

# **INFORME SARS COV-2**

Sociedad Argentina de Virología  
División de la Asociación Argentina de Microbiología

19 de marzo de 2020



División de la  
Asociación Argentina de Microbiología



Deán Funes 472 (C1214ADD) Ciudad Autónoma de Buenos Aires,  
Argentina. TEL (5411) 4932-8858/894

**COMISIÓN DIRECTIVA  
SOCIEDAD ARGENTINA DE  
VIROLOGÍA**

**Presidente**

Lucía V. Cavallaro

**Vicepresidente**

Víctor Romanowski

**Secretaria**

Inés Zapiola

**Secretaria de actas**

María de los Ángeles Pando

**Prosecretaria**

Andrea Mangano

**Tesorera**

Nora López

**Protesorero**

Mariano Pérez Filgueira

**Vocal Titular 1º**

Pamela Valva

**Vocal Titular 2º**

Nadia Fuentealba

**Vocal Titular 3º**

Viviana Ré

**Vocal Titular 4º**

Silvana Levis

**Vocal Suplente 1º**

Sandra Cordo

**Vocal Suplente 2º**

Juan Stupka

**Vocal Suplente 3º**

Ana Laura Cavatorta

**Vocal Suplente 4º**

Juan Manuel Carballeda

**COMISIÓN DIRECTIVA  
ASOCIACIÓN ARGENTINA  
DE MICROBIOLOGÍA**

**Presidente**

Gustavo Giusiano

**Vicepresidente**

Adriana Sucari

**Secretaria**

Estefanía Benedeti

**Secretaria de actas**

Inés García de Salamone

**Prosecretario**

Juan Stupka

**Tesorero**

Roberto Suárez Álvarez

**Protesorero**

Marina Bottiglieri

**Vocal Titular 1º**

María Cecilia Freire

**Vocal Titular 2º**

Oscar Alberto Taboga

**Vocal Titular 3º**

Paula Ggetti

**Vocal Titular 4º**

Ricardo Rodríguez

**Vocal Suplente 1º**

Manuel Gómez Carrillo

**Vocal Suplente 2º**

Marcelo Berretta

**Vocal Suplente 3º**

Fabiana Guglielmone

**Vocal Suplente 4º**

Leonora Nusblat

**Vocal Suplente 5º**

Pablo Power

**Comisión revisora de cuentas**

María I. G. Fernández

María Mercedes Ávila

## Coronavirus

Los coronavirus son virus envueltos cuyo genoma consiste en una única molécula de ARN simple cadena de sentido positivo. Pertenecen a una gran familia de virus (*Coronaviridae*) que infectan aves y varios mamíferos, incluyendo camélidos, murciélagos, civetas, ratas, ratones, perros y gatos. Se han producido regularmente emergencias de nuevos coronavirus en la población humana. Por ej, HKU2 de murciélagos que fue responsable de un síndrome de diarrea aguda en cerdos en 2018. Algunos de sus miembros -229E, OC43, NL63, y HKU1- causan síntomas de resfrío común en humanos (Su et al, 2016).

Los coronavirus fueron reconocidos como causantes de serias infecciones respiratorias e intestinales luego del brote del “síndrome respiratorio agudo severo” (SARS), cuyo agente etiológico (SARS -CoV) emergió en la provincia de Guangdong, China, en 2002 y se distribuyó a 5 continentes a través de rutas aéreas infectando 8,098 personas y causando 774 muertes. En 2012 emergió otro coronavirus (MERS-CoV) en la península arábiga y fue exportado a 27 países, donde causó un total de 2494 infecciones y 88 muertes. Un coronavirus previamente desconocido, denominado SARS CoV-2, fue descubierto en diciembre de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei, China, y fue rápidamente aislado y secuenciado en enero 2020 (Zhou et al., 2020). El 30 enero 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la epidemia como emergencia de salud pública a nivel internacional. SARS CoV-2 es el agente causal de la epidemia de neumonía atípica (Covid-2019) que ha afectado más de 60 países causando, hasta el día 18 de marzo, 191127 casos confirmados y 7807 muertes a nivel global ([https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200318-sitrep-58-covid-19.pdf?sfvrsn=20876712\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200318-sitrep-58-covid-19.pdf?sfvrsn=20876712_2)).

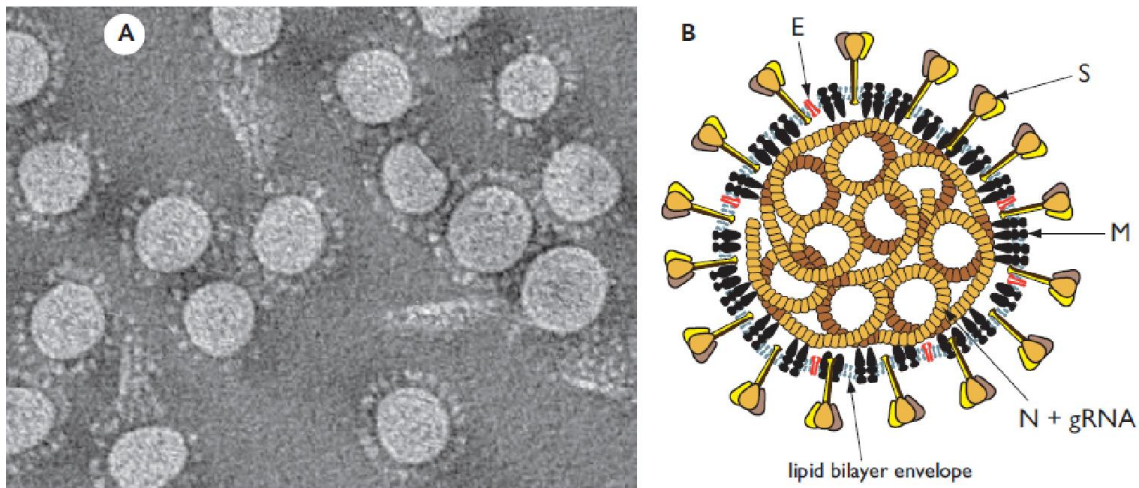
### Características de los Coronavirus

#### **Estructura, composición de la partícula viral, organización del genoma y proteínas codificadas**

Los virus de la familia Coronaviridae tienen un tamaño de 118-136 nm y suelen observarse formas filamentosas de 9 a 13 nm de diámetro.

