

Artículo de Revisión

La mejor evidencia científica, ante la pandemia de SARS-Cov-2

The best scientific evidence, in the face of SARS-Cov-2 pandemic

PhD. Lizette Elena Leiva Suero*, Dra. Esp. Sandra Elizabeth Villacís Valencia**, Mg. Lic. Esp. Graciela de Las Mercedes Quishpe Jara***, Dra- Andrea Alejandra Chicaiza Quishpe****

* PhD. Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de Medicina Interna. Profesora Titular de Fisiología. Carrera de Medicina. Universidad Técnica de Ambato.

** Doctora Especialista de Medicina Interna. Profesora Titular de Agentes Biológicos. Carrera de Medicina. Universidad Técnica de Ambato.

***Licenciada en Enfermería. Especialista en Enfermería en Medicina Crítica. Especialista en Administración y Organización de Hospitales. Magíster en Gerencia en Salud para el Desarrollo Local. Magíster en Gestión de los Servicios Hospitalarios. Profesora Titular de Internado Rotativo. Carrera de Enfermería. Universidad Técnica de Ambato

****Médica. International Scientific Investigation Group.

le.leiva@uta.edu.ec

Resumen.

Introducción: La nueva epidemia de coronavirus (SARS-CoV-2), que se informó por primera vez en diciembre de 2019 en Wuhan, China, y que ha sido declarada una emergencia de salud pública de importancia internacional por la Organización Mundial de la Salud, muestra una sustancial morbilidad y mortalidad, por tal motivo es imprescindible profundizar en los aspectos epidemiológicos, clínicos, del diagnóstico y el tratamiento para enfrentar y vencer este flagelo.

Objetivos: Revisar la mejor evidencia médica publicada y analizar el comportamiento de la pandemia por SARS-Cov-2, su epidemiología, aislamiento, manifestaciones clínicas, complicaciones, los elementos más significativos para su diagnóstico y las nuevas opciones terapéuticas disponibles, para así aprender y aplicar estas experiencias en nuevas epidemias.

Material y Métodos: Se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos PubMed, ProQuest, Embase, Redalyc, Ovid, Medline, DynaMed y ClinicalKey, EMBASE, LILACS durante el periodo 2019-2020 en el contexto internacional, regional y local.

Resultados: La revisión sistemática de artículos aportó un total de 100 registros, de los cuales 62 eran elegibles; de estos, 12 no eran relevantes al objeto de esta revisión, por lo que quedaron incluidos 50.

Conclusiones: La enfermedad causada por el SARS-Cov-2, a pesar de su alta mortalidad, puede ser prevenida con aislamiento, diagnosticada oportunamente y tratada con efectividad, lo cual permitirá disminuir su impacto epidemiológico a nivel mundial. Existe un potencial arsenal terapéutico en fase de experimentación con resultados prometedores.

Palabras clave: Infecciones por Coronavirus, Coronavirus, Síndrome Respiratorio Agudo Grave

3

Carrera de Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud. UTA

Leiva LE, Villacís SE, Quishpe G, Chicaiza AA Revisión sistemática SARS-Cov-2. MEDICIENCIAS UTA.2020;4 (2):3-29.

Abstract.

Introduction The new coronavirus epidemic (SARS-CoV-2), first reported in December 2019 in Wuhan, China, and which has been declared a public health emergency of international concern by the World Health Organization, shows a substantial morbidity and mortality, for this reason it is essential to deepen the epidemiological, clinical aspects of diagnosis and treatment to face and overcome this scourge.

Objective: Review the best published medical evidence and analyze the behavior of the SARS-Cov-2 pandemic, its epidemiology, isolation, clinical manifestations, complications, the most significant elements for its diagnosis and the new options to learn and apply these experiences in new epidemics.

Material and methods: A systematic search was performed on the PubMed, ProQuest, Embase, Redalyc, Ovid, Medline, DynaMed and ClinicalKey, EMBASE, LILACS databases during the period 2019-2020 in the international, regional and local context.

Results: The systematic review of articles provided a total of 100 records, of which 62 were eligible; of these, 12 were not relevant to the subject matter of this review, so 50 were included.

Conclusions: The disease caused by SARS-Cov-2, despite its high mortality, can be prevented with isolation, diagnosed in a timely manner and effectively treated, which will reduce its epidemiological impact worldwide. There is a potential therapeutic arsenal in the experimentation phase with promising results.

Key Words: Coronavirus Infections, Coronavirus, Severe Acute Respiratory Syndrome

Recibido: 15-2-2020

Revisado: 15-3-2020

Aceptado:23-3-2020

Introducción.

Los coronavirus (CoV) son virus ARN encapsulados de polaridad positiva altamente diversos, pertenecientes a la familia Coronaviridae, se dividen en 4 géneros: alfa, beta, gamma y deltacoronavirus, que pueden ser transmitidos por animales y humanos. Se han detectado coronavirus endémicos para el ser humano (HCov-229E, NL63, OC43 y HKU1), los cuales producen infecciones leves en las vías aéreas superiores e inferiores. Entre los años 2002 y 2003, se detectó en China (Guangdong) el SARS-CoV que produjo la infestación de 8,098 personas a nivel mundial con 774 fallecidos. El principal medio de propagación del SARS parece ser el contacto cercano de persona a persona. Hasta la actualidad no se han registrado nuevos casos. Posteriormente en el año 2012, fue detectado por primera vez en Arabia Saudita el MERS-CoV, registrándose hasta el 2019 a nivel mundial un total de 2 494 casos infestados y 858 personas murieron. El contagio se daba por contacto directo o indirecto con camellos

dromedarios considerados su reservorio. Aunque este virus tenía la capacidad de transmitirse entre humanos, la transmisión de persona a persona se ha producido principalmente en ámbitos de atención médica. A partir de diciembre del 2019, en la ciudad de Wuhan, China, se reportó un brote de enfermedad febril respiratoria con un vínculo epidemiológico en el mercado de comida de Huanan, aunque el inicio databa de noviembre del mismo año. El 7 de enero de 2020 se logró aislar un nuevo Betacoronavirus (COVID-19) (1-5).

Debemos destacar que varios coronavirus pueden infectar a los seres humanos, los coronavirus humanos endémicos a nivel mundial HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 y HCoV-OC43, tienden a causar enfermedades respiratorias leves, y el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio zoonótico (MERS-CoV) y el grave coronavirus del síndrome respiratorio agudo (SARS-CoV) que tienen una tasa de letalidad más alta. Cuando en diciembre de 2019, se identificó un grupo de pacientes con un coronavirus novedoso en Wuhan, China. Inicialmente nombrado tentativamente 2019 nuevo coronavirus (2019-nCoV), el virus ha sido nombrado SARS-

CoV-2 por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV). Este virus puede causar la enfermedad llamada enfermedad coronavirus 2019 (COVID-19). La OMS se refiere al virus como virus COVID-19 en su documentación actual (1,5-10).

Objetivos

Revisar la mejor evidencia médica publicada y analizar el comportamiento de la pandemia por SARS-Cov-2, su epidemiología, aislamiento, manifestaciones clínicas, complicaciones, los elementos más significativos para su diagnóstico y las nuevas opciones terapéuticas disponibles, para así aprender y aplicar estas experiencias en nuevas epidemias.

Material y metodos

Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura médica existente sobre la infección por el SARS-Cov-2 mediante la búsqueda de artículos en las bases de datos PubMed, ProQuest, Embase, Redalyc, Ovid, Medline, DynaMed y ClinicalKey durante el periodo 2019-2020. Además, se realizó revisión de los informes de la OMS y la Organización Panamericana de la Salud durante los años.

Dos de los autores de esta investigación revisaron de forma independiente la literatura, mientras que un revisor extrajo los datos. Se emplearon dos modelos para combinar estadísticamente los resultados, el modelo de efectos fijos y el modelo de efectos aleatorios, lo cual permitió resumir de manera sintética los elementos fundamentales de la epidemiología, aislamiento viral, diagnóstico de laboratorio, diagnóstico clínico y el tratamiento. Lo anterior permite a los profesionales apropiarse de las competencias necesarias para diagnosticar y tratar esta enfermedad, evitar el subdiagnóstico, prevenir las complicaciones y motivar el desarrollo de estrategias de prevención y diagnóstico oportuno.

Resultados y Discusión

La revisión sistemática de artículos aportó un total de 100 registros, de los cuales 62 eran elegibles; de estos, 12 no eran relevantes al objeto de esta revisión, por lo que quedaron incluidos 50.

La nueva epidemia de coronavirus (SARS-CoV-2), que se informó por primera vez en diciembre de 2019 en Wuhan, China, y que ha sido declarada una emergencia de salud pública de importancia internacional por la Organización Mundial de la Salud, muestra una sustancial morbilidad y mortalidad (1-15).

El SARS-CoV-2 está genéticamente relacionado con el SARS-CoV, que causó una epidemia mundial con 8096 casos confirmados en más de 25 países en 2002-2003. La epidemia de SARS-CoV se contuvo con éxito a través de intervenciones de salud pública, incluida la detección de casos y el aislamiento. La transmisión del SARS-CoV se produce principalmente después de días de enfermedad y se asocia con cargas virales modestas en el tracto respiratorio al principio de la enfermedad, alcanzando su punto máximo aproximadamente a los 10 días después del inicio de los síntomas. Desde el brote de síndrome respiratorio agudo grave (SARS) hace 18 años, se han descubierto un gran número de coronavirus relacionados con el SARS (SARSr-CoVs) en su reservorio natural, murciélagos. Estudios anteriores han demostrado que algunos murciélagos SARSr-CoVs tienen el potencial de infectar a los seres humanos. El nuevo coronavirus (2019-nCoV) causó la epidemia de síndrome respiratorio agudo en humanos en Wuhan, China, que evolutivamente se ha extendido a numerosas naciones ocasionando una pandemia. Dicha epidemia se declaró el 12 de diciembre de 2019, habiendo causado 2.794 infecciones confirmadas por laboratorio, 80 de ellas mortales hasta el 26 de enero de 2020. En estos momentos se reportan 399000 casos y más de 17000 muertos en 185 países (1,15-20).

Xiao-Wei Xu señala en su estudio De los 62 pacientes estudiados (mediana de 41 años), sólo uno fue ingresado en una unidad de cuidados intensivos, y ningún paciente murió durante el estudio. Según la investigación, ninguno de los pacientes infectados en la provincia de Zhejiang estuvo expuesto al mercado de mariscos de Huanan, la fuente original del virus; todos los casos estudiados fueron infectados por la transmisión de persona a persona. Los síntomas más comunes al inicio de la enfermedad fueron fiebre en 48 (77%) pacientes, tos en 50 (81%), expectoración en 35 (56%), dolor de cabeza en 21 (34%), mialgia o fatiga en 32 (52%), diarrea en 3 (8%) y hemoptisis en 2 (3%). Sólo dos pacientes (3%) desarrolló dificultad para respirar al admitirse. La mediana de tiempo desde la exposición hasta el inicio de la enfermedad fue de 4 días (rango intercuartil 3-5 días), y desde el inicio de los síntomas hasta el primer ingreso hospitalario fue de 2 (1-4) días (1,5,10-25).

Barnaby Edward Young realizó un estudio descriptivo, serie de casos, de los primeros 18 pacientes diagnosticados con infección por SARS-CoV-2 en Singapur entre el 23 de enero y el 3 de febrero de 2020, la presentación clínica fue una infección del tracto respiratorio con un desprendimiento viral prolongado de la nasofaringe de 7 días o más en 15 pacientes (83%). Se requirió oxígeno suplementario en 6 pacientes (33%), 5 de los cuales fueron tratados con lopinavir-ritonavir, con resultados clínicos variables después del tratamiento (1-15).

La secuenciación del genoma viral, se obtuvo inicialmente cinco pacientes en una etapa temprana del brote. La secuencia de este virus comparte identidad de secuencia del 79,6% con el SARS-CoV. El 2019-nCoV es 96% idéntico a nivel de genoma entero, a un coronavirus de murciélagos. El análisis de la secuencia proteica por pares de siete dominios conservados de proteínas no estructurales muestra que este virus pertenece a la especie de SARSr-CoV. En particular, se ha confirmado que 2019-nCoV utiliza el mismo receptor de entrada celular,

enzima de conversión de angiotensina II (ACE2), al igual que el SARS-CoV (1,15-25).

