

**2021**

**MONOGRAFÍA**

**Laura D. Gutiérrez**

# **[EMERGENCIA DE UN NUEVO VIRUS PANDÉMICO: SARS-COV-2]**

**Especialidad en Bioquímica Clínica en Virología. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.**



*A Berta.*

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	4
CARACTERÍSTICAS DE LOS CORONAVIRUS .....	5
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ORIGEN.....	5
ESTRUCTURA .....	7
ORGANIZACIÓN GENÓMICA.....	9
PROTEÍNAS VIRALES .....	10
CICLO DE REPLICACIÓN .....	11
PATOGENIA .....	14
IDENTIFICACIÓN DEL SARS-CoV-2 Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO .....	16
NUEVAS VARIANTES GENÉTICAS.....	18
DIAGNÓSTICO.....	24
MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	24
TOMA DE MUESTRAS .....	26
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DE INFECCIÓN POR SARS-CoV-2.....	26
TÉCNICAS MOLECULARES.....	26
DETECCIÓN DE ANTÍGENOS .....	29
TEST SEROLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS.....	30
ESTUDIOS POR IMÁGENES .....	33
MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EMPLEADOS EN ARGENTINA .....	33
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS ACTUALES.....	34
Definición de caso sospechoso .....	34
Definición de caso confirmado por laboratorio .....	35
Definición de contacto estrecho .....	36
Manejo de casos.....	37
Conducta frente a resultados de pruebas serológicas.....	38
Algoritmos Diagnósticos Generales .....	39
TRATAMIENTO.....	41
Tratamiento antiviral específico .....	41
Tratamiento anti-inflamatorio .....	42
VACUNAS.....	43
¿Qué características debería tener idealmente una vacuna para SARS-CoV-2? .....	43

Proceso de desarrollo de vacunas.....	43
Tipo de vacunas para SARS-CoV-2.....	44
Vacunas inactivadas .....	44
Vacunas a virus vivos atenuados.....	45
Vacunas con proteínas recombinantes .....	45
Vacunas con replicación de vectores incompetentes .....	45
Vacunas con replicación de vectores competentes.....	46
Vacunas con vectores de virus inactivados.....	46
Vacunas DNA .....	46
Vacunas RNA .....	46
CONCLUSIÓN.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	49

## INTRODUCCIÓN

Los coronavirus son virus envueltos cuyo genoma consiste en una única molécula de RNA simple cadena de sentido positivo. Pertenecen a una gran familia de virus (*Coronaviridae*) que infectan aves y varios mamíferos, incluyendo camélidos, murciélagos, civetas, ratas, perros, ratones, gatos y humanos. En algunas ocasiones, los coronavirus pueden emerger como patógenos mediante un salto a una especie hospedadora diferente.

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) causan lesión pulmonar aguda y síndrome de distrés respiratorio agudo, que pueden conducir a una insuficiencia pulmonar y resultar en la muerte. Se pensaba que estos virus infectaban sólo a los animales hasta que el mundo fue testigo de un brote de síndrome respiratorio agudo severo (SARS) causado por el SARS-CoV en Guangdong, China (Zhong N, 2003). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), un total de 8098 personas en todo el mundo se infectaron con SARS-CoV durante el brote en el año 2003. De esta cifra, 774 murieron. Sólo una década después, otro coronavirus patógeno, conocido como coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) causó una enfermedad endémica en la península arábiga (Wang N, 2013). Aproximadamente, un 35% de los casos notificados desembocaron en muerte.

A finales del año 2019, Wuhan, una ciudad China en auge empresarial, experimentó un brote de un nuevo coronavirus que mató a más de 1800 personas e infectó a más de 70000 tan solo en los primeros 50 días de la epidemia. Este nuevo virus, según se informó, era miembro del grupo beta de los coronavirus y en primera instancia fue nombrado por los investigadores chinos como nuevo coronavirus 2019 (2019-nCov). Posteriormente, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) lo nombró como SARS-CoV-2, y a la enfermedad como COVID-19 (Cui J, 2019; Lai C-C, 2020; OMS, 2020). A la actualidad, el SARS-CoV-2 ha infectado a más de 100 millones de personas y ha causado más de 2 millones de muertes en todo el mundo.

En nuestro país, fue el causante de una crisis sanitaria sin precedentes y el responsable de la toma de decisiones políticas inéditas a nivel de salud pública como el Aislamiento Social Preventivo y Obligatorio, que se extendió por varios meses con el objetivo de cortar con la cadena de contagios y frenar la transmisión.

## CARACTERÍSTICAS DE LOS CORONAVIRUS

### CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y ORIGEN

Los coronavirus son el grupo más extenso entre los Nidovirales, el orden que comprende las familias Coronaviridae, Roniviridae y Arteriviridae (Figura 1). Los arterivirus son un grupo pequeño de virus patógenos que afectan a mamíferos; y los ronivirus, que infectan crustáceos, son los únicos miembros del orden de los Nidovirales que tienen huéspedes invertebrados. Los Nidovirales son virus envueltos, de genoma RNA no segmentado y polaridad positiva, que se caracterizan por utilizar un conjunto anidado de RNA mensajeros (RNAm) para su transcripción (Rabaan AA, 2020). Es preciso señalar que la similitud en la forma de replicación entre las tres familias de Nidovirales se compensa con una marcada diferencia en la cantidad, el tipo y los tamaños de sus proteínas estructurales y una gran variación en la morfología de sus viriones (Fields Virology, 2013).

Los coronavirus se clasifican como una de las dos subfamilias (Coronavirinae) en la familia Coronaviridae. La otra subfamilia, Torovirinae, incluye los torovirus (que son patógenos del ganado vacuno, equino y porcino) y los bafinivirus. Durante mucho tiempo se ha clasificado a los coronavirus en función de sus características serológicas y, posteriormente, sobre la base de la agrupación filogenética. El ICTV le ha dado status de género a los alfa, beta y gammacoronavirus.

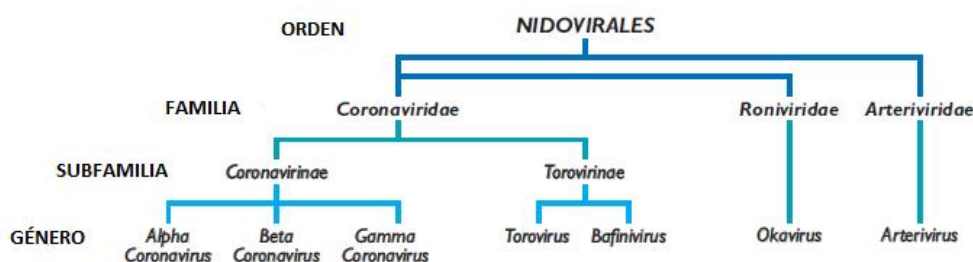


Figura 1. Taxonomía del orden Nidovirales. (Adaptado de Fields Virology, 2013)

Casi todos los alfa y betacoronavirus tienen huéspedes mamíferos. En contraste, los gammacoronavirus, con una sola excepción, se han aislado de huéspedes aviares (Figura 2). Desde el año 2004, los esfuerzos de vigilancia molecular y genómica iniciados a raíz de la epidemia de SARS han llevado al descubrimiento de una multitud de coronavirus previamente desconocidos, en particular, la mayoría de las especies recientemente conocidas se identificaron en murciélagos, que constituyen uno de los órdenes más grandes dentro de los mamíferos. Se han descrito diversos coronavirus de murciélagos, principalmente en Asia, pero también en África, Europa y América del Norte y del Sur. Las aves también han demostrado ser una rica fuente de nuevos virus. Se ha descubierto que los nuevos coronavirus aviares infectan gansos, palomas y patos. Se ha propuesto que los murciélagos y las aves son ideales como reservorios para la incubación y evolución de los coronavirus.

Los alfacoronavirus HCoV-229E y HCoV-NL63, y los betacoronavirus HCoV-OC43 y HCoV-HKU1, suelen causar resfriados comunes. HCoV-NL63 y HCoV-HKU1 se descubrieron recientemente, en la era posterior al SARS-CoV (Van der Hoek L, 2004; Woo PCW, 2005), a pesar de que ambos son prevalentes mundialmente y han estado en circulación durante mucho tiempo (Pyrce K, 2006). El HCoV-NL63 está fuertemente asociado con el crup infantil, y las infecciones más graves por HCoV-HKU1, -OC43 y -229E se manifiestan en pacientes con comorbilidades.

Es importante determinar la fuente de origen y transmisión de estos virus para desarrollar estrategias preventivas y, de esta forma, poder contener los brotes epidémicos. En el caso del SARS-CoV, los investigadores se centraron inicialmente en perros mapache y civetas como reservorios clave de infección. Sin embargo, sólo las muestras aisladas de las civetas mostraron resultados positivos para la detección de RNA viral, lo que sugiere que esta última podría ser hospedador secundario. En 2001, las muestras se aislaron de las personas sanas de Hong Kong y se halló una prevalencia de anticuerpos contra el coronavirus del SARS del 2,5%. Esto último sugirió que el virus podría haber estado circulando en humanos antes de causar el brote en 2003 (Zheng BJ, 2004). Más tarde, también se descubrió que los murciélagos *Rhinolophus* tenían anticuerpos anti-SARS-CoV, lo cual advierte que los murciélagos son una fuente de replicación viral (Shi Z, 2008). El MERS-CoV tiene a los camellos como fuente zoonótica o huésped primario (Paden C, 2018). En un estudio reciente, este virus también se detectó en murciélagos *Pipistrellus* y *Perimyotis* (Annan A, 2013), lo que indica que los murciélagos son el principal hospedador y el medio de transmisión del virus (Huynh J, 2012; Lau SK, 2013). Inicialmente, un grupo de investigadores sugirió que las serpientes serían un posible hospedador del SARS-CoV-2. Sin embargo, los estudios de comparación genómica del nuevo coronavirus con virus de murciélagos similares al SARS respaldan la afirmación de que solo los murciélagos podrían ser los reservorios principales (Lu R, 2020; Chan JFW Y. S., 2020). Un análisis más detallado reveló que la glicoproteína de unión al receptor del nuevo coronavirus (proteína S) se desarrolla a partir de un SARS-CoV (CoVZXC21 o CoVZC45) y un Beta-CoV aún desconocido (Chan JFW K. K., 2020). No obstante, para erradicar el virus, se requiere más trabajo en lo que concierne a la identificación de la fuente zoonótica que causó la transmisión del virus a los seres humanos.

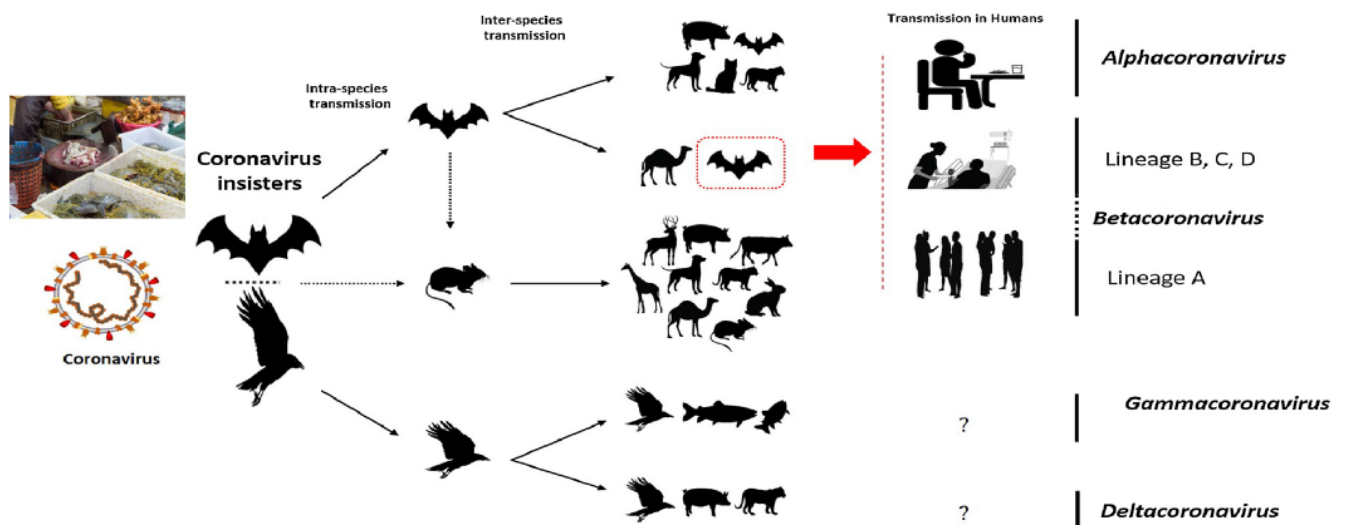
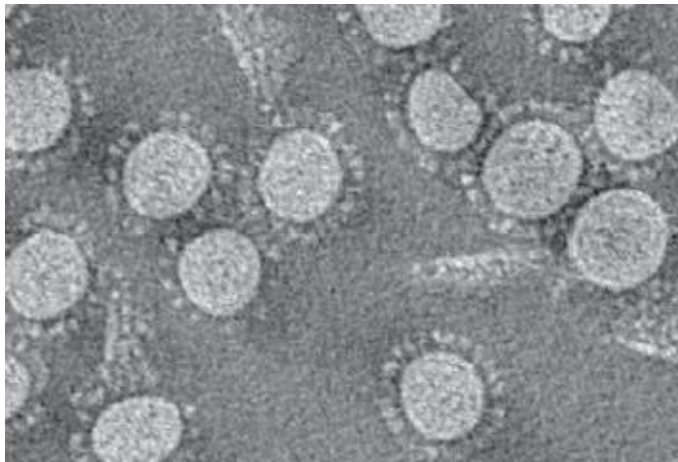


Figura 2. (Tomado de M.A. Shereen et al., 2020). Los reservorios clave y el modo de transmisión de los coronavirus (los reservorios sospechosos de SARS-CoV-2 están rodeados en rojo); solo los coronavirus alfa y beta tienen la capacidad de infectar a los humanos. El consumo de animales infectados como fuente de alimento es la principal causa de transmisión del virus de animal a humano y debido al contacto cercano con una persona infectada, el virus se transmite más a personas sanas. La flecha negra punteada muestra la posibilidad de transferencia viral del murciélago, mientras que la flecha negra continua representa la transferencia confirmada.

## ESTRUCTURA



Mediante imágenes de microscopía electrónica se descubrió que la apariencia que tiene la partícula viral o virión de los coronavirus es la de una corona solar (de allí el nombre). El virión presenta una morfología esférica de un diámetro que varía entre 60 a 140 nm junto con espigas o "Spikes" de 8 a 12 nm de longitud aproximadamente (Zheng, 2020).

Figura 3. Coronavirus observados por microscopía electrónica. Tomado de Fields Virology, 2013



La estructura consiste principalmente en una nucleocápside (que protege al material genético viral) y en una envoltura externa. En la nucleocápside, el genoma viral está asociado con la proteína de la nucleocápside (N), la cual se encuentra fosforilada e insertada dentro de la bicapa de fosfolípidos de la envoltura externa. En cuanto a la envoltura externa, allí se encuentran las proteínas estructurales principales denominadas proteína Spike (S), proteína de membrana (M) y proteína de envoltura

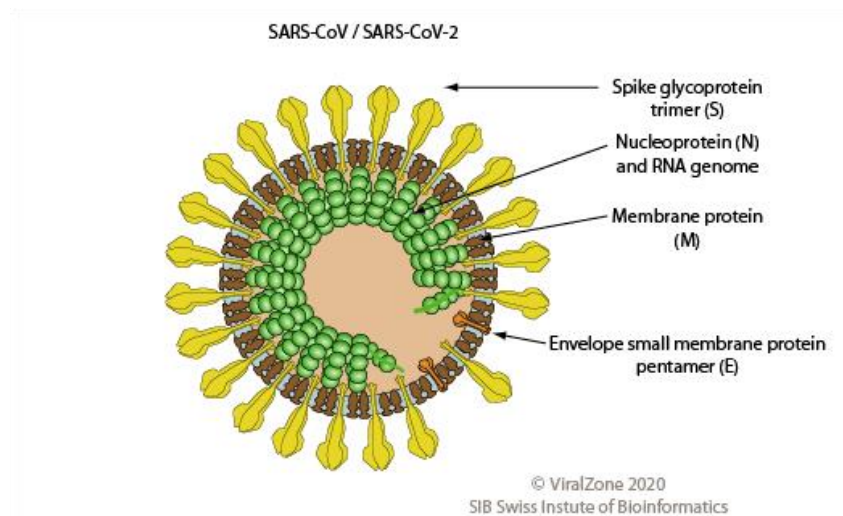


Figura 4. Estructura de la partícula viral. Tomado de ViralZone, 2020.

(E), además de proteínas accesorias, tales como la proteína hemaglutinina esterasa (HE), proteína 3 y proteína 7a, entre otras (Li X. G., 2020). Respecto a las funciones de sus proteínas, la proteína S facilita la unión del virus al receptor de la célula huésped, la proteína M ayuda a mantener la curvatura de la membrana y la unión con la nucleocápside, la proteína E juega un papel importante en el ensamblaje y liberación del virus y la proteína N forma parte de la nucleocápside al unirse al material genético viral. La proteína accesoria HE se halla solo en algunos Betacoronavirus y su actividad esterasa facilita la entrada del virus en la célula huésped, además de ayudar en la propagación (Rabaan AA, 2020)(Figura 4).

## ORGANIZACIÓN GENÓMICA

El genoma de estos virus está formado por una única cadena de RNA monocatenario de polaridad positiva (+ssRNA) de aproximadamente 30.000 pares de bases. Esta cadena de RNA se asemeja estructuralmente a un RNA mensajero (RNAm) de células eucariotas ya que presenta un capuchón metilado (cap) en el extremo 5' y una cola poliadenilada (poli-A) en el extremo 3', lo que le da un gran parecido a los RNAm de la célula huésped. Sin embargo, a diferencia de éstos, el genoma viral contiene al menos seis marcos abiertos de lectura (ORF) (Fields Virology, 2013).

El genoma del SARS-CoV-2 se puede dividir en tres tercios (Figura 5). Los dos primeros tercios (más cerca del extremo 5') codifican para el gen de la replicasa viral. Este gen está constituido por dos ORF (ORF 1a y ORF 1b), los que al comienzo de la infección serán traducidos directamente en dos poliproteínas de gran tamaño llamadas pp1a y pp1ab. Estas poliproteínas posteriormente serán procesadas proteolíticamente para generar 16 proteínas no estructurales (nsps), las cuales estarán implicadas en la replicación del genoma viral y en la transcripción de RNAm subgenómicos (sgRNAs) (Rokni, 2020; Dae-Gyun, 2020; Chen, 2020; Qingmei, 2020). El último tercio del genoma (más cerca del extremo 3') codifica los genes de las 4 proteínas estructurales principales (proteína S, proteína M, proteína E y proteína N) y los genes de las proteínas accesorias (proteína HE, 3, 7a, entre otras).