La estructura de la partícula viral consiste en una nucleocápside formada por el genoma viral al que se encuentran unidas múltiples copias de la proteína N o proteína de nucleocápside (Fig. 1). La nucleocápside adopta una estructura helicoidal y presenta forma de ovillo rodeado de la envoltura en la que se insertan las proteínas virales: S, E y M.

El virus posee un genoma ARN simple cadena de polaridad positiva, de 26-32 kb de longitud. A partir de esta molécula se sintetizan el total de proteínas necesarias para cumplir el ciclo de replicación completo. El genoma viral codifica al menos 27 proteínas, incluidas 16 proteínas no estructurales y 4 proteínas estructurales (Fields Virology, 2013, Cui, et al 2020).



**Figura 1:** Estructura de coronavirus. A: imagen tomográfica crioelectrónica de viriones purificados del virus de la hepatitis de ratón (MHV) (Cortesía de Benjamin Neuman, David Bhella y Stanley Sawicki.); B: Esquema que muestra las principales proteínas estructurales del coronavirus virión: S, proteína espiga; M, proteína de membrana; E, proteína de envoltura; y N, proteína nucleocápside.

## Proteínas virales

### Proteína S

La glicoproteína S se proyecta en forma de espículas y en el caso de SARS CoV-2 es de mayor longitud, ya que tiene entre 16 a 21 nm. Se ha descrito que en el caso de SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 la proteína tiene entre 1104 a 1273 aminoácidos y comprende una subunidad (N)-terminal denominada S1 y una subunidad C-terminal denominada S2 (Fig. 1) (Fields Virology, 2013).

La glicoproteína S es clivada por una proteasa celular furina-like en dos péptidos del mismo tamaño, S1 y S2. El sitio de clivaje es un pentapéptido altamente básico. En la subunidad S1, se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD) que abarca aproximadamente 200 residuos, en la posición 318-510 del SARS CoV. El subdominio RBD es responsable de que la proteína S se organice en espículas en forma de trímero. En cambio, en S2 se localiza el péptido de fusión, responsable de la fusión de la membrana viral y celular, en el proceso de entrada del virus a la célula y del efecto citopático, en forma de sincicios, que puede producir este virus al infectar células en cultivo o en la infección in vivo. S1 es muy variable entre los distintos coronavirus, mientras que S2 es muy conservado. Tanto el dominio N-terminal como el dominio C terminal de S1 pueden unirse a los receptores del hospedador. El subdominio externo contiene 2 bucles expuestos en la superficie que se unen con ACE2 por sus siglas en inglés *Angiotensin-Converting Enzyme 2* (Fields Virology, 2013, Schoeman, et al, 2020).

### Proteína N o proteína de la nucleocápside

La proteína N (43 a 50 KDa) conforma la nucleocápside helicoidal uniéndose a lo largo de todo el genoma viral. Esta proteína es fosforilada en un número discreto de serinas y treoninas. Aunque el rol de esta fosforilación aún no ha sido determinado se ha sugerido que está relacionado a funciones regulatorias. Por ejemplo, la fosforilación dispara un cambio conformacional en N aumentando su afinidad por el RNA viral (Wang et al., 2003). La proteína N contiene 2 dominios, ambos capaces de reconocer el RNA viral. Además, se ha reportado 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. También funciona como antagonista del interferón y un represor de RNA de interferencia codificado por el virus. Otra importante función es su asociación con otra proteína estructural: M. (Fehr and Perlman, 2015; Hurst et al., 2009; Cui et al., 2015).

### **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 en la envoltura del virión. La mayoría de la misma se encuentra localizada en el sitio de tráfico intracelular, como el complejo de Golgi, donde participa en el ensamblado de la partícula y se considera que es muy importante en la producción y maduración de partícula viral (Schoeman, et al, 2020).

### **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 incrustada en la envoltura a través de tres dominios transmembrana. El extremo amino constituye un ectodominio pequeño; mientras que el endodominio C-terminal es 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. Asimismo, esta proteína colabora en la fijación de la nucleocápside a la membrana de estructuras internas tales como el complejo de Golgi y es la responsable del transporte transmembrana de nutrientes, la liberación del virión y la formación de la envoltura (Fields Virology, 2013, Cui, et al 2020).

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

La mayoría de las proteínas no-estructurales, nsp1 a nsp16, han sido reportadas con funciones específicas durante el proceso de replicación de los coronavirus. Entre las funciones se destacan RNA polimerasa RNA-dependiente, helicasa, metil-transferasa y endoribonucleasa. Sin embargo, las funciones de algunas de ellas aún son desconocidas o solo están predichas por estudios bioinformáticos (Snijder et al., 2016).

Además de las nsps y las proteínas estructurales, diferentes CoV codifican proteínas denominadas “accesorias” como la HE, 3a/b y 4a/b. Estas proteínas se traducen del RNA genómico (junto con las estructurales) y tienen funciones en la supresión del sistema

immune innato. Se ha sugerido que estas proteínas han sido adquiridas por diferentes coronavirus para este propósito ya que su función no es necesaria en cultivos celulares (Rabouw et al., 2016; Matthews et al., 2014; Yang et al., 2014)-