Los coronavirus habían causado anteriormente, dos pandemias a gran escala en las últimas dos décadas, SARS y síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS). En general, se había pronosticado que el SARSr-CoV, que se encuentra principalmente en los murciélagos, podría causar un brote futuro de enfermedad, como lo es la serie de casos causados por el brote de neumonía en Wuhan, provincia de Hubei, china central. Este brote de enfermedad comenzó a partir de un mercado local de productos del mar. Los síntomas clínicos típicos de estos pacientes fueron fiebre, tos seca, dificultades respiratorias (disnea), dolor de cabeza y neumonía. La enfermedad puede provocar insuficiencia respiratoria progresiva debido al daño alveolar que puede ser observado en imágenes de tomografía computarizada del tórax y provocar la muerte. Se determinó que la enfermedad fue causada por neumonía inducida por virus por los médicos de acuerdo con los síntomas clínicos y otros criterios, incluyendo un aumento de la temperatura corporal, disminuciones en el número de linfocitos y glóbulos blancos (aunque los niveles de estos últimos a veces eran normales), nuevos infiltrados pulmonares en la radiografía de tórax y ninguna mejora obvia después del tratamiento con antibióticos durante tres días. Parece que la mayoría de los primeros casos tenían historia de contacto con el mercado original de mariscos; sin embargo, la enfermedad ha progresado hasta ser transmitida por contacto de persona a persona (1,25-30).

Las muestras de siete pacientes con neumonía grave (seis de los cuales tenían relación laboral como vendedores o repartidores del mercado de productos del mar) y que fueron ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos del hospital Wuhan Jin Yin-Tan al comienzo del brote, fueron enviadas al laboratorio del Instituto Wuhan de Virología (WIV) para el diagnóstico del patógeno causante. En esta investigación se realizó PCR pan-CoV para probar estas muestras, dado que el

brote se produjo en invierno y en un mercado, el mismo entorno que las infecciones por SARS. Se encontró que cinco muestras fueron PCR-positivas para los COVs y una muestra (WIV04), recogida del líquido de lavado broncoalveolar (BALF), fue analizada mediante análisis metagenómicos utilizando secuenciación de próxima generación para identificar posibles agentes etiológicos. De las 10.038.758 lecturas totales efectuadas: 1.582 lecturas totales se mantuvieron después de filtrar las lecturas del genoma humano: 1.378 (87,1%) secuencias coincidieron con la secuencia de SARSr-CoV. Mediante el montaje de novo y el PCR dirigido, se obtuvo un genoma de CdV de 29.891 pares de bases que compartía una identidad de secuencia del 79,6% con SARS-CoV BJ01 (número de adhesión de GenBank AY278488.2). Se obtuvo una alta cobertura del genoma reasignando las lecturas totales a este genoma. Esta secuencia fue presentada a GISAID (<https://www.gisaid.org/>) (número de adhesión EPI_ISL_402124). Siguiendo el nombre dado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), tentativamente lo llamaron coronavirus novedoso 2019 (2019-nCoV). Otras cuatro secuencias de genomas de larga duración de 2019-nCoV (WIV02, WIV05, WIV06 y WIV07) (números de adhesión GISAID EPI_ISL_402127–402130) que eran más del 99,9 % idénticos entre sí se obtuvieron posteriormente de cuatro pacientes adicionales que utilizaban la secuenciación de próxima generación y la PCR (1,15,20,30-5).

El genoma del virus consiste en seis marcos principales de lectura abierta (ORF) que son comunes a los coronavirus y una serie de otros genes accesorios (Figura. 1b). El análisis adicional indica que algunos de los genes 2019-nCoV compartieron menos del 80% de identidad de secuencia de nucleótidos al SARS-CoV. Sin embargo, las secuencias de aminoácidos de los siete dominios replicados conservados en ORF1ab que se utilizaron para la clasificación de especies de CoV fueron 94,4% idénticas entre 2019-nCoV y SARS-CoV, lo que sugiere que los dos virus

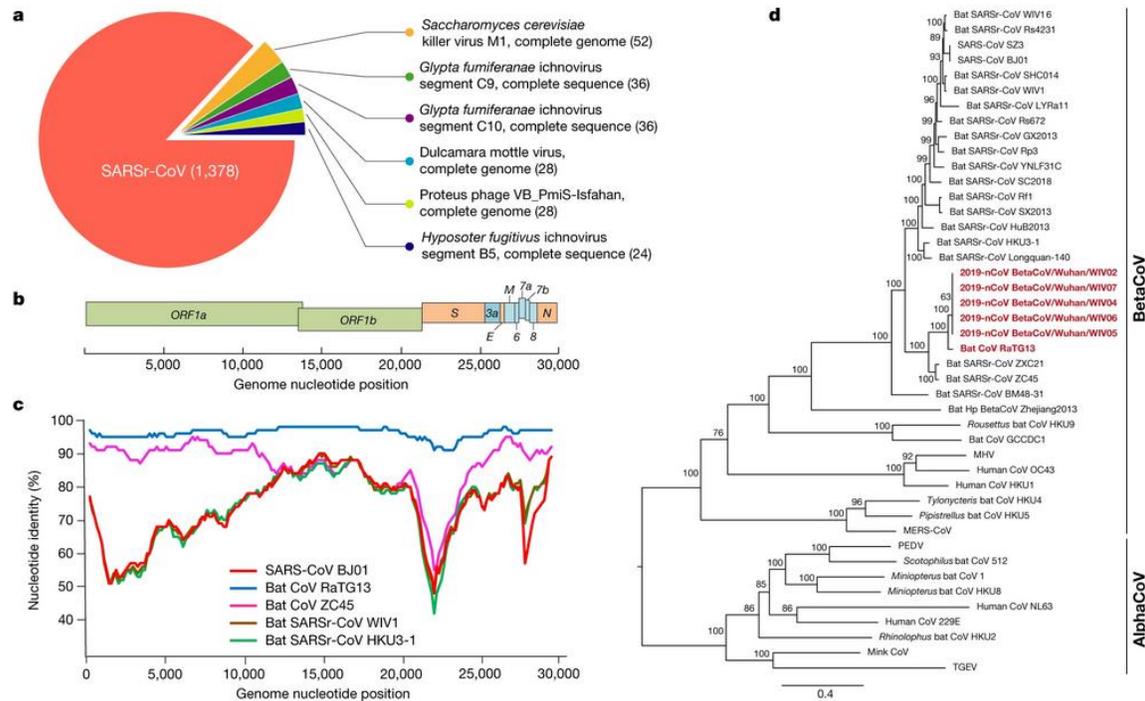
pertenecen a la misma especie, SARSr-CoV (1,35-40).

Luego se descubrió que una región corta de ARN dependiente de ARN polimerasa (RdRp) de un coronavirus de murciélagos (BatCoV RaTG13), que se detectó previamente en *Rhinolophus affinis* de la provincia de Yunnan, mostró una alta identidad de secuencia a 2019-nCoV. Realizaron entonces la secuenciación completa de esta muestra de ARN (número de adhesión de GISAID EPI_ISL_402131). El análisis de Simplot mostró que 2019-nCoV fue muy similar en todo el genoma a RaTG13 (Figura. 1c), con una identidad general de secuencia del genoma del 96,2%. Utilizando las secuencias del genoma alineado de 2019-nCoV, RaTG13, SARS-CoV y los SARSr-CoVs de murciélagos previamente reportados, no se detectó evidencia de eventos de recombinación en el genoma de 2019-nCoV (1,40-5).

Posteriormente el análisis filogenético del genoma de longitud completa y las secuencias genéticas de RdRp y spike (S) mostró que, para todas las secuencias, el RaTG13 es el "pariente" más cercano del 2019-nCoV y forman un linaje distinto de otros SARSr-CoVs (Figura. 1d).

La proteína de pico de unión a receptores codificada por el gen S era altamente divergente, con menos del 75% de identidad de secuencia de nucleótidos a todos los SARSr-CoVs descritos anteriormente, excepto por una identidad de nucleótido del 93,1% a RaTG13. Los genes S de 2019-nCoV y RaTG13 son más largos que otros SARSr-CoVs. Las principales diferencias en la secuencia del gen S de 2019-nCoV son las tres inserciones cortas en el dominio N-terminal, así como los cambios en cuatro de cinco de los residuos clave en el motivo de unión a receptores en comparación con la secuencia de SARS-CoV.

Figura 1: Caracterización genómica del 2019-nCoV.



- a, Análisis metagenómico de la secuenciación de próxima generación de BALF del paciente ICU06.
- b, Organización genómica de 2019-nCoV WIV04. M, membrana.
- c, Gráfica de similitud basada en la secuencia del genoma de larga duración de 2019-nCoV WIV04. Se utilizaron como secuencias de referencia las secuencias del genoma de longitud completa de SARS-CoV BJ01, bat SARSr-CoV WIV1, coronavirus de murciélagos RaTG13 y ZC45.
- d, árbol filogenético basado en secuencias de nucleótidos de genomas completos de coronavirus. MHV, virus de la hepatitis murina; PEDV, virus de la diarrea epidémica porcina; TGEV, virus de la gastroenteritis transmisible porcina. Las barras de escala representan 0,1 sustituciones por posición de nucleótidos.

Fuente: Tomado de A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. nature.com; 2020 (1)

Es necesario seguir estudiando si las inserciones en el dominio N-terminal de la proteína S de 2019-nCoV confieren actividad de unión a ácidos

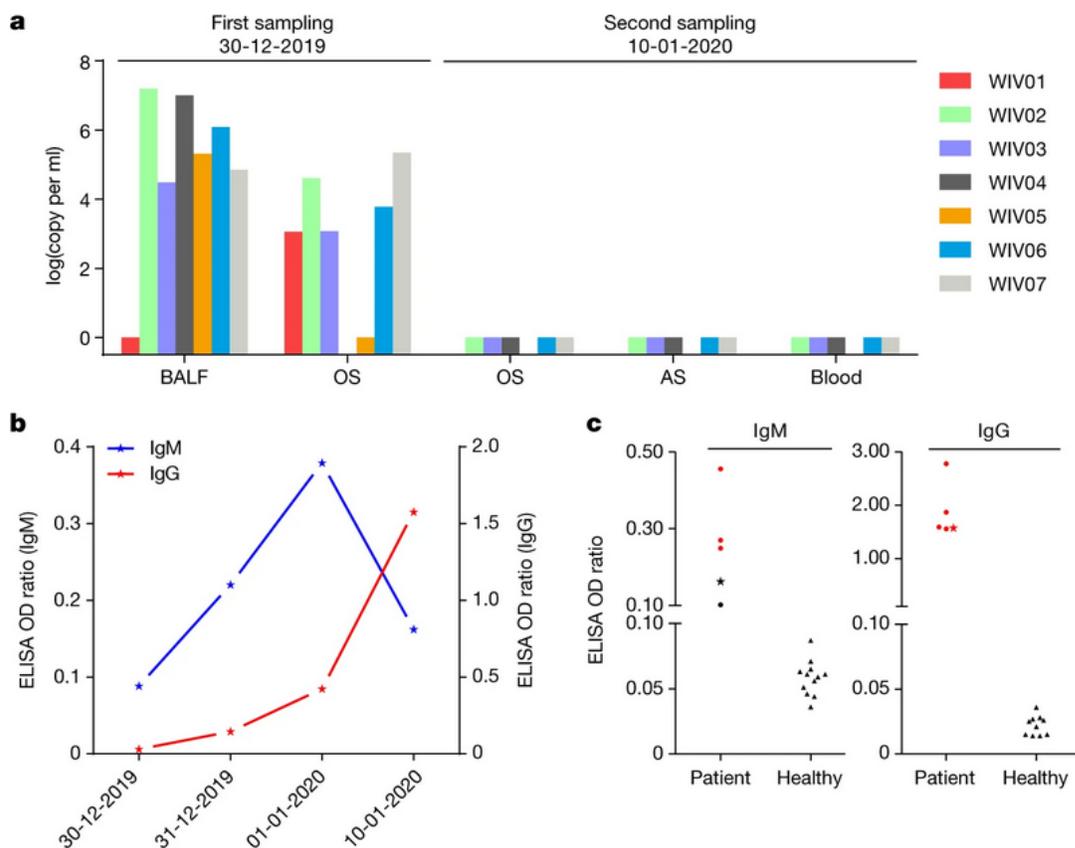
siálicos como lo hace en el MERS-CoV. La estrecha relación filogenética con RaTG13 proporciona evidencia de que 2019-nCoV puede haberse originado en murciélagos (1,45-50)

Luego se descubrió que una región corta de ARN dependiente de ARN polimerasa (RdRp) de un coronavirus de murciélagos (BatCoV RaTG13), que se detectó previamente en *Rhinolophus affinis* de la provincia de Yunnan, mostró una alta identidad de secuencia a 2019-nCoV. Se realizó la secuenciación completa de esta muestra de ARN (número de adhesión de GISAID EPI_ISL_402131). El análisis de Simplot mostró que 2019-nCoV fue muy similar en todo el genoma a RaTG13 (Fig. 1c), con una identidad general de secuencia del genoma del 96,2%. Utilizando las secuencias del genoma alineado de 2019-nCoV, RaTG13, SARS-CoV y los SARSr-CoVs de murciélagos previamente reportados, no se detectó evidencia de eventos de recombinación en el genoma de 2019-nCoV. El análisis filogenético del genoma de longitud completa y las secuencias genéticas de RdRp y spike (S) mostró que, para todas las secuencias, El RaTG13 es el pariente más cercano de 2019-nCoV y forman un linaje distinto de otros SARSr-CoVs. La proteína de pico de unión a receptores codificada por el gen S era altamente divergente de otros Codatíficos, con menos del 75% de identidad de secuencia de nucleótidos a todos los SARSr-CoVs descritos anteriormente, excepto por una identidad de nucleótido del 93,1% a RaTG13. Los genes S de 2019-nCoV y RaTG13 son más largos que otros SARSr-CoVs. Las principales diferencias en la secuencia del gen S de 2019-nCoV son las tres inserciones cortas en el dominio N-terminal, así como los cambios en cuatro de cinco de los residuos clave en el motivo de unión a receptores en comparación con la secuencia de SARS-CoV (Extended Data Fig. 3). Es necesario seguir estudiando si las inserciones en el dominio N-terminal de la proteína S de 2019-nCoV confieren actividad de unión a ácidos siálicos como lo hace en el MERS-CoV. La estrecha relación filogenética con RaTG13 proporciona nueva evidencia de que 2019-nCoV puede haberse originado en murciélagos (1,45-52).

