

FAMILIA CORONAVIRIDAE

► Jaime A. Bustos Martínez
 ► Aída Hamdan Partida

Introducción

Los coronavirus son virus grandes de RNA con envoltura. Inyectan y producen enfermedad en numerosos animales y en el humano. Los coronavirus causan enfermedades respiratorias y gastrointestinales. Su importancia ha ido en aumento ya que un virus de esta familia fue el causante de la primera pandemia del siglo XXI, el coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV) y en el año 2012 se presentó una epidemia por otro nuevo virus de esta familia, el coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV). Por lo que en la actualidad se han descubierto nuevos miembros de esta familia de virus que infectan al humano y otras especies.

Antecedentes

La primera descripción de los coronavirus se realizó en 1931. Por tratarse de un virus que infectaba pollos no se le dio importancia, hasta 1965 cuando se descubrió el primer coronavirus humano en un niño con catarro. A partir de este momento se empezó la clasificación de una nueva familia de virus: *Coronaviridae*. El prefijo *corona* se debe a la apariencia de una corona en la superficie del virus.

El número e importancia de los coronavirus animales creció rápidamente ya que se incluyen virus que causan enfermedades en ratones, ratas, pollos, pavos, cerdos, perros, gatos, conejos, el ganado, felinos, delfines, ballenas, civetas, camellos y murciélagos, entre otras especies de animales por lo que se le considera un virus zoonótico. Varios coronavirus causan gastroenteritis en animales jóvenes. En el humano los coronavirus conocidos hasta antes del año 2003 sólo causaban una infección respiratoria leve, generalmente un simple resfriado. A partir del año 2003 y debido a la pandemia del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS), el interés y la importancia de este grupo de virus ha aumentado a tal grado que se descubrieron dos nuevos coronavirus humanos en los años 2004 y 2005. Además, en el año 2012 surge un nuevo virus en la familia, el coronavirus del Síndrome Respiratorio

del Oriente Medio (MERS-CoV), por lo que la vigilancia epidemiológica de la familia *Coronaviridae* está muy presente en la actualidad.

Clasificación

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae* de la orden *Nidovirales* y se presentan dos subfamilias: *Coronavirinae* y *Torovirinae*. La subfamilia *Coronavirinae* presenta cuatro géneros: *Alfacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*. A su vez existen cuatro linajes de los *Beta coronavirus*. La subfamilia *Torovirinae* presenta sólo dos géneros: *Torovirus* y *Bafinivirus* (Figura 1). Se catalogan dentro del Grupo IV en la clasificación de Baltimore, por ser virus de RNA de cadena sencilla y de polaridad positiva.

Familia: *Coronaviridae*

Subfamilias: *Coronavirinae* y *Torovirinae*

1. **Simetría:** helicoidal
2. **Tamaño:** de 60 a 220 nm de diámetro
3. **Envoltura:** presenta envoltura
4. **Sitio de replicación:** citoplasma
5. **Componentes estructurales:** RNA y proteínas
6. **Genoma:** RNA lineal, cadena sencilla, no segmentada, sentido positivo
7. **Estabilidad frente a solventes lipídicos:** sensible
8. **Efecto de la temperatura ambiente:** estable
9. **Resistencia al pH :** resisten hasta un pH de 3

La clasificación de los coronavirus se basa tomando en cuenta los siguientes parámetros: 1) Secuencia parcial de nucleótidos; 2) la posición y variedad de las proteínas no estructurales ni esenciales del extremo 3' del genoma; 3) propiedades antigénicas; 4) el procesamiento de la proteína S en dos partes S1 y S2 y 5) el rango de hospederos.

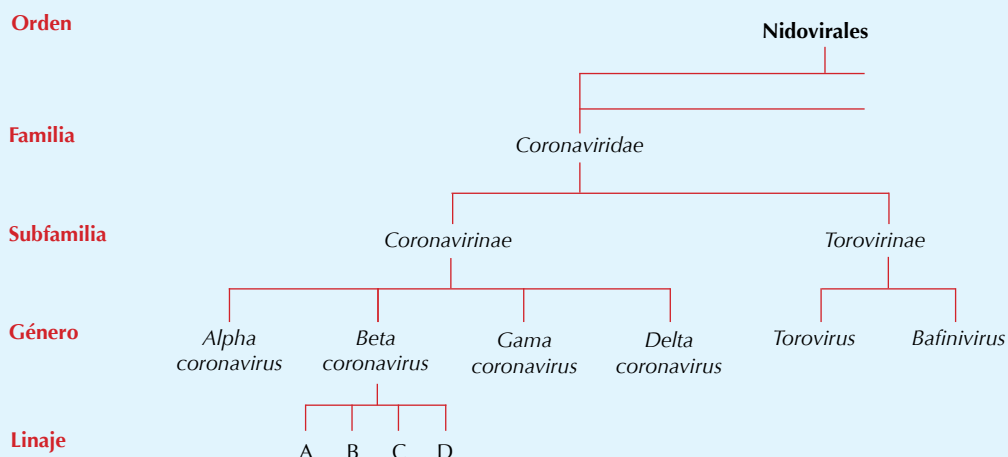


Figura 1. Taxonomía de la familia *Coronaviridae* de acuerdo al Comité Internacional de Taxonomía de los Virus (ICTV)

Actualmente se conocen 50 coronavirus agrupados en cuatro grupos en relación a su secuencia nucleotídica y su serología: Géneros α , β , γ y δ (Cuadro 1). Los *betacoronavirus* se subdividen en cuatro linajes A, B, C y D. Todos los coronavirus del SARS de las diferentes especies se encuentran en el linaje B, mientras que los coronavirus MERS en el linaje C.

Los coronavirus infectan un amplio rango de mamíferos y aves, coronavirus relacionados de manera distante pueden infectar el mismo huésped. Los coronavirus humanos se encuentran en los *Alfacoronavirus* (HCoV-229E y HCoV-NL63) y en los *Betacoronavirus* del linaje A (HCoV-OC43 y HCoV-HKU1), del linaje B (SARS-CoV) y del linaje C (MERS-CoV) (Figura 2 y Cuadro 1).