## Bibliografía

- Coronavirus disease 2019 (COVID-19) ([https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200318-sitrep-58-covid-19.pdf?sfvrsn=20876712\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200318-sitrep-58-covid-19.pdf?sfvrsn=20876712_2)).
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(3):181–92.
- Cui, L., et al., The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. *J Virol*, 2015. 89(17): p. 9029-43.
- Fehr, A.R. and S. Perlman, Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*, 2015. 1282: p. 1-23.
- Fields Virology, 6th Edition Edited by David M. Knipe and Peter M. Howley. Philadelphia, PA, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Chapter 28.
- Hurst, K.R., C.A. Koetzner, and P.S. Masters, Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *J Virol*, 2009. 83(14): p. 7221-34.
- Matthews KL, Coleman CM, van der Meer Y, Snijder EJ, Frieman MB (2014) The ORF4b-encoded accessory proteins of Middle East respiratory syndrome coronavirus and two related bat coronaviruses localize to the nucleus and inhibit innate immune signalling. *J Gen Virol* 95:874–882.
- Rabouw HH, Langereis MA, Knaap RC, Dalebout TJ, Canton J, Sola I, Enjuanes L, Bredenbeek PJ, Kikkert M, de Groot RJ, van Kuppeveld FJ (2016) Middle East respiratory coronavirus accessory protein 4a inhibits PKR-mediated antiviral stress responses. *PLoS Pathog* 12:e1005982.
- Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J.* 2019 May 27;16(1):69. Review.
- Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Adv Virus Res.* 2016;96:59-126. doi: 10.1016/bs.aivir.2016.08.008.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490-502.
- Wang J, Ji J, Ye J, Zhao X, Wen J, Li W, Hu J, Li D, Sun M, Zeng H, Hu Y, Tian X, Tan X, Xu N, Zeng C, Wang J, Bi S, Yang H. The structure analysis and antigenicity study of the N protein of SARS-CoV. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2003;1(2):145-54.
- Yang Y, Zhang L, Geng H, Deng Y, Huang B, Guo Y, Zhao Z, Tan W (2013) The structural and accessory proteins M, ORF 4a, ORF 4b, and ORF 5 of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) are potent interferon antagonists. *Protein Cell* 4:951–961

## Ciclo de Replicación de los Coronavirus

Los coronavirus entran a la célula blanco por medio del contacto con receptores celulares específicos. La interacción entre la proteína S y un receptor ubicado en la membrana celular dispara el proceso de entrada al citoplasma celular. El receptor para el virus SARS-CoV es la proteína ACE2 (Li et al. 2003). Esta molécula es una proteína ubicada en la membrana celular con actividad carboxipeptidasa e involucrada en la regulación de la presión sanguínea y la función cardíaca. La ACE2 cliva la angiotensina 1 en angiotensina 2, molécula que produce vasoconstricción y aumento de la presión arterial. La angiotensina 2 estimula en las glándulas suprarrenales la secreción de aldosterona, cuya función es la reabsorción del sodio y el agua y la eliminación del potasio, a nivel renal, produciendo el aumento de la presión arterial. En humanos se expresa en células epiteliales de pulmón e intestino delgado los cuales son los blancos primarios de SARS-CoV. Estudios estructurales han demostrado que la mutación de solo 2 residuos aminoacídicos en una proteína permitió el salto de especie (de la civeta asiática al humano) (Li, 2008; Li et al., 2005). Recientemente se ha demostrado que esta proteína también funciona como receptor para el nuevo SARS-CoV-2 (Zhang et. al., 2020). Un estudio publicado por Cao et al. (2020) sugiere que variantes genéticas de la proteína ACE2 en las distintas etnias poblacionales podrían presentar distintos niveles de afinidad y reconocimiento con SARS-CoV-2; y así explicar la severidad de la enfermedad en los distintos continentes.

Luego del reconocimiento del receptor, los coronavirus ingresan al citoplasma por endocitosis y fusión con vesículas ácidas que permiten la liberación de la nucleocápside. Alternativamente estos virus pueden fusionarse directamente con la membrana plasmática por un mecanismo dependiente de una proteasa celular quien cliva a la proteína S del virus y permite exponer su péptido fusión (Milewska et al., 2018; Wang et al., 2019).

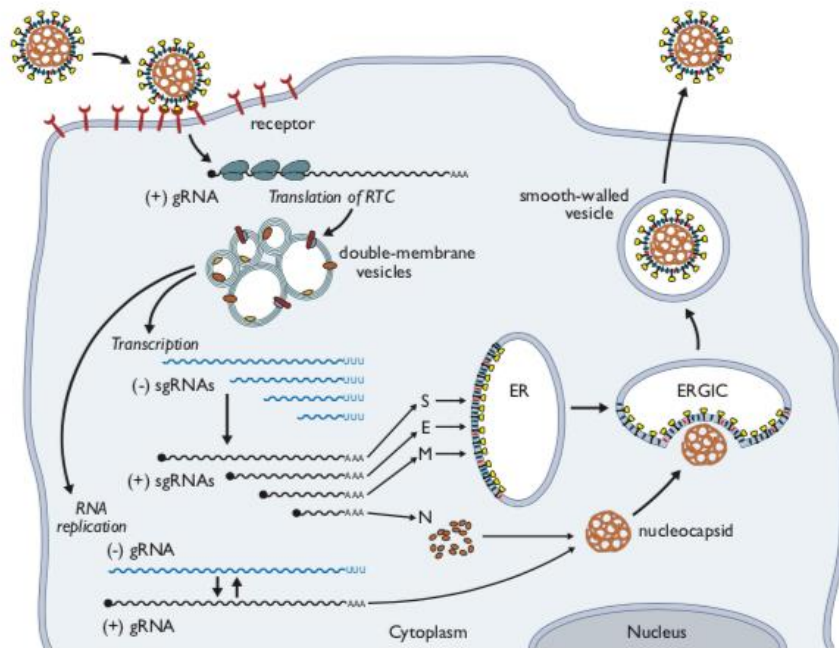
Una vez liberada la nucleocápside al citoplasma comienza la traducción y expresión del gen de replicasa viral (Fig.2). Por un mecanismo intrincado de desplazamiento de ribosomas celulares se traducen dos polipéptidos definidos **pp1a** (440–500 kDa) y **pp1ab** (740– 810 kDa) de diferente longitud. A partir de estos, y por un proceso autoproteolítico, se expresan las proteínas no estructurales (designadas nsp1 a nsp16) necesarias para formar el complejo replicasa-transcriptasa (RTC) y completar un ciclo de infección exitoso (Brierley et al., 1989; Masters, 2006).

Río abajo del gen de la replicasa se encuentran los genes estructurales S, M, E y N; que serán expresados a partir de mRNA subgenómico una vez que el RTC esté conformado y activo. Las factorías replicativas de los coronavirus provocan remodelamientos estructurales membranosos muy complejos en las células infectadas. Extensivas y morfológicamente diversas redes de vesículas, conectadas con el RE permiten la compartimentalización del proceso de síntesis viral protegiéndolo de ribonucleasas y evitando el reconocimiento de la respuesta inmune innata (Knoops et al., 2008).