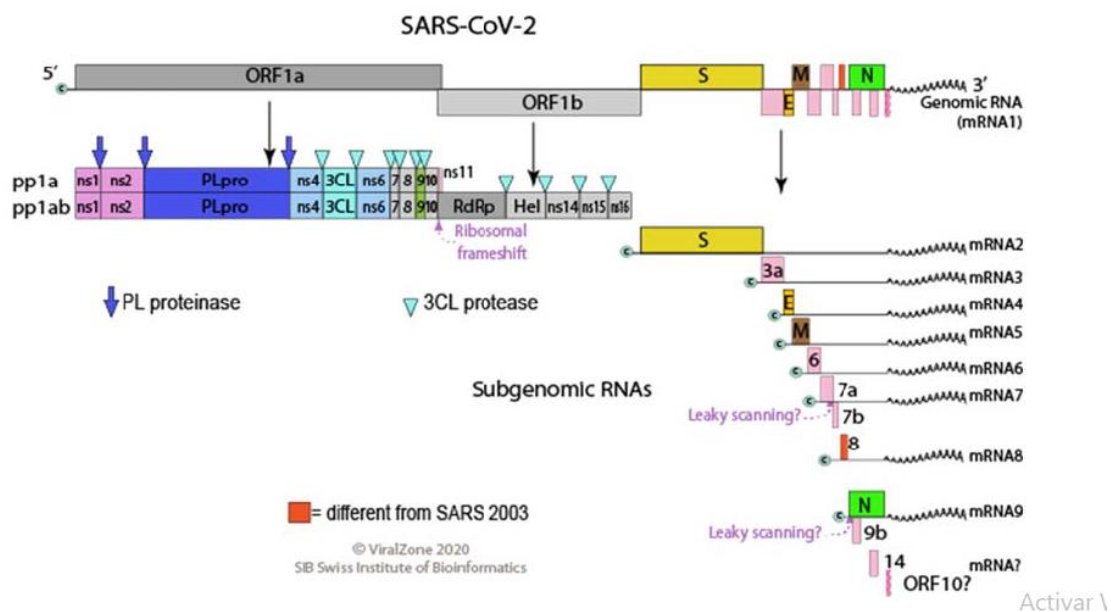


Figura 5. Genoma viral y expresión de genes. Tomado de ViralZone, 2020

## PROTEÍNAS VIRALES

Algunas provienen del procesamiento proteolítico de una poliproteína traducida a partir del RNA genómico y otras se traducen a partir de una serie de RNAs subgenómicos.

### Proteína de la espícula (S)

La glicoproteína S constituye las espículas (largo 16 a 21 nm para SARS-CoV-2), que se proyectan en la superficie del virión, y juega un papel central en la entrada a la célula blanco. La proteína S comprende una subunidad N-terminal denominada S1 y una subunidad C-terminal denominada S2. En el caso de SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 la proteína tiene entre 1104 a 1273 aminoácidos (Fields Virology, 2013). Las subunidades S1 y S2 son generadas mediante el clivaje de S por una proteasa celular de tipo Furina. El sitio de clivaje es un pentapéptido altamente básico. En la subunidad S1 se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD, receptor-binding domain). La subunidad S2 contiene el péptido de fusión, responsable de la fusión de las membranas viral y celular, durante la entrada del virus a la célula, así como de la formación de sincicios, que puede producir este virus en la fase tardía de la infección de células en cultivo o en la infección in vivo. S1 es muy variable entre los distintos coronavirus, mientras que S2 es muy conservado. La región de S1 que hace contacto con el receptor celular (RBD) difiere entre diferentes coronavirus, pudiendo involucrar el dominio N-terminal o el dominio C-terminal (Fields Virology, 2013; Schoeman D, 2019; Li F. , 2016).

### Proteína de la nucleocápside (N)

La proteína N (43 a 50 kDa) se une a lo largo de todo el genoma viral conformando la nucleocápside helicoidal. N contiene dos dominios, ambos capaces de reconocer el RNA viral. Esta proteína es fosforilada en un número discreto de serinas y treoninas (Wang J, 2003). Aunque el rol de la fosforilación aún no ha sido determinado, se ha sugerido que tendría una función regulatoria. Por ejemplo, se ha encontrado que la fosforilación dispara un cambio conformacional en N aumentando su afinidad por el RNA viral. Además, hay evidencia que indica que N se une a nsp3 (proteína no estructural 3) para dirigir el genoma al complejo de replicación y transcripción, así como el empaquetado de la nucleocápside. Se ha reportado también que N funciona como antagonista de la producción de interferón y que posee una actividad supresora del sistema de silenciamiento por RNA de interferencia de la célula hospedadora. Otra importante función es su asociación con otra proteína estructural, la proteína M (Fehr, 2015; Hurst, 2009; Cui, 2015; Cong Y, 2020).

### Proteína de envoltura (E)

Es un polipéptido pequeño que se encuentra en cantidades limitadas en la envoltura viral. Durante el ciclo de replicación, se expresa abundantemente dentro la célula infectada, pero solo una pequeña cantidad se incorpora al virión. E se encuentra mayormente localizada en el sitio de tráfico intracelular, el retículo endoplásmico (RE), aparato de Golgi, y el compartimiento intermedio RE-Golgi (endoplasmic reticulum–Golgi intermediate compartment, ERGIC), donde participa en el ensamblado de la partícula viral. Se considera que esta proteína es muy importante en la producción y maduración de la partícula viral (Schoeman D, 2019).

### **Proteína de membrana (M)**

Es la proteína estructural más abundante, y la responsable de darle la forma al virión. El monómero M, que oscila entre 25 y 30 kDa, es una proteína de membrana que está insertada en la envoltura a través de tres dominios transmembrana. El extremo amino constituye un ectodominio pequeño, mientras que el endodominio C-terminal constituye la mayor parte de la molécula y está situada en el interior del virión o en la cara citoplasmática de la membrana intracelular. El ectodominio puede ser modificado por glicosilación, lo cual influye, tanto en el tropismo de los órganos a infectar, como en la capacidad inductora de interferón (IFN) de algunos coronavirus. Dado que M es capaz de interactuar con todas las demás proteínas estructurales, y se ha demostrado que la sola co-expresión de M y E es suficiente para la liberación de partículas de tipo viral (VLPs) desde la membrana de células eucariotas, la proteína M es considerada el motor del ensamblado de las partículas virales (Fields Virology, 2013; Perrier A, 2019).

### **Proteínas no estructurales y accesorias**

La mayoría de las funciones específicas que cumplen las proteínas no-estructurales (nsp, nsp1 a nsp16) durante el proceso de replicación de los coronavirus han sido descriptas. Entre ellas se destacan las de RNA polimerasa RNA-dependiente, helicasa, metil-transferasa y endo-ribonucleasa. Sin embargo, las funciones de algunas de ellas aún son desconocidas o solo han sido sugeridas por estudios bioinformáticos (Snijder EJ, 2016).

## **CICLO DE REPLICACIÓN**

El virus se une a un receptor de la superficie celular para poder infectar a la célula huésped. En SARS-CoV-2, esta unión se da entre la proteína S del virus y el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). ACE2 contribuye en la regulación de la presión arterial al realizar la conversión de angiotensina I en angiotensina (1-9) (Yuefei, 2020). El receptor de ACE2 se expresa en el tracto respiratorio bajo, corazón, riñón, estómago, vejiga, esófago e intestino (Yuefei, 2020; Yan-Rong, 2020). En el pulmón, se expresa principalmente en un subconjunto pequeño de células llamadas células alveolares tipo 2 (Eakachai, 2020); y en la cavidad oral, está altamente expresado en células epiteliales de la lengua (Hao, 2020). La proteína S de SARS-CoV-2 posee dos subunidades (S1 y S2). La subunidad S1 es la que interacciona y se une al receptor ACE2 por medio del dominio de unión al receptor (RBD), mientras que, la subunidad S2 determina la fusión de la membrana del virus con la de la célula huésped (Yan-Rong, 2020; Hao, 2020). Para que el virus complete la entrada en la célula huésped, la proteína S debe ser cortada o escindida por una enzima proteasa (TMPRSS2). La escisión de la proteína S ocurre en dos posiciones diferentes de la subunidad S2, lo cual contribuye a la separación de la unión RBD de la subunidad S1 con el receptor ACE2 y a la fusión posterior de las membranas facilitándose, así, la entrada del virus mediante endocitosis (Mousavizadeh L., 2020).

Una vez completado el ingreso al citoplasma, la nucleocápside del virus se libera y permite la salida del RNA genómico viral. Esta secuencia de RNA actúa como un RNAm que transcribe directamente el gen de la replicasa viral (hacia el extremo 5') por medio de ORF 1a y ORF 1ab, traduciendo en las poliproteínas pp1a y pp1ab (Mousavizadeh L., 2020). Posteriormente, pp1a y pp1ab son procesadas proteolíticamente por enzimas proteasas como quimiotripsina codificada por el virus (3CLpro), proteasa principal (Mpro) y una o dos

proteasas similares a la papaína (Chen, 2020), lo que da lugar a la producción de las 16 proteínas no estructurales (nsps) designadas nsp1 a nsp16 (Sin-Yee, 2020). Estas proteínas son necesarias para formar el llamado complejo replicasa transcriptasa (RTC), el cual es ensamblado en vesículas de doble membrana originadas a partir del RE (Yan-Rong, 2020; Mousavizadeh L., 2020). La mayoría de las nsps están implicadas en la replicación y transcripción genómica del virus ejerciendo actividades enzimáticas de tipo proteasa, RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), helicasa, exorribonucleasa, endorribonucleasa y metiltransferasa (Rokni, 2020; Dae-Gyun, 2020; Chen, 2020; Qingmei, 2020). Sin embargo, las funciones de algunas de ellas como nsp6, nsp7 y nsp8 son desconocidas. Se cree que podrían tener una función de desregulación de la respuesta inmune (Chen, 2020). Finalmente, el complejo RTC replica y sintetiza un conjunto de RNAm subgenómicos (sgRNA) (Rokni, 2020; Dae-Gyun, 2020; Chen, 2020; Qingmei, 2020), que codifican para la elaboración de las proteínas estructurales principales S, M, E y N, y para las proteínas accesorias (hacia el extremo 3') (Yan-Rong, 2020; Mousavizadeh L., 2020).

En la replicación de los coronavirus como SARS-CoV-2, el RNA monocatenario de polaridad positiva (+ssRNA) sirve de molde para sintetizar, inicialmente, una copia de RNA monocatenario de polaridad negativa (-ssRNA) (Li G. F., 2020). A partir de esta copia de -ssRNA, se producirán las poliproteínas pp1a y pp1ab, las cuales, se procesarán y conformarán el complejo RTC. El complejo RTC, gracias a su actividad enzimática replicativa, crea nuevamente una copia del genoma +ssRNA original del virus a partir del molde de -ssRNA. El RNA genómico viral recientemente sintetizado, se asocia con la proteína N formando la nucleocápside. Las proteínas estructurales S, M y E, y las proteínas accesorias expresadas a partir de los sgRNA, son elaboradas en las membranas del RE y posteriormente transportadas al complejo de Golgi donde serán ensambladas junto con la nucleocápside para producir nuevas partículas virales, las que serán exportadas hacia la membrana plasmática celular en forma de vesículas, produciéndose así la liberación del virus (Yan-Rong, 2020). (Figura 6).

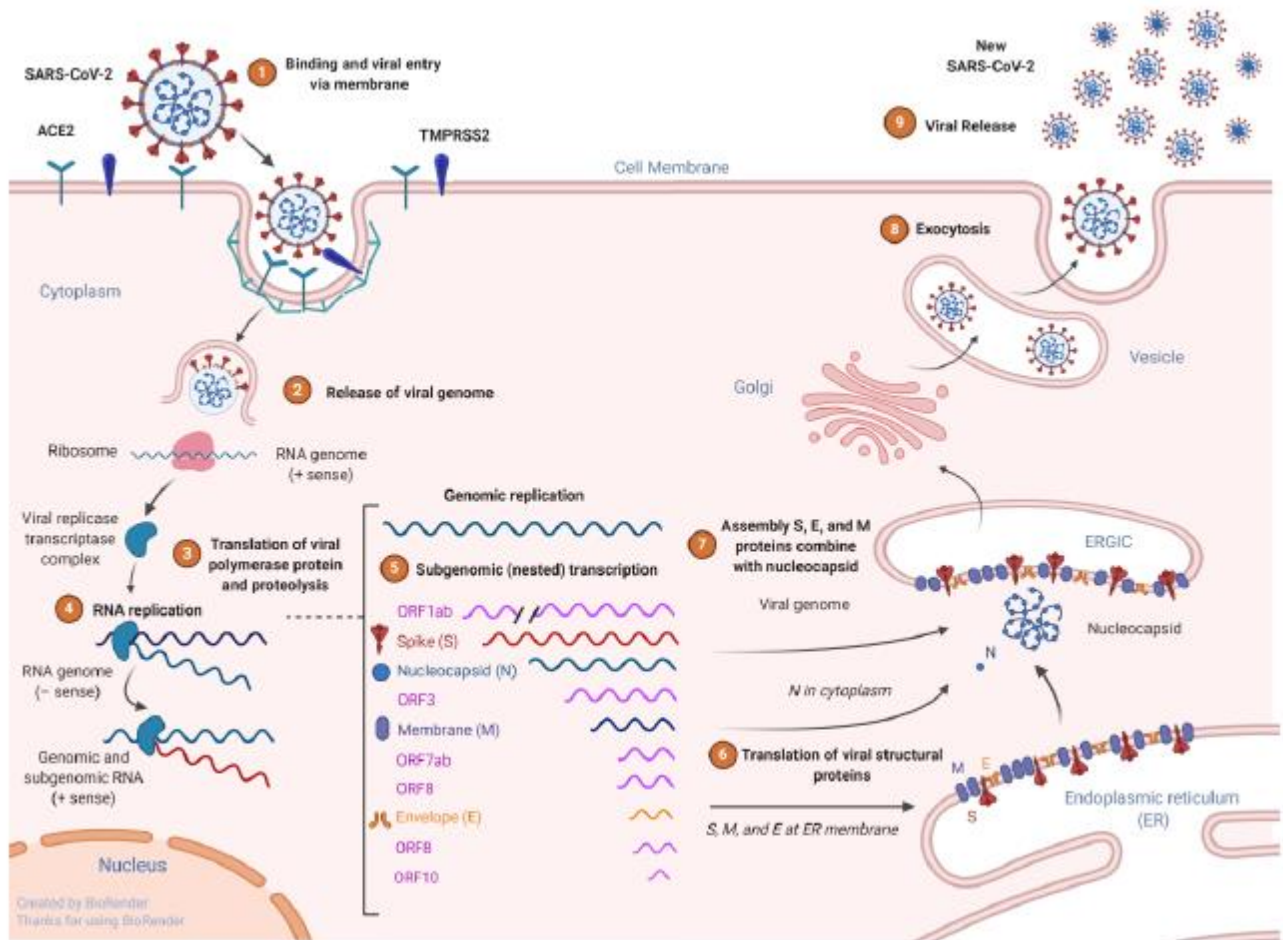


Figura 6. Ciclo de replicación de SARS-CoV-2. Tomado de Azkur AK et al. , 2020



## PATOGENIA

La mayoría de los coronavirus se propagan a los hospedadores susceptibles por vía respiratoria o fecal-oral. La replicación ocurre primero en la puerta de entrada, en las células epiteliales del tracto respiratorio. Sin embargo, además de la infección local de las vías respiratorias o entéricas, varios coronavirus causan enfermedad respiratoria aguda grave como consecuencia de la infección en el tracto respiratorio inferior (Fields Virology, 2013).

Como se mencionó anteriormente, el SARS-CoV-2 se une con gran afinidad a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), que es utilizada como uno de los receptores de entrada para invadir las células. Este mecanismo permite explicar la eficiente propagación viral en los humanos. La proteína ACE2 se presenta en abundancia en células epiteliales alveolares pulmonares y también en enterocitos del intestino delgado, lo que puede ayudar a comprender mejor las rutas de infección y manifestaciones de la enfermedad (Guo YR, 2020). Hasta el momento se sabe que el virus puede causar síntomas leves parecidos a la gripe, como fiebre, tos, dolor en los músculos, o más graves como dificultad para respirar y fatiga. Los casos más severos desarrollan neumonía grave, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sepsis y shock séptico que pueden conducir a la muerte. Las personas con afecciones crónicas parecen ser más vulnerables a las formas graves de la enfermedad. Sin embargo, en comparación con el SARS-CoV (10 % de mortalidad) y el MERS-CoV (35 % de mortalidad), el SARS-CoV-2 parece ser menos virulento en este punto, con la excepción de la infección en los ancianos y en aquellos con otras enfermedades de base (Guo YR, 2020).

Dado que estamos actualmente frente a un virus emergente, hasta el momento es escasa la información que se tiene en forma específica sobre el mecanismo de patogenia que presenta SARS-CoV-2. Por lo tanto, en su mayoría, los datos que existen a nivel mundial se basan en la similitud del mismo con SARS-CoV. Como se mencionó previamente, el SARS-CoV se replica principalmente en células epiteliales respiratorias. Las células en la vía aérea superior se infectan inicialmente, lo que resulta en desprendimiento celular, pero relativamente poco daño. Sin embargo, el virus se propaga rápidamente a los alvéolos causando daño alveolar difuso. Esto se caracteriza por descamación de neumocitos, edema alveolar, infiltración celular inflamatoria y formación de membrana hialina. También se detectan virus o productos virales en otros órganos, como el riñón, el hígado, cerebro y el intestino delgado, y en las heces (Fields Virology, 2013; Zhang C, 2020; Baig AM, 2020; Peiris JS, 2003). Aunque el pulmón es reconocido como el órgano más gravemente afectado por el SARS-CoV, el mecanismo preciso de la lesión pulmonar es controvertido. Las observaciones histopatológicas de las lesiones pulmonares no solo muestran respuestas inflamatorias inespecíficas como edema e infiltrado de células inflamatorias, sino que también una exfoliación severa de las células epiteliales alveolares, ensanchamiento y daño del tabique alveolar, e infiltración del espacio alveolar (Li X. G., 2020). Patológicamente, la inflamación incluye degeneración (necrosis), infiltración e hiperplasia. El daño a las paredes arteriolas intersticiales pulmonares indica que la respuesta inflamatoria juega un papel importante a lo largo del curso de la enfermedad. Durante la infección, el huésped desencadena una respuesta inmune contra el virus. La inmunopatogénesis se asocia con una respuesta inmune fuera de

control, lo que puede provocar daños en el tejido pulmonar, deterioro funcional y capacidad pulmonar reducida (Li X. G., 2020).

La respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa son necesarias para la eliminación viral, pero siempre bajo una regulación muy estricta, de lo contrario puede desencadenarse la inmunopatología asociada. Es de destacar que en pacientes con COVID-19 se observó un ascenso plasmático del nivel de citocinas y quimiocinas, incluidas IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, GCSF, factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF), IP-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . Esta liberación exacerbada de inmunomediadores, a su vez, recluta linfocitos, macrófagos y leucocitos al sitio de la infección, pudiendo explicar en parte el daño histológico observado en los pacientes con COVID-19 de condiciones más críticas (Guo YR, 2020).