Para la detección serológica de 2019-nCoV, se utilizó una proteína nucleocápside (N) previamente desarrollada a partir de murciélago SARSr-CoV Rp3 como antígeno para ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas IgG e IgM (ELISA), ya que esta proteína comparte una identidad de aminoácidos del 92% a la proteína N de 2019-nCoV y no ha mostrado reactividad cruzada contra otros coronavirus humanos excepto SARSr-CoV7. Sólo se obtuvo cinco muestras de suero de los siete pacientes con infecciones virales. Se efectuó monitoreo de los niveles de anticuerpos en un paciente (UCI-06) a los 7, 8, 9 y 18 días después de la aparición de la enfermedad. Se observó una tendencia clara en los títulos de IgG e IgM, que aumentaron con el tiempo, excepto que el de IgM se redujo en la última muestra. Como segundo análisis, se trabajó sobre las muestras de 5 de los 7 pacientes con virus positivos alrededor de 20 días después de la aparición de la enfermedad para detectar la presencia de anticuerpos virales. Todas las muestras de pacientes, pero no las muestras de individuos sanos, fueron fuertemente positivas para la IgG viral. También hubo tres muestras IgM positivas, lo que indica una infección aguda. Se aisló con éxito el virus (llamado 2019-nCoV BetaCoV/Wuhan/WIV04/2019) de las células Vero E6 y Huh7 utilizando la muestra BALF de la UCI del paciente-06. Se observaron efectos citopatógenos claros en las células después de la incubación durante tres días. La identidad de la cepa WIV04 se verificó en las células de Vero E6 mediante microscopía de inmunofluorescencia utilizando el anticuerpo N viral reactivo cruzado (Extended Data Fig. 6c, d) y mediante la secuenciación de metagenómica, la mayoría de las lecturas de las cuales se asignaron a 2019-nCoV, y el análisis qPCR mostró que la carga viral aumentó del día 1 al día 3. Las partículas virales en secciones ultrafinas de células infectadas mostraban una morfología típica del coronavirus, visualizada por microscopía electrónica. Para confirmar aún más la actividad de neutralización de las muestras virales de IgG positivas, se realizó

ensayo de neutralización sérica en células Vero E6 utilizando los cinco sueros para pacientes que fueron IgG positivos.

Figura. 2: Investigación serológica y molecular de muestras de pacientes.



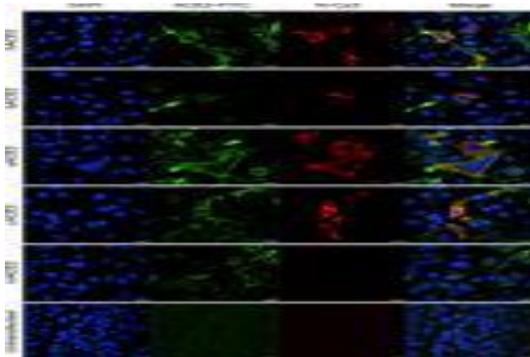
a, Detección molecular de 2019-nCoV en siete pacientes. Los métodos de detección se describen como: hisopado anal y oral.

b, Dinámica de los niveles de anticuerpos 2019-nCoV en un paciente que mostró signos de enfermedad el 23 de diciembre de 2019 (Uci-06). Relación OD, densidad óptica a 450–630 nm. Los ejes y derecho e izquierdo indican las relaciones ELISA OD para IgM e IgG, respectivamente. c, Prueba serológica de anticuerpos 2019-nCoV en cinco pacientes. El asterisco indica los datos recogidos de la UCI-06 del paciente el 10 de enero de 2020. b, c, El corte fue de 0,2 para el análisis de IgM y de 0,3 para el análisis de IgG, de acuerdo con los niveles de controles saludables.

Fuente: Tomado de A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. nature.com; 2020 (1)

Quedó demostrado que todas las muestras fueron capaces de neutralizar 100 TCID₅₀ (50% dosis de cultivo tisular-cultivo-infeccioso) de 2019-nCoV en una dilución de 1:40–1:80. También se demostró que este virus podría ser neutralizado cruzadamente por suero anti-SARS-CoV caballo (regalo de L.-F. Wang) en diluciones de 1:40; sin embargo, el potencial de reactividad cruzada con anticuerpos SARS-CoV debe confirmarse con suero anti-SARS-CoV de humanos (1,25,50-2).

Figura. 3: Receptor usado por el 2019-nCoV.



Fuente: Tomado de A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. nature.com; 2020 (1)

Se determinó la infectividad del virus en células HeLa que expresaron o no expresaron ACE2. La expresión de plásmido ACE2 con etiqueta S se detectó utilizando el anticuerpo monoclonal de etiqueta anti-S del ratón. hACE2, ACE2 humano; bACE2, ACE2 de *Rhinolophus sinicus* (bat); cACE2, civet ACE2; sACE2, porcino ACE2 (cerdo); mACE2, ratón ACE2. Verde, ACE2; proteína roja y viral (N); azul, DAPI (núcleos). Barras de escala, 10 μm. El estudio proporciona un informe detallado sobre 2019-nCoV, el probable agente etiológico responsable de la epidemia en curso del síndrome respiratorio agudo en China y otros países. En todos los pacientes analizados se observó una seroconversión de nucleótidos

positivos y proteínas virales específicos del virus, que proporciona evidencia de una asociación entre la enfermedad y la presencia de este virus. Aunque la asociación entre 2019-nCoV y la enfermedad no ha sido verificada por experimentos con animales para cumplir los postulados de Koch para establecer una relación causal entre un microorganismo y una enfermedad. Todavía no se conoce la rutina de transmisión de este virus entre los hospederos. Al parecer el virus se está volviendo más transmisible entre los seres humanos. Debido a la escasez de tratamientos específicos y teniendo en cuenta la relación del 2019-nCoV con el SARS-CoV, algunos medicamentos y vacunas preclínicas contra el SARS-CoV probablemente podrían utilizarse para tratar este virus. Teniendo en cuenta la amplia difusión del SARS-CoV en sus portadores naturales, la investigación futura debería centrarse en la vigilancia activa de estos virus para regiones geográficas más amplias. Es importante aplicar regulaciones estrictas contra la domesticación y el consumo de vida silvestre (1).

Recogida de muestras (1)

Las muestras humanas, incluyendo hisopados orales, hisopados anales, sangre fueron deben ser recogidas por el laboratorio con el consentimiento de todos los pacientes y aprobadas por el comité de ética del hospital designado para la atención de enfermedades infecciosas emergentes.

Aislamiento de virus, infección celular, microscopía electrónica y ensayo de neutralización

Las líneas celulares que se utilizaron para el aislamiento de virus: células Vero E6 y Huh7, se cultivaron en DMEM con 10% FBS. Todas las líneas celulares fueron probadas y libres de contaminación por micoplasma, sometidas a identificación de especies y autenticadas por evaluación morfológica mediante microscopía. Ninguna de las líneas de celda estaba en la lista de líneas celulares comúnmente identificadas erróneamente (por ICLAC). Las monocapas de células cultivadas se mantuvieron en su respectivo

medio. La prueba de neutralización del virus se llevó a cabo en una placa de 96 pocillos. Las muestras de suero del paciente se inactivaron por incubación a 56 oC durante 1 h antes de su uso. Las muestras de suero se diluyeron a 1:10, 1:20, 1:40 o 1:80, y luego se añadió un volumen igual de material de virus e incubaron a 37 oC durante 60 minutos en una incubadora de CO₂ al 5%. Se utilizaron como control el suero anti-SARS-CoV diluido de caballos o muestras de suero de individuos sanos. Después de la incubación, se inocularon mezclas de 100 l sobre una monocapa de células Vero E6 en una placa de 96 pocillos durante 1 h. Cada suero se evaluó por triplicado. Después de retirar el sobrenadante, el plato se lavó dos veces con medio DMEM. Las células fueron incubadas con DMEM suplementada con 2% FBS durante 3 días. Posteriormente, las células fueron comprobadas para ver si había efectos citopatógenos (1-10).

Extracción de ARN y PCR

El ARN se extrajo de 200 ml de muestras con el kit de ARN viral puro alto (Roche). El ARN se eluyó en 50 l de búfer de elución y se utilizó como plantilla para RT-PCR (1-15).

Para el análisis qPCR, se diseñaron imprimaciones basadas en el gen S de 2019-nCoV: RBD-qF1, 5'-CAATGGTTTAAACAGGCACAGG-3'; RBD-qR1, 5'-CTCAAGTGTCTGTGGATCACG-3'. El ARN extraído como se describió anteriormente se utilizó para qPCR utilizando el HiScript II One Step qRT-PCR SYBR Green Kit (Vazyme Biotech). Los PCR convencionales también se realizaron utilizando los siguientes pares de imprimación: ND-CoVs-951F, 5'-TGTKAGRTTYCCTAAYATTAC-3'; ND-CoVs-1805R, 5'-ACATCYTGATANARAACAGC-3'. La mezcla de reacción qPCR de 20-l contenía una mezcla verde SYBR de un paso de 20 l, una mezcla de enzimas verdes SYBR de un paso, un tinte de referencia ROX de 0,4 l 50o 1, 0,4 ml de cada imprimación (10 m) y un ARN de plantilla de 2 ol. La amplificación se realizó de la siguiente manera: 50 oC durante 3 min, 95 oC para 30 s

seguido de 40 ciclos que consisten en 95 oC para 10 s y 60 oC para 30 s, y un paso de curva de fusión por defecto en una máquina PCR abi 7500 en tiempo real (1-25,51).

Prueba serológica Test

Los kits internos anti-SARS-CoV IgG e IgM ELISA se desarrollaron utilizando la proteína SARS-CoV Rp3 N como antígeno, que compartía más del 90% de identidad de aminoácidos con todos los SARS-CoVs2. Para los análisis de IgG, las placas ELISA MaxiSorp Nunc-immuno de 96 pocillos se recubrieron (100 ng por pozo) durante la noche con proteína N recombinante. Los sueros humanos se utilizaron a una dilución de 1:20 durante 1 h a 37 oC. Se utilizó un anticuerpo monoclonal conjugado en IgG HRP antihumano (Kyab Biotech) a una dilución de 1:40.000. Se calculó el valor OD (450–630 nm). Para los análisis de IgM, las placas ELISA MaxiSorp Nunc-immuno de 96 pocillos fueron recubiertas (500 ng por pozo) durante la noche con IgM antihumano (cadena). Los sueros humanos se utilizaron con una dilución de 1:100 durante 40 min a 37 oC, seguido de la incubación con un anticuerpo anti-Rp3 N HRP conjugado (Kyab Biotech) a una dilución de 1:4.000. Se calculó el valor OD (450–630 nm) (1-15,30-40).