Las proteínas estructurales M, S y E son expresadas asociadas al RE desde donde serán transportadas hacia el sitio de ensamblado y junto con las nucleocápsides formarán las nuevas partículas virales. Los coronavirus se ensamblan a través del sistema ERGIC y luego las partículas maduras son exportadas hacia la membrana plasmática en el interior de



vesículas son secretadas por exocitosis (De Haan et al, 2005; Hogue et al., 2008; Masters, 2006)



**Figura 2:** Ciclo de replicación de los Coronavirus. El ciclo comienza con el reconocimiento del receptor celular en la superficie de la membrana. Este evento desencadena el ingreso y desnudamiento de la partícula dentro del citoplasma celular. Luego los ribosomas celulares llevan a cabo la traducción del gen (+gRNA) de la replicasa (RTC) viral. A partir de este gen se expresan proteínas no estructurales necesarias para los siguientes pasos del ciclo replicativo. Una vez sintetizados los intermediarios replicativos (-) sgRNAs se expresan, asociadas al retículo endoplasmático (ER), las proteínas estructurales: S, E y M. El ensamblado de la partícula se produce con el encuentro de las nucleocápsides por una vía exocítica dependiente del sistema ERGIC. Las nuevas partículas infecciosas son secretadas al medio extracelular donde pueden comenzar un nuevo ciclo. Ver más detalles en el texto.

## Bibliografía

- Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature* 2003;426: 450–454.
- Li F. Structural analysis of major species barriers between humans and palm civets for severe acute respiratory syndrome coronavirus infections. *J Virol* 2008;82:6984–6991.
- Li W, Zhang C, Sui J, et al. Receptor and viral determinants of SARS- coronavirus adaptation to human ACE2. *EMBO J* 2005;24:1634–1643.
- Cao Yanan, Lin Li, Zhimin Feng, Shengqing Wan, Peide Huang, Xiaohui Sun, Fang Wen, Xuanlin Huang, Guang Ning & Weiqing Wang. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell Discovery* 6: 11, 2020
- Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020 Mar 3. doi: 10.1007/s00134-020-05985-9.
- Milewska A, Nowak P, Owczarek K, Szczepanski A, Zarebski M, Hoang A, Berniak K, Wojarski J, Zeglen S, Baster Z, Rajfur Z, Pyrc K. Entry of Human Coronavirus NL63 into the Cell. *J Virol.* 2018 Jan 17;92(3). pii: e01933-17. doi: 10.1128/JVI.01933-17.

- Wang H, Yuan X, Sun Y, Mao X, Meng C, Tan L, Song C, Qiu X, Ding C, Liao Y. Infectious bronchitis virus entry mainly depends on clathrin mediated endocytosis and requires classical endosomal/lysosomal system. *Virology*. 2019; 528:118-136. doi: 10.1016/j.virol.2018.12.012.
- Brierley I, Digard P, Inglis SC. Characterization of an efficient coronavirus ribosomal frameshifting signal: requirement for an RNA pseudo-knot. *Cell* 1989;57:537–547.
- Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2006; 66:193–292.
- Knoops K, Kikkert M, Worm SH, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol* 2008;6:e226.
- De Haan CA, Rottier PJ. Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2005;64:165–230.
- Hogue BG, Machamer CE. Coronavirus structural proteins and virus assembly. In: Perlman S, Gallagher T, Snijder EJ, eds. *Nidoviruses*. Washington, DC: ASM Press; 2008:179–200.

## Patogenia

La mayoría de los coronavirus se propagan a los hospedadores susceptibles por vías respiratoria o fecal-oral de infección, y la replicación ocurre primero en las células epiteliales. Sin embargo, además de la infección local de las vías respiratorias o entéricas, varios coronavirus causan enfermedad respiratoria aguda grave (Knipe et al, 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 receptor 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, et al, 2020).

Hasta el momento se sabe que el virus puede causar síntomas leves parecidos a la gripe, como fiebre, tos, dificultad para respirar, dolor en los músculos y fatiga. Los casos más graves 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 los ancianos y aquellos con afecciones de salud subyacentes (Guo, et al, 2020).

Dado que estamos 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 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 (Knipe et al, Fields Virology, 2013; Zhang C, et al, 2020; Baig, et al, 2020, Peiris, et al 2003). Aunque el pulmón es reconocido como el órgano más gravemente afectado por el SARS-CoV, el mecanismo exacto 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, et al 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, et al 2020).

Efectivamente, la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa son necesaria 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 inmunoadyuvantes, 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 COVID19 de condiciones más críticas (Guo, et al, 2020).

## Bibliografía

- Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2020 Mar 13. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00122.
- Fields Virology, 6th Edition Edited by David M. Knipe and Peter M. Howley. Philadelphia, PA, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Chapter 28.
- Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Tan KS, Wang DY, Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res*. 2020 Mar 13;7(1):11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0. Review
- Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, Pan P, Wang W, Hu D, Liu X, Zhang Q, Wu J. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020 Apr;92(4):424-432. doi: 10.1002/jmv.25685. Epub 2020 Feb 7. Review.
- Peiris JS, Chu CM, Cheng VC, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet* 2003;361:1767–1772.
- Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020 Mar 4. pii: S2468-1253(20)30057-1. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30057-1.

## Diagnóstico de laboratorio

### Recolección y envío de muestras

La Organización Mundial de la Salud ha determinado una serie de normas que se deben cumplir para el análisis de muestras a los pacientes que se ajustan a la definición de caso sospechoso (<https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>).

Es prioritario recoger y analizar rápidamente muestras apropiadas de los casos sospechosos, tarea que debe realizarse bajo la dirección de un experto de laboratorio. Para tal fin, se debe asegurar que existan procedimientos operativos normalizados y que se disponga del personal adecuado y debidamente capacitado para la recolección, conservación, embalaje/envasado y transporte de las muestras.

### Muestras

#### 1. De elección:

Muestras respiratorias (hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo en pacientes ambulatorios, y esputo (en su caso) y/o aspirado endotraqueal o lavado broncoalveolar en pacientes con enfermedades respiratorias más graves)

#### 2. Para ensayos complementarios

Suero para pruebas serológicas, muestras obtenidas en la fase aguda y la convalecencia (se trata de materiales adicionales a las muestras respiratorias, que pueden ayudar a identificar al agente etológico cuando las pruebas serológicas estén disponibles).