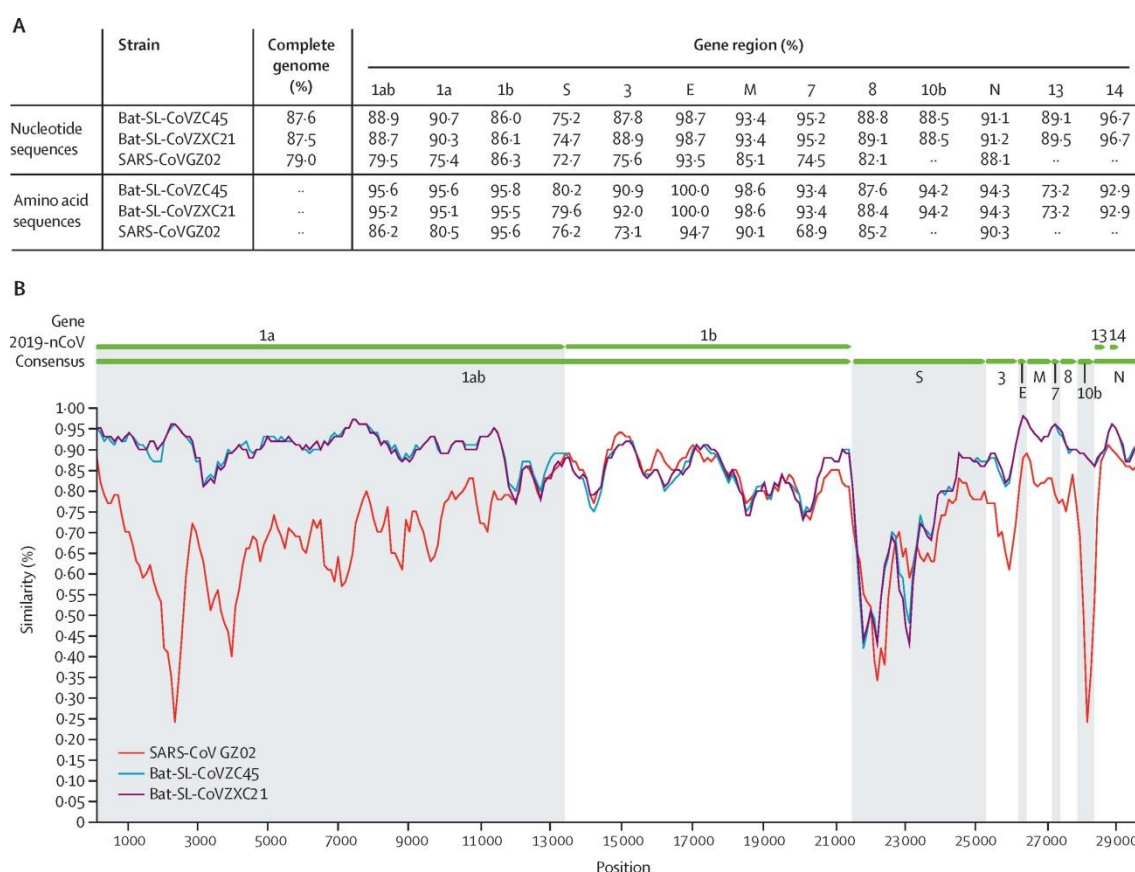


## IDENTIFICACIÓN DEL SARS-CoV-2 Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Se aisló el virus por primera vez en una línea celular de epitelio de vías aéreas humana (human airway epitelial, HAE), a partir de las muestras de lavado broncoalveolar de varios pacientes de tres hospitales de Wuhan (China) que tenían diagnóstico de neumonía viral sin causa identificada, y se obtuvo la secuencia completa. El virus se denominó inicialmente 2019n-CoV y posteriormente fue nombrado por la ICTV como SARS-CoV-2 (Zhou, 2020; Zhu N, 2020; Gorbalenya, 2020).

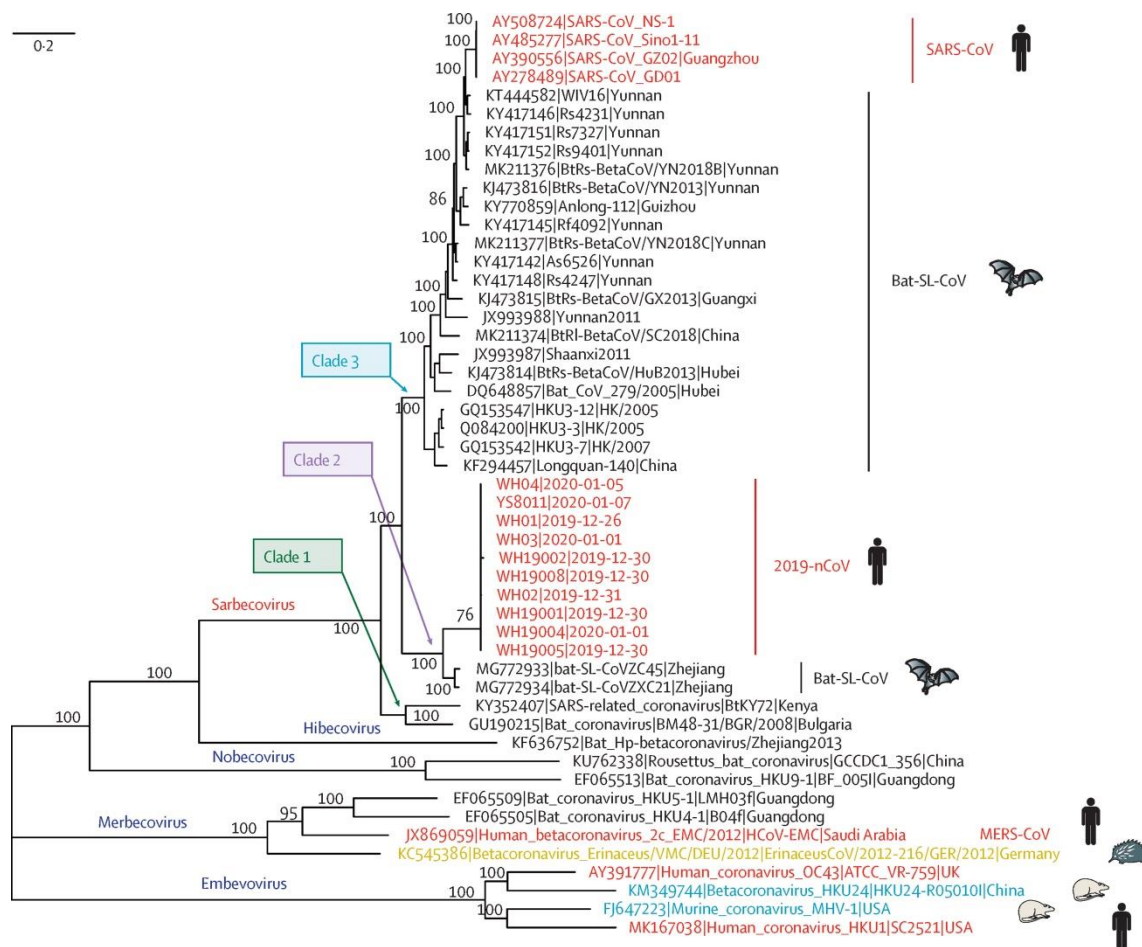
El análisis de las secuencias de SARS-CoV-2 mostró al menos 12 regiones codificantes, incluyendo 1ab, S, 3, E, M, 7, 8, 9, 10b, N, 13, y 14 en el genoma viral. La disposición de dichas regiones indica que el virus posee una organización genómica similar a las cepas de murciélago: bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21 y al SARS-CoV. La comparación de secuencias aminoacídicas reveló una alta similitud (95% -100%) entre la mayoría de las proteínas de SARS-CoV-2 y las de SARS-CoV (Lu R, 2020). Sin embargo, dos proteínas (orf8 y orf10) en SARS-CoV no tienen proteínas homólogas en SARS-CoV-2. La proteína Orf8 del SARS-CoV-2 no contiene el dominio o motivo funcional de agregación VLVVL (aminoácidos 75-79) presente en el orf8b de SARS-CoV, asociado a la activación de las vías de estrés intracelular e inflammasoma.

El análisis filogenético de la secuencia de SARS-CoV-2, realizado con secuencias de



**Figura 7. (A) Identities de secuencias de SARS-CoV-2 respecto a SARS-CoV GZ02 (número de acceso AY390556) y a los coronavirus de murciélago bat-SL-CoVZC45 (MG772933) y bat-SL-CoVZXC21 (MG772934). (B) Similitudes entre SARS-CoV-2 y virus relacionados. Tomado de Lu R et al., 2020.**

genomas de referencia muy relacionados, así como secuencias representativas de los Betacoronavirus, muestra 5 subgéneros formados con ramas que tienen muy buen soporte estadístico, y permite clasificar al nuevo virus dentro del subgénero Sarbecovirus. Las diferencias en la secuencia de la proteína S determinan que SARS-CoV-2 y SARS-CoV agrupen en clados diferentes. A nivel del genoma completo el SARS-CoV-2 es filogenéticamente más cercano a otros coronavirus que infectan murciélagos (bat SL CoVZC45 y bat SLCoV ZXC21) que al SARS-CoV (Figura 7). Esto refuerza la idea de que los murciélagos son un reservorio para los coronavirus, y posiblemente para SARS-CoV-2 en particular (Li W, 2005; Lu R, 2020; Menachery, 2015; Anthony SJ, 2017; Hu, 2017; Ge, 2013; Cui J, 2019). No obstante, varias consideraciones sugieren que otros animales pueden haber actuado como hospedador intermediario entre los murciélagos y los humanos. En primer lugar, el brote fue reportado en



**Figura 8. Análisis filogenético de genomas completos de SARS-CoV-2 y virus representativos del género Betacoronavirus.**  
Tomado de Lu R et al, 2020.

diciembre de 2019, cuando la mayoría de las especies de murciélagos que habitan en Wuhan estaba hibernando. Segundo, no se comercializaron murciélagos en el mercado de Huanan (ciudad de Wuhan, mientras que había disponibles otras varias especies animales, incluyendo mamíferos). Tercero, la identidad de secuencias entre SARS-CoV-2 y las cepas de murciélago más cercanas fue menor al 90 %, tal como se ve reflejado en el largo de rama en el árbol filogenético (Figura 8). Esto sugiere que las cepas de murciélago no serían los ancestros

directos de SARS-CoV-2. En el caso de SARS-CoV y MERS-CoV, los murciélagos actuaron como reservorio natural, siendo la civeta para SARS-CoV y los dromedarios para MERS-CoV, el hospedador intermediario, y los humanos, el hospedador terminal o final.

La tasa evolutiva promedio para coronavirus es de  $10^{-4}$  nucleótidos/sitio/año, con mutaciones que se incorporan durante cada ciclo de replicación. Dada la tasa de evolución y la elevada capacidad de transmisión y dispersión del virus, es esperable la fijación de mutaciones en el corto plazo. La vigilancia epidemiológica para detectar estas mutaciones permitirá evaluar la evolución del virus, la aparición de cadenas de transmisión locales y eventualmente su posible asociación con distintos cuadros clínicos o respuesta a tratamientos antivirales.

La identificación de este nuevo virus da cuenta del rol de los animales salvajes como reservorios de distintos virus, que pueden ocasionalmente introducirse en la población humana y diseminarse. La historia natural de los coronavirus, con los repetidos saltos de especie desde los reservorios a humanos, y la detección de numerosos coronavirus en murciélagos similares a SARS, sugiere la posibilidad de nuevos eventos de transmisión zoonótica en el futuro.

## NUEVAS VARIANTES GENÉTICAS

Desde el comienzo de esta pandemia, la OMS ha recibido varios informes de problemas inusuales de salud pública que podrían deberse a variantes del SARS-CoV-2. Dicha Organización evalúa regularmente si la capacidad de transmisión, el cuadro clínico y la gravedad de los síntomas que causa alguna de estas variantes son distintos o si afectan a las medidas empleadas para combatirlo, como los medios de diagnóstico, los tratamientos y las vacunas. La variante D614G ya notificada y los informes recibidos sobre variantes del virus en Dinamarca, el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte y Sudáfrica han suscitado interés y preocupación por los efectos de estas transformaciones del virus.

A finales de enero o principios de febrero de 2020 apareció una variante del SARS-CoV-2 con una sustitución D614G en el gen que codifica su proteína S. En el transcurso de varios meses, acabó sustituyendo al virus inicial detectado en China y, en junio de 2020, se convirtió la variante preponderante en todo el mundo. Los estudios realizados en células respiratorias humanas y en modelos animales han demostrado que, en comparación con el virus original, el que presenta la sustitución D614G es más infeccioso y transmisible, si bien causa síntomas de menor gravedad y no merma la eficacia de los medios de diagnóstico en laboratorio, los tratamientos, las vacunas o las medidas preventivas de salud pública existentes.

En agosto y septiembre de 2020 se identificó en Dinamarca una variante del SARS-CoV-2 que se transmitía entre visones de granja y, posteriormente, al ser humano. Esta variante, denominada “cluster 5” por las autoridades danesas, presenta una combinación de mutaciones inédita. En los estudios preliminares realizados en ese país se ha expresado preocupación por la posibilidad de que la neutralización del virus se vea afectada en los seres humanos, lo cual limitaría el alcance y la duración de la protección inmunológica tras la infección natural o la vacunación. Se está investigando la neutralización de esta variante en el ser humano. Tras las extensas actividades de investigación y vigilancia efectuadas hasta diciembre del 2020, las autoridades danesas habían registrado solo 12 casos humanos de la variante “cluster 5” que se remontaban a septiembre de 2020, y la propagación de esta variante parece ser limitada.

El 14 de diciembre de 2020, las autoridades del Reino Unido notificaron a la OMS una variante que designaron como SARS-CoV-2 VOC 202012/01 (por las siglas en inglés de “variante en investigación, año 2020, mes 12, variante 01”), con 23 sustituciones de nucleótidos y no relacionada filogenéticamente con el SARS-CoV-2 que circulaba en el país en el momento en que fue detectada. No se conocen con claridad ni la fuente ni el modo en que surgió inicialmente. El SARS-CoV-2 VOC 202012/01 se detectó por primera vez en el sudeste de Inglaterra, pero en pocas semanas fue desplazando gradualmente a otros linajes del virus en esa zona y en Londres. El 26 de diciembre de 2020, esta variante se encontró tras un muestreo sistemático y un análisis genómico efectuado en todo el país. De acuerdo con los primeros resultados de los estudios epidemiológicos, de modelización, filogenéticos y clínicos, la transmisibilidad del SARS-CoV-2 VOC 202012/01 es más alta que la del virus original, pero esta variante no es más virulenta (de acuerdo con la duración de la hospitalización y la tasa de letalidad a los 28 días) y la tasa de reinfección no es mayor que la de otras variantes del SARS-CoV-2 que circulan en el Reino Unido (Public Health England, 2020). Por otra parte, se ha demostrado que la delección en las posiciones 69/70, otra mutación presente en la variante VOC 202012/01, afecta a la sensibilidad de algunas pruebas PCR diagnósticas que utilizan como diana en el gen de la proteína S. No obstante, la mayoría de las PCR empleadas en el mundo utilizan varias dianas y, por lo tanto, no se prevén efectos significativos en la capacidad para diagnosticar a infección. De acuerdo con las evaluaciones realizadas en laboratorios, el rendimiento de los inmunoensayos de flujo lateral para detectar antígenos del SARS-CoV-2 no se ve afectado significativamente. Al 30 de diciembre del 2020, otros 31 países, territorios o zonas de cinco de las seis regiones de la OMS habían notificado la variante VOC 202012/01.

El 18 de diciembre, las autoridades sudafricanas anunciaron que habían detectado una nueva variante del SARS-CoV-2 que se está propagando rápidamente en tres provincias del país. Sudáfrica ha denominado a esta variante 501Y.V2 porque el virus presenta la mutación N501Y. Aunque la variante VOC 202012/01 también presenta esta misma mutación, los análisis filogenéticos indican que la variante sudafricana no es la misma que la británica. Durante la semana del 16 de noviembre, la secuenciación sistemática llevada a cabo por las autoridades sanitarias sudafricanas reveló que esta nueva variante ha sustituido en gran medida a los demás virus SARS-CoV-2 que circulan en las provincias de Eastern Cape, Western Cape y KwaZulu-Natal. Aunque los datos genómicos demuestran que la variante 501Y.V2 ha desplazado rápidamente a los demás linajes que circulan en ese país y los estudios preliminares apuntan a que está asociada con una mayor carga viral (lo que hace pensar que tiene más capacidad para transmitirse), se continúan estudiando estos y otros factores que puedan afectar a esa capacidad. Además, por el momento no se ha demostrado con claridad que esta nueva variante ocasione síntomas más graves o resultados más adversos, y es preciso seguir investigando para conocer sus efectos en la transmisión, la gravedad clínica de la infección, el diagnóstico en el laboratorio, los tratamientos, las vacunas y las medidas preventivas de salud pública que se apliquen. Al 30 de diciembre, otros cuatro países habían notificado la variante 501Y.V2 sudafricana.

Las autoridades de los países afectados están efectuando investigaciones epidemiológicas y virológicas para evaluar con mayor precisión la capacidad de transmisión, la gravedad, el riesgo de reinfección y la respuesta de los anticuerpos a las nuevas variantes. Dado que la mutación N501Y presente en las variantes VOC 202012/01 y 501Y.V2 se encuentra en el dominio de fijación al receptor, las autoridades están estudiando la actividad neutralizante de los sueros de los pacientes curados o vacunados contra estas variantes para determinar si el rendimiento de la vacuna se ve afectado. Estas investigaciones todavía se están llevando a cabo.

Las autoridades sanitarias de diferentes países han enviado datos genómicos a la OMS de las variantes VOC 202012/01 y 501Y.V2, que se han publicado en la plataforma de la Iniciativa mundial para el intercambio de datos sobre la gripe aviar (GISAID), y en todo el mundo se continúa realizando una vigilancia genómica del virus.

Se han puesto en marcha diferentes acciones al respecto:

- Las autoridades nacionales que han notificado variantes del virus están intensificando la toma de muestras para conocer el grado de su circulación.
- Los equipos científicos de los países están estudiando el efecto de las mutaciones en el potencial de reinfección, la vacunación, las pruebas diagnósticas, la gravedad de la infección y la capacidad de transmisión.
- Los investigadores y las autoridades gubernamentales colaboran con la OMS y los miembros del grupo de trabajo de la OMS sobre la evolución del SARS-CoV-2 para evaluar los datos epidemiológicos, de modelización, filogenéticos y de laboratorio a medida que se dispone de ellos.
- La OMS colabora con los países para determinar de qué manera se pueden reforzar o adaptar los actuales sistemas de vigilancia a fin de evaluar las posibles variaciones del virus mediante la vigilancia clínica y epidemiológica sistemática y continua, la creación de capacidad en materia de secuenciación genética (cuando sea posible) y el acceso a servicios internacionales donde enviar muestras para su secuenciación y su análisis filogenético.
- Se han incrementado las actividades de comunicación de riesgos y de movilización comunitaria para explicar las consecuencias para la salud pública de las variantes del SARS-CoV-2 y subrayar la importancia de mantener las medidas que prevengan su transmisión, como el uso de mascarillas, la higiene de las manos y la prácticas correctas para toser, el mantenimiento de la distancia física, la ventilación suficiente de los espacios cerrados y la evitación de los lugares concurridos.