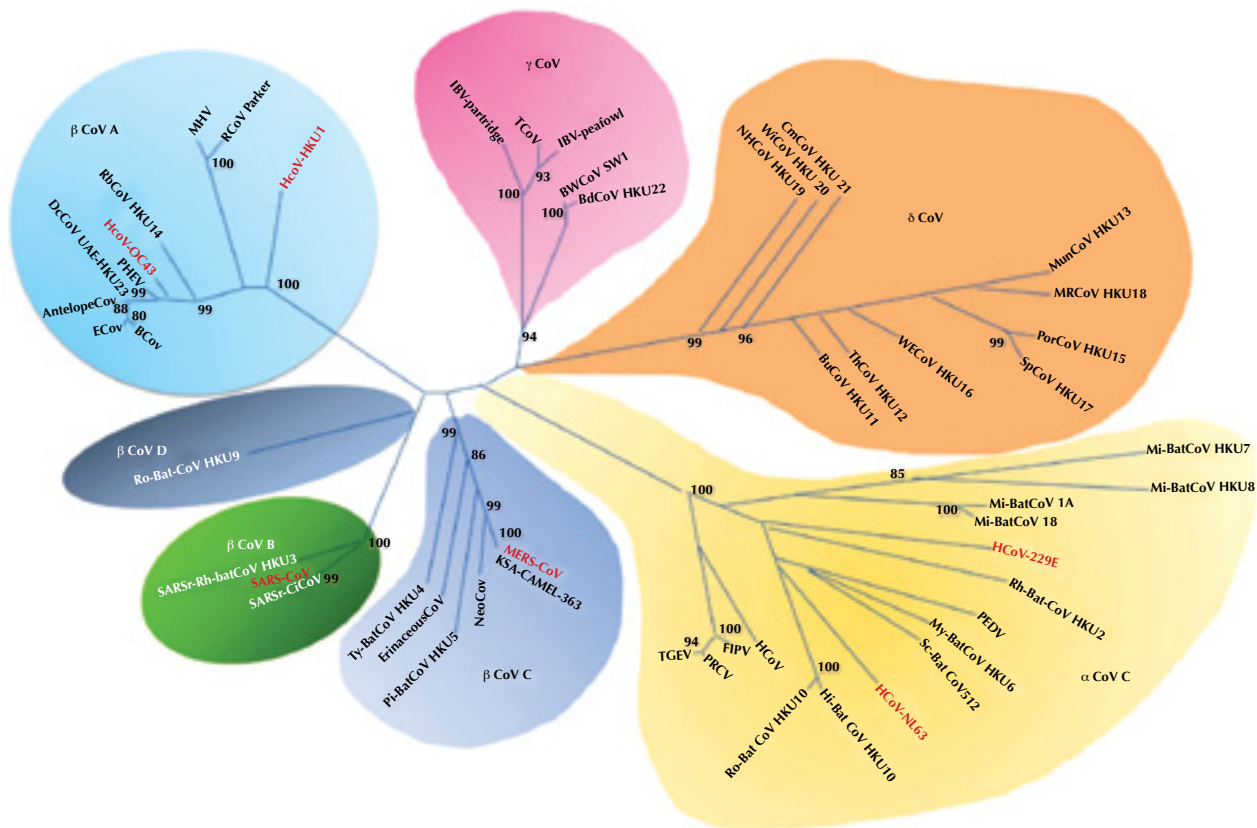


Figura 2. Árbol filogenético de coronavirus en base a la secuencia parcial de nucleótidos. En color rojo se presenta a los coronavirus humanos. Adaptado de Chan JF y colaboradores (2015).

CUADRO 1.
CLASIFICACIÓN DE LOS CORONAVIRUS

Género	Virus	Hospedero	Infección
Alfa coronavirus			
	Coronavirus respiratorio Humano (HCoV-229E)	Humano	Respiratoria
	Coronavirus respiratorio Humano (HCoV-NL63)	Humano	Respiratoria y posiblemente enfermedad de Kawasaki
	Virus de la gastroenteritis transmisible porcina (TGEV)	Cerdo	Respiratoria y entérica
	Coronavirus canino (CCoV)	Perro	Entérica
	Coronavirus entérico felino (FECoV)	Gato	Entérica
	Virus de la peritonitis infecciosa felina (FIPV)	Gato	Respiratoria, entérica, hepatitis
	Virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV)	Cerdo	Entérica
Beta coronavirus			
	Coronavirus respiratorio humano (HCoV-OC43)	Humano	Respiratoria
	Coronavirus respiratorio humano (HCoV-HKU1)	Humano	Respiratoria
	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV)	Humano	Respiratoria
	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo de civeta. (civeta- SARS-CoV)	Civeta	Respiratoria
	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo de murciélago (murciélago-SARS-CoV)	Murciélago herradura	Respiratoria
	Coronavirus del síndrome respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV)	Humano	Respiratoria, entérica
	Coronavirus del síndrome respiratorio del Oriente Medio del camello (MERS-CoV- Camel)	Camello	Respiratoria, entérica
	Virus de la Hepatitis del ratón (MHV)	Ratón	Respiratoria, entérica, hepatitis
	Virus de la sialodacrioadenitis (SDAV)	Rata	Neurológica
	Virus de la encefalomielitis hemaglutinante porcina (HEV)	Cerdo	Respiratoria, entérica y neurológica
	Coronavirus bovino (BCoV)	Vaca	Entérica
	Coronavirus equino (ECoV)	Caballos	Entérica
	Coronavirus entérico de conejo (RbEVC)	Conejo	Entérica
Gamma coronavirus			
	Coronavirus de pavo (TCoV)	Pavo	Respiratoria y entérica
	Virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV)	Pollos	Respiratoria y Hepatitis
	Coronavirus del faisán (PhCoV)	Faisán	Respiratoria
	Coronavirus del delfín nariz de botella (BdCoV)	Delfín	Respiratoria
	Coronavirus de ballena beluga (BWCoV)	Beluga	Respiratoria
Delta coronavirus			
	Coronavirus porcino (PorCoV)	Cerdo	Entérica
	Coronavirus de gorrión (SpCoV)	Gorrión	Respiratoria
	Coronavirus de urraca (MRCoV)	Urraca	Respiratoria
	Coronavirus del ojo blanco (WECoV)	Aves	Respiratoria
	Coronavirus del tordo (ThCoV)	Tordo	Respiratoria

Existe poca información de los Torovirus, se han identificado dos géneros, los *Torovirus* donde se encuentran el Torovirus Bovino (BToV), Torovirus Equino (EToV) y Torovirus Porcino (PToV) y el Torovirus humano (HToV). En el género *Bafinivirus* sólo se tiene al virus del Besugo Blanco (WBV). BToV, PToV y HToV causan gastroenteritis, BtoV esporádicamente infecta el sistema respiratorio. EToV hasta el momento no tiene reportada ningún tipo de enfermedad.

Estructura de las partículas virales

Son virus de 60 a 220 nm de diámetro, con una envoltura externa que presenta peplómeros, que le da una apariencia como de corona, lo que le da el nombre a esta familia. El centro de la partícula presenta una apariencia amorfa.

La nucleocápside se encuentra rodeada por una envoltura de lipoproteínas formada por las membranas intracelulares que el virus adquiere cuando sale de la célula. La envoltura de todos los coronavirus contiene tres glicoproteínas virales: la proteína de membrana (M), la proteína de espículas (S) y la proteína pequeña de la envoltura (E). En algunos coronavirus también se presenta otra proteína, la hemaglutinina-estearasa (HE), la cual sólo se encuentra en varios de los *Beta coronavirus*, incluyendo los coronavirus humanos HCoV-OC43 y HCoV-HKU1, pero no en el SARS-CoV. El genoma del virus se encuentra asociado con una fosfoproteína de la nucleocápside (N), lo que le da a la nucleocápside una forma helicoidal larga y flexible (Figura 3).

La proteína M o proteína de membrana es una glicoproteína de superficie, responsable de ensamblaje viral, puede determinar el sitio de gemación o "budding" en la membrana intracelular, es esencial para la formación de la envoltura y puede interactuar con la nucleocápside viral.