Examen del receptor ACE2 para la infección 2019-nCoV

Las células de HeLa que expresan transitoriamente ACE2 fueron preparadas utilizando Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher Scientific) en una placa de 96 pocillos; células ficticias transtrofadas se utilizaron como controles. 2019-nCoV cultivado en células Vero E6 se utilizó para la infección en un MOI de 0.5. APN y DPP4 se analizaron de la misma manera. El inóculo se eliminó después de la absorción durante 1 h y se lavó dos veces con PBS y se complementó con medio. A las 24 h después de la infección, las células se lavaron con PBS y se fijaron con un 4% de formaldehida en PBS (pH 7.4) durante 20 min a temperatura ambiente. La expresión ACE2 se detectó utilizando un anticuerpo monoclonal de etiqueta anti-S de ratón

y un IgG H&L antiratón de cabra con etiqueta FITC (Abcam, ab96879). La replicación viral se detectó utilizando un anticuerpo de conejo contra la proteína Rp3 N (generada internamente, 1:1.000) y un IgG anticonejo de cabra conjugado cy3 (1:200, Abcam, ab6939). Los núcleos se tiñieron con DAPI (Beyotime). Los patrones de tinción se examinaron mediante microscopía confocal en un microscopio FV1200 (Olympus).

Secuenciación de alto rendimiento, cribado de patógenos y montaje del genoma (1-20)

Se utilizaron muestras de BALF paciente o del sobrenadante de cultivos de virus para la extracción de ARN y la secuenciación de próxima generación (NGS) utilizando secuenciadores BGI MGISEQ2000 e Illumina MiSeq 3000. El análisis metagenómico se llevó a cabo principalmente a partir de la plataforma bioinformática MGmapper (PE_2.24 y SE_2.24).

Análisis filogenético

El manejo y análisis rutinario de la secuencia se llevó a cabo utilizando DNASTar. La alineación secuencial de secuencias completas del genoma se realizó utilizando MAFFT (v.7.307) con parámetros predeterminados. Las alineaciones de codón de secuencias de genes S y RdRp de longitud completa fueron convertidas a partir de las alineaciones proteicas correspondientes por PAL2NAL (v.14); las alineaciones proteicas fueron creadas por Clustal Omega (v.1.2.4) utilizando parámetros predeterminados. Los árboles filogenéticos de máxima probabilidad se generaron utilizando RAxML (v.0.9.0) con el modelo de sustitución GTR+G y 1.000 réplicas de arranque (1,15-25).

SÍNTOMAS:

Los síntomas del nuevo coronavirus incluyen:

El cuadro inicia con sintomatología respiratoria inespecífica que puede evolucionar a un cuadro más severo.

- Malestar general
- Tos seca
- Dolor de garganta
- Fiebre

- Disnea (dificultad para respirar)
- Infiltrados neumónicos invasivos en ambos pulmones (signos radiológicos de neumonía) observables en las radiografías de tórax.

Pueden haber síntomas neurológicos como anosmia, ageusia y estado confusional si hipoxia Severa.

La diarrea es frecuente.

DEFINICIÓN DE CASO

Caso Sospechoso:

Se considera caso sospechoso a los pacientes que cumplan uno de los siguientes criterios:

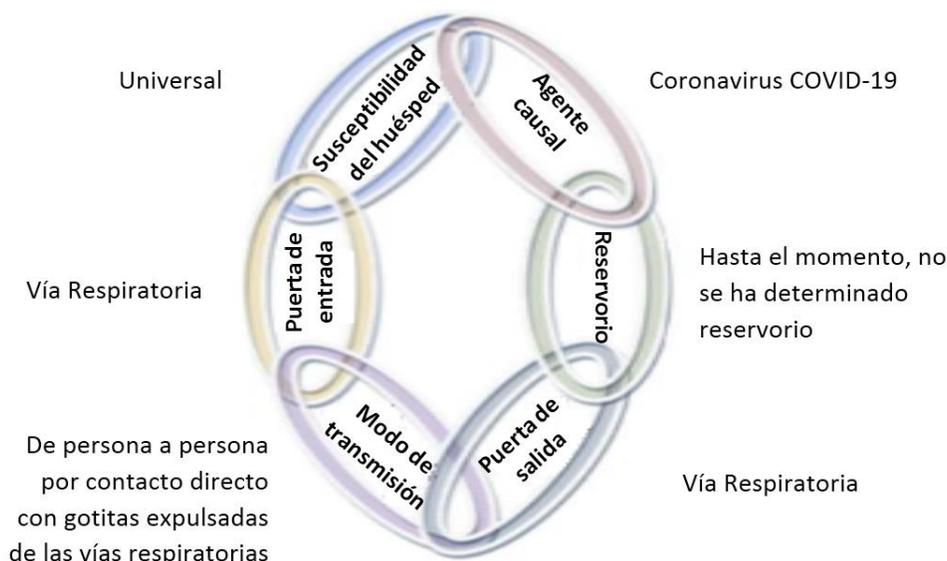
A. Pacientes con infección respiratoria aguda grave caracterizada por fiebre, tos, dificultad respiratoria y que requieren hospitalización, sin otra etiología incluyendo patologías respiratorias y que, además que tenga:

- Historial de viaje a China, Italia, Corea del Sur, Irán u otros países que tengan un brote activo de coronavirus COVID-19 en los últimos 14 días anteriores al inicio de los síntomas o;
- Ocupación como trabajador de la salud en un entorno que atiende a pacientes con IRAG con etiología desconocida. (OMS, Global Surveillance for human infection with novel coronavirus Covid-19, 2020)

B. Paciente con enfermedad respiratoria aguda leve o moderada (tos y fiebre) que no requiere internación y al menos uno de los siguientes:

- Visitar o trabajar en China, Italia, Corea del Sur, Irán u otros países que tengan un brote activo de coronavirus COVID-19, en los 14 días previos al inicio de los síntomas,
- Compartir hogar o Contacto cercano con un caso confirmado de COVID-19 en los 14 días previos al inicio de la enfermedad,
- Trabajó o asistió profesionalmente en un centro de atención médica en los 14 días anteriores al inicio de los síntomas en los que se notificaron casos confirmados o probables de Coronavirus COVID-19. (OMS, Global Surveillance for human infection with novel coronavirus COVID-19, 2020)

Cadena epidemiológica



Fuente: MSP Ecuador

CASO PROBABLE:

Un caso sospechoso a quien realizaron pruebas para coronavirus (COVID-19) y no es concluyente el resultado de la prueba informada por laboratorio o para quienes las pruebas fueron positivas en un ensayo de coronavirus genérico o para la región común de coronavirus de alto impacto. (este debe ser establecido y definido por nivel central)

CASO CONFIRMADO:

Caso sospechoso con confirmación de laboratorio de coronavirus (COVID-19), independientemente de los signos y síntomas clínicos. (OMS, Global Surveillance for human infection with novel coronavirus COVID-19, 2020)

Importante: Estas definiciones de caso se modificarán de acuerdo con el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.

Síndromes clínicos asociados a la infección por SARS-Cov-2;

- Cuadros no complicados
- Neumonía leve
- Neumonía grave
- Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda
- Septicemia
- Shock séptico

Exámenes de Laboratorio para confirmación diagnóstica

Frotis nasofaríngeo para COVID-19.

Las Pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT) para el virus COVID-19, permiten la confirmación rutinaria de los casos de COVID-19, se basa en la detección de secuencias únicas de ARN de virus por NAAT, como la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR) con confirmación por secuenciación de ácido nucleico cuando sea

necesario. Los genes virales a los que se dirige hasta ahora incluyen los genes N, E, S y RdRP. La extracción de ARN debe realizarse en un gabinete de bioseguridad en una instalación BSL-2 o equivalente (1-10).

Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas de las encuestas serológicas pueden ayudar a investigar un brote en curso y una evaluación retrospectiva de la tasa de ataque o la extensión de un brote. En los casos en que los ensayos NAAT son negativos y existe un fuerte vínculo epidemiológico con la infección POR COVID-19, las muestras de suero emparejadas (en la fase aguda y convaleciente) podrían apoyar el diagnóstico una vez que se disponga de pruebas de serología validadas. Las muestras de suero se pueden almacenar para estos fines. La reactividad cruzada con otros coronavirus puede ser difícil (24) pero actualmente se están desarrollando pruebas serológicas (1-20).

Secuenciación viral

Además de proporcionar confirmación de la presencia del virus, la secuenciación regular de un porcentaje de muestras de casos clínicos puede ser útil para controlar las mutaciones del genoma viral que podrían afectar el rendimiento de contramedidas, incluidas las pruebas diagnósticas. La secuenciación del genoma completo del virus también puede informar a los estudios de epidemiología molecular (1-25).

Cultivo viral No se recomienda el aislamiento de virus como procedimiento de diagnóstico de rutina (1-15,25-35).

Otros exámenes de laboratorio que se sugiere realizar: Biometría hemática, PCR, Creatinina, glucemia, albúmina, AST, ALT, Bilirrubina total y fraccionada, CPK, PT-INR, troponina, Dímero D. Descartar coinfecciones frecuentes con COVID (Pneumococo, Legionella y Mycoplasma).

En estos pacientes es común la leucopenia. Aumento de LDH y PCR, alcalosis respiratoria.

Estudios de imágenes:

Radiografía de Tórax es específica, pero con sensibilidad limitada en la fase precoz.

Ecografía Torácica: Mayor sensibilidad que el Rx de Tórax sobre todo en los casos asociados a SRDA. Afectación intersticial con múltiples líneas B y predictor de necesidad de intubación orotraqueal.

Tomografía Axial Computarizada de Tórax muestra mayor sensibilidad que la radiografía, consolidaciones múltiples parenquimatosas. Síndrome intersticial, Líneas B, consolidaciones subpleurales

En la fase presintomática en la TAC puede observarse áreas en vidrio deslustrado a menudo unilaterales.

Durante la primera semana de inicio de los síntomas las lesiones en la TAC se vuelven bilaterales, más extensas, difusas, con afectación de numerosos segmentos. Áreas en vidrio deslustrado de distribución periférica predominantemente, aunque también central. Crazy paving y engrosamientos pleurales. Puede haber derrame pleural y adenopatías.

Durante la segunda semana de inicio de los síntomas en la TAC se puede observar que el patrón en vidrio deslustrado se reduce, aparecen áreas de consolidación parenquimatosa y neumonía organizativa.

Eficacia antiviral demostrada in vitro de fármacos (1-5)

El SARS-CoV-2 ha causado decenas de miles de infecciones y más de mil muertes. Actualmente no existen terapias registradas para el tratamiento de infecciones por coronavirus. Debido al lento proceso de desarrollo de nuevos medicamentos, el reposicionamiento de fármacos puede ser la única solución a la epidemia de enfermedades infecciosas repentinas (1).

Remdesivir y cloroquina inhiben eficazmente el coronavirus recientemente surgido (2019-nCoV) in vitro. Un enfoque eficiente para el descubrimiento de fármacos es probar si los medicamentos antivirales existentes son eficaces en el tratamiento de infecciones virales relacionadas. El 2019-nCoV pertenece a Betacoronavirus que también contiene SARS-CoV y Síndrome Respiratorio de Oriente Medio

CoV (MERS-CoV). Se han utilizado varios fármacos, como ribavirina, interferón, lopinavir-ritonavir, corticosteroides, en pacientes con SRAS o MERS, aunque la eficacia de algunos fármacos sigue siendo controvertida. Se evaluó la eficacia antiviral de cinco Medicamentos aprobados por la FAD, como ribavirina, penciclovir, nitazoxanida, nafamostat, cloroquina y dos conocidos medicamentos antivirales de amplio espectro remdesivir (GS-5734) y favipiravir (T-705) contra un aislado clínico de 2019-nCoV in vitro. Se llevaron a cabo ensayos estándar para medir los efectos de estos compuestos en las tasas de citotoxicidad, rendimiento de virus e infección de 2019-nCoVs. La citotoxicidad de los compuestos candidatos en las células de Vero E6 (ATCC-1586) fue determinada por el ensayo CCK8. Luego, las células de Vero E6 se infectaron con nCoV-2019BetaCoV/Wuhan/WIV04/20192 a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,05 en presencia de diferentes concentraciones de los fármacos de prueba. DMSO se utilizó en los controles. Las eficacias se evaluaron mediante la cuantificación de los números de copia viral en el sobrenadante celular a través de RT-PCR cuantitativo en tiempo real (qRT-PCR) y se confirmaron con la visualización de la expresión de nucleoproteína de virus (NP) mediante microscopía de inmunofluorescencia a 48 h después (efecto citopático no era obvio en este momento de la infección) (1).