Como parte de la red mundial de laboratorios de la OMS que estudian el SARS-CoV-2, del cual hace un seguimiento de las mutaciones detectadas desde el comienzo de la pandemia, en junio de 2020 se estableció el Grupo de trabajo de la OMS sobre la evolución del virus SARS-CoV-2 integrado por expertos en secuenciación, bioinformática y pruebas de laboratorio in vivo e in vitro. Este grupo se encarga de reforzar los mecanismos para detectar mutaciones que puedan ser importantes y, si es necesario, establecer un orden de prioridad entre ellas; de detectar rápidamente las mutaciones importantes e investigar sus posibles efectos en las características del virus (por ejemplo, en su virulencia y su transmisión) y en la eficacia de las medidas actuales y futuras para combatirlo (como los medios de diagnóstico, las vacunas y los tratamientos); de evaluar las posibles estrategias de mitigación para reducir los efectos negativos de las mutaciones; y de estudiar el impacto de mutaciones específicas, lo cual entraña estudiar las variantes en el laboratorio, in vivo e in vitro. El intercambio de secuencias completas del genoma está facilitando que los asociados realicen análisis pormenorizados. El Grupo de trabajo colabora con científicos de todo el mundo que cuentan con una amplia gama de conocimientos especializados en virología en general, y específicamente, en coronavirus, con objeto de comprender mejor los resultados de los estudios y contribuir a proseguir las investigaciones.

Todos los virus, incluido el SARS-CoV-2, evolucionan con el tiempo, la mayoría de las veces sin que ello les confiera ventajas directas como un aumento de la infecciosidad o la transmisibilidad y, a veces, limitando su propagación. Puesto que el potencial de mutación de los virus aumenta con la frecuencia de las infecciones humanas y animales, la reducción de la transmisión del SARS-CoV-2 mediante métodos de eficacia demostrada para luchar contra las enfermedades y la prevención de la introducción de virus en las poblaciones animales son aspectos fundamentales de la estrategia mundial para reducir la aparición de mutaciones que puedan tener consecuencias negativas para la salud pública.



Los datos preliminares indican que el ritmo de crecimiento y el número de reproducción efectivo son elevados en las zonas del Reino Unido donde circula la nueva variante VOC-202012/01. En Sudáfrica, los datos genómicos han demostrado que la variante 501Y.V2 ha desplazado rápidamente a otros linajes en circulación, y los estudios preliminares apuntan a que esta variante va asociada a una carga viral más elevada, lo cual hace pensar que su transmisibilidad puede ser mayor; sin embargo, todavía se están investigando estos y otros factores que afectan a la transmisibilidad. Se están llevando a cabo estudios epidemiológicos para conocer la razón del creciente número de casos en esas comunidades y la posibilidad de que esas variantes sean más transmisibles, así como el grado de aplicación de las medidas de control. De acuerdo con las evaluaciones iniciales, las variantes 202012/01 y 501Y.V2 no alteran el cuadro clínico ni la gravedad de la enfermedad, pero incrementan la incidencia de los casos y, por ende, también podrían hacerlo las hospitalizaciones y las defunciones. Puede ser necesario intensificar las medidas de salud pública para contener la transmisión de estas variantes.

Es necesario continuar investigando para determinar los efectos de determinadas mutaciones en las propiedades del virus y en la eficacia de los medios de diagnóstico, los tratamientos y las vacunas, si bien estos estudios, que ya se han puesto en marcha, son complejos y requieren tiempo y colaboración entre diferentes grupos de investigadores.

Las autoridades nacionales y locales deberían seguir reforzando las actividades actuales de lucha contra la COVID-19, como la vigilancia epidemiológica continua y la realización estratégica de pruebas de detección; la investigación de los brotes y el rastreo de los contactos y, cuando sea necesario la adaptación de las medidas sociales y de salud pública para reducir la transmisión del SARS-CoV-2.

Asimismo, la OMS recomienda a los países que, cuando sea posible, aumenten la secuenciación sistemática de este virus para conocer mejor su transmisión y controlar la aparición de variantes. Los datos de las secuencias deben difundirse a nivel internacional en bases de datos de acceso público. En cuanto a los países con capacidad de secuenciación, la OMS recomienda que secuencien las muestras aisladas de un subconjunto de casos de infección por SARS-CoV-2 seleccionadas sistemáticamente, cuyo número dependerá de la capacidad local. También se debe contemplar la secuenciación genética al estudiar pautas inusuales de transmisión (por ejemplo, un aumento de la transmisión a pesar de las medidas de control existentes) o una gravedad o un cuadro clínico inesperados de la enfermedad. Si la capacidad de secuenciación es limitada, los países deberían aumentarla colaborando con laboratorios de secuenciación públicos, universitarios y privados y con los laboratorios colaboradores de la red de laboratorios de referencia para la COVID-19.

El SARS-CoV-2 seguirá mutando y es importante seguir estudiando las consecuencias para la salud pública de sus nuevas variantes, puesto que un aumento de la transmisibilidad podría dificultar la lucha contra el virus. Las medidas actuales de control de la COVID-19 recomendadas por la OMS estarían siendo eficaces y deben adaptarse en caso de que aumente la incidencia de la enfermedad, esté o no asociado dicho aumento a una nueva variante. Por otra parte, es necesario seguir transmitiendo a la población consejos relacionados para protegerse a sí mismos y a los demás, como el distanciamiento físico, el uso de mascarillas, la ventilación adecuada de los espacios cerrados, la evitación de las multitudes, la higiene de las manos y la precaución de toser en el pliegue del codo o en un pañuelo. Además, deben reforzarse las recomendaciones y medidas de prevención, entre ellas:

- utilizar el equipo de protección personal adecuado cuando se atienda a personas con enfermedades respiratorias agudas;

- lavarse las manos con frecuencia, especialmente después del contacto directo con personas enfermas o su entorno;
- cubrirse la nariz y la boca con pañuelos descartables o ropa al estornudar o toser, y lavarse las manos;
- mejorar las prácticas habituales de prevención en los hospitales, sobre todo en los servicios de urgencias;
- usar una mascarilla en caso necesario, asegurarse de que haya una buena ventilación siempre que sea posible y evitar las zonas concurridas.

La OMS ha publicado recientemente la guía “Aspectos que se deben tener en cuenta para aplicar criterios basados en riesgos a los viajes internacionales en el contexto de la COVID-19”, en la que se recomiendan los siguientes principios para las personas que hayan de efectuar dichos desplazamientos:

- los casos confirmados, probables y presuntos, así como los contactos de los casos confirmados o probables, no deben viajar;
- las personas con signos o síntomas indicativos de COVID-19 no deben viajar a menos que se hayan sometido a una prueba diagnóstica de esta enfermedad y se haya descartado la infección por el SARS-CoV-2;
- las personas que no se sientan bien han de postergar el viaje;
- también deben posponer su viaje las personas que corran riesgo de sufrir síntomas graves en caso de presentar COVID-19, incluidas las personas de 60 años de edad o más y las que padecen enfermedades que aumenten dicho riesgo (por ejemplo, enfermedades cardíacas, cáncer y diabetes);
- en función de las restricciones locales, las personas que residan en zonas donde se hayan impuesto restricciones a los viajes no deben realizar desplazamientos que no sean esenciales;
- los viajeros que presenten síntomas de enfermedad respiratoria aguda durante o después del viaje deben procurarse atención médica y comunicar los viajes efectuados a los profesionales de salud.

Las autoridades sanitarias deben colaborar con los sectores de los viajes, el transporte y el turismo para proporcionar a las personas que viajan, incluso a los países afectados por las nuevas variantes y desde ellos, la información mencionada, a través de los centros de salud para viajeros, las agencias de viajes y los transportistas, y en los puntos de entrada; también se debe facilitar esta información a las comunidades que vivan en zonas contiguas a las fronteras terrestres con países afectados.

Este tipo de guías ofrece a los países criterios basados en los riesgos para adoptar decisiones relativas a las medidas de mitigación de riesgos en los viajes internacionales, teniendo en cuenta tanto la necesidad de evitar la exportación, la importación y la transmisión del SARS-CoV-2 como los obstáculos innecesarios al tránsito internacional. Algunos países han impuesto recientemente restricciones a los viajes como medida de precaución frente a la aparición de nuevas variantes. La OMS recomienda que todos los países adopten un enfoque basado en los riesgos para adaptar cualquier medida en el contexto de los viajes internacionales, que incluya considerar la transmisión local, la capacidad de los servicios de salud, los datos disponibles sobre la transmisibilidad de las distintas variantes, las repercusiones sociales y económicas de las restricciones y el grado de cumplimiento de las medidas sociales y de salud pública. Las autoridades nacionales deben hacer públicos los métodos que empleen para evaluar los riesgos y la lista de países o zonas de salida a los que se aplican restricciones, y actualizar periódicamente esta información.

Conforme con la recomendación del Comité de Emergencia sobre el COVID-19 en su reunión más reciente, la OMS aconseja que los Estados Partes que revisen con

regularidad las medidas aplicadas a los viajes internacionales, de conformidad con el artículo 43 del Reglamento Sanitario Internacional (2005), y que sigan brindando información y justificaciones a la OMS de las medidas que obstaculicen considerablemente el tránsito internacional. Además, se deben asegurar de que las medidas que afecten al tránsito internacional se basen en los riesgos y en datos probatorios, que sean coherentes y proporcionadas y que se apliquen durante plazos definidos.

En todas las circunstancias, siempre se debería dar prioridad a los viajes que resulten esenciales (por ejemplo, el personal de respuesta a las emergencias y el que presta apoyo técnico a los servicios de salud pública, los trabajadores esenciales de los sectores del transporte y la seguridad, como los marineros; las repatriaciones y el transporte de bienes esenciales como alimentos, medicamentos y combustibles), según determinen los países; esos viajes se deben facilitar.



## DIAGNÓSTICO

### MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas en los pacientes con COVID-19 son mayormente inespecíficas, es decir, son síntomas que pueden asociarse a otras enfermedades, por lo que la presentación clínica no puede ser utilizada para su diagnóstico certero (OMS, Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19), 2020). Esto está apoyado por una revisión sistemática Cochrane recientemente publicada que mostró la variabilidad de ocurrencia de síntomas en pacientes con COVID-19 en el ámbito hospitalario (Struyf T, 2020).

El curso de la infección es extremadamente variable, teniendo una presentación “habitual” con compromiso respiratorio, que se encuentra dentro de un amplio abanico que abarca desde pacientes asintomáticos hasta manifestaciones sistémicas graves sin compromiso respiratorio.

La media del período de incubación es de aproximadamente 5 (2 a 7) días. Aproximadamente un 95% de los pacientes que desarrollan síntomas lo harán antes de los 11 a 12 días posteriores a la exposición. Se determinó el período de incubación como de hasta 14 días.

La prevalencia publicada de pacientes asintomáticos es muy amplia y variable, hay estudios que documentan entre un 5-7% y otros hasta más de un 30% de pacientes asintomáticos.

En el 80 % de los casos la enfermedad es leve, un 15 % de los pacientes desarrolla síntomas moderados que requieren hospitalización y un 5 % desarrolla síntomas muy graves requiriendo asistencia en unidades de cuidados intensivos. Las formas leves habituales comprenden infecciones de la vía aérea superior con rinorrea, odinofagia, síndrome gripal, mialgias, artralgias, astenia, malestar general, tos seca, dolor torácico, conjuntivitis, congestión nasal, cefalea intensa, anosmia y/o disgeusia, las cuales pueden presentarse de manera aislada con inicio súbito en aproximadamente un 10% de los pacientes, o aparecer más tardíamente en el curso del cuadro clínico. En los pacientes que no han requerido internación, la fiebre se encontró en menos del 50%. Las formas moderadas se presentan con neumonías intersticiales bilaterales que no requieren internación, sin insuficiencia respiratoria ni otros signos de gravedad. Las formas severas, neumonías graves con insuficiencia respiratoria, requieren internación, pudiendo necesitar asistencia en Unidad de Terapia Intensiva (UTI) con ventilación asistida, fallo multiorgánico y mala evolución en hasta el 50% de los pacientes.

Los factores de riesgo que se han identificado asociados a esta evolución son edad avanzada, enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HTA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades oncológicas, insuficiencia renal crónica (IRC), obesidad y tabaquismo.

Si se observan los signos y síntomas en los estudios publicados de los pacientes que han requerido internación, los síntomas más comunes fueron la fiebre, presente en más del 80% de los pacientes, la tos, en más del 60% y la disnea, en más del 38% de los casos.

En cuanto a la progresión del cuadro, en los pacientes que van a tener una evolución tórpida, se observa persistencia de la fiebre más allá del quinto o sexto día, junto con la aparición de disnea y el síndrome de dificultad respiratoria aguda aproximadamente en el séptimo a octavo día de evolución.

Los síntomas digestivos se evidenciaron en diversos estudios en un 15 a un 20% de los pacientes, siendo en orden de frecuencia los siguientes: diarrea, náuseas y/o vómitos, anorexia, dolor abdominal.

Las manifestaciones cutáneas son menos frecuentes y se encuentran más en las poblaciones pediátricas. Pueden coincidir con el inicio de síntomas respiratorios leves. Hay un amplio espectro de ellas, erupciones máculo-papulares, lesiones urticarianas en tronco y palmas, áreas de vesículas o pústulas en zonas acras, otras erupciones vesiculares, lesiones nodulares distales en dedos similares al eritema pérmico y livideces o necrosis mayormente en pacientes de edad avanzada y con compromiso grave.

Además, se han descrito manifestaciones renales, hepáticas y endocrinológicas.

Otras complicaciones importantes de los pacientes con COVID-19, más frecuentes en aquellos con enfermedad grave, son los eventos cardiovasculares, eventos tromboembólicos, complicaciones inflamatorias mediadas por anticuerpos (por ejemplo, Síndrome de Guillain Barré) y el compromiso neurológico. Las infecciones secundarias son poco frecuentes, habiendo varios reportes de aspergilosis pulmonar invasiva.

La letalidad reportada varía de menos del 1% a más del 7%, según distintos reportes que involucran diferentes poblaciones con distintas características clínico-epidemiológicas. La mortalidad es considerablemente más baja, <2 %. El tiempo de recuperación es muy variable, en general 2 semanas en los pacientes con compromiso leve, y de 4 a 6 semanas en los que cursan con compromiso severo los síntomas persistentes más frecuentes son astenia, disnea y artralgias.

En la población pediátrica, los síntomas atribuibles a la COVID-19 son motivo de consulta muy común por lo que, en este contexto, sería prioritario sospechar de la enfermedad cuando además de los síntomas, se detecte una situación epidemiológica potencialmente grave, como que el niño conviva con una persona con riesgo alto de presentar una forma grave de COVID-19; población pediátrica institucionalizada o con enfermedades previas que predispongan a padecer una enfermedad COVID-19 severa o conviviente con caso sospechoso de COVID-19. Los casos pediátricos son menos frecuentes que en los adultos y con sintomatología más leve. Estos pacientes pueden permanecer asintomáticos y en alrededor del 50% de los casos pueden presentarse con fiebre baja y tos seca (el 38 %); menos frecuentes son la rinorrea y odinofagia. Aproximadamente el 15 % tiene síntomas gastrointestinales (dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea). Como en los adultos, se han observado diversas manifestaciones cutáneas, teniendo particular incidencia el compromiso vascular distal de los dedos, de características similares al eritema pernicio y con una aparición mediana de 10 días posterior al inicio de los síntomas respiratorios; también se ha observado exantema eritematoso generalizado, urticaria y lesiones que se manifiestan con vesículas cutáneas. La mayoría de los casos en niños evolucionan favorablemente, con recuperación dentro de las dos semanas del inicio de los síntomas. Los pocos casos graves, que requirieron asistencia respiratoria mecánica, han ocurrido en menores de 1 año de edad con comorbilidades preexistentes. A diferencia de la población adulta, la co-infección viral con otros virus respiratorios (sincicial respiratorio (VSR), influenza A y B, rinovirus, parainfluenza y adenovirus) ha sido documentada con frecuencia, por lo que el diagnóstico de alguno de ellos, no invalida la sospecha de COVID-19. Un cuadro típico en este grupo poblacional ha sido el síndrome de hiperinflamación y vasculitis ya sea como forma de presentación inicial o como complicación posterior a la infección por SARS-CoV-2 documentada, ya que podría deberse a una respuesta inflamatoria tardía a dicha infección. Este cuadro grave se presenta con compromiso hemodinámico, respiratorio o gastrointestinal, alteraciones miocárdicas, de la función renal, manifestaciones neurológicas y finalmente shock con fallo multiorgánico. No se han observado alteraciones de laboratorio o radiográficas específicas en población infantil afectada por COVID-19, sólo la linfopenia es bastante frecuente y característica.

## TOMA DE MUESTRAS

Las muestras deben ser recolectadas por personal capacitado y teniendo en cuenta todas las instrucciones de bioseguridad y el equipo de protección personal apropiado para virus respiratorios: guantes descartables, ambo, camisolín, protección ocular y barbijo (Ministerio de Salud de la Nación, 2020). Si bien existen diversos tipos de muestras en los cuales se podrían rescatar el virus, las más utilizadas son las que provienen de la vía respiratoria superior: el hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo. Según el Centro para control y prevención de enfermedades estadounidense (CDC), es recomendable la utilización del muestreo nasofaríngeo por sobre el orofaríngeo (CDC, 2020). Esta recomendación surge a partir de que se evidenció una mayor positividad en las muestras nasofaríngeas por sobre las muestras orofaríngeas en los pacientes con COVID-19; a su vez, es mejor tolerada por el paciente y se considera de menor riesgo para el operador (Wang W, 2020). En los casos de neumonía, no se producen secreciones purulentas, por lo tanto el hisopado nasofaríngeo también es de preferencia (To KK-W, 2020).

La muestra de tracto respiratorio superior se sugiere que sea tomada con un único hisopado nasofaríngeo, idealmente dentro de las primeras 72 horas desde el inicio de los síntomas. Luego, los hisopos deben ser colocados en un medio de transporte universal para virus pudiendo también utilizarse solución fisiológica, y ser llevados velozmente hacia el laboratorio de microbiología clínica bajo condiciones ideales de refrigeración. Al tratarse de hisopos que se utilizarán para métodos de transcripción reversa, deben ser rápidamente añadidos a los buffers de lisis para desinfectar la muestra, así como para evitar la degradación del ARN del coronavirus (Tang YW, 2020).

Por otro lado, el muestreo de vías aéreas inferiores mediante lavado broncoalveolar o aspirado traqueal puede ser útil, pero no se recomienda su uso indiscriminado dado que conlleva mayor riesgo de bioseguridad por la exposición a gotas de aerosol, además de ser más costoso, invasivo y requerir personal entrenado (Loeffelholz MJ, 2020).

La muestra de saliva representa una oportunidad para minimizar el contagio entre personal de salud y en convivientes de pacientes confirmados de padecer COVID-19, a la vez que provee una alternativa no invasiva, de bajo costo y accesible, y si bien no se realiza de rutina, es más simple de extraer que el hisopado nasofaríngeo y puede ser realizada por el mismo paciente.

El virus también es detectable en materia fecal, orina y sangre; no obstante, estas muestras son menos fiables que las respiratorias, y por ende poco utilizadas (Cheng PK, 2004).

## MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DE INFECCIÓN POR SARS-CoV-2

### TÉCNICAS MOLECULARES

Las técnicas moleculares posibilitan la identificación del patógeno específico; sin embargo, requieren del entendimiento previo de la composición genómica del patógeno, junto con la expresión de genes y proteínas en el hospedador durante la infección.