La proteína S o proteína de la espícula, también es una glicoproteína. Como su nombre lo dice le da origen a la espículas del virus que tienen forma de pétalos. Presenta un gran número de sitios de glicosilación y cuatro dominios estructurales: un dominio citoplásmico corto en el carboxilo terminal, un dominio transmembranal y dos dominios externos largos llamados S1 y S2. El residuo citoplásmico es rico en cisteínas, lo cual sugiere una compleja estructura terciaria que puede jugar un papel importante en el ensamblaje de las espículas o la interacción con otras partículas virales. La proteína S tiene muchas funciones biológicas importantes: sirve para unirse a los receptores específicos del huésped; puede inducir la fusión de la envoltura viral con la membrana celular; induce la fusión de células e induce la producción de anticuerpos neutralizantes.

La glicoproteína HE sólo se encuentra en algunos viriones de los *Beta coronavirus*, es un dímero unido por puentes disulfuro que forma espículas cortas. La HE de los coronavirus tiene homología en la secuencia de aminoácidos con la HE del virus de la influenza C. La HE se une a residuos del ácido 9-O-acetil-neuramínico de glicoproteínas o glicolípidos. Los coronavirus que expresan HE producen hemaglutinación y hemadsorción, lo cual se puede utilizar para titular el virus o identificar células infectadas en cultivos celulares. También presenta actividad de acetilsteearasa, rompiendo grupos acetilo. La HE puede permitir la adsorción inicial del virus a la membrana celular, pero necesita la subsecuente interacción de la proteína S.

La proteína de la envoltura E, forma canales iónicos en la bicapa lipídica, provocando más permeabilidad a los cationes

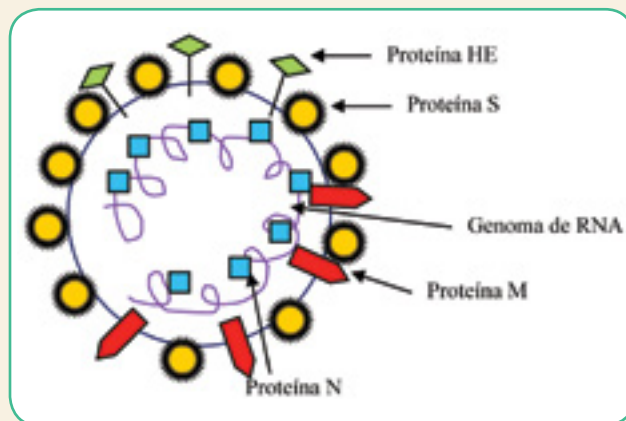


Figura 3. Estructura típica de un coronavirus. Se muestran las principales proteínas estructurales, incluyendo la HE, que sólo la presentan ciertos *Beta coronavirus*.

monovalentes. Al parecer también actúa durante la gemación y liberación del virus.

La proteína de nucleocápside N, es una fosfoproteína que se une al RNA del genoma del virus para formar una nucleocápside helicoidal. La proteína N tiene tres dominios estructurales y el RNA se une al dominio de en medio. N se une y empaqueta el RNA viral cuando se ensambla el virión.

Estructura y organización del genoma

El RNA genómico de los coronavirus tiene un tamaño de 27 a 32 kb, lo que lo convierte en el genoma más largo de todos los virus de RNA. El genoma es de una sola hebra de RNA de polaridad positiva, que tiene cap en el extremo 5' y poliA en el extremo 3'. El RNA genómico se encuentra asociado a la fosfoproteína N. El orden de los genes que codifica el RNA viral puede ser de dos tipos: a) 1a, 1b, S, E, M, N y b) sólo en algunos miembros de los *Beta coronavirus* puede ser 1a, 1b, HE, S, E, M, N.

Se presentan de 13 a 15 fases de lectura abierta (open reading frames, ORF). Dos tercios del RNA están ocupados por el gen *Orf 1a-1b*, la secuencia de este gen es altamente conservada entre todos los coronavirus. Las ORF 1a-1b codifican dos poliproteínas, pp1a y pp1ab, las cuales son procesadas por una proteasa codificada por el virus para producir 16 proteínas no estructurales (nsp) individuales. Los dominios no estructurales en ORF1a (nsp1-11) y ORF1b (nsp12-16), están definidos por sitios de rompimiento proteolítico. Los dominios funcionales sugieren que muchas de estas proteínas están involucradas en el rompimiento proteolítico, la transcripción y replicación del RNA viral, dentro de las nsp que se producen se encuentran la polimerasa viral y proteasas.

La ORF2 codifica para la proteína S, la proteína de la envoltura es codificada por la ORF4, mientras que las proteínas M y N están codificadas por las ORFs 5 y 9 respectivamente, esto puede variar dependiendo del tipo de coronavirus (Figura 4).

Pasos de la infección del virus en la célula

La infección de las células huésped requiere de muchos pasos que son comunes a todos los coronavirus (Figura 5). Los coronavirus interactúan con un receptor celular para mediar la entrada en la célula huésped, esto lo realizan mediante

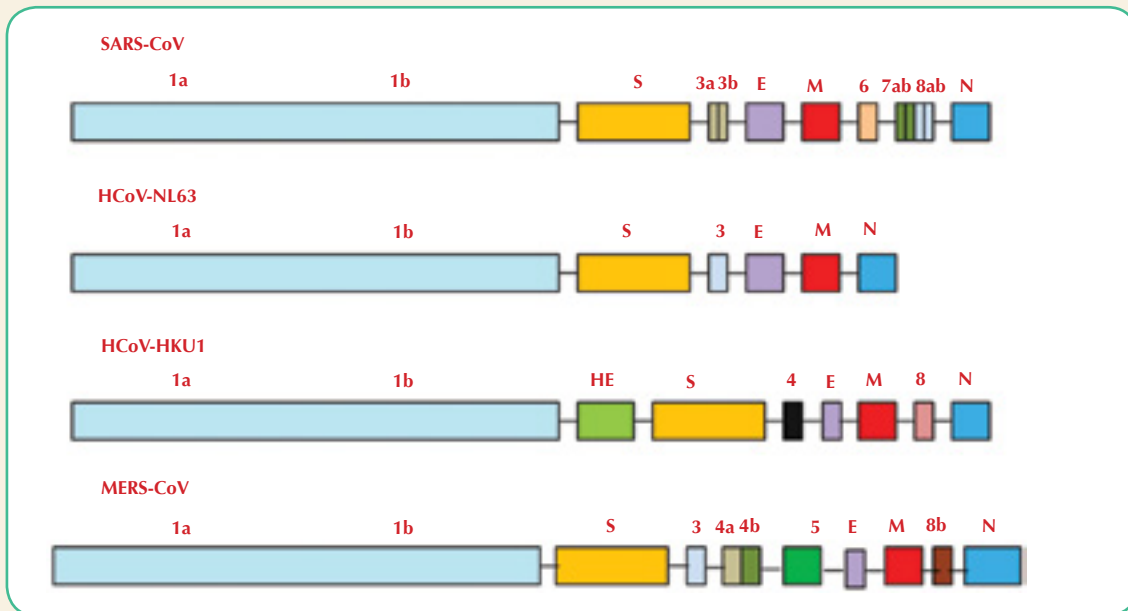


Figura 4. Organización genómica de los nuevos coronavirus humanos. Los genes 1a y 1b codifican para proteínas no estructurales entre las que se encuentran la polimerasa y proteasas. Después de esta región siguen los genes estructurales: S espícula; E envoltura; M membrana; N nucleoproteína y HE hemaglutinina. 1a, 1b, 3, 3a, 3b, 4, 4a, 4b, 5, 6, 7a, 7b, 8a, 8b, son ORFs de los diferentes tipos de coronavirus aquí mostrados.