Entre los siete fármacos probados, altas concentraciones de tres análogos de nucleósidos, incluida la ribavirina (concentración efectiva media máxima (EC50) a 109,50 m, concentración semicitotóxica (CC50) > 400 m, índice de selectividad (SI) > 3,65), penciclovir (EC50 a 95,96 para reducir la infección viral, se requirieron, CC50> 400, SI > 4,17) y favipiravir (EC50 a 61,88 m, CC50 > 400 m, SI > 6,46). S1). Se ha demostrado que favipiravir es 100% eficaz para proteger a los ratones contra el desafío del virus del Ebola, aunque su valor de EC50 en las células de Vero E6 fue de hasta 67 M,4 sugiriendo

que se recomiendan más estudios in vivo para evaluar este nucleósido antiviral (1-5).

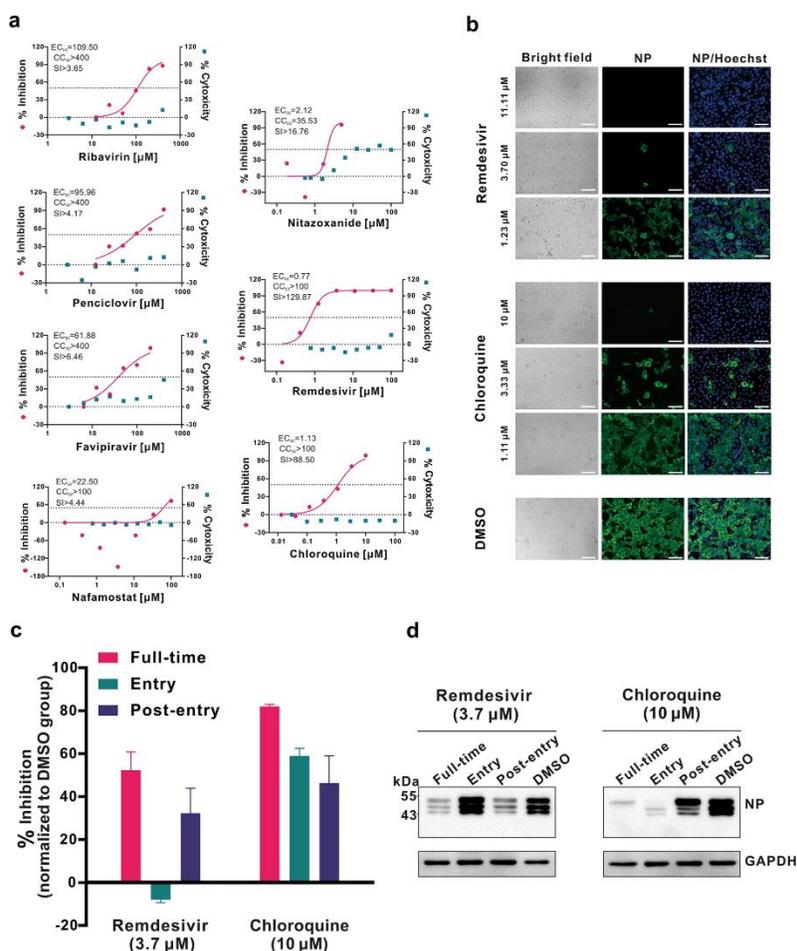
Por su parte Nafamostat, un potente inhibidor del MERS-CoV, que previene la fusión de membranas, fue inhibidor contra la infección por 2019-nCoV (EC50 a 22,50 m, CC50> 100 m, SI > 4,44) (1).

La Nitazoxanida, un agente antiprotozoal comercial con un potencial antiviral contra una amplia gama de virus, incluidos los coronavirus humanos y animales, inhibió el 2019-nCoV a una concentración baja en micromolares (EC50 a 2,12 m; CC50 > 35,53 m; SI > 16,76). Se recomienda una mayor evaluación in vivo de este medicamento contra la infección 2019-nCoV.

Llama la atención que dos fármacos: Remdesivir (EC50 a 0,77 m; CC50 > 100 m; SI > 129,87) y Cloroquina (EC50 a 1,13 m; CC50 > 100 M, SI > 88,50) bloquearon potentemente la infección por virus a baja concentración micromolar y mostró un alto SI (1).

Los núcleos estaban manchados con tinte Hoechst. Barras, 100 m. c y d Experimento de tiempo de adición de remdesivir y cloroquina. Para el tratamiento "a tiempo completo", las células de Vero E6 fueron pre tratadas con los medicamentos durante 1 h, y luego se añadió el virus para permitir la fijación durante 2 h. Después, se eliminó la mezcla de virus y fármacos, y las células fueron cultivadas con medio que contiene drogas hasta el final de la Experimento. Para el tratamiento de "Entrada", los medicamentos se añadieron a las células durante 1 h antes de la unión viral, y a las 2 h p.i., la mezcla de virus y fármacos se reemplazó por un medio de cultivo fresco y se mantuvo hasta el final del experimento. Para el experimento "post-entrada", los medicamentos se añadieron a las 2 horas en p.i., y se mantuvieron hasta el final del experimento.

Figura. 3: Actividad antiviral de 7 fármacos contra el 2019-nCoV in vitro.



a. Unas células Vero E6 se infectaron con 2019-nCoV a un MOI de 0,05 en el tratamiento de diferentes dosis de los antivirales indicados durante 48 horas. El rendimiento viral en el sobrenadante celular fue cuantificado por qRT-PCR. La citotoxicidad de estos fármacos a las células de Vero E6 se midió mediante ensayos CCK-8. El eje Y izquierdo y derecho de los gráficos representan el porcentaje medio de inhibición del rendimiento del virus y la citotoxicidad de los fármacos, respectivamente. Los experimentos se hicieron en triplicados.

b. Microscopía de inmunofluorescencia de la infección por virus tras el tratamiento con remdesivir y cloroquina. La infección por virus y el tratamiento farmacológico se realizaron como se mencionó anteriormente. A las 48 h p.i., las células infectadas fueron fijadas, y luego sondeadas con sueros de conejo contra el NP de un murciélago relacionado con el SARS CoV2 como el anticuerpo primario y Alexa 488-etiquetado cabra anti-conejo IgG (1:500; Abcam) como anticuerpo secundario, respectivamente.

Fuente: Tomado de A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. nature.com; 2020 (1)

Para todos los grupos experimentales, las células se infectaron con 2019-nCoV a un MOI de 0,05, y el rendimiento del virus en los sobrenadantes celulares infectados se cuantificó mediante qRT-PCR c y la expresión NP en células infectadas fue analizada por Western blot d a 14 h p.i.

Remdesivir ha sido reconocido como un fármaco antiviral prometedor contra una amplia gama de virus de ARN (incluyendo la infección SARS/MERS-CoV5) en células cultivadas, ratones y modelos de primates no humanos (NHP). Actualmente está en desarrollo clínico para el tratamiento de la infección por el virus del Ebola (1).

Remdesivir es un análogo de adenosina, que incorpora cadenas de ARN virales nacientes y da lugar a la terminación prematura. Remdesivir actúa en una etapa posterior a la entrada del virus, lo que está de acuerdo con su mecanismo antiviral putativo como análogo de nucleótidos. El valor de EC90 de remdesivir frente a 2019-nCoV en células de Vero E6 fue de 1,76 M, sugiere que es probable que su concentración de trabajo se alcance en NHP. Datos preliminares demuestran que remdesivir también inhibió la infección por virus de manera eficiente en una línea celular humana (cáncer de hígado humano Células Huh-7), que es sensible a 2019-nCoV.2

La cloroquina, un fármaco antimalárico y que se usa como tratamiento de enfermedades autoinmunes, se ha notificado recientemente como un potencial antiviral de amplio espectro. Se sabe que la cloroquina bloquea la infección por virus aumentando el pH endosomal necesario para la fusión de virus/células, además de interferir con la glicosilación de los receptores celulares de SARS-CoV. La cloroquina funciona tanto en la entrada, como en las etapas posteriores a la entrada de la infección por 2019-nCoV en células Vero E6. Además de su actividad antiviral, la cloroquina posee una actividad inmunomoduladora, que puede mejorar sinérgicamente su efecto antiviral in vivo. La cloroquina se distribuye ampliamente en todo el cuerpo, incluyendo el pulmón, después

de la administración oral. El valor EC90 de cloroquina frente al 2019-nCoV en células Vero E6 fue de 6,90 m, que puede ser clínicamente alcanzable como se demuestra en el plasma de pacientes con artritis reumatoide que recibieron 500 mg de administración. La Cloroquina es un fármaco barato y seguro que se ha utilizado durante más de 70 años y, por lo tanto, es potencialmente clínicamente aplicable contra el 2019-nCoV (1).

Recientes hallazgos revelan que remdesivir y cloroquina son altamente eficaces en el control de la infección in vitro 2019-nCoV. Estos compuestos se han utilizado en pacientes humanos con un historial de seguridad y eficacia incluida la nueva enfermedad coronavirus. Lo cual lo hace un tratamiento eficaz recomendado por la Sociedad Portuguesa de Cuidados Intensivos (1-51).

Para la profilaxis de los contactos existe consenso en indicar Oseltamivir.

Vacunas

El rápido y emergente desarrollo de la pandemia por SARS-2-CoV (SARS-2) con una transmisión fácil de persona a persona y miles de muertes, demanda el desarrollo de una vacuna, y una vacuna que se pueda desplegar rápidamente a escala mundial, ya no es simplemente una discusión o parte de un debate sobre si una vacuna de este tipo es en última instancia necesaria (45-52).

La buena noticia ahora es que muchas entidades han tomado medidas. CEPI (Coalition for Epidemic Preparedness Innovations) anunció el 23 de enero de 2020 la financiación de tres tecnologías de vacunas de plataforma, ADN, ARNm y "reclamp molecular", para desarrollar vacunas contra el SRAS-2. La misión de CEPI es "acelerar el desarrollo de vacunas contra las enfermedades infecciosas emergentes y permitir un acceso equitativo a estas vacunas para las personas durante los brotes". El brote actual será la primera prueba importante de CEPI desde su creación en 2017.

Existe una creciente lista de instituciones que se unen a los esfuerzos para desarrollar vacunas contra el SRAS-2. El Centro de Investigación de Vacunas NIAID de los Estados Unidos (VRC) se basa en una amplia experiencia en investigación con coronavirus, combinados con una amplia red de oradores de la academia, otras agencias gubernamentales e industria, sobre el desarrollo de varios candidatos a vacunas SARS-2. Las empresas de biotecnología y las empresas de vacunas tradicionales de muchos países anunciaron sus planes de desarrollar rápidamente vacunas utilizando sus respectivas tecnologías.

Desde muy temprano en el inicio de este brote, China demostró confianza en el desarrollo de una vacuna contra esta infección viral. Más recientemente, el anuncio oficial de la Comisión de Salud de China indicó que se explorarán al menos cinco tecnologías vacunas: vacuna inactivada, vacuna de subunidades proteicas, vacuna de ácido nucleico, vacuna de vector adenoviral y vacuna recombinante de vector virus de la influenza.

NUEVAS EVIDENCIAS DE TRATAMIENTOS GENERALES E

INTERVENCIONES NUTRICIONALES (51)

Vitamina A

Jee et al han informado de que las dietas bajas en vitamina A podrían comprometer la eficacia de las vacunas contra el coronavirus de la vid inactivadas y hacer que los terneros sean más susceptibles a enfermedades infecciosas. El efecto de la infección por el virus de la bronquitis infecciosa (IBV), una especie de coronavirus fue más pronunciado en los pollos alimentados con una dieta marginalmente deficiente en vitamina A que en aquellos alimentados con una dieta adecuada en vitamina A. El mecanismo por el cual la vitamina A y los retinoides pueden inhibir la replicación del sarampión es regulando los elementos de la respuesta inmunitaria innata en células no infectadas, haciéndolos refractarios a la infección productiva durante las rondas posteriores de replicación viral. Por lo tanto, la vitamina A podría ser una opción prometedora

para el tratamiento de este nuevo coronavirus y la prevención de la infección pulmonar.