La primera secuencia del genoma del SARS-CoV-2 se obtuvo el 10 de enero de 2020, mediante secuenciación de RNA metagenómica, un método imparcial y de alto rendimiento para secuenciar genomas múltiples (Miller S, 2020). Entre marzo del 2020 y diciembre del mismo año, varios científicos argentinos han secuenciado 929 genomas de muestras de pacientes argentinos con COVID-19. Esta iniciativa es de suma importancia para definir la dinámica y diversidad viral de SARS-CoV-2, que permitirá ajustar los kits de detección a las

características específicas del virus que circula localmente (CONICET, 2020). La secuenciación del genoma también es importante para que los investigadores diseñen cebadores y secuencias de sonda para reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otras pruebas de ácido nucleico (Lu R, 2020). No obstante, actualmente la secuenciación genómica como método diagnóstico de infección por COVID-19 se considera impráctica (Tang YW, 2020).

La principal prueba diagnóstica para la detección de la enfermedad en la fase aguda a través de muestras respiratorias es mediante la retrotranscripción seguida por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) (Patel R, 2020). Esta técnica permite identificar el RNA viral mediante amplificación cíclica de ácido nucleico del SARS-CoV-2 (Udugama B, 2020). La ventaja de este método es que combina amplificación y detección simultáneamente en un sistema cerrado, que ayuda a minimizar los falsos positivos por contaminación del producto de amplificación. El umbral cíclico (Ct) es el número de ciclos de

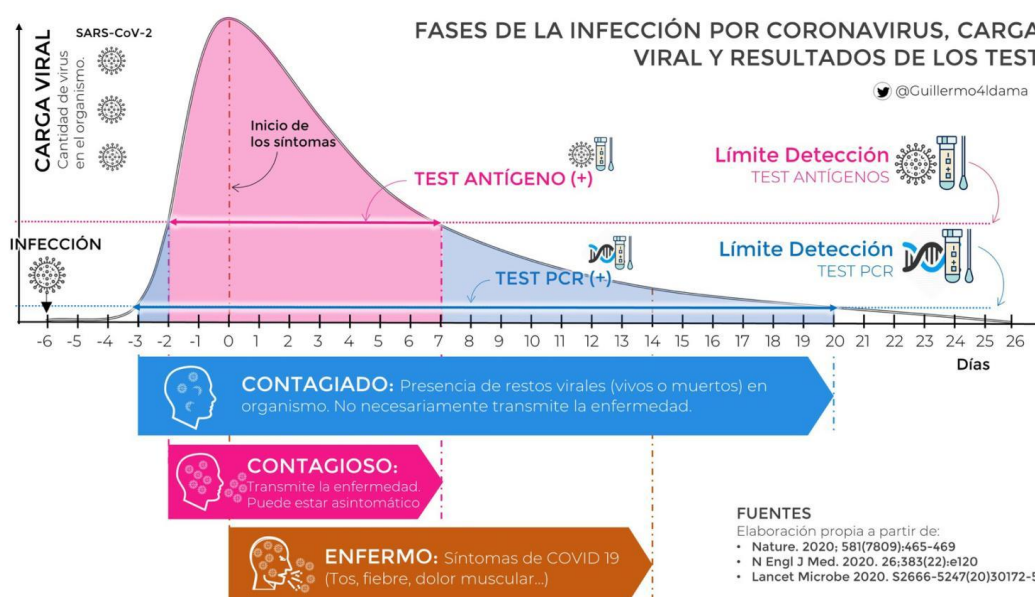


Figura 9. Fases de la infección por SARS-CoV-2, carga viral y resultados de los test.

replicación necesarios para producir una señal fluorescente: cuanto más bajo sea, mayor carga viral presenta la muestra. Si es inferior a 40 se notifica como PCR positivo. En personas sintomáticas, el RNA viral se detecta el primer día de los síntomas, llega a su máxima expresión en el transcurso de la primera semana y luego va disminuyendo (Figura 9). Esto puede no suceder en pacientes hospitalizados con un cuadro grave, en quienes puede persistir más allá de las 3 semanas del inicio de los síntomas.

Otro punto para tener en cuenta es que un resultado positivo de PCR refleja la detección del RNA viral pero no indica la severidad ni la presencia de virus viable, es decir, con capacidad infectiva (Tang YW, 2020; Wölfel R, 2020).

El protocolo utilizado actualmente fue desarrollado y optimizado para el detección del nuevo coronavirus en el Hospital Universitario Charité (Ginebra, Suiza), en colaboración con varios otros laboratorios en Alemania, Países Bajos, China, Francia, Reino Unido y Bélgica (Corman VM, 2020). Además, el protocolo existente fue optimizado aún más por los CDC en Estados Unidos a través de la comparación integral y validación de kits alternativos disponibles

para la extracción de ácidos nucleicos y el uso de conjuntos de sondas y cebadores alternativos para detección eficiente del SARS-CoV-2 en muestras clínicas. Este protocolo se basa en la detección de dos marcadores en el genoma del virus: el gen E y el gen RdRP (dos sondas P1 y P2 fueron diseñadas para la detección del gen RdRP). La detección del gen E es específica para todos los virus del subgénero Sarbecovirus (es decir, además del SARS-CoV-2, el SARS-CoV y los virus de murciélagos relacionados), mientras que el ensayo RdRP con la sonda P2 solo detecta el virus de la COVID-19. Sin embargo, el único Sarbecovirus que circula actualmente en humanos es el virus responsable de la COVID-19. Por lo tanto, la amplificación positiva del gen E confirma un caso de COVID-19.

Aunque la recomendación inicial era detectar dos marcadores genéticos diferentes (por ejemplo, detección del gen E seguida por el gen RdRP), un algoritmo más simple incrementa la capacidad operativa de los laboratorios, mientras que garantiza la precisión mediante el uso de los ensayos de Charité que son altamente específicos. Según procedimientos estándares, los laboratorios deben asegurarse de que todos los parámetros de control de calidad del ensayo (controles negativos y positivos, forma de las curvas de amplificación) sean óptimos antes de emitir resultados. Se pueden usar los genes E o RdRP para la confirmación en laboratorio; sin embargo, el ensayo del gen E ha demostrado una sensibilidad ligeramente mayor, por lo que se recomienda priorizar el gen E como marcador seleccionado.

Otros ensayos moleculares están disponibles y se pueden realizar en plataformas abiertas (“manuales”) o cerradas (es decir, que los estuches solo funcionan en sistemas cerrados que realizan los ensayos de manera automatizada). Estas incluyen ensayos que han sido añadidos a la lista de productos para uso de emergencia (EUL) de la OMS, evaluados independientemente por FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics, Centro Colaborador de la OPS/OMS), o aprobados para su comercialización por las autoridades reguladoras nacionales (en particular, aquellas consideradas por la OMS como SRA (Stringent Regulatory Authority) para su precalificación acelerada de pruebas de diagnóstico in vitro). Bajo la supervisión de la autoridad sanitaria nacional y con el apoyo técnico de los laboratorios nacionales de salud pública y los centros nacionales de influenza, estos ensayos pueden ser utilizados en centros de atención que cuenten con la capacidad necesaria, o en laboratorios descentralizados.

La mayoría de las técnicas de diagnóstico molecular convencionales requieren la extracción de RNA antes de realizar una prueba de RT-PCR. Sin embargo, existe una escasez mundial de kits de extracción comerciales debido a la pandemia de COVID-19. La RT-PCR directa a partir de hisopos nasofaríngeos puede proporcionar una alternativa temporal o de emergencia a la extracción de RNA, pero las limitaciones del volumen de entrada, así como un mayor riesgo de degradación del RNA e inhibición de la PCR, pueden provocar una pérdida de sensibilidad del ensayo. El tratamiento térmico antes del procesamiento de la muestra puede afectar la calidad del RNA. Otros factores que pueden afectar la calidad del RNA y que deben evaluarse antes de la implementación son la adición de detergentes, medios de transporte, el volumen de la muestra utilizada y la enzima polimerasa utilizada. También deben considerarse las implicancias respecto a la bioseguridad de los métodos de extracción alternativos. Los laboratorios que consideren métodos alternativos que eludan la necesidad de extracción de RNA deben validar sus protocolos a fondo y realizar una evaluación de riesgos que sopesa los riesgos y los beneficios, antes de integrar dichos protocolos en un flujo de trabajo de diagnóstico.

### *Interpretación de los resultados de biología molecular*

Aunque la dinámica de la infección, incluida la excreción viral en diferentes fluidos, sigue en estudio, hasta el momento se ha podido determinar, en líneas generales, que el virus puede ser detectado al menos 48 horas antes del inicio de los síntomas (pre-sintomáticos), hasta 12 o 14 días o más en muestras del tracto respiratorio superior (hisopado nasofaríngeo u orofaríngeo) y hasta más de 20 días en muestras del tracto respiratorio inferior como el esputo, el aspirado traqueal, el lavado bronco alveolar, etc. En un individuo identificado como contacto de un caso confirmado, se debe considerar cuál es el valor agregado de realizar un ensayo de laboratorio, teniendo en cuenta que independientemente del resultado, la indicación es la cuarentena durante 10 días contados desde el día del último contacto con el caso. Si se realiza un ensayo molecular, un resultado negativo no descarta el contacto previo, ni descarta la posibilidad que el contacto esté en periodo de incubación; si se obtiene un resultado positivo, constituye un caso asintomático o pre-sintomático, y, en cualquier caso, se deberá cumplir con el aislamiento.

La detección molecular del SARS-CoV-2 utilizando protocolos bien diseñados suele ser muy específica; por lo tanto, un resultado positivo confirma la detección del virus.

En un individuo asintomático, ya que no se cuenta con una fecha que pueda ser utilizada como referencia, un resultado negativo de detección molecular puede ocurrir porque la carga viral es lo suficientemente baja como para no ser detectada, porque el individuo se encuentra en el período convaleciente, o simplemente porque el individuo nunca ha estado infectado. Por lo tanto, un resultado negativo no descarta una posible infección. Si como parte de una búsqueda activa (trabajadores de salud, cuidadores en residencias, etc.) se obtiene un resultado positivo por detección molecular, el resultado constituye un caso asintomático y el individuo deberá ser aislado.

Varias razones pueden explicar un resultado negativo en una persona infectada, principalmente:

- Calidad de la muestra, manipulación, transporte o almacenamiento deficientes (como control, se puede realizar la detección cualitativa de un gen constitutivo (o de mantenimiento) humano, como por ejemplo RNase P).
- Extracción de muestra deficiente o fallida, presencia de inhibidores de PCR en el RNA extraído (como control, se puede usar un control de extracción o la detección de un constitutivo, como se mencionó anteriormente).
- La muestra se recolectó en un momento en que el paciente no estaba secretando cantidades suficientes de virus, por ejemplo, muy temprana o tardíamente durante la infección (este punto es particularmente relevante ya que la dinámica de la presencia del virus en diferentes tipos de muestra no se ha establecido por completo).
- Al igual que con cualquier ensayo de detección molecular, las mutaciones del virus en las regiones a las que se dirigen los cebadores y sondas pueden afectar la sensibilidad de la detección.

## **DETECCIÓN DE ANTÍGENOS**

Durante los primeros días tras el inicio de los síntomas (de 1 a 5 días aproximadamente), se generan proteínas virales (antígenos) que pueden ser detectadas mediante diferentes ensayos (ELISA, inmunofluorescencia, o incluso pruebas rápidas inmunocromatográficas). Sin embargo, no se ha caracterizado totalmente la dinámica de producción y excreción de estas proteínas. En general, la detección de antígenos presenta una especificidad aceptable (dependiendo del ensayo), por lo cual su detección puede ser usada como criterio de confirmación (en conjunto con la definición de caso, la historia clínica y los



antecedentes epidemiológicos) y para tomar decisiones en el ámbito de la salud pública (por ejemplo, acerca del aislamiento). Sin embargo, un resultado negativo, en cualquier estadio de la infección, no debe ser usado como criterio para descartar un caso y, por lo tanto, se recomienda la realización de pruebas adicionales con ensayos moleculares. Estos resultados podrían estar relacionados con la carga viral según reportan algunos estudios, alcanzando un valor predictivo positivo (VPP) de casi el 100 % y un valor predictivo negativo (VPN) del 32 % cuando el Ct es menor a 40.

### *Recomendaciones generales para el uso de SARS-CoV-2 Ag*

SARS-CoV-2 Ag que cumplan con los requisitos mínimos de rendimiento de  $\geq 80\%$  de sensibilidad y  $\geq 97\%$  especificidad en comparación con un ensayo de referencia (RT-PCR) pueden ser utilizados para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2 en una variedad de entornos donde la RT-PCR no está disponible o donde se prolongan los tiempos de respuesta y esté en jaque la utilidad clínica.

Para optimizar el rendimiento, las pruebas con Ag deben ser realizadas por operadores capacitados en estricta conformidad con las instrucciones del fabricante y dentro de los primeros 5-7 días después del inicio de los síntomas.

Los escenarios apropiados para el uso de SARS-CoV-2 Ag incluyen:

- Para responder a presuntos brotes de COVID-19 en entornos remotos, instituciones y comunidades semicerradas donde la RT-PCR no está fácilmente disponible. Obtener resultados positivos de Ag de múltiples sospechosos es altamente sugerente de un brote de COVID-19 y permitiría una implementación temprana de las medidas de control de infecciones.
- Para apoyar las investigaciones de brotes (por ejemplo, en grupos semicerrados, que incluyen escuelas, residencias, cruceros, cárceles, neuropsiquiátricos, lugares de trabajo y pensiones, etc.) En brotes de COVID-19 confirmados por RTP-PCR, los Ag podrían usarse para detectar a personas en riesgo y aislar rápidamente los casos positivos (e iniciar otros rastreos de contacto).
- Para estudiar contactos estrechos asintomáticos de casos positivos, ya que los casos asintomáticos han demostrado tener cargas virales similares a casos sintomáticos, aunque no ha sido específicamente autorizado para este uso.

## **TEST SEROLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS**

Otro método para identificar el SARS-CoV-2 es la detección de anticuerpos totales, IgM e IgG en el paciente con sospecha de infección. Utilizando muestras de plasma, suero o sangre entera, se aplican técnicas de inmunoensayos quimioluminiscentes o de ELISA para la detección de anticuerpos (Zainol Rashid Z, 2020). Los anticuerpos se generan contra distintas partes del virus; sin embargo, se destacan aquellos antígenos inmunodominantes para el diagnóstico temprano de COVID-19: son las proteínas N de la nucleocápside (Tang YW, 2020), ya que estas proteínas son las más abundantes del virus. Sin embargo, otros anticuerpos como el RBD-S ("receptor-binding domain of S"), que permiten la unión con las células del hospedador, podrían ser más específicos y neutralizantes de la enfermedad (Sethuraman N, 2020). La interpretación positiva se ha definido como IgM positivo o suero convaleciente con un aumento del título de IgG cuatro veces superior al de la fase aguda (Zainol Rashid Z, 2020).

Si bien la presencia de anticuerpos neutralizantes solo puede ser confirmada por una prueba de neutralización de reducción de placa, se correlacionaron positivamente títulos elevados de IgG con la presencia de anticuerpos neutralizantes (Sethuraman N, 2020).

En los métodos serológicos debe considerarse el tiempo como una variable importante a la hora de interpretar los resultados (Figura 10).

Algunos estudios recientes, a través de ELISA, demostraron que tanto la IgM como la IgG se elevan simultáneamente alrededor del cuarto día del inicio de los síntomas, pero que los niveles elevados comienzan a presentarse en la segunda y tercera semana. La diferencia entre ambos radica en que la curva de IgM comienza a decrecer con mayor rapidez a partir de la semana 5 y desaparece en la semana 7, mientras que los niveles de IgG se mantienen elevados y persisten luego de dicha semana (Sethuraman N, 2020).

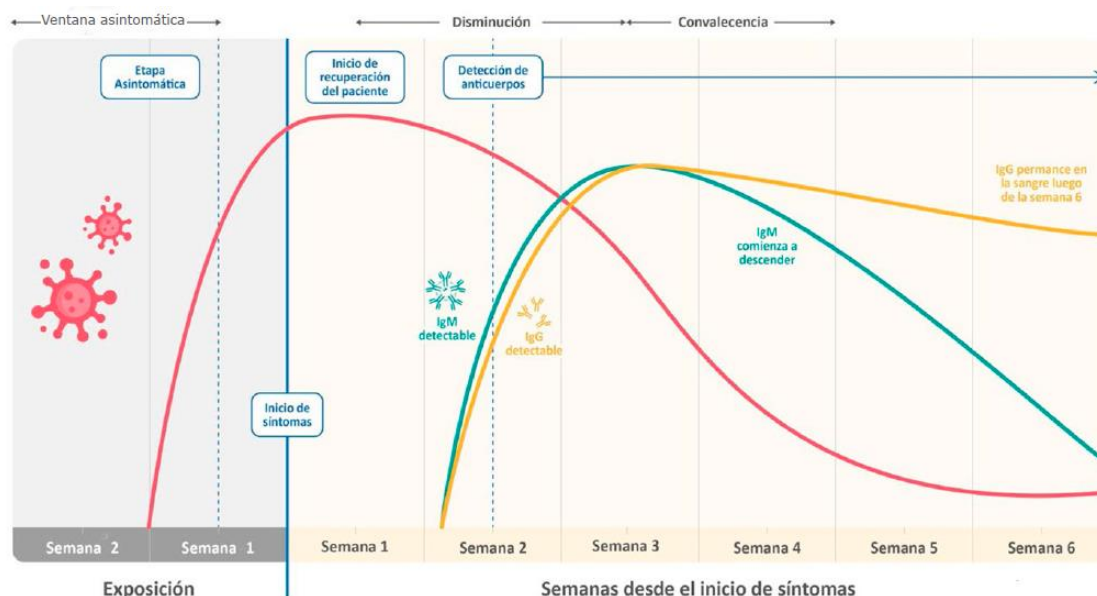


Figura 10. Dinámica de presentación de marcadores moleculares y serológicos de la infección por SARS-CoV-2. Tomado de Rosón P, et al., 2020

Una reciente revisión Cochrane que incluyó 54 estudios con 15.976 participantes exploró los valores de sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas, destacando sus problemas de sensibilidad a la dependencia de esta respecto del tiempo de la toma de la muestra, que es del 72,2% entre los 8 y 14 días y del 91,4% entre los 15 y 21 días (Deeks JJ, 2020). Adicionalmente, la revisión señala que la especificidad sería alta (98,7%). Es importante señalar que la confianza en la evidencia aportada por los estudios incluidos en la revisión es limitada debido principalmente a la utilización de metodologías poco fiables, a un informe selectivo de los resultados y a un pequeño número de participantes en los grupos evaluados. En la mayoría de los casos se restringió el tipo de participantes definidos como caso a aquellos con RT-PCR positiva (sin incluir a casos asintomáticos, oligosintomáticos o con RT-PCR falsamente negativa). Además se usó como referencia de casos negativos las muestras de bancos de sangre de personas sin COVID-19 previos al surgimiento de la pandemia. Estas limitaciones podrían elevar artificialmente los valores de sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas evaluadas.