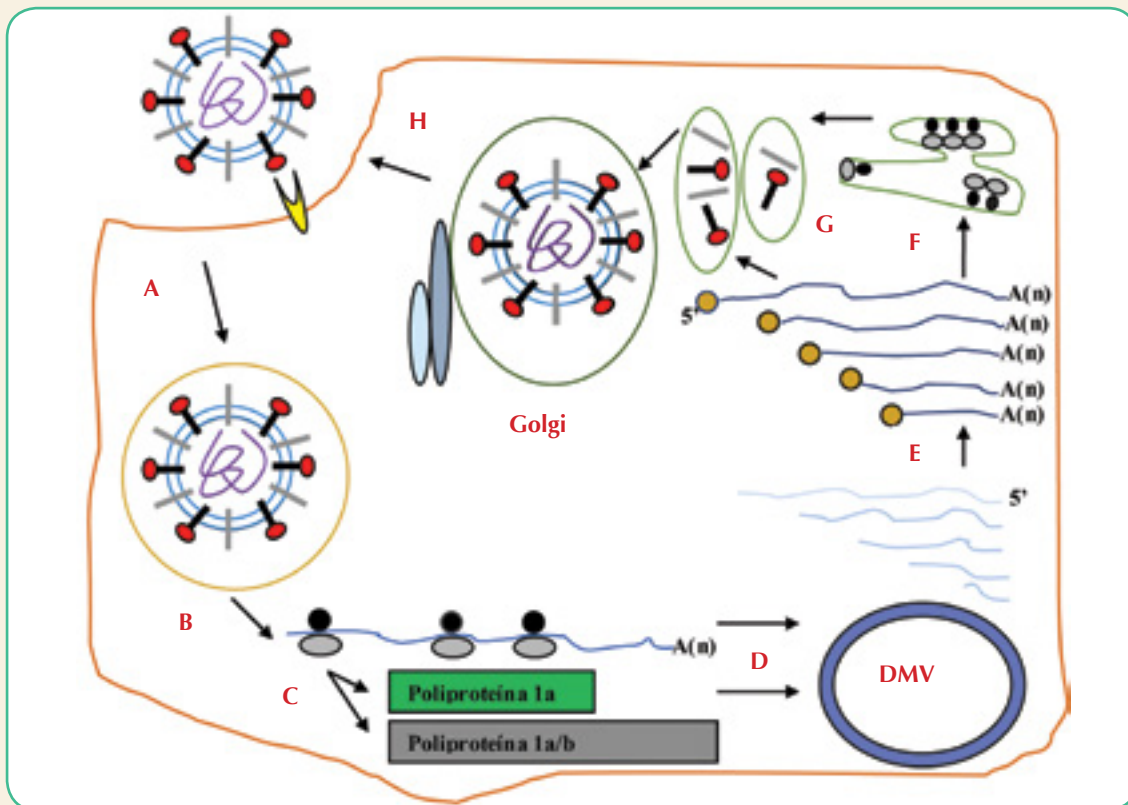


Figura 5. Ciclo de replicación de los coronavirus. La entrada del virus es mediada por la interacción espícula-receptor y la catepsina L induce la fusión de membranas o la endocitosis (A). Después de la endocitosis el genoma viral se libera (B). Se lleva a cabo una primera etapa de traducción, con la producción de dos poliproteínas (C). Las poliproteínas se procesan (D) y forman vesículas de doble membrana (DMV). Las DMV son el sitio donde se replican las hebras de RNA positivas y negativas (E). Posteriormente ocurre una segunda etapa de traducción en la cual se producen las proteínas codificadas por los RNAs subgenómicos (F). El nuevo RNA genómico es empacado por las proteínas de la nucleocápside. Las proteínas estructurales son procesadas en compartimentos intermedios de Golgi-Retículo endoplásmico (G). Las nuevas partículas virales salen de la célula vía exocitosis (H). Ver el texto para información adicional.

la glicoproteína de la espícula S o la hemaglutinina HE. Los coronavirus también pueden entrar a la célula vía endocitosis. Mientras que muchos coronavirus de los *Alfa coronavirus* interactúan con una aminopeptidasa, el SARS-CoV utiliza la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) y/o las lectinas del tipo C, DC/L-SIGN. En el caso de MERSCoV la unión a la célula hospedadora a través de la proteína S es con la proteína dipeptidil peptidasa 4 (DPP4). Una vez adherido el virus, la catepsina L rompe la proteína S y la envoltura viral se fusiona con la membrana de la célula huésped. Posteriormente el virus se desensambla liberando el RNA genómico, después de lo cual se forma un complejo de replicación-transcripción sobre una vesícula de doble membrana.

La replicación del virus sigue un esquema único para la producción del RNAm, el RNA genómico codifica para una RNA polimerasa dependiente de RNA, la cual genera una cadena negativa de RNA a partir de la cadena positiva genómica. Este RNA subgenómico (RNAsg), sirve a su vez como plantilla para la síntesis de varios RNAm de distinta longitud con un extremo 3' común, cada uno de ellos codifica para una proteína viral específica, que pueden ser proteínas estructurales o accesorias. Este particular mecanismo de replicación (Figura 6), da como resultado una alta frecuencia de recombinaciones con las consecuentes mutaciones posibles.

Las proteínas de la nucleocápside (N), empaquetan el RNA genómico y se unen con las proteínas de la envoltura, acumulándose en compartimentos intermedios de Golgi-Reticulo endoplásmico (ERGIC), para su ensamblaje. Después de que las partículas virales se ensamblan, salen de la célula vía exocitosis.

Los virus por definición son dependientes de la maquinaria celular del huésped para su replicación. Sin embargo, el virus no sólo usurpa varias enzimas del huésped, también genera proteínas que no dispone el huésped. En el caso de los coronavirus, la traducción de las proteínas virales a partir del RNA infectivo inicial utiliza los ribosomas del huésped, mientras que la generación del nuevo RNA viral requiere de una RNA polimerasa dependiente de RNA (RDRP), que es codificada por el virus. Muchas de las proteínas virales se traducen a partir de RNAsg más que del RNA genómico (Figura 6). Un resultado de esto es que la

traducción de las proteínas a partir del RNAm viral de polaridad positiva ocurre al menos en dos etapas: en la primera el RNA genómico sirve de templado para la producción de proteínas no estructurales incluyendo la RDRP; posteriormente la RDRP utiliza el RNA genómico como templado para la producción del RNAsg. Las proteínas estructurales y accesorias se producen a partir del RNAsg en la siguiente fase de la traducción. La segunda fase de la traducción no se puede llevar a cabo sin la producción de enzimas de la primera fase.