Vitamina B

Las vitaminas del grupo B son vitaminas solubles en agua y funcionan como parte de las coenzimas. La vitamina B2 (riboflavina) desempeña un papel importante en el metabolismo energético de todas las células. Keil et al informan que la vitamina B2 y la luz UV redujeron efectivamente el valorador de MERS-CoV en productos de plasma humano. La vitamina B3, también llamada nicotinamida, podría mejorar la muerte de *Staphylococcus aureus* a través de un factor de transcripción específico de mieloides y la vitamina B3 fue eficaz tanto en entornos profilácticos como terapéuticos. Además, el tratamiento con vitamina B3 inhibió significativamente la infiltración de neutrófilos en los pulmones con un fuerte efecto antiinflamatorio durante la lesión pulmonar inducida por el ventilador. Sin embargo, también paradójicamente condujo al desarrollo de hipoxemia significativa. La Vitamina B6 también es necesaria en el metabolismo de las proteínas y participa en más de 100 reacciones en los tejidos del cuerpo. También juega un papel importante en la función inmune del cuerpo. La escasez de vitaminas del grupo B puede debilitar la respuesta inmunitaria del huésped, deben complementarse en los pacientes infectados por el virus para mejorar su sistema inmunitario. Por lo tanto, las vitaminas del grupo B podrían elegirse como una opción básica para el tratamiento de COVID-19.

Vitamina C

La vitamina C es otra vitamina soluble en agua y también se llama ácido ascórbico. La vitamina C es más conocida por su papel en la síntesis de colágeno en los tejidos conectivos y actúa como antioxidante. La vitamina C también apoya las funciones inmunitarias y protege contra la infección causada por un coronavirus. Por ejemplo, Atherton et al han informado que la vitamina C aumentaba la resistencia de los cultivos de órganos de embriones de polluelos a la infección por coronavirus aviar. La vitamina C también puede funcionar como un agente

antihistamínico débil para aliviar los síntomas similares a la gripe, como estornudos, nariz corriente o congestionada, y senos hinchados. Tres ensayos controlados en humanos han informado que había una incidencia significativamente menor de neumonía en grupos suplementados con vitamina C, lo que sugiere que la vitamina C podría prevenir la susceptibilidad a las infecciones del tracto respiratorio inferior bajo ciertas condiciones. Se ha notificado que el COVID-19 causa infección del tracto respiratorio inferior, por lo que la vitamina C podría ser una de las opciones eficaces para el tratamiento de COVID-19.

Vitamina D

La vitamina D no es sólo un nutriente, sino también una hormona, que se puede sintetizar en nuestro cuerpo con la ayuda de la luz solar. Además de su papel en el mantenimiento de la integridad ósea, también estimula la maduración de muchas células, incluidas las células inmunitarias. Se ha informado que un alto número de adultos sanos tiene bajos niveles de vitamina D, principalmente al final de la temporada de invierno. Las personas que están en casa, o institucionalizadas y las que trabajan por la noche pueden tener deficiencia de vitamina D, al igual que muchos ancianos, personas que tienen una exposición limitada a la luz solar. El COVID-19 se identificó por primera vez en el invierno de 2019 y en su mayoría afectó a personas de mediana edad a personas de edad avanzada. Las personas infectadas por el virus podrían tener suficiente vitamina D. Además, se había notificado que la disminución del estado de vitamina D en los terneros causaba la infección del coronavirus bovino. Por lo tanto, la vitamina D podría funcionar como otra opción terapéutica para el tratamiento de este nuevo virus.

Vitamina E

La vitamina E es una vitamina soluble en lípidos e incluye tocoferoles y tocotrienols. La vitamina E desempeña un papel importante en la reducción del estrés oxidativo a través de la unión a los radicales libres como antioxidante. Se ha

informado de que la deficiencia de vitamina E intensifica la lesión miocárdica de la infección por coxsackievirus B3 (una especie de virus de ARN) en ratones y aumento de la virulencia del coxsackievirus B3 en ratones debido a la deficiencia de vitamina E o selenio. Además, la disminución del estado de vitamina E y D en los terneros también causó la infección del coronavirus bovino.

Ácidos grasos poliinsaturados Omega 3

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga son importantes mediadores de la inflamación y las respuestas inmunitarias adaptativas. Los PUF Omega-3 y omega 6 que promueven predominantemente los efectos antiinflamatorios y proinflamatorios. Son precursores de resolvins/protectins y prostaglandinas/leucotrienos, respectivamente. Begin et al han estudiado los niveles plasmáticos de lípidos en pacientes con SIDA y habían encontrado que una falta selectiva y específica de los PUFA de cadena larga de la serie omega 3, que se encuentran en altas concentraciones en aceites de pescado. Además, la protección en D1, el mediador de lípidos derivado de la PUFA omega-3, podría atenuar notablemente la replicación del virus de la gripe a través de la maquinaria de exportación de ARN. Además, el tratamiento de protectin D1 con peramivir podía rescatar completamente a los ratones de la mortalidad por gripe. Leu et al habían encontrado que varias PUFA también tenían actividades contra la hepatitis C (VHC). Por lo tanto, Omega-3 incluyendo protectin D1, que sirvió como un nuevo medicamento antiviral, podría ser considerado para una de las posibles intervenciones de este nuevo virus, COVID-19.

Selenio

El selenio es un oligoelemento esencial para la biología redox de mamíferos. El estado nutricional del huésped desempeña un papel muy importante en la defensa contra las enfermedades infecciosas. La deficiencia nutricional afecta no sólo la respuesta inmunitaria sino también la viral patógeno en sí. La deficiencia de selenio en la

dieta causa estrés oxidativo en el huésped y puede alterar el genoma viral de modo que un virus normalmente benigno o ligeramente patógeno puede llegar a ser altamente virulento en el huésped deficiente bajo condiciones de estrés oxidativo. La deficiencia de selenio también induce no sólo deterioro del sistema inmunitario huésped, sino también la rápida mutación de variantes benignas de virus de ARN a la virulencia.³⁷ Beck et al³⁸ habían informado de que la deficiencia de selenio no sólo podría aumentar el daño patológico en una infección por el virus de la gripe, sino también cambios en el genoma del coxsackievirus, permitiendo que un virus avirulento adquiriera virulencia debido a la mutación genética. Es porque el selenio podría ayudar a un grupo de enzimas que, en conjunto con la vitamina E, trabajan para prevenir la formación de radicales libres y prevenir daño oxidativo a las células y tejidos. Se informó que el efecto sinérgico del selenio con saponinas de hoja de tallo de ginseng podría inducir la respuesta inmune a una vacuna contra coronavirus en pollos. Por lo tanto, la suplementación de selenio podría ser una opción eficaz para el tratamiento de este nuevo virus de COVID-19.

Zinc

El zinc es un oligoelemento que puede ser ingerido en la dieta y es importante para el mantenimiento y desarrollo de las células del sistema inmunitario innato y adaptativo. La deficiencia de zinc da lugar a la disfunción de la inmunidad humoral y mediada por células y aumenta la susceptibilidad a enfermedades infecciosas. El suplemento de zinc administrado a niños con deficiencia de zinc podría reducir la morbilidad y mortalidad relacionadas con el sarampión causadas por infecciones del tracto respiratorio inferior. Aumentar la concentración de zinc intracelular con zinc-ionoforo puede perjudicar eficientemente la replicación de una variedad de virus de ARN. Además, la combinación de zinc y piritiona a bajas concentraciones inhibe la replicación del coronavirus del SRAS (SARS-CoV). Por lo tanto,

el suplemento de zinc puede tener efecto no sólo en los síntomas relacionados con COVID-19 como diarrea e infección del tracto respiratorio inferior, pero también en el propio COVID-19.

Hierro

El hierro es necesario tanto para el huésped como para el patógeno y la deficiencia de hierro puede afectar la inmunidad del huésped, mientras que la sobrecarga de hierro puede causar estrés oxidativo para propagar mutaciones virales dañinas. La deficiencia de hierro se ha notificado como un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones de las vías respiratorias.

Inmunomoduladores

Interferones

Los interferones (IFN) se han dividido en interferones de tipo I y tipo II. Como miembro de IFN Tipo I, se produce muy rápidamente como parte de la respuesta inmune innata a la infección por el virus. El IFN- α inhibe la replicación de los coronavirus animales y humanos. La investigación in vitro también demostró que los interferones de tipo I, incluido el IFN, podrían inhibir la replicación del SARS-CoV.⁴⁹ Sin embargo, se informó que el interferón no poseía actividad antiviral contra el coronavirus del SRAS.⁵⁰ Kuri et al informaron además que la transcripción de IFN estaba bloqueada en células tisulares infectadas con SARS-CoV y las células fueron capaces de restaurar parcialmente su capacidad de respuesta inmune innata a SARS-CoV después de cebar con pequeñas cantidades de IFN. Además, Tan et al habían probado la inhibición de la infección por coronavirus del SRAS in vitro con medicamentos antivirales clínicamente aprobados. Encontraron que la inhibición completa de los efectos citopáticos del virus se observó con subtipos específicos (1b, n1, n3, y interferón de leucocitos humanos) en el cultivo. Haagmans et al también informaron in vivo que pegilaron IF-2b, a medicamentos registrados para la hepatitis C crónica, podría contra la infección por coronavirus del SRAS en monos (macacos). El medicamento dado a los 3 días antes de la infección podría reducir la

replicación viral y el daño pulmonar en comparación con los monos de control. También fue considerado como un medicamento candidato para la terapia del SRAS en ese momento y la eficacia de la IFN recombinante sintética para el El tratamiento de los pacientes con SRAS se demostró en un ensayo clínico piloto. Además, también se ha encontrado que los interferones son inhibidores potentes de la replicación de MERS-CoV. Además, la combinación de interferón-2a con ribavirina se administró a los pacientes a los pacientes con infección grave por MERS-CoV y se mejoró la supervivencia de estos pacientes. Estos hallazgos sugieren que estos IFN aprobados también podrían utilizarse para el tratamiento de este nuevo coronavirus. El IFN alpha 2 B recombinante cubano ha mostrado seguridad y eficacia en el tratamiento del SARS-Cov-2.

Gammaglobulina intravenosa

La gammaglobulina intravenosa (IVIg) se desarrolló por primera vez a finales de los años 70 y es probablemente el fármaco inmunomodulador más seguro disponible para uso a largo plazo en todas las edades. Sin embargo, tiene reacciones adversas. Durante el brote de SRAS en 2003, IVIg se utilizó ampliamente en Singapur. Sin embargo, un tercio de los pacientes en estado crítico desarrollaron tromboembolismo venoso, incluida la embolia pulmonar, a pesar del uso de profiláctico de heparina de bajo peso molecular. Se debió al aumento inducido por IVIg de viscosidad en estados de Hipercoagulabilidad en el SRAS.

Timosina alpha 1

La timosina alpha 1 (Ta1) es una hormona del péptido tímico y tiene una peculiar capacidad para restaurar la homeostasis del sistema inmunitario. Se aisló por primera vez del tejido tímico a mediados de los años sesenta y había ganado mucha atención por su actividad inmunostimulante. Fue químicamente sintetizado y utilizado en enfermedades en las que el sistema inmunitario se vio obstaculizado o deteriorado. Además de su papel en el desarrollo de timocitos, la timosina-1 también podría aumentar la

resistencia a la muerte inducida por glucocorticoides del timocito. La timosina alpha 1 también podría ser utilizado como potenciador inmune.

Thymopentin

Thymopentin (TP5, munox) es un pentapéptido sintético correspondiente al sitio activo de la timopoyetina, se ha demostrado que restaura la producción de anticuerpos en ratones viejos. Además, podría mejorar la respuesta de anticuerpos en humanos cuando se aplicó por vía subcutánea tres veces a la semana a dosis de 50 mg. Además, la timopentina también podría utilizarse como tratamiento adyuvante para no respondedores o hiporespondedores de la vacunación contra la hepatitis B.

Levamisol

Levamisol es un compuesto sintético de bajo peso molecular, es el primer miembro de una nueva clase de fármacos que pueden aumentar las funciones de la inmunidad celular en animales de laboratorio normales y sanos. Sin embargo, el levamisol puede actuar como un agente inmunostimulante o un agente inmunosupresor dependiendo de la dosificación y el tiempo. Por lo tanto, su uso clínico debe tomarse cuidadosamente. Joffe et al habían informado de que el tratamiento con levamisol y ácido ascórbico in vitro podría revertir la subpoblación deprimida de linfocitos en el sarampión. Por lo tanto, el uso de levamisol también podría considerarse para el tratamiento de COVID-19.

Ciclosporina A

La ciclosporina A es un fármaco inmunosupresor muy importante y ha sido ampliamente utilizado en el trasplante. El uso emergente de la ciclosporina A ha mejorado considerablemente las tasas de supervivencia de los pacientes y los injertos después del trasplante de órganos sólidos. La ciclosporina A también se utiliza para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios. Luo et al habían especulado que la proteína nucleocápsida (NP) de SARS-CoV jugó un papel importante en el proceso de montaje y liberación de partículas de

virus y también podría unirse a la ciclophilina humana A.