La siguiente tabla detalla los tipos de muestra incluyendo características importantes a tener en cuenta para la conservación y el transporte:

Tipo de muestra	Materiales para toma de muestra	Transporte	Conservación	Observaciones
Hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo	Torundas floculadas de dacrón o poliéster*	4 °C	≤5 días: 4 °C >5 días: -70 °C	Los hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos deben conservarse en el mismo tubo para aumentar la carga vírica. Los hisopos a utilizar deben ser de torunda de nylon, dacrón o viscosa con manguito plástico. Los mismos se deberán sumergir en 2 ml de medio de transporte para virus o en su defecto 2 ml de solución salina de uso parenteral. Deberán ser contenidos en un tubo plástico, estéril, con tapa a rosca y hermético.
Lavado broncoalveolar (BAL)	recipiente estéril*	4 °C	≤48 horas: 4 °C >48 horas: -70 °C	Deberá ser contenido en un tubo plástico, estéril, con tapa a rosca y hermético.

Aspirado (endo) traqueal, aspirado nasofaríngeo o lavado nasal	recipiente estéril	*4 °C	≤48 horas: 4 °C >48 horas: -70 °C	Deberá ser contenido en un tubo plástico, estéril, con tapa a rosca y hermético.
Espuito	recipiente estéril	4 °C	≤48 horas: 4 °C >48 horas: -70 °C	Debe cerciorarse de que la muestra provenga de las vías respiratorias bajas. Deberá ser contenido en un tubo plástico, estéril, con tapa a rosca y hermético.
Tejidos de biopsia o autopsia, en particular pulmonares	recipiente estéril con medio salino	4 °C	≤24 horas: 4 °C >24 horas: -70 °C	
Suero	Tubos separadores de suero (en adultos: obtenga 3-5 ml de sangre entera)	4 °C	≤5 días: 4 °C >5 días: -70 °C	Se debe obtener muestras pareadas: • fase aguda – primera semana de enfermedad • convalecencia – 2 a 3 semanas después
Sangre entera	tubo de recogida	4 °C	≤5 días: 4 °C >5 días: -70 °C	Para detectar antígenos, en especial durante la primera semana de enfermedad
Orina	recipiente para orina	4 °C	≤5 días: 4 °C >5 días: -70 °C	

\*Al transportar las muestras para la detección viral, utilice MTV (medios de transporte de virus) que contengan suplementos antifúngicos y antibióticos.

**Todas las muestras deben enviarse al laboratorio refrigeradas (no congelar) y en envase de bioseguridad apropiado para muestras biológicas (triple envase). Debe ser identificada como muestras para detección de nuevo coronavirus, SARS-CoV-2 o COVID19. No deberán venir acompañadas con muestras para otras patologías.**

Todas las muestras que se obtengan para las investigaciones de laboratorio deben considerarse potencialmente infecciosas, y los agentes de atención sanitaria que recojan o transporten muestras clínicas deben atenerse rigurosamente a las directrices sobre prevención y control de infecciones y a las reglamentaciones nacionales o internacionales relativas al transporte de mercancías peligrosas (sustancias infecciosas) para reducir al mínimo la posibilidad de exposición a agentes patógenos (<https://www.who.int/ihr/publications/WHOWHE-CPI-2019.20/en/>).

El Laboratorio que procese las muestras debe reunir condiciones de **Nivel de Bioseguridad 2 (BSL2)** y poseer al menos una **Cabina de Seguridad Biológica tipo 2 certificada**. Es importante recalcar que para el cultivo viral se requiere medidas de bioseguridad reforzadas, condiciones de BSL3.

**Las muestras deberán estar acompañadas por una copia de la Ficha epidemiológica correspondiente a caso sospechoso, completada en su totalidad.**

Información que debe constar:

- Información personal del paciente: nombre, fecha de nacimiento, sexo y domicilio, número de identificación único, otra información útil (por ejemplo, número del paciente en el hospital, número de identificación a efectos de vigilancia, nombre del hospital, dirección del hospital, número de habitación, nombre e información de contacto del médico, nombre y dirección del destinatario del informe)
- Fecha y hora de la toma de la muestra
- Sitio anatómico y localización de toma de la muestra
- Pruebas que se solicitan
- Síntomas clínicos e historia pertinente del paciente (en particular, vacunas y tratamientos antimicrobianos recibidos, información epidemiológica, factores de riesgo).

### **Diagnóstico COVID-19**

El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2, se basa en la detección de genoma viral a través de técnicas de biología molecular como es la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real o RT-qPCR. Esta técnica se utiliza sobre muestras denominadas de elección antes mencionadas (de secreciones de las vías aéreas superiores e inferiores como son los hisopados naso- y orofaríngeos, el esputo y el lavado bronco-alveolar), tomados en personas que cumplen con el criterio de caso sospechoso según la definición del Ministerio de Salud.

Dado que el virus SARS-CoV-2 es un nuevo coronavirus que fue descrito como el agente causal del COVID-19 el día 7 de enero del 2020, los ensayos utilizados para su detección fueron en un principio ensayos estandarizados en institutos de distintos países del mundo y cuyos protocolos están disponibles y publicados en la página de la OMS (<https://www.who.int/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>).

Los ensayos disponibles se listan a continuación:

<b>País</b>	<b>Instituto</b>	<b>Gen blanco</b>
China	China CDC	ORF1ab and N
Alemania	Charité	RdRP, E, N
Hong Kong SAR	HKU	ORF1b-nsp14, N
Japón	Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Departmenton de Virologia III	Pan-corona y multiples blancos, proteina Spike
Tailandia	Instituto Nacional de Salud	N

Estados Unidos	CDC	Tres blancos en el gen N
Francia	Instituto Pasteur, Paris	Dos blancos en RdRP

---

El detalle de cada metodología, incluyendo los protocolos y secuencias de los iniciadores se encuentran en los siguientes links:

- [China CDC Primers y sondas para la detección del 2019-nCoV](#) (24 de enero 2020)
- [Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR – Charité, Berlin Germany](#) (17 de enero 2020)
- [Detection of 2019 novel coronavirus \(2019-nCoV\) in suspected human cases by RT-PCR – Hong Kong University](#) (23 de enero 2020)
- [PCR and sequencing protocol for 2019-nCoV - Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand](#) (Actualizado el 28 de enero 2020)
- [PCR and sequencing protocols for 2019-nCoV- National Institute of Infectious Diseases Japan](#) (24 de enero 2020)
- [US CDC Real-Time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus](#) (28 de enero 2020)
- [US CDC panel primer and probes– U.S. CDC, USA](#) (28 de enero 2020)
- [Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2 Institut Pasteur, Paris](#) (2 de marzo 2020)

Recientemente, el CDC de EEUU ha desarrollado un nuevo kit de laboratorio llamado “Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time Reverse Transcriptase (RT)-PCR Diagnostic Panel”. Este ensayo está diseñado para ser utilizado con el equipo de PCR en tiempo real *Applied Biosystems 7500 Fast DX Real-Time PCR* con el software SDS 1.4. El CDC ha distribuido este ensayo a varios laboratorios del mundo y hasta el momento es el único aprobado en Argentina por el ente regulador ANMAT.