A pesar de que no permite establecer el estado de infección con certeza, la detección de anticuerpos representa una opción sencilla y de menor riesgo de exposición durante la obtención de la muestra de sangre para estudios epidemiológicos de monitoreo (estudios de seroprevalencia). Para el diagnóstico de la enfermedad, la serología podría resultar de utilidad en clínicas comunitarias y hospitales pequeños que no tengan acceso al equipamiento ni la experiencia necesarios para realizar testeos moleculares; así como podría ser útil para el



diagnóstico retrospectivo y para el diagnóstico y confirmación de casos tardíos de COVID-19, para determinar la inmunidad de la población y el personal sanitario (Tang YW, 2020), o en pacientes sintomáticos que se presentan luego de dos semanas desde el inicio de los síntomas (Sethuraman N, 2020). En aquellos casos en los cuales la RT-PCR puede dar un resultado falsamente negativo, el uso de IgM ELISA puede mejorar la detección de la infección, especialmente después de los 5,5 días de aparición de los síntomas cuando la positividad del test molecular sería cercana al 50%, la cual podría aumentar a casi el 100% cuando se utiliza en combinación con el test serológico (Guo L, 2020). Hasta el momento no existe información suficiente acerca de que la presencia de anticuerpos indique inmunidad duradera (Caini S, 2020), ya que la persistencia y duración conferida por anticuerpos neutralizantes se desconoce (Sethuraman N, 2020).

### *Interpretación de resultados serológicos*

Con todo esto, los ensayos serológicos (tanto pruebas de ELISA como inmunoquimioluminiscencia) no son considerados pruebas diagnósticas y los resultados deben ser evaluados cuidadosamente a la luz de la información clínica, el resultado de otros ensayos y el contexto epidemiológico. Así, su implementación debe estar enfocada principalmente a investigaciones epidemiológicas y estudios de seroprevalencia.

La presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 indica una infección previa y posiblemente al menos algún grado de inmunidad o protección contra una futura infección por SARS-CoV-2. Sin embargo, hasta que se establezca la duración de la inmunidad, no se puede suponer que las personas que dan positivo en la prueba de anticuerpos contra el SARS-CoV-2, incluidos los anticuerpos totales, IgM, IgG o IgA, estén protegidas de infecciones futuras.

No se ha definido la magnitud y duración de las respuestas inmunitarias humores a la infección por SARS-CoV-2. La evidencia preliminar sugiere que los anticuerpos IgG y IgM comienzan a disminuir en los primeros tres meses después de la aparición de los síntomas en pacientes con COVID-19 leve, similar a lo que ocurre con otros coronavirus estacionales. Estas observaciones podrían tener implicancias importantes para los estudios de prevalencia. Se necesita seguir investigando para definir concretamente la dinámica de los anticuerpos y para determinar si la detección de los mismos (y, en caso afirmativo, a qué títulos) confiere protección contra la reinfección. Las personas asintomáticas que dan positivo en las pruebas serológicas sin antecedentes recientes de una enfermedad compatible o confirmada por COVID-19 tienen una probabilidad baja de infección activa y deben seguir las recomendaciones generales para prevenir la infección por SARS-CoV-2. Deben continuar con sus actividades normales, incluido el trabajo. Las personas que han tenido una enfermedad confirmada o compatible con COVID-19 deben seguir las pautas previas sobre cuándo reanudar las actividades normales, incluido el trabajo, independientemente de la presencia de anticuerpos. No debería haber cambios en la práctica clínica o reaspecto al uso de los elementos de protección personal (EPP) por parte de los trabajadores de la salud y los socorristas que dan positivo para anticuerpos anti SARS-CoV-2.

Otras consideraciones adicionales sobre el uso de pruebas serológicas a tener en cuenta son:

- Los resultados de las pruebas serológicas no deben usarse para tomar decisiones sobre la agrupación de personas que residen o son admitidas en entornos congregados, como escuelas, pensiones, neuropsiquiátricos o instalaciones correccionales.
- Los resultados de las pruebas serológicas no deben usarse para tomar decisiones sobre el regreso de las personas al lugar de trabajo.
- Hasta que no se disponga de más información sobre la dinámica de detección de IgA en suero, no se recomienda la prueba de anticuerpos IgA.

## ESTUDIOS POR IMÁGENES

En general no se recomienda el uso de imágenes para pacientes con sospecha de enfermedad por COVID-19 con características clínicas leves, a menos que estén en riesgo de progresión de la enfermedad. La radiografía de tórax sigue siendo el primer estudio por imágenes para utilizar por su precio, disponibilidad y facilidad para limpiar; a pesar de ello, los posibles hallazgos son inespecíficos. La ecografía y la resonancia magnética son estudios poco utilizados para el diagnóstico de COVID-19, pero podrían destacarse como métodos que no utilizan radiación en embarazadas (Dong D, 2021).

La tomografía computada de tórax representa una opción para el diagnóstico rápido de neumonía por COVID-19 en pacientes con alta probabilidad pre-test, dado que cuenta con un bajo porcentaje de falsos negativos (3,9%) (Bachelet, 2020). Este método se usa en pacientes hospitalizados o sintomáticos compatibles con enfermedad severa o moderada y no se recomienda emplearlo como primer método de diagnóstico de COVID-19 (Poortahmasebi V, 2020). Algunos estudios plantean que podría tener mejor sensibilidad que la RT-PCR en estadios tempranos de neumonía (98% vs. 75%), pero la evidencia que soporta esta afirmación es inconsistente (Fang Y, 2020). Puede ser útil en pacientes con RT-PCR negativa en los cuales el diagnóstico de neumonía viral hace necesario repetir la toma de muestra de hisopado de fauces. Es poco específica, dado que sus hallazgos pueden superponerse con otras causas de neumonía viral y causas no infecciosas, como el vidrio esmerilado presente en la insuficiencia cardíaca (He JL, 2020). Es orientativo hacia la infección por SARS-CoV-2 el compromiso bilateral del pulmón en todos sus lóbulos (74,5%), o únicamente en ambos lóbulos inferiores (15,7%). Casi la totalidad de las lesiones son periféricas y subpleurales (96,1%); con un patrón de expansión central a medida que la enfermedad avanza. Sin embargo, no puede diferenciarse de otros agentes etiológicos ya que los hallazgos tomográficos comunes en la infección por SARS-CoV-2 se superponen con los hallazgos de la infección por adenovirus; opacidades en vidrio esmerilado (96,1%), consolidaciones con agrandamiento vascular o sin él (82,4%), engrosamiento de los septos interlobulares (70,6%), y broncograma aéreo (68,6%) (Li Y, 2020).

## MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EMPLEADOS EN ARGENTINA

En la Argentina, la RT-PCR es el método estándar para el diagnóstico de la enfermedad aguda. En cuanto a las pruebas serológicas, actualmente está restringido su uso para los estudios epidemiológicos, la evaluación de donantes de plasma para los ensayos clínicos en curso, en los casos donde el diagnóstico molecular no logra definir el estatus de infección y para el monitoreo serológico del personal esencial. Los test rápidos serológicos, primordialmente que miden anticuerpos, son solamente utilizados para la investigación epidemiológica (Ministerio de Salud, 2020; OMS, 2020). Arrojan resultados dentro de los primeros 15 a 30 minutos en una banda de color, de manera similar a un test de embarazo casero.

En nuestro país se creó un nuevo método diagnóstico aprobado por la Agencia Nacional de Medicamentos y Tecnología Alimentaria (ANMAT), llamado NEOKIT-COVID-19, que consiste en un test rápido que permite la detección del RNA del virus de forma más rápida y menos costosa, mediante amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), la cual, al igual que la PCR, multiplica el número de copias de un determinado fragmento de RNA, pero sin la necesidad de un termociclador (CONICET, 2020). Su especificidad sería del 100% y su sensibilidad del 98% (Laboratorio Pablo Cassará, 2020). Adicionalmente, se desarrolló el primer

test serológico de industria nacional: “COVIDAR test de ELISA”; como resultado de una colaboración entre CONICET y el Instituto Leloir, con excelentes características analíticas.

## CRITERIOS DIAGNÓSTICOS ACTUALES

Los criterios de definición de caso han ido cambiando desde el inicio de la pandemia, de acuerdo al momento epidemiológico, así es como en un principio el antecedente de viaje desde el exterior era relevante y a medida que la circulación viral se hizo comunitaria, fue careciendo de valor. A continuación se citan los criterios de definición de casos sospechoso y confirmado establecidos por la autoridad sanitaria provincial, al momento de escribir esta monografía (última actualización del protocolo: 12/01/2021):

### Definición de caso sospechoso

#### Criterio 1

Toda persona (de cualquier edad) que presente dos o más de los siguientes síntomas, con o sin fiebre:

- Tos
- Odinofagia
- Dificultad respiratoria
- Cefalea
- Mialgias
- Diarrea/vómitos\*

Sin otra etiología que explique completamente la presentación clínica.

Este criterio incluye toda infección respiratoria aguda grave.

\*Los signos o síntomas separados por una barra (/) deben considerarse como uno solo.

Ó

- Pérdida repentina del gusto o del olfato, en ausencia de cualquier otra causa identificada

#### Criterio 2

Toda persona que se encuentre dentro de los grupos comprendidos en el Cuadro 1 y que presente uno o más de estos síntomas:

- Fiebre (37.5°C o más)
- Tos
- Odinofagia
- Dificultad respiratoria
- Pérdida repentina del gusto o del olfato

Cuadro 1

- Trabajador de salud
- Residente o trabajador de instituciones cerradas o de internación prolongada\*
- Personal esencial\*\*
- Residente en barrios populares o pueblos originarios\*\*\*
- Contacto estrecho de caso confirmado de COVID-19, y que dentro de los 14 días posteriores al contacto presente los síntomas

\*penitenciarias, residencias de adultos mayores, instituciones neuropsiquiátricas, hogares de niñas y niños

\*\*se considera personal esencial: Fuerzas de seguridad y Fuerzas Armadas,  
Personas que brinden asistencia a personas mayores

\*\*\* Se considera barrio popular a aquellos donde la mitad de la población no cuenta con título de propiedad, ni acceso a dos o más servicios básicos. Fuente: Registro Nacional de Barrios Populares

### Criterio 3

Síndrome inflamatorio multisistémico\* post COVID-19 en pediatría:

\*Definición adaptada de la Organización Mundial de la Salud

Niños y adolescentes de 0 a 18 años con fiebre mayor a 3 días y dos de los siguientes signos o síntomas:

- Erupción cutánea o conjuntivitis bilateral no purulenta o signos de inflamación mucocutánea (oral, manos o pies)
- Hipotensión o shock
- Características de disfunción miocárdica, pericarditis, valvulitis o anomalías coronarias (incluidos los hallazgos ecográficos o elevación de Troponina / NTproBNP)
- Evidencia de coagulopatía (elevación de PT, PTT, Dímero-D)
- Síntomas gastrointestinales agudos (diarrea, vómitos o dolor abdominal)

Y

- Marcadores elevados de inflamación, como eritrosedimentación, proteína C reactiva o procalcitonina.

Y

Ninguna otra causa evidente de inflamación (incluida la sepsis bacteriana, síndromes de shock estafilocócicos o estreptocócicos).

### Definición de caso confirmado por laboratorio

Todo caso sospechoso con resultado detectable para:

- Detección de SARS-CoV-2 mediante pruebas de biología molecular por reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR).

- Detección de SARS-CoV-2 mediante pruebas de biología molecular por reacción amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP\*).
  - Detección de antígenos de SARS-CoV-2 mediante pruebas no moleculares.
- \*LAMP: amplificación isotérmica mediada por bucle

A todos casos del criterio 1, 2 y 3 se tomará muestra para Antígeno (menos de 7 días de evolución), o LAMP o RT-PCR con más de 7 días de evolución.

***El alta de aislamiento del caso confirmado se otorgará a los 10 días desde la fecha de inicio de los síntomas, o de la fecha del test positivo siempre que el paciente presente una evolución favorable, sin necesidad de internación y se encuentre asintomático.***

*IMPORTANTE: A todo caso sospechoso/confirmado, se debe indicar el aislamiento inmediato y comenzar las acciones de rastreo y cuarentena de sus contactos estrechos, sin esperar los resultados de laboratorio. Además, estos casos deben contar con evaluación clínica periódica para identificar signos de alarma y evaluar posibles diagnósticos diferenciales.*

#### **Tipo de muestras**

Cada centro, en función de la disponibilidad de las diferentes metodologías y de la validación previa que realizó con diferentes tipos de muestras, es el responsable de coordinar la muestra a tomar:

- Hisopado nasofaríngeo (Pruebas de detección de Antígeno, RT-PCR, LAMP)
- Hisopado orofaríngeo (RT-PCR, LAMP)
- Saliva (RT-PCR, LAMP)

### **Definición de contacto estrecho**

Para todos los casos, el período de contacto se considerará desde las 48 horas previas al inicio de síntomas del caso de COVID-19. Se considerará como contacto estrecho a:

- Toda persona que haya proporcionado cuidados a un caso confirmado mientras éste presentaba síntomas, o durante las 48 horas previas al inicio de síntomas y que no hayan utilizado las medidas de protección personal adecuadas.
- Cualquier persona que haya permanecido a una distancia menor a 2 metros con un caso confirmado mientras el caso presentaba síntomas, o durante las 48 horas previas al inicio de síntomas, durante al menos 15 minutos (Ejemplos: Convivientes, visitas, compañeros de trabajo).

*Contacto estrecho en personal de salud:* Se considerará personal de salud expuesto a SARS-CoV-2 a quienes, sin emplear correctamente equipo de protección personal apropiado:

- Permanezcan a una distancia menor de dos metros de un caso confirmado de COVID-19 durante al menos 15 minutos (por ejemplo, compartir un consultorio o una sala de espera).
- Tengan contacto directo con secreciones (por ejemplo, tos, estornudo, etc.).

- Tengan contacto directo con el entorno en el que permanece un paciente confirmado (como habitación, baño, ropa de cama, equipo médico, entre otros, incluyendo los procedimientos de limpieza de estos).
- Permanezcan en el mismo ambiente durante la realización de procedimientos que generen aerosoles.

**NOTA:** No se considerará personal de salud expuesto a SARS-CoV-2 a quienes hayan empleado correctamente el equipo de protección personal apropiado en todo momento.

*Contacto estrecho en un avión/bus:* Todos los pasajeros situados en un radio de dos asientos alrededor de casos confirmados, que hayan estado sintomáticos durante el vuelo y a la tripulación que haya tenido contacto con dichos casos.

### **Criterios de toma de muestras de contactos estrechos**

Se estudiará a todos los contactos estrechos, al momento de la identificación y a los 7 días, con antígeno o LAMP\* si son asintomáticos. Si en cualquier momento del aislamiento aparecen síntomas se realizará un test, según lo indicado anteriormente. En todo caso un resultado positivo es confirmatorio. Si el resultado de las pruebas realizadas en el día 0 y el 7 son negativas se vigilará durante los 10 días posteriores al último contacto con el caso, y se le dará de alta sin necesidad de una tercera prueba adicional.

\*Realizar estrategia de diagnóstico en pools de 4 pacientes.

***El alta de aislamiento de este grupo se realiza a los 10 días sin necesidad de practicar ningún test adicional, siempre y cuando sea asintomático y tenga las pruebas negativas en el día 0 y 7 de aislamiento.***

## **Manejo de casos**

### **Caso sintomático**

Se debe aislar inmediatamente junto a sus contactos estrechos y contactos de contactos. Se incluyen en el aislamiento todos los contactos que haya tenido la persona 48 hs previo al inicio de síntomas. Si tiene menos de 7 días de evolución se realizará antígeno o LAMP, si tiene más de 7 días se realizará RT-PCR o LAMP, siguiendo el algoritmo vigente. El aislamiento debe indicarse al momento de la primera consulta ante la SOSPECHA CLÍNICA. Además, se aislará a TODOS los contactos estrechos identificados por el paciente, y los contactos de contactos hasta el resultado del antígeno o LAMP o RT-PCR del caso sospechoso.

### **Caso confirmado**

Paciente asintomático o con síntomas leves (no internado) se realizará seguimiento telefónico y control clínico. Caso grave, deberá ser internado. En los casos confirmados asintomáticos, no detectados previamente, recordar aislar inmediatamente a sus contactos estrechos y contactos de contactos. Estos casos obtendrán su alta sin necesidad de ningún tipo de test cuando se cumplan los siguientes criterios:

- Para caso asintomático o leve, luego de 10 días de su confirmación (asintomático) o de su fecha de inicio de síntomas (sintomático), y al menos 72 hs después de la desaparición de los síntomas (no considerar disgeusia/anosmia).
- Para caso que ha estado internado, luego de 21 días, y al menos 72 hs después de la desaparición de los síntomas respiratorios (no considerar disgeusia/anosmia).

### **Contacto Estrecho**

Contacto estrecho no conviviente: seguimiento telefónico y aislamiento por 10 días contando a partir del último contacto con el caso positivo. Se hisopará a todos los contactos estrechos, al momento de la identificación y a los 7 días con antígeno o LAMP si son asintomáticos. Si tienen síntomas se realizará test de Antígeno o LAMP o RT-PCR de acuerdo a los días de evolución siguiendo los algoritmos vigentes. En caso de ser negativo continuar con el aislamiento hasta completar los 10 días. En el día 10 se otorga el alta sin necesidad de realizar ningún test, siempre y cuando se encuentre asintomático y presente test negativos al día 0 y 7 de aislamiento.

Contacto estrecho conviviente: Contacto que permanece en la misma vivienda con el caso positivo. Su aislamiento se prolongará 10 días más, contando a partir del alta del caso positivo. El seguimiento de este contacto será telefónico y solo se realizará antígeno o LAMP o RT-PCR ante la presencia de síntomas.

Contacto que se aísle del positivo: seguir la misma conducta que el contacto estrecho no conviviente contando los 10 días a partir de la última fecha exposición con el positivo.

Contacto estrecho en vivienda con no expuestos: los convivientes de un contacto estrecho, de no ser posible su aislamiento en otro domicilio deben mantenerse aislados hasta el alta del contacto estrecho.

Contacto de contacto: deberá permanecer en aislamiento hasta contar con el resultado del contacto estrecho.

