Trop Med Int Health* 2020. <https://doi.org/10.1111/TM.13383>.
- Hui DS, Azhar EI, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health. The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis* 2020; 91:264-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.009>.
- Editorial. Emerging understandings of 2019-nCoV. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30186-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30186-0).
- Gralinski LE, Menachery VD. Return of the coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses* 2020; 12:135. <https://doi.org/10.3390/v12020135>.
- Perlman S. Another decade, another coronavirus. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMe2001126>.
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. *BioRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.22.914952>.
- Guarnier J. Three emerging coronaviruses in two decades. *Am J Clin Pathol* 2020. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa029>.
- Jiang X, Rayner S, Luo MH. Does SARS-CoV-2 has a longer incubation period than SARS and MERS?. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25708>.
- Liu SL, Saif L. Emerging viruses without borders: the Wuhan coronavirus. *Viruses* 2020; 12:130. <https://doi.org/10.3390/v12020130>.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Rev* 2019; 17:181-92. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>.
- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.
- Chan J, Yuan S, Kok K, To K, Chu H, Yang J et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9).
- Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol* 2020. <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>.
- Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Homologous recombination within the spike glycoprotein of the newly identified coronavirus 2019-nCoV may boost cross-species transmission from snake to human. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25682>.
- Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, van Riel D, de Wit E. A novel coronavirus emerging in China. Key questions for impact assessment. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMp2000929>.
- Li X, Zai J, Wang X, Li Y. Potential of large "first generation" human-to-human transmission of 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020; 1-7. <https://doi.org/10.1002/jmv.25693>.
- Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Nat Sci Rev* 2020. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036/5775463>.
- Xu Z, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, Liu S et al. Pathological findings of COVID-19 associate with acute respiratory distress syndrome. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X).
- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J X et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- Chen Zhou M, Dong X, Qu F, Gong F, Han Y et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
- Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RAN-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med* 2020. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>.
- Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. *ACS Chem Neurosci* 2020. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>.
- Robertson D, Jiang X. nCoV's relationship to bat coronaviruses and recombination signals no snakes. <https://virological.org/t/ncovs-relationship-to-bat-coronaviruses-recombination-signals-no-snakes/331> (acceso 23 de enero 2020).
- Lam TTY, Shum MH, Zhu HC, Tong YG, Ni XB, Liao YS et al. Identification of 2019-nCoV related coronaviruses in Malayan pangolins in southern China. *BioRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.13.945485>.
- World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV) technical guidance. 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance> (acceso 3 de febrero 2020).
- Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microb Infect* 2020. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729071>.
- Zou LZ, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2001468>.
- Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis* 2020. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30232-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30232-2).
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>.
- Jia X, Zhang P, Tian Y, Wang J, Zeng H, Wang J et al. Clinical significance of IgM and IgG test for diagnosis of highly suspected COVID-19 infection. *medRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.28.20029025>.
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
- Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C et al. Diagnosis of acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection by detection of nucleocapsid protein. *medRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.07.20032524>.
- Ministerio de Sanidad. Interpretación de las pruebas diagnósticas frente al SARS-CoV-2. 22 de Junio de 2020.
- Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA* May 6. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>.