Por otro lado, existen en la actualidad algunos ensayos comerciales que se encuentran en proceso de validación y aprobación, o que ya han obtenido aprobaciones en corto plazo por parte de algunos organismos reguladores como es la FDA para ser utilizados en el testeo de pacientes con sospecha de COVID-19. Dentro de este grupo podemos encontrarlos que se listan a continuación:

- Laboratory Corporation of America COVID-19 RT-PCR
- Hologic, Inc. (Hologic) Panther Fusion SARS-CoV-2
- Thermo Fisher Scientific, Inc. TaqPath COVID-19
- Roche Molecular Systems, Inc. Cobas SARS-CoV-2 test para el uso en las plataformas Cobas 6800/8800



- Wadsworth Center, New York State Department of Public Health's (CDC) New York SARS-CoV-2 Real-time Reverse Transcriptase (RT)-PCR Diagnostic Panel BioMérieux. SARS-COV-2 R-GENE®. En aprobación por la CE y presentado a la FDA para una EUA (Emergency Use Authorization, Autorización de Uso de Emergencia).
- Biomerieux. BIOFIRE® FILMARRAY® SARS-CoV-2 y está diseñada para ejecutarse en plataformas FILMARRAY® 2.0 y FILMARRAY® TORCH. En desarrollo.
- Versión ampliada de su BIOFIRE® FILMARRAY® Panel Respiratorio 2, que se llamará BIOFIRE® Panel Respiratorio 2.1 (RP2.1). En desarrollo.

Es importante destacar que un único resultado negativo en una prueba para la detección del virus SARS-CoV-2, especialmente si se ha realizado a partir de una muestra de las vías respiratorias superiores, no excluye la posibilidad de una infección. Se recomienda repetir el muestreo y la prueba con una muestra de las vías respiratorias inferiores en caso de enfermedad grave o progresiva. Del mismo modo, un resultado positivo por un patógeno alternativo no excluye necesariamente la posibilidad de una coinfección ([https://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/manual\\_diagnosis\\_surveillance\\_influenza/en/](https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/); [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO\\_MERS\\_SUR\\_15.2\\_eng.pdf;sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO_MERS_SUR_15.2_eng.pdf;sequence=1); [https://www.who.int/ihr/publications/WHO\\_CD\\_S\\_CSR\\_EDC\\_2000\\_4/en/](https://www.who.int/ihr/publications/WHO_CD_S_CSR_EDC_2000_4/en/))

Otro punto a resaltar es la importancia de la descentralización del diagnóstico etiológico de COVID-19, esto permitirá por un lado evitar la saturación del diagnóstico referencial y por el otro, la toma de decisiones oportunas en los equipos de salud, tanto en la etapa de contención como de mitigación de esta pandemia. Para lo anterior, es necesario que los organismos regulatorios trabajen en concordancia y celeridad con los laboratorios referenciales en la aprobación y licencias de equipos o test diagnósticos.

## Bibliografía

- Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases (<https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>).
- Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2019. (<https://www.who.int/ihr/publications/WHOWHE-CPI-2019.20/en/>).
- Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans. (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>).
- WHO Global Influenza Surveillance Network Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza, OMS, 2011 ([https://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/manual\\_diagnosis\\_surveillance\\_influenza/en/](https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/)).
- Investigation of cases of human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), interim guidance, Organización Mundial de la Salud, actualizado en junio de 2018 WHO/MERS/SUR/15.2 Revision 1 ([https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO\\_MERS\\_SUR\\_15.2\\_eng.pdf;sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO_MERS_SUR_15.2_eng.pdf;sequence=1))
- Guideline for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks WHO/CDS/CSR/EDC/200.4. ([https://www.who.int/ihr/publications/WHO\\_CD\\_S\\_CSR\\_EDC\\_2000\\_4/en/](https://www.who.int/ihr/publications/WHO_CD_S_CSR_EDC_2000_4/en/)).



## **Vacunas contra coronavirus**

No existen en la actualidad vacunas contra ninguno de los coronavirus humanos, y en general el desarrollo de vacunas contra los virus de esta familia ha representado un desafío. En la actualidad, y como reflejo de esta situación, sólo existen vacunas contra algunos tipos virales, a pesar de ser una familia que, incluyendo al ser humano, afecta a un amplio rango de especies animales domésticas (caninos y felinos) o de interés en la producción (porcinos, aves, bovinos, equinos, etc.). Esto puede relacionarse con las características propias del patógeno, que muestra capacidad de recombinación y de incorporar mutaciones, y por lo tanto variar antigénicamente. Sin embargo, también debe analizarse desde la inducción de una respuesta inmune apropiada, que estimule los mecanismos innatos y adaptativos adecuados para proporcionar protección a la infección posterior, que no están totalmente dilucidados.

Algunos ejemplos de vacunas comerciales incluyen la de la bronquitis infecciosa viral (IBV) de las aves, el coronavirus bovino (BoCoV) y el canino (CCoV). Sin embargo, en muchos casos el desempeño de estas vacunas a campo no es satisfactorio. Quizás el ejemplo más exitoso es el de la vacuna contra la IBV (un coronavirus del grupo de los gammacoronavirus) que consiste en virus vivos atenuados, generados a partir de pasajes seriales en huevos embrionados, en procesos que pueden llevar hasta un año de duración (Jordan, 2017). Con esta metodología se han podido producir vacunas contra numerosas variantes y serotipos del IBV, entre los cuales puede existir una reactividad cruzada limitada. Existen también vacunas basadas a virus inactivado pero su capacidad inmunogénica es menor respecto a las formuladas con virus atenuado. También se han desarrollado vacunas recombinantes contra este virus que sin embargo no han podido conferir niveles de protección adecuados (Li et al., 2016; Toro et al., 2014).