ORF1ab, se traduce en la primera fase, es una poliproteína que se rompe en 16 nsp, muchas de estas proteínas están involucradas en el rompimiento proteolítico y la producción o modificación del RNA. Las proteínas no estructurales forman un complejo de replicación en unas vesículas de doble membrana (DMV). En la replicación se produce RNA genómico y subgenómico. Las ORFs que codifican proteínas estructurales y accesorias se traducen a partir de RNAsg. Las proteínas estructurales permanecen en el complejo de replicación en las DMV, mientras que las proteínas estructurales migran para ensamblar la partícula viral.

Epidemiología

La presencia de anticuerpos contra los coronavirus humanos se han reportado en la población de todas las partes del mundo donde se han buscado. Los anticuerpos aparecen en la infancia y la prevalencia aumenta con la edad. Son responsables del 10 al 20% de los resfriados, teniendo una mayor incidencia en invierno y comienzo de la primavera. Cuando se presentan infecciones severas siempre es por ser acompañadas por otros virus respiratorios. Las infecciones ocurren sin asociación de género, edad o límites geográficos.

Coronavirus humanos HCoV-229E y HCoV-OC43

- **Síntomas clínicos.** Los coronavirus humanos HCoV-229E y HCoV-OC43 son causantes del resfriado común en

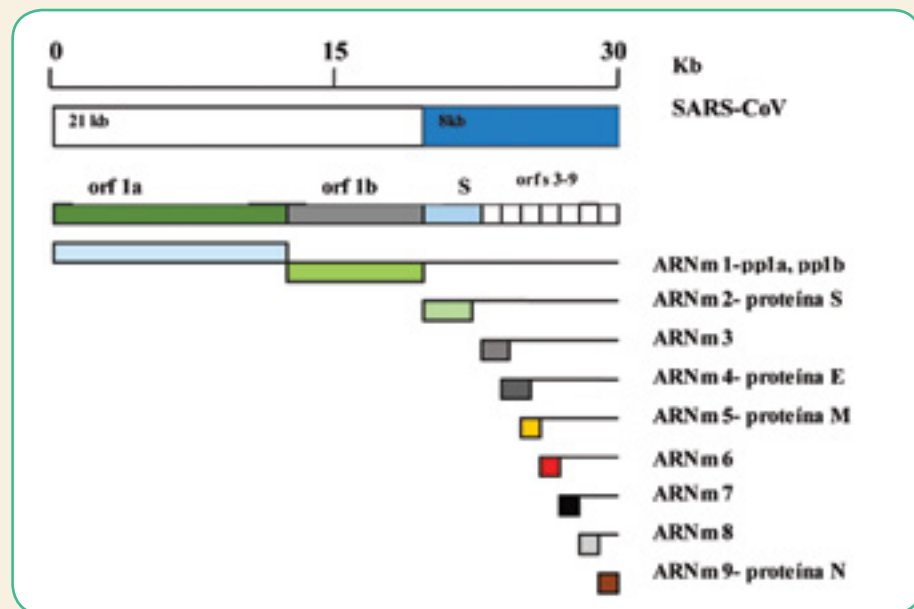


Figura 6. Mecanismo de replicación del genoma viral de los coronavirus. En este ejemplo se muestra la organización genómica del SARS-CoV. La estructura del RNA viral del SARS está organizada en 14 marcos de lectura abierta (ORFs) funcionales, 9 de las cuales son los principales, contiene aproximadamente 30,000 nucleótidos. A partir del RNA genómico se genera una cadena negativa de RNA, este RNA subgenómico, sirve a su vez como hebra patrón para la síntesis de varios RNAm de distinta longitud con un extremo 3' común, cada uno de ellos codifica para una proteína viral específica.

niños y adultos, la mayoría de las cepas se recuperan a partir de infecciones respiratorias superiores. Los resfriados por coronavirus tienen síntomas similares a los de rinovirus. Casi no inducen fiebre, pero producen malestar, dolor de cabeza, escalofríos, tos, garganta irritada y descarga nasal, que es uno de los principales síntomas. En ocasiones los coronavirus humanos HCoV-229E y HCoV-OC43 pueden causar problemas más serios de infecciones del tracto respiratorio bajo. Se pueden tener infecciones más severas en infantes, niños y ancianos. Su periodo de incubación es de 2 a 5 días. La duración de los síntomas es de 2 a 18 días con un promedio de siete días.

- **Diagnóstico.** El diagnóstico diferencial de infecciones respiratorias causadas por coronavirus incluyen todos los otros agentes causantes de resfriado. El examen definitivo requiere de pruebas de laboratorio, se pueden realizar pruebas de Inmunofluorescencia (IFA) o ELISA. También se puede detectar el ácido nucleico del virus a partir de secreciones respiratorias por PCR.
- **Prevención y control.** No se han descrito vacunas contra los coronavirus humanos HCoV-229E y HCoV-OC43. En algunos casos se ha llegado a utilizar interferón alfa para aliviar los síntomas.

Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS)

El coronavirus del SARS (SARS-CoV) es un nuevo virus causante de la primera pandemia del nuevo milenio. Este nuevo virus saltó de los animales al humano, su capacidad de transmisión de humano a humano, el desconocimiento en el control de la infección en los hospitales y los viajes aéreos internacionales, facilitaron la rápida diseminación global de este agente. A principios del año 2003, 8,000 personas fueron afectadas, con una tasa de mortalidad del 10%. En ese año, el agudo y dramático impacto en los sistemas de salud, las economías y sociedades de muchos países se vieron afectadas por varios meses. Una pequeña reemergencia del SARS a finales del 2003 después del resurgimiento en un mercado de animales silvestres en el sur de China y el reciente descubrimiento de un virus muy similar en murciélagos herradura (SARS-CoV de murciélago), sugieren que el SARS puede retornar si las condiciones son propicias para la introducción de mutaciones, amplificación y transmisión de este peligroso virus.

Estructura de las partículas virales

SARS-CoV y SARS-CoV de murciélago se consideran como parte del linaje B de los *Beta coronavirus*, presentan la estructura característica de los coronavirus (Figura 3). Mediante microscopio electrónico se han detectado partículas virales de entre 80 y 140nm con las características proyecciones en la superficie de los coronavirus. Trómeros de la proteína S forman los peplómeros que radian a partir de la envoltura lipídica y dan al virus la particular corona. No presenta la hemaglutinina, pero presenta una proteína de envoltura E. SARS-CoV presenta un elevado grado de estabilidad en el medio ambiente al igual que los otros coronavirus humanos, puede sobrevivir de 2 a 3 días en superficies secas a temperatura ambiente.