La ciclophilina A es un miembro clave de las inmunofilinas que actúa como un miembro celular receptor de ciclosporina A. La ciclofilina A ha desempeñado un papel importante en la infección viral que facilita o inhibe su replicación. Además, la inhibición de las ciclofilinas por la ciclosporina A podría bloquear la replicación del coronavirus de todos géneros, incluidos el SARS-CoV, así como el virus de la bronquitis infecciosa aviar. Por lo tanto, los derivados no inmunosupresores de la ciclosporina A podrían servir como inhibidores del coronavirus de amplio alcance aplicables contra el virus emergente como COVID-19.

Medicina Tradicional China

Glycyrrhizin es un componente activo de las raíces de regaliz en la medicina china. Cinatl et al habían informado de que glicirrhizin podía inhibir la replicación del virus asociado al SRAS in vitro y ya se había sugerido como una opción alternativa para el tratamiento del SRAS en ese momento.

Baicalin, otra hierba china, es un flavonoide que está aislado de *Radix Scutellaria*. También se encontró que Baicalin tenía la capacidad de inhibir el SARS-CoV in vitro.

Las saponinas de la hoja de tronco de Ginseng podrían mejorar altamente las respuestas de anticuerpos específicos para el virus de la enfermedad de Newcastle y el virus de la bronquitis infecciosa. Por lo tanto, también podrían ser consideradas como una opción para mejorar la inmunidad del huésped contra la infección de COVID-19.

NUEVAS EVIDENCIAS DE TRATAMIENTOS ESPECIFICOS SUGERIDOS COMO OPCION TERAPEUTICA CONTRA EL CORONAVIRUS⁵¹

Inhibidores de las proteasas:

Inhibidores de las proteasas del Coronavirus

1.1. Chymotrypsin-like (3C-like) inhibitors

1.1.1. Cinanserin

1.1.2. Flavonoids

1.2. Papain-like protease (PLP) inhibitors

1.2.1. Diarylheptanoids

2. Spike (S) protein-angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) blockers

2.1. Human monoclonal antibody (mAb)

2.2. Chloroquine

2.3. Emodin

2.4. Promazine

2.5. Nicotianamine

La cinanserin, un medicamento antiguo, es bien conocida por el antagonista de los receptores de serotonina. Podría inhibir la proteasa similar a la 3 quimotripsina (3C-como) y era un inhibidor prometedor de la replicación de SARS-CoV. El 3LLpro también se encontró codificado en COVID-19. Por lo tanto, cinanserin puede ser una opción para el tratamiento de la infección COVID-19.

Los flavonoides son una clase importante de productos naturales y tienen varios subgrupos. Los flavonoides tienen muchas funciones además de efectos antioxidantes y también tienen capacidades antivirales. Shimizu et al habían encontrado que los flavonoides de *Pterogyne Nitens* podrían inhibir la entrada del virus de la hepatitis C. Jo et al habían sugerido que la actividad anticoronavirus de algunos flavonoides (*Herbacetina*, *rhoifolin* y *pectolarina*) se debía a la inhibición de la proteasa similar a 3C (3CLpro). Otros flavonoides (*Herbacetina*, *isobavachalcone*, *quercetina 3o-glucósido* y *helicrisetina*) también fueron capaces de bloquear la actividad enzimática de MERS-CoV/3CLpro. Además, Ryu y al habían informado que los biflavonoides de *Torreyia nucifera* también trajeron un efecto de inhibición de SARS-CoV.

La proteasa papaína like (PLP) del coronavirus humano es una nueva deubiquitinasa codificada viralmente y es un antagonista de IFN para la inhibición de la respuesta inmunitaria antiviral innata del huésped.

Diarylheptanoids es un producto natural y se extrae de la corteza del tallo de *Alnus japonica*. Se había encontrado que era capaz de inhibir la proteasa similar a la papaína de SARS-CoV. Por lo tanto, la cinanserina junto con flavonoides y otros compuestos naturales podrían ser elegidos como opciones alternativas para combatir la infección COVID-19 a través de proteasas coronavirales dirigidas.

La enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es una proteína de membrana integral de tipo I que funciona como una carboxipeptidasa y es el primer homólogo humano de ACE. ACE2 hidroliza eficientemente la potente angiotensina vasoconstrictora II a la angiotensina y ha sido implicada en la patogenia de hipertensión, la insuficiencia cardíaca y la diabetes. Además, ACE2 es también un receptor funcional de SARS-CoV y media la entrada de virus en la célula a través de la unión con proteína de pico (S) glicoproteína superficial, y es responsable de la unión a los receptores celulares. Además, la proteína S media la fusión de membranas virales y anfitrionas. Zhou y otros informaron que COVID-19 utilizó ACE2 como único receptor para la entrada, pero no utilizó otros receptores de coronavirus, aminopeptidasa N y dipeptidil peptidasa, para la entrada. El bloqueo de la unión de la proteína S a ACE2 es importante para el tratamiento de la infección por SARS-CoV.

Sui et al habían encontrado un anticuerpo monoclonal humano recombinante (mAb) (fragmentos de región variable de cadena única, scFvs 80R) contra el dominio S1 de la proteína S de SARS-CoV de dos bibliotecas de anticuerpos humanos no inmunes. El mAb podría neutralizar eficientemente SARS-CoV e inhibir la formación de sincitios entre las células que expresan la proteína S y las que expresan el receptor SARS-CoV ACE2.

La cloroquina es una aminoquinolina de 9 euros conocida desde 1934. Aparte de sus conocidos efectos antipalúdicos, el fármaco también tiene muchas propiedades bioquímicas interesantes, incluyendo efecto antiviral. Además, se había

utilizado antes contra la infección viral. También se encontró que la cloroquina es un potente inhibidor de la infección por coronavirus del SRAS a través de la interferencia con ACE2, uno de los sitios de unión a la superficie celular para la proteína S de SARS-CoV.

Emodin es un compuesto de antraquinona derivado del género *Rheum* y *Polygonum* y también es un agente virucida.⁹² Emodin puede bloquear significativamente la interacción entre la proteína S de SARS-CoV y ACE2. Por lo tanto, la emodina podría abolir la infección SARS-CoV compitiendo por el sitio de unión de la proteína S con ACE2.

Promazine, droga antipsicótica, comparte una estructura similar con emodin. Se ha encontrado que exhiben un efecto significativo en la inhibición de la replicación de SARS-CoV. En comparación con la emodina, promazine exhibió una potente inhibición de la unión de la proteína S a ACE2. Estos hallazgos sugirieron que la emodina y la promazina podrían ser capaces de inhibir la infectividad SARS-CoV mediante el bloqueo de la interacción de la proteína S y ACE2. Por lo tanto, el anticuerpo monoclonal (scFv80R), la cloroquina, la emodina y la promazina podrían utilizarse como opciones alternativas para el tratamiento de COVID-19.

La nicotiramina es un importante ligando metálico en las plantas y se encuentra un nuevo inhibidor de la enzima que convierte la angiotensina en la soja. Por lo tanto, es otra opción potencial que se pudiera utilizar para reducir la infección de COVID-19.

Fármacos antivirales

- 1.1. Ribavirin
- 1.2. Lopinavir (LPV)/ritonavir (RTV) (Kaletra)
- 1.3. Remdesivir
- 1.4. Nelfinavir
- 1.5. Arbidol
- 1.6. Nitric oxide

Otros compuestos

α -Lipoic acid

Estradiol and phytoestrogen

Mucroporin-M1

La ribavirina, un agente antiviral de amplio espectro, se utiliza habitualmente para tratar la hepatitis C. Durante el brote de SRAS, ribavirina se utilizó ampliamente para la mayoría de los casos con o sin uso concomitante de esteroides en Hong Kong. Sin embargo, hubo un considerable escepticismo del extranjero y expertos locales sobre la eficacia de ribavirina. Debido a que un informe mencionó que la ribavirina no tenía ninguna actividad significativa contra sarS-CoV in vitro y se encontró que el uso de ribavirina estaba asociado con toxicidad significativa, incluida la hemólisis (en 76%) y la disminución de la hemoglobina (en 49%). Sin embargo, Morgenstern et al habían informado de que la ribavirina y el interferón inhibían sinérgicamente la replicación del coronavirus asociado al SRAS en líneas celulares animales y humanas. En vista de las reacciones adversas y la falta de eficacia in vitro, se debe considerar seriamente el uso de ribavirina para el tratamiento de COVID-19, incluso en combinación con otros medicamentos antivirales. La combinación de lopinavir con ritonavir se utiliza ampliamente como un inhibidor de la proteasa potenciado en el tratamiento de la infección por VIH. Lopinavir (LPV) se combina generalmente con ritonavir (RTV) para aumentar la vida media a través de la inhibición del citocromo P450. Chu et al han encontrado que el uso de LPV/RTV con ribavirina en el tratamiento del SRAS se asoció con un mejor resultado. Kim et al también habían reportado un caso exitoso de enfermedad de MERS-CoV tratada con terapia de triple combinación LPV/RTV, ribavirina e IFN-2a en Corea del Sur. Con respecto a este nuevo virus, COVID-19, la terapia de triple combinación de Kim debe considerarse como una opción en la etapa temprana de la enfermedad.

Remdesivir (RDV), un análogo de nucleósidos

GS-5734, se había divulgado para inhibir el coronavirus humano y zoonótico in vitro y para restringir el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV) in vivo. Recientemente, se encontró que la actividad antiviral de RDV e IFN es superior a la de LPV/RTV-IFN contra MERS-CoV in vitro e in vivo. Además, rdv podría mejorar la función pulmonar y reducir las cargas virales pulmonares y la patología pulmonar grave en ratones, lo que era imposible para LPV/RTV-IFN. Recientemente, un primer COVID-19 caso infectado se informó en los Estados Unidos y el uso de remdesivir se administró cuando el estado clínico del paciente estaba empeorando. Por lo tanto, el uso de RDV con IFN podría ser una mejor opción para el tratamiento de COVID-19 en comparación con el de la combinación triple de LPV/RTV-IFN. Sin embargo, todavía se necesitan más ensayos aleatorios y controlados para determinar la seguridad y eficacia de remdesivir.

Nelfinavir es un inhibidor selectivo de la proteasa del VIH, que es responsable del procesamiento posttranslacional de los péptidos del VIH. Yamamoto et al habían encontrado que nelfinavir podría inhibir fuertemente la replicación del SARS-CoV. Por lo tanto, nelfinavir también podría ser una opción para el tratamiento de COVID-19.

Arbidol (ARB) es una pequeña molécula derivada del indole de fabricación rusa y está autorizada en Rusia y China para la profilaxis y el tratamiento de la gripe y otras infecciones virales respiratorias. Se había encontrado que Arbidol era capaz de bloquear la fusión viral contra la gripe A y los virus B, así como el virus de la hepatitis C. Arbidol también podrían inhibir el virus de la hepatitis C bloqueando la entrada y replicación del virus de la hepatitis C in vitro. Además, se había informado de que arbidol y sus derivados, el mesilato de arbidol, tenían actividad antiviral. contra el patógeno del SRAS en los cultivos celulares y el mesilato de arbidol fue casi 5 veces más eficaz que el arbidol para

reducir la reproducción del virus del SRAS en las células cultivadas.

El óxido nítrico (NO) es un gas con diversas actividades biológicas y se produce a partir de la arginina por NO sintetasa. NO es capaz de interactuar con el superóxido, formando peroxinitrito, que, a su vez, puede mediar reacciones bactericidas o citotóxicas. Además, NO había desempeñado un papel importante en la regulación de la función de las vías respiratorias y en el tratamiento de enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias. Rossaint et al informaron que los efectos beneficiosos de NO inhalación podrían observarse en la mayoría de los pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda grave. No se encontró para inhibir la síntesis de proteína sorcción y ARN. Por otra parte, Akerstrom et al habían informado de que el donante orgánico NO, S-nitroso-N-acetilnicilamina, podría inhibir significativamente el ciclo de replicación de SARS-CoV en una concentración manera dependiente. Por lo tanto, la inhalación NO podría elegirse como una opción para el tratamiento de pacientes gravemente infectados por COVID-19.