### **Vacunas contra coronavirus humanos**

Las referencias más cercanas a desarrollos de vacunas relacionados a coronavirus humanos son las de las epidemias de SARS y MERS. Poco tiempo después de los brotes de SARS, se reportó que las respuestas de anticuerpos de individuos recuperados de la infección tenían como blanco una zona muy rica en epitopes (S2) dentro de la glicoproteína de las espículas del virus y que fue identificada como sitio inmunodominante (Zhong et al., 2005). Estos anticuerpos eran capaces de neutralizar el SARS-CoV. Al contrario, otras proteínas del virus (la de matriz, M, y la de envoltura pequeña, E) presentaban poca capacidad de evocar respuestas de anticuerpos específicas. Si bien algunos pacientes presentaban estos anticuerpos neutralizantes contra la región S2, otros no, lo que dio lugar a identificar que las respuestas celulares específicas (de linfocitos T citotóxicos CD8+) tuvieron un rol importante en la protección de esos pacientes (Gao et al., 2003).

Sin embargo, uno de los puntos críticos de las vacunas contra los coronavirus es justamente la posibilidad de que la presencia de los anticuerpos contra la proteína S causen un aumento en la infección e incluso el agravamiento de la sintomatología. Varios estudios demostraron que tales anticuerpos aumentaban la capacidad del SARS-CoV de infectar células humanas que no expresan el receptor del virus, como las células mononucleares de sangre periférica y los macrófagos derivados de monocitos (Yip et al., 2016). En otros casos, se reportó un agravamiento de la infección inducida por la vacuna mediada por anticuerpos,

observándose que altas concentraciones de anticuerpos contra SARS-CoV podían neutralizar la infección, pero que en cambio los sueros diluidos aumentaban significativamente la infección por SARS-CoV y desencadenaban efectos de agravamiento mediado por anticuerpos (Wang et al., 2014). Siendo que la inducción de niveles variables de los anticuerpos neutralizantes (incluyendo niveles bajos) son esperables en el contexto de la vacunación masiva de la población general, este punto debe ser tenido en cuenta y analizado en profundidad en los ensayos clínicos de las vacunas candidatas.

En la siguiente tabla se muestra información sobre el único candidato vacunal contra el SARS-CoV que completó las pruebas de evaluación.

S/N	Organisation; Candidate	Country of Study; Trial Type; Study Design; Study Details	Population	Outcome (Safety)	Outcome (Efficacy)	Reference
SARS-CoV						
1	Sinovac Biotech Co. Ltd.; Inactivated SARS-CoV (ISCV)	China (Beijing); Phase I clinical trial; Randomised, double-blind and placebo controlled; 2 doses of 16 SARS-CoV units (SU) or 32 SU ISCV or placebo control vaccine, intramuscular injection of vaccines in deltoid muscle, doses were 28 days apart	36 healthy adults between 21 and 40 years old, free of chronic diseases, immunosuppression SARS-CoV, HCV and HIV; 12 subjects were included in each intervention arm	No severe adverse reaction (grade 3) was reported. All local adverse events were mild and resolved within 47-72 h, while systemic adverse events were reported sporadically from all 3 groups and resolved within 24 h.	Seroconversion reached 100% for both vaccine groups on day 42, persisted at 100% in the group receiving 16 SU but decreased to 91.1% for the group receiving 32 SU on day 56. Geometric mean titres (GMT) of specific SARS-CoV neutralising antibody peaked 2 weeks after the second dose, but started to drop 4 weeks later (values not reported). Seroconversion and GMT of neutralising antibody levels were lower in subjects between 21-30 years old compared to those in the elder group, but without significant differences (35: seroconversion $p = 0.444$ ; GMT $P = 0.528$ ) on days 35 and 42.	[44]

Trabajos posteriores mostraron que existe un umbral de ocupación de anticuerpos en el virus y, que dependiendo de ese umbral, los anticuerpos pueden neutralizar el virus, o por el contrario aumentar su capacidad infectiva. En particular los anticuerpos de alta afinidad que neutralizan fuertemente son capaces de inhibir la infección a una ocupación menor, mientras que los anticuerpos débilmente neutralizantes se unen a epitopes distintos y requieren una ocupación mucho mayor sobre la partícula viral para neutralizar. Cuando la ocupación de anticuerpos cae por debajo del umbral de neutralización, puede ocurrir el aumento de la capacidad infectiva por anticuerpos (antibody-dependent enhancement, ADE), por ejemplo, sobre células mononucleares y macrófagos derivados de monocitos, utilizando puerta de entrada los receptores de contra las regiones constantes de los anticuerpos (FcγR). Otros estudios sugieren que la ADE dependiente de los receptores de anticuerpos podría no ser el único mecanismo para aumentar la infección mediada por anticuerpos, tal como se describió para el virus del dengue (Huang et al., 2006). En el caso particular del modelo de infección del SARS-CoV en primates no humanos, se han identificado algunos péptidos de la glicoproteína S que pueden inducir simultáneamente anticuerpos con funciones opuestas, brindando protección al neutralización y/o causan la ADE en la infección por el virus (Wang et al., 2016).

### Candidatos vacunales para el SARS-CoV2

Con el surgimiento de 2019-nCoV, hay alrededor de 15 candidatos potenciales para vacunas a nivel mundial (Pang et al., 2020). Estos candidatos se basan en diversas

tecnologías, que incluyen desde la administración del ARN mensajero de proteínas de la superficie viral, vacunas génicas, nanopartículas, vacunas sintéticas y a virus modificados (Lu, 2020). Es probable que la mayoría de los candidatos tarde aproximadamente un año en comenzar los ensayos clínicos de fase 1, que es la primera etapa para lograr licenciar una vacuna. En la siguiente tabla se listan los candidatos vacunales contra el SARS-CoV2 (Pang et al., 2020).