Estructura y organización del genoma

Al igual que los otros coronavirus es un virus envuelto con una hebra de RNA de polaridad positiva, con un genoma de 30 kb. El orden de su genoma es 5' -replicasa (Orf1ab)- proteínas estructurales - espículas [S]- envoltura [E]- membrana [M]- nucleocápside [N]- poli T- 3' (Figura 4), el cuál es similar a los otros miembros de la familia *Coronaviridae*. No presenta el gen de la hemaglutinina-estearasa. Dos tercios del RNA están ocupados por el gen 1a-1b, la secuencia de este gen es altamente conservada entre todos los coronavirus (Cuadro 2).

Dos grandes ORFs en el extremo 5', ORFs 1a y 1b, codifican 16 proteínas no estructurales, 7 de las cuales están involucradas en la transcripción y replicación. Presenta dos proteasas involucradas en el procesamiento proteolítico post-transcripcional de poliproteínas virales. La proteína de superficie S, está involucrada en la unión y entrada de la célula huésped y por lo tanto es el blanco principal de los anticuerpos neutralizantes y de los péptidos antivirales. N junto con M, E y ORF7a están involucrados en el ensamblaje del virión. Orf3a es una proteína de canal iónico involucrado en la liberación del virus.

Pasos de la infección del virus a la célula

La proteína S es una proteína de fusión clase I, dividida en dos subunidades (S1 amino terminal y S2 carboxilo terminal), las cuales son indispensables para unirse al receptor y para la fusión de membranas. El receptor de la célula huésped al que se une la proteína S es una enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), y a su vez es una metaloproteasa que se expresa en las células del pulmón, intestino, hígado, corazón, endotelio vascular, testículos y riñón.

El proceso del desmontaje viral en el citoplasma para la liberación del RNA viral para su traducción y replicación no se conoce. La traducción empieza con dos grandes poliproteínas a partir de ORF1a y ORF1ab, con el subsiguiente rompimiento post-traducciona por dos proteasas virales originado nsp1 y nsp16. Estos productos de rompimiento forman el complejo replicación-transcripción, el cual replica el genoma viral y transcribe un conjunto de 8 RNAs del extremo 3'. Por lo que se concibe que las células infectadas contienen un número mayor de genes transcritos del extremo 3'.

Como en otros coronavirus, SARS-CoV se puede unir por el dominio hidrofóbico de su maquinaria de replicación a la membrana límite del autofagosoma y formar vesículas de doble membrana. Una vez que se han acumulado suficientes proteínas estructurales y RNA viral genómico, ocurre el ensamblaje viral por la salida de la nucleocápside del retículo endoplásmico a los compartimentos intermediarios del Golgi. Aquí, la proteína M interactúa con la proteína N y el RNA viral para generar la estructura básica. Esta estructura reacciona con las proteínas E y S para inducir la gemación viral y liberar la partícula.

Epidemiología del SARS

Durante la epidemia del SARS en el 2003 se presentaron 8,096 casos con 774 muertes en 30 países en los cinco continentes. La enfermedad surgió a finales del 2002 cuando un brote de un síndrome de neumonía atípica severa adquirida en la comunidad, se notificó en la provincia de Guandong en

CUADRO 2.

GENES, PRODUCTOS DEL GEN Y/O CARACTERÍSTICAS DEL SARS-CoV

Gen	Producto del gen y/o características
<i>Orf1a/b</i>	
<i>nsp1</i>	Se expresión promueve la degradación del RNAm de la célula huésped, por lo que se inhibe la síntesis de proteínas.
<i>nsp2</i>	Replicación viral y síntesis de RNA
<i>nsp3</i>	Proteasa 2 parecida a papaína, procesamiento proteolítico en 3 sitios de la poliproteína viral y participa en la síntesis de segmentos de RNA subgenómico
<i>nsp4</i>	No se conoce
<i>nsp5</i>	Proteasa parecida a C3, procesamiento proteolítico en 11 sitios de la poliproteína replicativa y formación de enzimas claves como la replicasa y helicasa
<i>nsp6</i>	No se conoce
<i>nsp7</i>	Interacciones proteína-proteína
<i>nsp8</i>	RNA polimerasa dependiente de RNA
<i>nsp9</i>	Forma un dímero que se une al RNA viral e interactúa con <i>nsp8</i>
<i>nsp10</i>	Su estructura sugiere un complejo proteico que se une al RNA viral para su transcripción y replicación
<i>nsp11</i>	No se conoce
<i>nsp12</i>	RNA polimerasa dependiente de RNA, replicación y transcripción produce RNA genómico y subgenómico de ambas polaridades
<i>nsp13</i>	Helicasa
<i>nsp14</i>	Exoribonucleasa 3'→5', esta inusual actividad exoribonucleasa 3'→5' complementa la actividad endoribonucleasa en la replicación del enorme genoma viral
<i>nsp15</i>	Endoribonucleasa uridilato-específica, RNA endonucleasa crítica en el ciclo de replicación de los coronavirus
<i>nsp16</i>	Metil-transferasa 2'-O-ribosa
<i>Orf 2</i>	Proteína de la espícula, se une a los receptores ACE2 de la célula huésped, media la entrada del virus en la célula como una proteína de fusión viral tipo 1
<i>Orf 3a</i>	Forma canales iónicos sensibles a potasio, puede promover la gemación y liberación viral
<i>Orf 3b</i>	Se localiza predominantemente en el nucleolo de células transfectadas
<i>Orf 4</i>	Proteína de la envoltura, involucrada en la gemación y liberación viral
<i>Orf 5</i>	Proteína de Membrana, proteína de la superficie responsable del ensamblaje y gemación viral
<i>Orf 6</i>	Proteína de membrana que acelera la replicación y virulencia viral
<i>Orf 7a</i>	Proteína transmembranal tipo I, involucrada en el ensamblaje viral por interacción con M y E
<i>Orf 7b</i>	No se conoce
<i>Orf 8a</i>	No se conoce
<i>Orf 8b</i>	Puede modular la replicación viral
<i>Orf9</i>	Proteína de la nucleocápside, se une al RNA viral y lo empaqueta durante el ensamblaje del virión
<i>Orf9b</i>	ORF alternativa del gen N, puede estar involucrada en la unión a membrana y asociarse con vesículas intracelulares

China. El caso índice fue reportado en Foshan, una ciudad a 24 km de Guangzhou. El segundo caso fue un chef que trabajaba en un restaurante en Shenzhen. El paciente tenía contacto regular con animales silvestres utilizados como alimento. Su esposa, dos hermanas y siete miembros del hospital que estuvieron en contacto con él fueron infectados. Del 16 de noviembre del 2002 al 9 de febrero del 2003, se reportaron un total de 305 casos en China, de los cuales 105 pertenecían a trabajadores de la salud. La devastadora epidemia empezó en Hong Kong cuando un profesor que enseñaba en un hospital de Guangzhou adquirió la enfermedad de sus pacientes y viajó a Hong Kong el 21 de febrero de 2003. En un día él transmitió la infección a otras 16 personas en el hotel donde se hospedó. A su cuñado, uno de los casos secundarios, se le realizó una biopsia de pulmón, a partir de la cual se descubrió y fue aislado por primera vez el agente etiológico, un nuevo coronavirus llamado SARS-CoV.