*IMPORTANTE: El personal esencial no debe aislarse cuando es contacto de contacto. Aquella persona que padeció infección por SARS-CoV-2 y que estuvo en contacto sin protección con un caso positivo se considerará contacto estrecho luego de transcurridos 90 días desde que se confirmó como caso. Las personas vacunadas serán consideradas Contacto Estrecho siempre y cuando no tengan completo su esquema de vacunación con dos dosis.*

### **Conducta frente a resultados de pruebas serológicas**

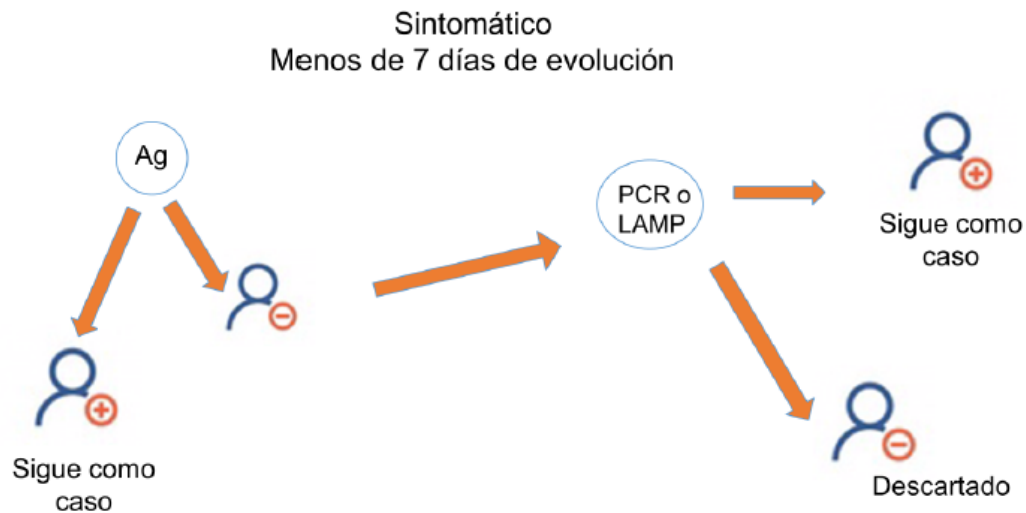
Es importante remarcar que cualquier persona que presente serología positiva, tanto IgG como IgM, debe ser aislada al igual que sus contactos estrechos y se debe realizar la investigación epidemiológica correspondiente para una mejor interpretación de los resultados. Luego, proceder a toma de muestra para RT-PCR. Si el hisopado es positivo, se sigue el protocolo habitual para casos. Si es negativo, la persona es asintomática y no tiene nexos epidemiológicos, se levanta el aislamiento.

*Se recuerda que el aislamiento del caso y sus contactos debe continuar hasta tanto haya una resolución diagnóstica.*

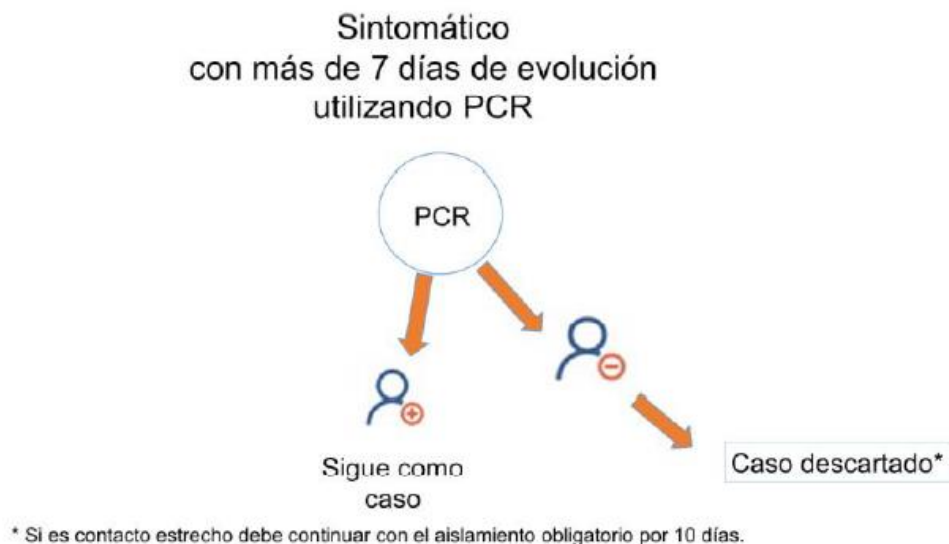
**Las personas vacunadas serán excluidas en los estudios de vigilancia con pruebas serológicas.**

## Algoritmos Diagnósticos Generales

### Persona sintomática con 7 días de evolución

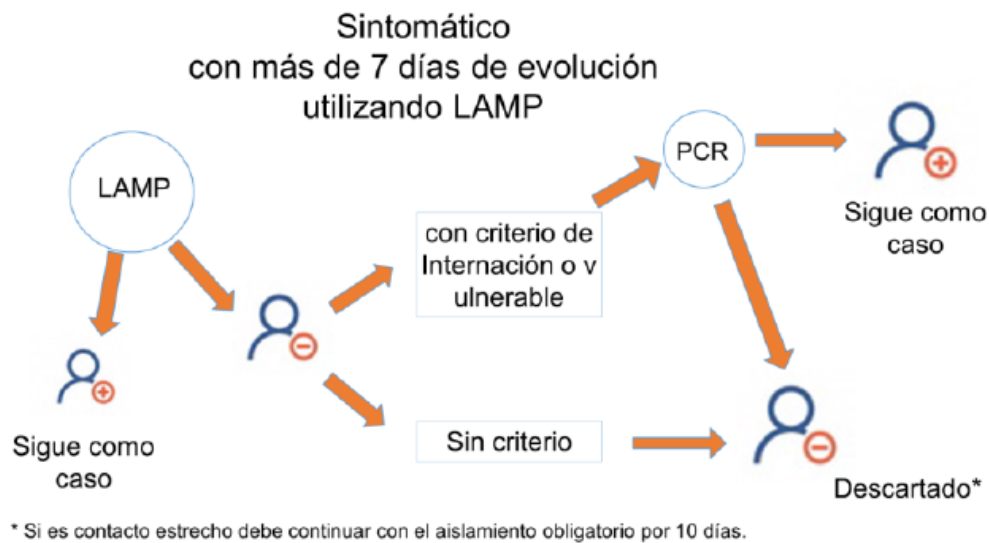


### Persona sintomática con más de 7 días de evolución utilizando la metodología de PCR

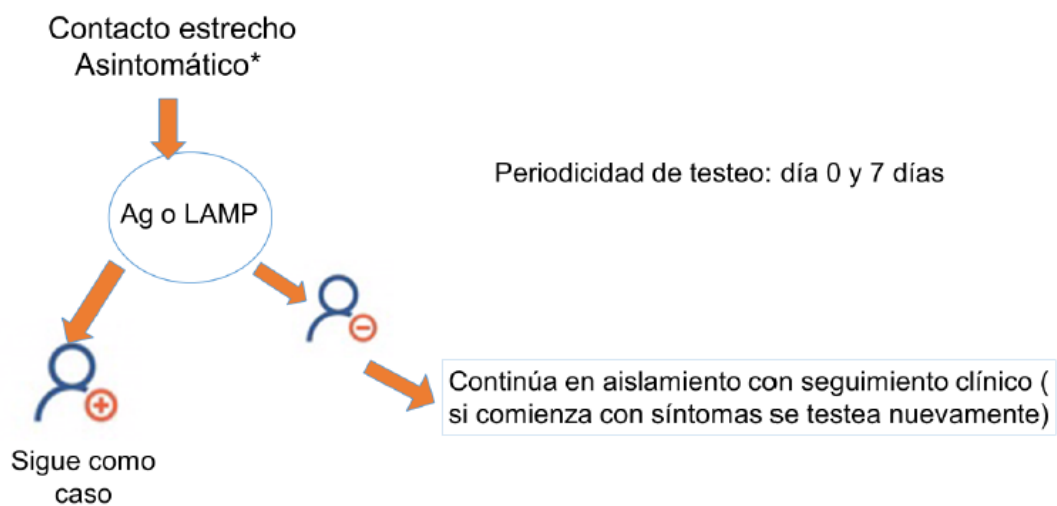




*Persona sintomática con más de 7 días de evolución utilizando la metodología de LAMP*



*Contacto estrecho asintomático*



**Contactos estrechos asintomáticos realizar LAMP en pools**

## TRATAMIENTO

Desde el inicio de la pandemia se aunaron los esfuerzos para buscar un tratamiento efectivo para la enfermedad producida por el SARS-CoV-2. Se publicaron más de 2000 estudios aleatorizados, muchos de ellos con fallas metodológicas, sin un tamaño adecuado de muestra, o con otros sesgos que limitan su uso. Dos grandes iniciativas (Estudios RECOVERY y SOLIDARITY) definieron claramente el impacto de las diferentes estrategias. La situación, aunque más estable, sigue siendo dinámica y se requiere una revisión y actualización constante.

Las diferentes bases de datos donde consultar incluyen:

- Guías del NIH: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/immune-based-therapy/> Guías de la OMS: <https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of-covid-19> Guías de IDSA: <https://www.idsociety.org/COVID19guidelines>
- La Sociedad Argentina de Infectología (SADI) ha establecido lineamientos generales y documentos de posición que pueden ser consultados en <http://www.sadi.org.ar>

Un resumen de la evidencia disponible al momento de la redacción de esta monografía se presenta a continuación:

### Tratamiento antiviral específico

Plasma de convalecientes: La evidencia actual no permite recomendar plasma de convalecientes a todos los pacientes con COVID-19 pero sugiere que podría utilizarse en estadios tempranos en personas con alto riesgo de complicaciones.

Dos estudios aleatorizados no pudieron demostrar beneficio en personas con neumonía grave.

En un estudio aún no publicado se sugiere que, en personas con factores de riesgo o de más de 60 años, el plasma podría reducir el riesgo a progresión de enfermedad grave.

Remdesivir - No disponible en Argentina: La evidencia actual es contradictoria sobre el beneficio clínico de Remdesivir. El estudio SOLIDARITY no reportó beneficios en mortalidad, requerimiento de ventilación mecánica o estancia hospitalaria (estudio controlado – aleatorizado), n: 11330 pacientes, Remdesivir 2750 pacientes. El estudio ACTT-1 reportó disminución de la progresión de pacientes con requerimiento de oxígeno a ventilación mecánica o ECMO (estudio controlado – aleatorizado), n: 1062 pacientes (Remdesivir 13% vs. Placebo 23%; IC 95%, - 15 a -4), no se demostró reducción en mortalidad al día 29 (Remdesivir 11.4% vs. Placebo 15.2%; OR 0.73 [IC 95% 0.52-1.03]; p=0.07).

Ivermectina: La evidencia actual no apoya el uso de Ivermectina en pacientes con COVID-19 por fuera de ensayos clínicos. Un estudio realizado en nuestro país (aún en revisión) incluyó 45 pacientes e informó que, entre 30 pacientes que recibieron Ivermectina, 15 pacientes que lograron concentraciones altas del fármaco tuvieron un descenso más pronunciado de la carga viral. Hay varios estudios en marcha para establecer el valor real de esta droga.

Nitazoxanida: La evidencia actual no apoya el uso de Nitazoxanida en pacientes con COVID-19 por fuera de ensayos clínicos. Varios estudios están explorando el rol de esta droga en tratamiento y profilaxis.

Famotidina: La evidencia actual es muy escasa y no permite recomendar Famotidina en pacientes con COVID-19 por fuera de ensayos clínicos

Anticuerpos Monoclonales y Policlonales: La evidencia actual es muy escasa y no permiten ser recomendados fuera de ensayos clínicos. Los anticuerpos monoclonales Bamlanivimab (Lilly) y Casirivimab + Imdevimab (Regeneron) no están disponibles en

Argentina. Los anticuerpos policlonales (suero de caballo INMUNOVA) se encuentran en estudio y se espera contar con resultados a corto plazo.

Lopinavir/Ritonavir – Atazanavir/Ritonavir – Darunavir/Ritonavir: No se recomienda el uso de estos fármacos en pacientes con COVID-19.

Cloroquina o Hidroxicloroquina: No se recomienda antimaláricos para el tratamiento de la COVID-19.

Azitromicina: La evidencia actual no apoya el uso de Azitromicina en pacientes con COVID-19.

## Tratamiento anti-inflamatorio

Dexametasona: Se recomienda utilizar dexametasona en pacientes con  $\text{SaO}_2 \leq 94\%$  o que requieran oxígeno. Dosis: 6 mg/día IV o VO durante 10 días de dexametasona base (8 mg/día de dexametasona). El Estudio RECOVERY, demostró una reducción significativa de la mortalidad en pacientes con asistencia respiratoria mecánica (ARM) o suplemento de oxígeno (del 29 al 41% y del 23 al 26% en pacientes con requerimiento de oxígeno sin ARM). Una revisión sistemática confirmó estos datos, aunque llama la atención a una posible tendencia de mayor tiempo de excreción viral y mayor riesgo de sobre-infección.

Colchicina: La evidencia actual no apoya uso de colchicina fuera del marco de estudios clínicos. Estudios aleatorizados con pocos pacientes sugieren un efecto beneficioso. En Argentina se lleva a cabo un estudio aleatorizado multicéntrico para evaluar su uso en COVID-19. Recientemente se incluyó colchicina en una de las ramas de RECOVERY.

Tocilizumab: La evidencia actual basada en estudios aleatorizados no apoya uso de Tocilizumab

Ruxolitinib: La evidencia actual basada en estudios aleatorizados no apoya uso de Ruxolitinib. Un estudio reciente no publicado todavía no demostró eficacia.

## VACUNAS

La pandemia por SARS-CoV-2 puso en jaque a todos los países en los que se extendió el virus provocando, además de una morbilidad intolerable, estragos a nivel socioeconómico, desborde del sistema sanitario y parálisis de la educación en muchos de ellos, con un impacto seguramente aún no dimensionado en distintos sectores de la población. La premura de la comunidad científica para encontrar soluciones es absolutamente justificada y hace necesaria la dedicación de los científicos para encontrar vacunas adecuadas.

Antes que nada, es necesario determinar si las vacunas son seguras y efectivas. Con una velocidad de desarrollo sin precedentes, a tan sólo un año desde el comienzo de la crisis sanitaria, había más de 300 vacunas en desarrollo, 38 candidatas en estudios clínicos y humanos y 11 en fase III. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) informó que solo apoyará la distribución de una vacuna que haya demostrado ser segura y eficaz en ensayos clínicos, revisada por las autoridades reguladoras nacionales y que esté recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La distribución de las vacunas para COVID-19 en la medida que comiencen a estar disponibles requieren considerar: bienestar humano, respeto e igualdad, equidad global, equidad nacional, legitimidad y reciprocidad (Guerrini, 2020).

### ¿Qué características debería tener idealmente una vacuna para SARS-CoV-2?

Dicho todo lo anterior, resta mencionar específicamente cuáles son los factores a tener en cuenta para considerar una vacuna como candidata (Hodgson SH, 2021):

- Debería ser segura, asociada con efectos secundarios leves y transitorios.
- Conferir protección duradera (más de una temporada) en una alta proporción de receptores (por ejemplo, >80%), particularmente en pacientes con comorbilidades.
- Proteger contra la enfermedad grave en los individuos vacunados.
- Suprimir o disminuir en forma significativa la transmisión en la población mediante la inmunidad de rebaño.
- No debe inducir empeoramiento de la enfermedad luego de una infección.
- Administrarse como dosis única.
- Poder producirse rápidamente y en grandes cantidades.
- Almacenarse y transportarse fácilmente, preferentemente a temperaturas usuales, entre 2 y 8 °C.
- Que se pueda administrar fácilmente, sin requerimientos especiales.

### Proceso de desarrollo de vacunas

Luego del brote de SARS, se diseñaron vacunas para SARS-CoV. Dos pasaron a fase I, pero su desarrollo se frenó a raíz de la erradicación de este virus. Las vacunas contra MERS-CoV se encuentran actualmente en desarrollo.

La mayoría de los coronavirus codifican una proteína de superficie, la proteína S, que es la responsable de la unión al receptor. Se une a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), entrando a las células. Los anticuerpos que se unan a esta proteína S, evitarán la entrada del virus a las células. Esta información se obtuvo de estudios preclínicos, de vacunas para SARS-CoV y MERS-CoV. Es importante aclarar que la infección natural en tracto respiratorio superior produce IgA secretoria, mientras que la de las vías respiratorias bajas, anticuerpos IgG. En general las vacunas que se administran en forma parenteral producen respuesta de anticuerpos IgG. Por lo tanto, se estima que las vacunas en desarrollo sólo producirán prevención o atenuación de la enfermedad.

Tradicionalmente, el desarrollo de una vacuna suele llevar un muy largo proceso que puede prolongarse por 15-20 años. El proceso comienza con un trabajo exploratorio del diseño en modelos animales, que puede llevar años, luego de lo cual se pasa a una etapa en la cual se desarrollan formalmente experimentos preclínicos. Concluida la etapa preclínica se pasa a una etapa clínica de estudios de Fase I, II y III. En fase I se testea el producto en grupos pequeños de individuos sanos (menos de 100), proceso que suele llevar 12 a 18 meses y que testea seguridad y tolerancia al producto y provee datos de inmunogenicidad preliminar. Si estos estudios dan resultados favorables, se avanza con estudios de Fase II, en los que se testean algunos cientos de personas. Tradicionalmente, lleva otros 2 años identificar dosis máxima tolerada, explorar la dosis y esquemas apropiados y respuesta inmunológica. Con resultados alentadores, se avanza hacia estudios de Fase III que incluyen miles de individuos, con una duración aproximada de 2 años o más, en donde se evalúa seguridad y eficacia. En esta fase se trata de responder preguntas tales como: ¿este producto ayuda a prevenir la infección o a reducir la severidad de la misma? Si esta fase cumple con los objetivos primarios, se aplica para la autorización por las agencias regulatorias. El proceso de licencia suele llevar normalmente 1-2 años más, especialmente si se requieren datos adicionales.

El proceso habitual de desarrollo de las vacunas es lento y costoso con riesgos en cada fase. El SARS-CoV-2 pandémico ha requerido una rápida acción y el desarrollo de vacunas en un tiempo sin precedentes. Los datos de los desarrollos preclínicos de las vacunas candidatas para SARS-CoV y para MERS-CoV permitieron que se pudiera omitir el paso inicial exploratorio de la vacunación, ahorrando una cantidad considerable de tiempo, utilizándose datos preclínicos y de toxicidad. Como resultado de esto, la primera fase clínica de vacunas candidatas para SARS-CoV-2 comenzó en Marzo 2020. Los diseños fueron realizados de tal forma que las fases clínicas estaban superpuestas o escalonadas, con estudios de fase II/III seguidos rápidamente por estudios de fase III luego de un análisis interino de los datos de fase I/II. Comúnmente la producción de vacunas se inicia luego de completados los estudios de fase III. En SARS-CoV-2 la producción se pudo iniciar antes y es posible que las revisiones puedan ser aceleradas y que las vacunas pudieran ser aprobadas a través del uso de una autorización de emergencia, por ejemplo la FDA, requiriendo una eficacia de al menos 50%.

### Tipo de vacunas para SARS-CoV-2

A la fecha hay más de 300 vacunas en desarrollo, basadas en diferentes plataformas, las que se pueden dividir en: plataformas tradicionales, como es el caso de vacunas inactivadas, o a virus vivos atenuados; plataformas que han resultado en vacunas recientemente licenciadas (proteínas recombinantes, vacunas con vectores); y plataformas que no han sido nunca usadas para una vacuna licenciada (vacunas RNA y DNA) (Krammer, 2020; Lurie, 2020).

Se considera que el mejor blanco o “target” antigénico para desarrollar una vacuna es la proteína S modificada y la subunidad de dominio de unión a receptor (RBD) (Jeyanathan M, 2020).

### Vacunas inactivadas

Se producen mediante el desarrollo del virus SARS-CoV-2 en cultivos celulares, generalmente células VERO, y luego inactivadas en forma química. Si bien se pueden producir fácilmente, la disponibilidad puede verse limitada por la necesidad de cultivos celulares y laboratorios con niveles de bioseguridad 3 (BSL3) para su desarrollo. Son ejemplos de este tipo de vacunas aprobadas para otras patologías y de larga experiencia: Polio inactivada (Salk), Rabia, Hepatitis A.