S/N	Company	Estimated Timeline	Technology	Stage/Funding	Reference
1	Moderna Therapeutics—US National Institute of Allergy and Infectious Diseases	3 months to early stage (phase 1) clinical trial in US (earliest); much longer for full testing and regulatory approval	Messenger RNA vaccine	Preclinical Awaiting preclinical tests and phase 1 study by NIAID, Funding by CEPI	[62]
2	Inovio Pharmaceuticals	Human testing in the next few months	INO-4800-DNA based vaccine (DNA synthesized in lab, does not require actual virus sample)	Preclinical Funding by Coalition for Epidemic Preparedness Innovations (CEPI), up to \$9 million	[62,63]
3	Novavax	3 months	Nanoparticle vaccine	Preclinical	[62]
4	University of Queensland	6 months	Rapid Response Technology, 'Molecular clamp' vaccine platform (gene added to viral proteins, misleads body to generate antibodies)	Preclinical Funding by Coalition for Epidemic Preparedness Innovations (CEPI)	[64,65]
5	Vir Biotechnology	Not available	Anti-coronavirus monoclonal antibodies. Additionally, using "whole-genome CRISPR-based screening capabilities to identify the host receptor for Wuhan coronavirus"	Preclinical	[66,67]
6	Chinese Centre for Disease Control and Prevention (CDC)	At least 1 month for development, 2–3 years before availability for use	Not available Inactivated virus vaccine (postulated, not verified)	Preclinical; virus successfully isolated, currently selecting strain	[68–71]
7	Shanghai East Hospital (Tongji University)—Stermirna Therapeutics	<40 days for manufacture of vaccine samples	mRNA technology	Preclinical	[72]
8	Johnson & Johnson	1 year to market	Adenovirus—vectored technology used for Ebola vaccine (and Zika and HIV vaccine candidates)	Preclinical	[73,74]
9	University of Hong Kong	Months for animal testing, At least 1 year for clinical trials on humans	Modified nasal spray influenza vaccine (with surface antigen of coronavirus) prevents both influenza and corona virus	Preclinical; vaccine developed	[70]
10	University of Saskatchewan (VIDO-InterVac)	Target for animal testing in 6–8 weeks, human trials in at least a year	Not available	Preclinical	[75]
11	GeoVax—BravoVax	Not available	Modified Vaccina Ankara—Virus Like Particles (MVA-VLP) vaccine platform	Preclinical	[76]
12	Clover Biopharmaceuticals	Not available	Highly purified recombinant 2019-nCoV S protein subunit-trimer vaccine (S-Trimer), produced using Trimer-Tag® technology	Preclinical	[77]
13	CureVac	Not available	mRNA technology	Preclinical	[78]
14	Texas Children's Hospital Center for Vaccine Development at Baylor College of Medicine	Not available	Not available	Not available	[79]
15	Codagenix	Not available	Not available	Not available	[79]

## Bibliografía

- Gao, W., Tamin, A., Soloff, A., D'Aiuto, L., Nwanegbo, E., Robbins, P.D., Bellini, W.J., Barratt-Boyes, S., Gambotto, A., 2003. Effects of a SARS-associated coronavirus vaccine in monkeys. *Lancet* 362, 1895-1896.
- Huang, K.J., Yang, Y.C., Lin, Y.S., Huang, J.H., Liu, H.S., Yeh, T.M., Chen, S.H., Liu, C.C., Lei, H.Y., 2006. The dual-specific binding of dengue virus and target cells for the antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *J Immunol* 176, 2825-2832.
- Jordan, B., 2017. Vaccination against infectious bronchitis virus: A continuous challenge. *Vet Microbiol* 206, 137-143.
- Li, H., Wang, Y., Han, Z., Wang, Y., Liang, S., Jiang, L., Hu, Y., Kong, X., Liu, S., 2016. Recombinant duck enteritis viruses expressing major structural proteins of the infectious bronchitis virus provide protection against infectious bronchitis in chickens. *Antiviral Res* 130, 19-26.
- Lu, S., 2020. Timely development of vaccines against SARS-CoV-2. *Emerging microbes & infections* 9, 542-544.
- Pang, J., Wang, M.X., Ang, I.Y.H., Tan, S.H.X., Lewis, R.F., Chen, J.I., Gutierrez, R.A., Gwee, S.X.W., Chua, P.E.Y., Yang, Q., Ng, X.Y., Yap, R.K., Tan, H.Y., Teo, Y.Y., Tan, C.C., Cook, A.R.,

- Yap, J.C., Hsu, L.Y., 2020. Potential Rapid Diagnostics, Vaccine and Therapeutics for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV): A Systematic Review. *Journal of clinical medicine* 9.
- Toro, H., Zhang, J.F., Gallardo, R.A., van Santen, V.L., van Ginkel, F.W., Joiner, K.S., Breedlove, C., 2014. S1 of distinct IBV population expressed from recombinant adenovirus confers protection against challenge. *Avian diseases* 58, 211-215.
  - Wang, Q., Zhang, L., Kuwahara, K., Li, L., Liu, Z., Li, T., Zhu, H., Liu, J., Xu, Y., Xie, J., Morioka, H., Sakaguchi, N., Qin, C., Liu, G., 2016. Immunodominant SARS Coronavirus Epitopes in Humans Elicited both Enhancing and Neutralizing Effects on Infection in Non-human Primates. *ACS infectious diseases* 2, 361-376.
  - Wang, S.F., Tseng, S.P., Yen, C.H., Yang, J.Y., Tsao, C.H., Shen, C.W., Chen, K.H., Liu, F.T., Liu, W.T., Chen, Y.M., Huang, J.C., 2014. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 451, 208-214.
  - Yip, M.S., Leung, H.L., Li, P.H., Cheung, C.Y., Dutry, I., Li, D., Daeron, M., Bruzzone, R., Peiris, J.S., Jaume, M., 2016. Antibody-dependent enhancement of SARS coronavirus infection and its role in the pathogenesis of SARS. *Hong Kong medical journal = Xianggang yi xue za zhi* 22, 25-31.
  - Zhong, X., Yang, H., Guo, Z.F., Sin, W.Y., Chen, W., Xu, J., Fu, L., Wu, J., Mak, C.K., Cheng, C.S., Yang, Y., Cao, S., Wong, T.Y., Lai, S.T., Xie, Y., Guo, Z., 2005. B-cell responses in patients who have recovered from severe acute respiratory syndrome target a dominant site in the S2 domain of the surface spike glycoprotein. *J Virol* 79, 3401-3408.