Los casos secundarios sin saberlo llevaron la enfermedad a hospitales en Hong Kong y otros países y continentes incluyendo Vietnam, Canadá, Singapur, Filipinas, Reino Unido y Estados Unidos.

Carlo Urbani, un médico que trabajaba para la OMS en Hanoi, Vietnam, fue el primero en notificar a la OMS de casos fuera de Guangdong, después de verificar un brote explosivo nosocomial de SARS en un hospital de Hanoi, como resultado del retorno de una persona que estuvo en el hotel de Hong Kong. La descripción del Dr. Urbani de la enfermedad alertó a las autoridades de salud de todo el mundo, sin embargo, después de esto el Dr. Urbani se contagia y muere de SARS. La alerta permitió que se realice una investigación acelerada con la colaboración de varios institutos a nivel mundial para identificar el virus y combatir la enfermedad.

Evolución molecular

Después del asilamiento del SARS-CoV, virus parecidos al SARS-CoV se aislaron de las civetas y un tipo de mapaches, que se encontraban en mercados de animales silvestres de la provincia de Guangdong, sugiriendo que estos animales podrían ser la fuente de infección de los humanos. Por lo que un elevado número de civetas se eliminaron para remover la fuente y evitar una reemergencia del SARS en el 2004, después de esto se han muestreado civetas en varias granjas y provincias y no se ha encontrado al virus. A partir de la secuencia del genoma del virus de origen animal se encontraron variaciones en un solo nucleótido en la proteína S, que dieron origen a la cepa pandémica. Existen evidencias de que el virus tuvo una fuerte selección positiva al principio de la epidemia, la cual ocurrió después de la transmisión interespecies de animales a humanos.

Ya que existe una relación con el grupo 2 se esperaba que el reservorio del SARS-CoV se encontrara en alguno de los animales que presentan coronavirus de este grupo como ratas, ratones o ganado. No se esperaba que las civetas y otros mamíferos relacionados fueran reservorios y huéspedes para la amplificación del virus. Sin embargo, la baja detección de SARS-CoV en civetas silvestres en contraste con las de los mercados y la detección negativa en pájaros, cerdos, ganado, ovejas, ratones y ratas, obligaron a seguir buscando el reservorio natural del virus. Finalmente se encontró de manera independiente un virus similar al SARS-CoV con una

identidad genómica del 90% en murciélagos herradura en Hong Kong y China continental. La elevada seroprevalencia y carga viral de los murciélagos chinos infectados, sugiere que los murciélagos herradura son los reservorios naturales de un virus parecido al SARS-CoV, situación similar a los murciélagos de las frutas que acarrean los virus Hendra o Nipah.

Síntomas clínicos

El período de incubación del SARS es de 2 a 14 días. El promedio de casos secundarios a partir de un caso es de dos a cuatro. La transmisión a partir de pacientes sintomáticos de SARS ocurre después del quinto día de infección, lo que se relaciona con el aumento de la carga viral en las secreciones nasofaríngeas, que presentan un pico alrededor del día 10.

La presentación clínica típica del SARS es una neumonía viral con rápido deterioro respiratorio. Los principales síntomas son fiebre, escalofríos, mialgia, malestar y tos seca, mientras que rinorrea y garganta irritada se ven menos frecuentemente. Comúnmente ocurre un deterioro clínico, a menudo acompañado por diarrea, una semana después de adquirir la enfermedad. Al igual que otras neumonías atípicas, los signos físicos después de examinar el pecho son mínimos comparados con los exámenes radiológicos. Las radiografías del tórax muestran opacidades y consolidaciones focales, especialmente en la periferia de la subpleura de las zonas bajas. Progresivamente se pueden involucrar ambos pulmones.

La diarrea es la manifestación extrapulmonar más común, seguida por disfunción hepática; se puede producir vértigo relacionado con el deterioro cardíaco diastólico y la trombosis arterial pulmonar; también se puede presentar petequia; miositis; anomalías neuro-musculares y ataques epilépticos.

En los ancianos se puede presentar de forma atípica sin fiebre o síntomas respiratorios. Mientras que en los niños la infección es menos severa que en los adultos.

Elevadas cargas virales en la nasofaringe y el suero se asocian con desaturación de oxígeno, ventilación mecánica y mortalidad. Replicación viral extrapulmonar contribuye a las manifestaciones clínicas.

Los parámetros hematológicos que se presentan son linfopenia, elevación de las enzimas hepáticas, con o sin trombocitopenia y actividad parcial del tiempo de trombo-plastina. También se observan niveles elevados de lactato deshidrogenasa, hipouricemia, falla renal aguda y cuenta elevada de neutrófilos. Cerca del 20 al 30% de los pacientes desarrolla falla respiratoria y requieren ventilación mecánica, la mortalidad es de alrededor del 15%.

Diagnóstico de laboratorio

La evidencia definitiva de la infección es el cultivo viral positivo a partir de muestras respiratorias o fecales o un aumento de cuatro veces del título de anticuerpos neutralizantes. Una detección rápida se puede realizar por la amplificación del ácido nucleico mediante RT-PCR o la detección del antígeno por EIA.

Tratamientos clínicos, antivirales y vacunas

Ya que no existe un agente antiviral efectivo, el manejo clínico del SARS se ha limitado a cuidados de soporte. Se recomiendan antibióticos de amplio espectro sólo para evitar infecciones nosocomiales que podrían darse por los largos

periodos de intubación. Se han utilizado corticosteroides como inmunomoduladores. Entre los antivirales se utilizaron la ribavirina, el IFN- α y el lopinavir-ritonavir, con resultados parciales.

Se ha utilizado inmunización pasiva con plasma de personas convalecientes con altos títulos de anticuerpos neutralizantes. Todavía no existe una vacuna aprobada por la FDA contra el SARS-CoV.

Los nuevos coronavirus humanos

A mediados de los sesenta, se identificaron los primeros dos coronavirus humanos (HCoV), denominados HCoV-229E y HCoV-OC43, el primero pertenece a los *Alfa coronavirus* y el segundo a los *Beta coronavirus* de los coronavirus. Las infecciones por estos virus resultan en un resfriado común. Sin embargo, después de la epidemia del SARS-CoV, esta familia de virus tomo importancia resultando en el descubrimiento en años recientes de dos nuevos coronavirus humanos. En el 2004 se descubrió en Holanda a partir de un niño con bronquiolitis, el virus HCoV-NL63, el cual es nuevo miembro de los *Alfa coronavirus*. A su vez en el 2005 en Hong Kong a partir de un adulto con una enfermedad pulmonar crónica se detectó el virus HCoV-HKU1, que quedó clasificado como parte de los *Beta coronavirus*.

Después de su descubrimiento, varios grupos han reportado infecciones por estos virus en diferentes países, por lo que estos virus presentan una diseminación mundial. Estos coronavirus se detectan entre el 1 y 10% de los pacientes con infecciones agudas del tracto respiratorio y las infecciones dobles con otros virus respiratorios es común.