Suelen administrarse por vía intramuscular y pueden utilizarse adyuvantes como aluminio u otros. Dado que la partícula viral entera es presentada al sistema inmune, la respuesta inmune involucraría no solo S, sino también la matriz, envoltura y nucleoproteínas.

En desarrollo para SARS-CoV-2 podemos mencionar: CoronaVac, desarrollada por Sinovac Biotech Ltd., en China, y otras candidatas como la desarrollada por Bharat Biotech en India y la desarrollada por el Research Institute for Biological Safety Problems en Kazakhstan.

### **Vacunas a virus vivos atenuados**

Este tipo de vacunas son producidas por la generación de una versión del virus atenuada genéticamente que se replica de forma limitada, sin causar enfermedad, pero generando respuesta inmune similar a la inducida por la infección natural. Dicha atenuación puede ser lograda por adaptación del virus a condiciones desfavorables tales como crecimiento a bajas temperaturas o crecimiento en células no humanas o por modificación del virus por delección genética. Son capaces de generar el reconocimiento por parte de la respuesta inmune innata. Pueden administrarse por vía inhalatoria, lo cual induce inmunidad en mucosa de vías aéreas superiores, y pueden estimular tanto la respuesta humoral como la respuesta celular. De esta forma, a partir de la respuesta de anticuerpos a nivel de vías aéreas superiores, serían útiles para prevenir la infección y en consecuencia la transmisión del virus por parte de los asintomáticos.

Como desventajas se pueden mencionar cuestiones de seguridad, necesidad de modificar el virus y limitaciones en las indicaciones en pacientes inmunocomprometidos.

Hay 3 vacunas en fase preclínica para SARS-CoV-2.

Son ejemplos de vacunas aprobadas de este tipo para otras patologías: Sarampión, Rubeola, Parotiditis, Varicela, Fiebre Amarilla, Zoster, Polio (Sabin).

### **Vacunas con proteínas recombinantes**

Pueden ser divididas en vacunas basadas en proteína S, vacunas basadas en RBD y las vacunas basadas en partículas similares a virus. Pueden ser expresadas en diferentes sistemas incluyendo células de insectos, mamíferos, hongos y plantas. La principal ventaja es que pueden ser producidas sin manipulación del virus; y las desventajas son que la proteína S es relativamente difícil por lo que no se sabe cuántas dosis puedan ser necesarias. Hay muchas vacunas candidatas en fase preclínica.

Vacunas aprobadas para otras patologías basadas en este tipo de plataforma son: Virus Papiloma Humano (HPV), Influenza, Hepatitis B.

### **Vacunas con replicación de vectores incompetentes**

Representan un gran grupo de vacunas en desarrollo. Están basadas en otro virus que ha sido manipulado para expresar la proteína S que ha sido inhabilitada para su replicación in vivo por delección de partes de su genoma. La mayoría están basadas en vectores de adenovirus y se aplican por vía intramuscular, entran a las células de los individuos vacunados y ahí expresan la proteína S a la cual responde el sistema inmunológico del huésped. Tienen muchas ventajas: no es necesaria la manipulación de virus vivo durante su producción, hay suficiente experiencia para la producción en grandes cantidades y los vectores muestran una buena estimulación de respuesta tanto de células T como de células B. La desventaja es que algunos de estos vectores son afectados y parcialmente neutralizados por inmunidad preexistente hacia ese vector. Esto se compensa utilizando tipos de vectores raros en humanos como por ejemplo adenovirus de chimpancé o utilizando virus que no inducen una gran inmunidad por sí mismos. También podrían ser problemáticos cuando requieren dosis de refuerzo.

Vacunas de este tipo son: Astra Zeneca/Oxford (ChAdOx1n-CoV-19), basado en adenovirus de chimpancé, Janssen (utilizando un vector AdV26 humano), CanSino (usando un vector AdV5 humano) y Gamaleya Research Institute (usando un vector Ad5/ad26 humano), todas en Fase III.

Como ejemplo de este tipo de vacunas se puede mencionar la recientemente aprobada vacuna contra el Ébola.

### **Vacunas con replicación de vectores competentes**

Son derivadas de vacunas atenuadas de virus que han sido manipulados para expresar un transgen, en este caso la proteína S. En algunos casos, se usan virus animales que no replican eficientemente y no causan enfermedad en humanos. Pueden generar una respuesta inmunológica más robusta por propagación en células del propio individuo vacunado y por estimulación de la respuesta inmune innata. Pueden ser administradas por superficie mucosa intranasal y generar respuesta inmune mucosa. Hay solo 2 estudios en fase preclínica a la fecha.

### **Vacunas con vectores de virus inactivados**

Dependen de vectores de virus que muestran la proteína de espiga en sus superficies pero que han sido inactivadas previamente a su uso. La ventaja es que los procesos de inactivación hacen que el vector no pueda replicarse, haciéndolas seguras aún para huéspedes inmunocomprometidos. Hay desarrollo de este tipo de vacunas en fase preclínica.

### **Vacunas DNA**

Están basadas en plásmidos DNA que pueden ser producidos a gran escala en bacterias. Los plásmidos contienen promotores de expresión de mamíferos y los genes que codifican proteína S, la cual se expresa en el individuo vacunado luego de la colocación. La gran ventaja de estas tecnologías es la posibilidad de producción a gran escala en E.coli como así también la alta estabilidad del plásmido de DNA. Sin embargo, a menudo muestran una baja inmunogenicidad y tienen que ser administradas a través de dispositivos para hacer que sean eficientes, lo cual limita su uso.

Son ejemplos de vacunas DNA para la proteína S candidatas en estudios de fase I/II a la fecha: Inovio/IVI, Genxine, Cadila, Osaka Univ/AnGes/Takara Bio.

No hay a la fecha vacunas aprobadas para uso en otras patologías que hayan utilizado esta plataforma.

### **Vacunas RNA**

Son vacunas desarrolladas recientemente. La información genética del antígeno se administra en lugar del antígeno en sí y luego éste se expresa en las células del individuo vacunado.

Pueden usarse RNAm (con modificaciones) o RNA autoreplicante. Se requieren dosis más altas para el RNAm que para el RNA autoreplicante que se amplifica a sí mismo. El RNA generalmente se administra a través de nano partículas lipídicas. Tienen la ventaja de poder ser producidas totalmente in vitro, pero requieren almacenamiento a muy bajas temperaturas. La tecnología de la vacuna RNAm utiliza la propia maquinaria de la célula para estimular una respuesta inmune innata a través de las células T y los anticuerpos neutralizantes. Respecto a su seguridad, las vacunas RNA no son infecciosas y no presentan riesgo conocido de mutagénesis por integración; y en cuanto a su eficacia, presentan un riesgo mínimo de inmunidad anti vectorial, lo que permite “boosteo” para maximizar el nivel y la duración de la



inmunidad. La tecnología de la vacuna de RNAm está diseñada para permitir un desarrollo y una escala de producción rápidos.

Ejemplos de este grupo de vacunas son: la de los laboratorios Moderna y Pfizer en Fase III, y a la fecha CureVac fase I/II, Imperial College, Walvax-Pla ambas en fase I y Arturus/Dukle-NUS en fase I/II.

Si bien no hay vacunas aprobadas desarrolladas con esta plataforma, se encuentran en estudio en fase I: Influenza, Rabia y Zika.

## CONCLUSIÓN

El virus SARS-CoV-2, que causa la COVID-19, ha generado un gran impacto en la salud humana en todo el mundo: ha infectado a un gran número de personas; ha causado formas graves de enfermedad y secuelas en la salud a largo plazo; ha provocado defunciones y un exceso de mortalidad, en particular entre las poblaciones de mayor edad y grupos vulnerables; ha afectado a los servicios de salud habituales; ha perturbado los viajes, el comercio, la educación y otras muchas actividades sociales; y, en general, ha tenido repercusiones negativas en la salud física y mental de las personas.

Aunque los avances científicos realizados con el objetivo de batallar la pandemia han tenido una velocidad sin precedentes en la historia, está a la vista que sus efectos persistirán en el tiempo y en la memoria de todos. No debe soslayarse que las vacunas contra la COVID-19 demorarán en generar el efecto esperado y no podremos prescindir de todas las demás medidas preventivas hasta que una parte importante de la población esté vacunada, hecho que dependerá no solo de la adquisición de la vacuna por parte del Estado, sino también de la distribución y de la capacidad operativa para su almacenamiento y aplicación en cada región del país.

Este contexto complejo, incierto e inédito, nos interpela especialmente como profesionales de la salud que se desempeñan en el área de la Virología, tanto para intervenir directamente o como para brindar marcos teóricos y herramientas para indagar, investigar, analizar, comprender e interpretar esta problemática que afecta al mundo entero.

## BIBLIOGRAFÍA

- Annan A, B. H. (2013). Human betacoronavirus 2c EMC/2012–related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg Infect Dis* , 19(3):456.
- Anthony SJ, G. K.-M. (2017). Further Evidence for Bats as the Evolutionary Source of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *mBio*, 8(2). pii: e00373-17.
- Bachelet, V. (2020). Do we know the diagnostic properties of the tests used in COVID-19? A rapid review of recently published literature. *Medwave*, 20(3):e7890.
- Baig AM, K. A. (2020). Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic mechanisms. *ACS Chem Neurosci* . , <https://dx.doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>.
- Caini S, B. F.-B. (2020). Meta-analysis of diagnostic performance of serological tests for SARS-CoV-2 antibodies up to 25 April 2020 and public health implications. *Euro Surveill*., 25(23):2000980.
- CDC. (24 de Mayo de 2020). *Centers for Disease Control and Prevention*. . Obtenido de Information for laboratories about Coronavirus (COVID-19) : <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html>
- Chan JFW, K. K. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes & Infections*, 9(1):221–36.
- Chan JFW, Y. S. (2020). A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The Lancet*, 514-523.
- Chen, Y. L. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.*, 92:41823.
- Cheng PK, W. D. (2004). Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. *Lancet*., 363(9422):1699-1700.
- Cong Y, U. M. (2020). Nucleocapsid Protein Recruitment to Replication-Transcription Complexes Plays a Crucial Role in Coronaviral Life Cycle. *J Virol*, 94(4). pii: e01925-19.
- CONICET. (15 de Mayo de 2020). Obtenido de Aprueban el uso de un nuevo test rápido y económico de diagnóstico molecular de COVID-19: <https://www.conicet.gov.ar/aprueban-el-uso-de-un-nuevo-testrapido-y-economico-de-diagnosticomolecular-de-covid-19>
- CONICET. (28 de Abril de 2020). *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas*. . Obtenido de Nuevos hallazgos de secuenciación de genomas virales de SARS-CoV2 realizado por científicas y científicos argentinos:

<https://www.argentina.gob.ar/noticias/nuevos-hallazgos-de-secuenciacion-de-genomas-virales-de-sars-cov2-realizado-por-cientificas>

- Corman VM, L. O. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.*, 25(3):pii=2000045.
- Cui J, L. F.-L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*, 17(3):181–92.
- Cui, L. e. (2015). The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. *J Virol*, 89(17): p. 9029-43.
- Dae-Gyun, A. H.-J.-H.-S.-T.-J. (2020). Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J. Microbiol. Biotechnol.*, 30(3):313-24.
- David M. Knipe, P. M. (2013). *Fields Virology*. Philadelphia USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Deeks JJ, D. J.-P. (2020). Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.*, 6(6):CD013652.
- Dong D, T. Z. (2021). The Role of Imaging in the Detection and Management of COVID-19: A Review. . *IEEE Rev Biomed Eng.*, 14:16-29.
- Eakachai, P. C. (2020). Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 38:1-9.
- Fang Y, Z. H. (2020). Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. . *Radiology*, 296(2):E115-E117.
- Fehr, A. a. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. . *Methods Mol Biol*, 1282: p. 1-23.
- Ge, X.-Y. e. (2013). Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 503, 535–538.
- Gorbalenya, A. B. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5, 536–544.
- Guerrini, C. e. (2020). Self experimentation, ethics, and regulation of vaccines. *Science*, Vol 369. Issue 6511.
- Guo L, R. L. (2020). Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.*, 71(15):778-785.
- Guo YR, C. Q. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. . *Mil Med Res.*, 7(1):11.

- Hao, X. L. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int. J. Oral Sci.*, 12:8.
- He JL, L. L. (2020). Diagnostic performance between CT and initial real-time RT-PCR for clinically suspected 2019 coronavirus disease (COVID-19) patients outside Wuhan, China. . *Respir Med*, 168:105980.
- Hodgson SH, M. K. (2021). What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. *Lancet Infect Dis*, 21(2):e26-e35.
- Hu, B. e. (2017). Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog.* , 13, e1006698.
- Hurst, K. C. (2009). Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *J Virol*, 83(14): p. 7221-34.
- Huynh J, L. S. (2012). Evidence supporting a zoonotic origin of human coronavirus strain NL63. . *J Virol* , 86(23):12816–25.
- Jeyanathan M, A. S. (2020). Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol* , 20(10):615-632.
- Krammer, F. e. (2020). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3> .
- Laboratorio Pablo Cassará. (12 de Julio de 2020). *COVID-19 neokit*. Obtenido de <https://www.cassara.com.ar/covid.html>
- Lai C-C, S. T.-P.-C.-J.-R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents* , 105924.
- Lau SK, L. K. (2013). Genetic characterization of Betacoronavirus lineage C viruses in bats reveals marked sequence divergence in the spike protein of pipistrellus bat coronavirus HKU5 in Japanese pipistrelle: implications for the origin of the novel Middle East respiratory sy. *J Virol*, 87(15):8638–50.
- Li W, S. Z. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310(5748):676-9.
- Li Y, X. L. (2020). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Role of Chest CT in Diagnosis and Management. *AJR Am J Roentgenol*, 214(6):1280-1286.
- Li, F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol.*, 3(1):237-261.
- Li, G. F. (2020). Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.*, 92(4):424-32.

- Li, X. G. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J. Pharm. Anal.*, 102-108.
- Loeffelholz MJ, T. Y. (2020). Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect.*, 9(1):747-756.
- Lu R, Z. X. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 565-574.
- Lurie, L. e. (2020). Developing COVID-19 Vaccines at Pandemic Speed. *NEJM*, DOI:101056/NEJMp2005630.
- Menachery, V. Y. (2015). A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. . *Nat Med* 21, 1508–1513.
- Miller S, C. C. (2020). Point-counterpoint: should we be performing metagenomic next-generation sequencing for infectious disease diagnosis in the clinical laboratory? *J Clin Microbiol.* , 58(3):e01739-19.
- Ministerio de Salud de la Nación. (19 de Junio de 2020). *Laboratorio: toma de muestras*. Obtenido de Ministerio de Salud: <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/laboratorio>
- Ministerio de Salud, A. (23 de Mayo de 2020). *Ministerio de Salud de la Nación*. Obtenido de Reactivos COVID-19: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/reactivos-covid-19>
- Mousavizadeh L., G. S. (2020). Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J. Microbiol. Immunol. Infec.*
- OMS. (2 de Marzo de 2020). Obtenido de Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
- OMS. (8 de Abril de 2020). Obtenido de Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19: scientific brief: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-ofpoint-of-care-immunodiagnostictests-for-covid-19>
- OMS. (29 de Mayo de 2020). *Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19)*. Obtenido de <https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/q-a-coronaviruses>
- Organization, W. H. (2 de Marzo de 2020). *IRIS*. Recuperado el 2020, de Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
- Paden C, Y. M. (2018). Zoonotic origin and transmission of Middle East respiratory syndrome coronavirus in the UAE. *Zoonoses Public Health* , 65(3):322–33.

- Patel R, B. E. (2020). Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio*, 11(2):e00722-20.
- Peiris JS, C. C. (2003). Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *The Lancet*, 361:1767–1772.
- Perrier A, B. A. (2019). The Cterminal domain of the MERS coronavirus M protein contains a trans-Golgi network localization signal. *J Biol Chem.*, 294(39):14406-14421.
- Poortahmasebi V, Z. M. (2020). Clinical performance of RT-PCR and chest CT scan for Covid-19 diagnosis: a systematic review. *Adv J Emerg Med*, 4:e57.
- Public Health England. (2020). *Investigation of novel SARS-CoV-2 variant, Variant of Concern 202012/01 Technical briefing 2*. London: PHE.
- Pyrk K, D. R. (2006). Mosaic structure of human coronavirus NL63, one thousand years of evolution. *J Mol Biol*, 364: 964–973.
- Qingmei, H. Q. (2020). Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line. *J. Infect.*, 80:373-7.
- Rabaan AA, A.-A. S.-A.-M. (2020). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med.*, 28(2):174-184.
- Rokni, M. G. (2020). Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: Comparison with SARS and MERS. *Rev. Med. Virol.*, 1-6.
- Schoeman D, F. B. (2019). Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Viol J.*, 27;16(1):69.
- Sethuraman N, J. S. (2020). Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA.*, doi:10.1001/jama.2020.8259.
- Shi Z, H. Z. (2008). A review of studies on animal reservoirs of the SARS coronavirus. *Virus Res* , 133(1):74–87.
- Sin-Yee, F. K.-S.-W.-P.-Y. (2020). A tug-of-war between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and host antiviral defence: lessons from other pathogenic viruses. *Emerg. Microb. Infect.*, 9:1558-70.
- Snijder EJ, D. E. (2016). The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Adv Virus Res.* , 96:59-126.
- Struyf T, D. J. (2020). Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease. *Cochrane Database Syst Rev.*, 7(7):CD013665.



- Tang YW, S. J. (2020). Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *J Clin Microbiol.* , 58(6):e00512-20.
- To KK-W, T. O.-Y.-Y. (2020). Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis.*, 71(15):841-843.
- Udugama B, K. P. (2020). Diagnosing COVID-19: the disease and tools for detection. *ACS Nano*, 14(4):3822-3835.
- Van der Hoek L, P. K. (2004). Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*, 10:368–373.
- Wang J, J. J. (2003). The structure analysis and antigenicity study of the N protein of SARS-CoV. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* , 1(2):145-54.
- Wang N, S. X. (2013). Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4. . *Cell Res*, 23(8):986.
- Wang W, X. Y. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. . *JAMA*, 323(18):1842-1844.
- Wölfel R, C. V.m. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809): 465-469.
- Woo PCW, L. S.-M. (2005). Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. . *J Virol*, 79:884–895.
- Woo PCW, L. S.-M. (2005 | +). Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*.
- Yan-Rong, G. Q.-D.-S.-Y.-J.-S.-Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID 19) outbreak - an update on the status. *Mil. Med. Res.*, 7:11.
- Yuefei, J. H. (2020). Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*, 12:372.
- Zainol Rashid Z, O. S. (2020). Diagnostic. *Malays J Pathol.*, 42(1):13-21.
- Zhang C, S. L. (2020). Liver injury in COVID-19: management and challenges. . *Lancet Gastroenterol Hepatol.*, 2468-1253(20)30057-1.
- Zheng BJ, G. Y. (2004). SARS-related virus predating SARS outbreak, Hong Kong. *Emerg Infect Dis*, 10(2):176.
- Zheng, J. (2020). SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *Int. J. Biol. Sci.*, 16(10):1678-85.

- Zhong N, Z. B. (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, 362(9393):1353–8.
- Zhou, P. Y. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.
- Zhu N, Z. D. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.*, 382(8):727-733.