El ácido lipoico (ALA), un compuesto de disulfuro natural, actúa como una coenzima celular y se ha aplicado para el tratamiento de las polineuropatías y trastornos hepáticos durante años (Tabla 3).¹¹⁷ ALA, como antioxidante, ha desempeñado un papel fundamental en el barrido libre radicales para proteger contra el daño oxidativo en varias enfermedades. Además, ALA también tuvo su capacidad para mejorar los niveles de glutatión intracelular (GSH) y para normalizar el estrés oxidativo inducido por Dexametasona en pollo. Wu et al también informó que el estrés oxidativo en las células huésped era un factor importante en la infectividad del coronavirus humano 229E y la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) fue otro factor que mejoró la infección del coronavirus humano 229E. La adición de ácido lipoico a las células G6PD podría atenuar

la mayor susceptibilidad a la infección por coronavirus humano 229E. Curiosamente, Baur et al también encontraron que el ácido lipoico era eficaz para inhibir la replicación del VIH-1. En resumen, ALA también podría utilizarse como una terapia opcional para este nuevo virus.

Las mujeres en general, muestran respuestas inmunitarias más robustas a los desafíos virales que los hombres, lo que puede resultar en una eliminación más eficiente del virus. Los estudios epidemiológicos mostraron que los hombres experimentan una mayor tasa de incidencia y muerte en caso en comparación con mujeres después de la infección por SARS-CoV. Durante el brote de MERS, la tasa de incidencia de la enfermedad en los hombres fue casi el doble que en las mujeres y la tasa de mortalidad del caso fue la misma que la tasa de incidencia entre hombres y mujeres. Además, Channappanavar et al describió que los ratones machos eran más susceptibles a la infección por SARS-CoV en comparación con los ratones hembra emparejados con la edad. Sin embargo, la mortalidad aumentó en ratones hembra cuando se hizo se administró el antagonista del receptor de estrógeno. Wei et al también encontraron que los niveles séricos de prolactina, hormona folículo-estimulante y hormona luteinizante de pacientes con SRAS eran significativamente más altos que los de los grupos de control, mientras que el estradiol (E2), la hormona del embarazo y la hormona estimulante de la tiroides fueron considerablemente más bajos que los de los controles normales. Curiosamente, se había encontrado compuestos estrogénicos para reducir la replicación del virus de la gripe A en células epiteliales nasales humanas primarias derivadas de mujeres, pero no de donantes masculinos. Además, el resveratrol, un fitoestrógeno de semillas de uva y vino tinto, había sido un potente agente antiMERS in vitro. Por lo tanto, el fitoestrógeno también podría ser una opción alternativa a tener en cuenta para el tratamiento de COVID-19.

Mucroporin-M1 es un péptido derivado del

veneno de escorpión y tiene actividad de amplio espectro contra muchos virus, incluyendo sarampión, virus de la gripe H5N1 y SARS-CoV. Por lo tanto, este péptido también podría utilizarse para el tratamiento de la infección COVID-19 como así como el nuevo diseño de fármacos para apuntar a COVID-19.

No cabe dudas que existen numerosas opciones terapéuticas y que la ciencia tiene en sus manos el futuro de esta pandemia.

Conclusión

La enfermedad causada por el SARS-Cov-2, a pesar de su alta mortalidad, puede ser prevenida con aislamiento, diagnosticada oportunamente y tratada con efectividad, lo cual permitirá disminuir su impacto epidemiológico a nivel mundial. Existe un potencial arsenal terapéutico en fase de experimentación con resultados prometedores.

Referencias bibliográficas

- 1- Zhou, P, Yang, XL, Wang, XG, Hu, B, Zhang, L, Zhang, W. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. nature.com; 2020;
- 2- Wang, M, Cao, R, Zhang, L, Yang, X, Liu, J, Xu, M, Shi, Z. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*. nature.com; 2020;
- 3- Chen, H, Guo, J, Wang, C, Luo, F, Yu, X, Zhang, W, Li, J. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *The Lancet*. Elsevier; 2020;
- 4- Xu, Z, Shi, L, Wang, Y, Zhang, J, Huang, I. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet respiratory*. thelancet.com; 2020;
- 5- Yang, X, Yu, Y, Xu, J, Shu, H, Liu, H, Wu, Y, Zhang, L. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2

pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory*. Elsevier; 2020;

6- Zou, L, Ruan, F, Huang, M, Liang, L. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *England Journal of Medicine*. Mass Medical Soc; 2020;

7- Xu, XW, Wu, XX, Jiang, XG, Xu, KJ, Ying, LJ, Ma, CL, Li, SB. Clinical findings in a group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-Cov-2) outside of Wuhan, China: retrospective case series. *Bmj*. bmj.com; 2020;

8- Liang, W, Guan, W, Chen, R, Wang, W, Li, J, Xu, K. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *The Lancet*. thelancet.com; 2020;

9- Young, BE, Ong, SWX, Kalimuddin, S, Low, JG, Tan, SY. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *Jama*. jamanetwork.com; 2020;

10- Letko, M, Marzi, A, Munster, V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature microbiology*. nature.com; 2020;

11- Organization, World Health. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020. *apps.who.int*; 2020;

12- Yeo, C, Kaushal, S, Yeo, D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible?. *The Lancet Gastroenterology & ...*. thelancet.com; 2020;

13- Kim, JY, Ko, JH, Kim, Y, Kim, YJ, Kim, JM, Viral Load Kinetics of SARS-CoV-2 Infection in First Two Patients in Korea. *Journal of Korean ...*. synapse.koreamed.org; 2019;

14- Favre, G, Pomar, L, Qi, X, Nielsen-Saines, K. Guidelines for pregnant women with suspected SARS-CoV-2 infection. *The Lancet Infectious ...*. thelancet.com; 2020;

15- Gorbalenya, AE, Baker, SC, Baric, RS. The species Severe acute respiratory syndrome-related

- coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020;
- 16- Walls, AC, Park, YJ, Tortorici, MA, Wall, A, McGuire, AT. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. Elsevier; 2020;
- 17- Perkins, A, Cavany, SM, Moore, SM, Oidtmann, RJ, Estimating unobserved SARS-CoV-2 infections in the United States. *medRxiv*. medrxiv.org; 2020;
- 18- Hu, Y, Lisha, S, Zheming, XU, Zhou, J, Zhou, H. SARS-CoV-2 May Persist in Digestive Tract Longer than Respiratory Tract. preprints.org; 2020;
- 19- Huang, R, Xia, J, Chen, Y, Shan, C, Wu, C. A family cluster of SARS-CoV-2 infection involving 11 patients in Nanjing, China. *The Lancet Infectious* thelancet.com; 2020;
- 20- Cardioangiologica, M. SARS-CoV-2 and COVID-19: facing the pandemic together as citizens and cardiovascular practitioners. *Minerva Cardioangiologica*. researchgate.net; 2020;
- 21- Yu, J, Ouyang, W, Chua, MLK, Xie, C. SARS-CoV-2 transmission in cancer patients of a tertiary hospital in Wuhan. *medRxiv*. medrxiv.org; 2020;
- 22- Hodcroft, EB. Preliminary case report on the SARS-CoV-2 cluster in the UK, France, and Spain. preprints.org; 2020;
- 23- Ghinai, I, McPherson, TD, Hunter, JC, Kirking, HL First known person-to-person transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in the USA. *The Lancet*. Elsevier; 2020;
- 24- Xu, Y, Li, Y, Zeng, Q, Lu, Z, Li, Y, Wu, W, Dong, S, Huang, G,. Clinical characteristics of SARS-CoV-2 pneumonia compared to controls in Chinese Han population. *medRxiv*. medrxiv.org; 2020;
- 25- Jung, YJ, Park, GS, Moon, JH, Ku, K, Beak, SH, Kim, S, Comparative analysis of primer-probe sets for the laboratory confirmation of SARS-CoV-2. *bioRxiv*. biorxiv.org; 2020;
- 26- Xu, Y, Li, X, Zhu, B, Liang, H, Fang, C, Gong, Y, Guo, Q. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nature Medicine*. nature.com; 2020;
- 27- Qamar, MT ul, Alqahtani, SM, Alamri, MA, Chen, LL. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. preprints.org; 2020;
- 28- Wu, C, Liu, Y, Yang, Y, Zhang, P, Zhong, W, Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Pharmaceutica Sinica B*. Elsevier; 2020;
- 29- Ton, AT, Gentile, F, Hsing, M, Ban, F, Rapid Identification of Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease by Deep Docking of 1.3 Billion Compounds. *Molecular*. Wiley Online Library; 2020;
- 30- Ko, WC, Rolain, JM, Lee, NY, Chen, PL. Arguments in favor of remdesivir for treating SARS-CoV-2 infections.. *International journal ncbi.nlm.nih.gov*; 2020;
- 31- Kim, S, Kim, DM, Lee, B. Insufficient sensitivity of RNA dependent RNA polymerase gene of SARS-CoV-2 viral genome as confirmatory test using Korean COVID-19 cases. preprints.org; 2020;
- 32- Han, H, Yang, L, Liu, R, Liu, F, Wu, K, Li, J, Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection. *Clinical Chemistry and degruyter.com*; 2020;
- 33- Chen, YW, Yiu, CPB, Wong, KY. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CL pro) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing F1000Research.ncbi.nlm.nih.gov; 2020;
- 34- Cheng, VCC, Wong, SC, Chen, JHK, Yip, CCY, Escalating infection control response to the rapidly evolving epidemiology of the Coronavirus disease 2019 (COVID-19) due to SARS-CoV-2 in Hong Kong. *Infection Control & cambridge.org*; 2020;
- 35- Lin, S, Shen, R, He, J, Li, X, Guo, X. Molecular Modeling Evaluation of the Binding Effect of Ritonavir, Lopinavir and Darunavir to

- Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Proteases. *bioRxiv. biorxiv.org*; 2020;
- 36- Marchand-Senécal, X, Kozak, R. Diagnosis and Management of First Case of COVID-19 in Canada: Lessons applied from SARS. *Clinical Infectious. academic.oup.com*; 2020;
- 37- Petersen, E, Hui, D, Hamer, DH, Blumberg, L, Li Wenliang, a face to the frontline healthcare worker? The first doctor to notify the emergence of the SARS-CoV-2,(COVID-19), outbreak. *International Journal of ... ijidonline.com*; 2020;
- 38- Lokugamage, KG, Hage, A, Schindewolf, C, Rajsbaum, R.. SARS-CoV-2 sensitive to type I interferon preatment.. *bioRxiv. biorxiv.org*; 2020;
- 39- Roussel, Y, Giraud-Gatineau, A, Jimeno, MT, . SARS-CoV-2: fear versus data. *International Journal of ... Elsevier*; 2020;
- 40- Hsu, LY, Chia, PY, Lim, JFY. The Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Epidemic. *annals.edu.sg*.
- 41- Kim, D, Lee, JY, Yang, JS, Kim, JW, Kim, VN, Chang, H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *bioRxiv. biorxiv.org*; 2020;
- 42- Zhou, G, Zhao, Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int J Biol Sci. ijbs.com*; 2020;
- 43- Stoermer, MJ. Homology Models and Molecular Dynamics of SARS-CoV-2 Coronaviral Protease 3CLpro. *espace.library.uq.edu.au*; 2020;
- 44- Lu, S. Timely development of vaccines against SARS-CoV-2. *Emerging Microbes & Infections. Taylor & Francis*; 2020;
- 45- Lu, S. Timely development of vaccines against SARS-CoV-2. *Emerging Microbes & Infections. Taylor & Francis*; 2020;
- 46- Guzzi, PH, Mercatelli, D, Ceraolo, C, Giorgi, FM. Master Regulator Analysis of the SARS-CoV-2/Human interactome. *bioRxiv. biorxiv.org*; 2020;
- 47- Yuen, KS, Ye, ZW, Fung, SY, Chan, CP, Jin, DY. SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell & Bioscience. Springer*; 2020;
- 48- Wang, J, Shi, Y. Managing neonates with respiratory failure due to SARS-CoV-2–Authors' reply. *The Lancet Child & Adolescent Health. thelancet.com*; 2020;
- 49- Wang, M, Li, M, Ren, R, Brave, A, Werf, S van der, International expansion of a novel SARS-CoV-2 mutant. *medRxiv. medrxiv.org*; 2020;
- 50- Zhang, T, Wu, Q, Zhang, Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Current Biology. Elsevier*; 2020;
- 51- Zhang, L, Liu, Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *Journal of medical virology. Wiley Online Library*; 2020;
- 52- Han, W, Quan, B, Guo, W, Zhang, J, Lu, Y. The course of clinical diagnosis and treatment of a case infected with coronavirus disease 2019. ... of *medical virology. Wiley Online Library*; 2020;