El primer caso de HCoV-NL63 se presentó en un niño con infección severa del tracto respiratorio bajo. Los pacientes infectados con este virus pueden mostrar los siguientes síntomas: fiebre, tos, garganta irritada, rinitis, bronquiolitis, bronquitis, neumonía y laringotraqueitis (croup). En un estudio realizado en niños infectados con HCoV-NL63, el 45% presentaba laringotraqueitis, mientras que el grupo control sólo presentó el 6%. Otro estudio demostró que niños positivos a HCoV-NL63 presentan croup 6.6 veces más que los niños HCoV-NL63 negativos.

HCoV-NL63 también se ha asociado con la enfermedad de Kawasaki, esta enfermedad es una de las formas más comunes de vasculitis infantil, los síntomas que presenta son fiebre prolongada, exantema polimórfico, eritema orofaríngeo y conjuntivitis bilateral.

Por otro lado, los primeros casos del coronavirus HCoV-HKU1 se presentaron en ancianos con enfermedades subyacentes de los sistemas cardiovascular y respiratorio. Sin embargo, también se han encontrado niños con infecciones del tracto respiratorio inferior y superior con infecciones por HCoV-HKU1. Se ha sugerido que las infecciones por HCoV-HKU1 pueden agravar las condiciones de personas con enfermedades subyacentes, por lo que requieren hospitalización.

Los síntomas que acompañan a la infección por HCoV-HKU1 son generalmente rinorrea, fiebre, tos, jadeo, bronquiolitis y neumonía.

Actualmente no se cuenta con un tratamiento para este tipo de coronavirus. Se ha observado que inmunoglobulinas de donadores adultos pueden inhibir la replicación *in vitro* del HCoV-NL63. También se esta experimentando la inhibición viral con RNA de interferencia.

Coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV)

En el año 2012 en Jordania apareció el primer caso de una infección causada por un nuevo coronavirus el cual se denominó Coronavirus del Síndrome Respiratorio del Oriente Medio (MERS-CoV). Este virus está relacionado con el coronavirus del murciélago *Tylonycteris* (TyBatCoV) y el coronavirus del murciélago *Pipistrellus* (PiBatCoV), del linaje C de los *Beta coronavirus*. Este virus se ha encontrado en murciélagos y camellos a través de la Península Arábiga y otras partes de África. En los humanos se ha detectado en infecciones severas y medianas parecidas a la influenza.

Estructura y organización del genoma

El MERS-CoV codifica al menos para diez fases de lectura abiertas flanqueadas por regiones sin traducir 5' y 3' (Figura 4), la secuencia de aminoácidos de su ORF1ab es muy cercana a la de TyBatCoV y PiBatCoV, en un 80%, por lo que se concluyó que era un *Beta coronavirus* del linaje C y además un nuevo coronavirus. Sus proteínas estructurales incluyen las espículas (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N). La secuencia ORF 1ab produce 16 proteínas no estructurales (nsp), entre las que se tiene dos proteasas de cisteína: nsp3 (proteasa parecida a la papaína) y nsp5 (proteasa parecida a la quimiotripsina); nsp 12 que es una RNA polimerasa RNA dependiente; nsp13 que es una helicasa; y otras nsp involucradas en la transcripción y replicación del virus. Como se puede ver MERS-CoV tiene una estructura similar a todos los coronavirus (Figuras 3 y 4).

Pasos de la infección del virus a la célula

La replicación del MERS-CoV consiste de numerosos pasos (Figura 5), el primero implica una proteína de fusión S, compuesta de dos subunidades S1/S2. La subunidad S2 contiene un péptido de fusión. El receptor en las células humanas es la proteína dipeptidil peptidasa 4 (DPP4). MERS-CoV es el primer coronavirus que se ha identificado que utiliza a DPP4 como un receptor funcional para entrar al hospedero. DPP4 es una glicoproteína transmembranal, presente como un homodímero en la superficie celular, se expresa en células endoteliales y epiteliales de muchos órganos que incluyen los pulmones, hígado, riñón, intestino delgado, próstata y células del sistema inmune. Esto podría explicar las manifestaciones extrapulmonares del MERS (Figura 5).

Epidemiología del MERS

En abril de 2012 se presentó un brote de una enfermedad respiratoria severa entre pacientes y personal de salud de la Unidad de Cuidados Intensivos en Jordania, en junio muere en Arabia Saudita un hombre de 49 años por una neumonía aguda severa con fallo renal, se aísla un nuevo coronavirus de una muestra de esputo del paciente. En septiembre del mismo año la OMS reporta los primeros dos casos de síndrome respiratorio agudo con falla renal confirmados por laboratorio.

A partir de entonces se empezaron a presentar casos en diversos países de la Península Arábiga, África y Europa, en estos últimos lugares de personas que habían viajado al Oriente Medio. En mayo de 2013 el ICTV nombra formalmente al nuevo coronavirus como MERS-CoV.

Hasta octubre de 2015 la OMS reportó 1595 casos confirmados de MERS con 571 defunciones, la epidemia se extendió a 23 países de Asia, Europa, incluyéndose los Estados Unidos de América.

La transmisión del virus de humano a humano se puede llevar a cabo si se tiene un contacto muy estrecho, como es el caso de médicos con pacientes sin la debida protección.

La transmisión a través de animales no se ha comprobado formalmente pero se especula el paso del virus del murciélago al camello a través de frutos y agua contaminada y del camello al humano por contacto directo y la manipulación de productos derivados del camello.

Síntomas clínicos

Los síntomas clínicos de una infección por MERS-CoV varían desde la ausencia de síntomas (infección asintomática) o síntomas respiratorios suaves hasta una enfermedad respiratoria aguda severa que puede llegar a la muerte. El periodo de incubación en promedio es de seis días y el rango va de uno a 14 días. Las personas infectadas pueden seguir liberando virus hasta por 30 días.

La enfermedad por MERS-CoV se presenta normalmente con fiebre, tos y disnea. Puede llegar a la neumonía. También se han registrado síntomas gastrointestinales, en particular diarrea. En su versión grave la enfermedad puede provocar insuficiencia respiratoria que exige ventilación mecánica y falla de varios órganos como riñón e hígado. El 36% de los casos de MERS-CoV notificados han desembocado en la muerte del paciente. El virus parece provocar una enfermedad más grave en adultos mayores, personas con inmunodepresión y personas con enfermedades crónicas como cáncer, neumopatía crónica y diabetes.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio se hace a partir de exudados nasofaríngeos por el método de PCR de transcriptasa reversa en tiempo real (RT-rtPCR), utilizando las regiones E, N y ORF1a del genoma viral. También se puede utilizar la detección de anticuerpos IgG contra la proteína S mediante ELISA o IFA.

Tratamientos clínicos, antivirales y vacunas

Actualmente no se cuenta con un antiviral o vacuna específica para el tratamiento del MERS. Sólo se utiliza tratamiento de apoyo dependiendo del estado clínico del paciente. Como precaución general deben tomarse las medidas pertinentes de higiene cuando se esté en presencia de personas con síntomas de MERS, tanto familiares como personal médico, en particular el lavado de manos. No existen vacunas aprobadas por la FDA.