



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de estudios de Posgrado

HOSPITAL ANGELES PEDREGAL

La vacunación y su impacto basado en el monitoreo de
incidencia de COVID-19 mediante prueba rápida antigénica
usada como método de tamizaje de rutina en Hospital
Ángeles Pedregal.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA
CLÍNICA

PRESENTA

Melissa Macías Espitia

Ciudad de México, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dra. Nancy Gerónimo Guevara

VOCAL: Dra. Silvia Nayeli Ahumada Zavala

SECRETARIO: Dra. Coralia Gabriela Ríos Corso

ASESOR DEL TEMA: Dra. Coralia Gabriela Ríos Corso

SUSTENTANTE:

Dra. Melissa Macías Espitia

“Un descubrimiento nunca parece estar completo”.

AGRADECIMIENTOS:

*A la Dra. Gaby:
Por su apoyo en este proyecto.*

*A mi amor y mejor amigo:
Por su apoyo incondicional, impulso y cuidados.*

*A la Química Lupita:
Por encaminar las ideas en esta tesis y proporcionar la información.*

*A mi amiga Tania:
Por motivarme con su entusiasmo.*

*A mis padres Bertha y Aurelio:
¡Infinitas gracias!*

ÍNDICE

1. Introducción	9
2. Antecedentes históricos virales	10
3. Marco teórico	
3.1 Virus y generalidades	14
3.2 Descubrimiento del genoma viral	15
3.3 Estructura del virión	17
3.4 Herramientas para el estudio de los virus	21
3.5 Ciclo infeccioso o de replicación viral	24
3.5.1 Unión, penetración y desnudamiento	25
3.5.2 Montaje y salida	27
3.6 Clasificación de los virus	29
3.6.1 Clasificación de Baltimore	30
3.7 Mecanismos de mutación	31
3.7.1 Evolución en el anfitrión	32
3.8 SARS-CoV-2	
3.8.1 Orígenes evolutivos	33
3.8.2 Biología del SARS-CoV-2	
3.8.2.1 Arquitectura del genoma CoV y del virión SARS-CoV-2	36
3.8.2.2 Entrada a las células	39
3.8.2.3 Corrección y modificación del RNA	41
3.8.3 Mecanismos inmunológicos y fisiopatología COVID-19	41
3.8.4 Vacunación	47
3.8.4.1 Seguimiento de las variantes SARS-CoV-2 por la OMS	51
3.8.4.2 Cuestiones generales de eficacia	52
3.8.4.3 Impacto en el riesgo de transmisión	52
3.8.4.4 Pfizer y Moderna	53
3.8.4.5 Janssen/Johnson & Johnson	53
3.8.4.6 AstraZeneca	53
3.8.4.7 CanSino Biologics	54
3.8.4.8 Sputnik V	54
3.8.4.9 Sinovac	54
3.8.5 Método diagnóstico- Prueba rápida antigénica	55
4. Objetivo	57
5. Planteamiento del problema	58

6. Justificación	59
7. Material y Métodos	60
8. Análisis estadístico	62
9. Hipótesis	74
10. Discusión	75
11. Conclusión	79
12. Bibliografía	80

EQUIVALENCIAS

1 nm= 10^{-9} m ó milmillonésima parte de un metro o millonésima parte de un mm

1 m /1000= 1 mm

1 mm/1000= 1 micra

1 micra/1000= 1 nm

1 Å= 0.1 nm o 10^{-10} m

DNA mide 2 nm de diámetro

Ribosoma mide 20-25 nm de diámetro

DEFINICIONES

*Afinidad: Fuerza de interacción entre un ligando y su receptor resultado de la suma de fuerzas de atracción y repulsión entre ambos. En las interacciones de baja afinidad, las fuerzas de repulsión entre el ligando y receptor son las que predominan debido a que la complementariedad entre ellos es mala y en las de alta afinidad en su mayoría son fuerzas de atracción.

*Angstrom: Unidad de longitud que equivale a la diez mil millonésima parte de un metro, usada para distancias moleculares, atómicas, longitudes de onda.

*Avidéz: Suma de afinidades individuales generando una fuerza de unión global entre receptor-ligando y va a depender del número de sitios de unión entre ambos

*Cap: Nucleótido modificado que se añade al extremo 5' de una cadena de RNAm creciente y que es necesario, para su procesamiento normal, estabilidad y traducción ya que desde el momento de inicio de su síntesis, el transcrito naciente está expuesto a la presencia de nucleasas.

*Cápside: Proteínas de envoltura que rodean el genoma. Es un caparazón protéico que rodea directamente el material genético viral, protegiéndolo de la degradación.

*Capsómero: Componente de la cápside construido de varias moléculas protéicas idénticas. Se observan como acúmulos o agrupaciones en la superficie del virión.

*Célula permisiva: Aquella que admite la producción de partículas de virus progenie, transformación viral o ambas cosas

*Célula no permisiva: No admite la replicación del virus, pero puede permitir la transformación de la célula.

*Cepa: Virus que ha sido caracterizado desde el punto de vista genético y de características

*Ciclo lisogénico: Penetración del virión en la célula hospedera, sin producir nuevas partículas viricas completas.

*Ciclo lítico: Destrucción de la célula parasitada, secundaria a la generación de

nuevos viriones por la maquinaria replicativa del hospedero para su liberación. La sola destrucción de tejido por la replicación puede llevar a daño tisular y falla orgánica por lesión de tejido noble.

*Desnudamiento: Liberación del genoma del virión dentro del citoplasma

*Dominio: Región específica de una proteína con ciertas características en secuencia de aminoácidos que desarrolla una función y que se corresponde con un segmento de ADN específico.

*Ectodominio: Dominio de una proteína integral de la membrana plasmática que queda del lado extracelular.

*Efectos citopáticos: cambios morfológicos celulares, seguidos de lisis de las células infectadas. Sus características son cambios morfológicos de organelos, en el núcleo (cuerpos de inclusión, engrosamiento, marginación de la cromatina), citoplasma (cuerpos de inclusión, vacuolas) y membranas (cel. redondeadas, fusión celular-sincitios, lisis celular-desintegración).

*Envoltura (membrana viral): Bicapa lipídica derivada de la célula hospedera y asociada con las glicoproteínas. Se encuentra alrededor de la nucleocápside.

*Micro-ARN: segmento corto de ARN monocatenario transcrito a partir de ADN, pero que no se traducen a proteínas, sin embargo son microrreguladores de la expresión génica en procesos fisiológicos.

*Nucleocápside (core): Conjunto de proteínas y ácidos nucleicos. Término reservado a partículas virales complejas

*ORF: secuencia de ARN que es capaz de codificar proteínas y que está comprendida entre un codón de inicio hasta uno de terminación.

*Penetración: Entrada del virión al citoplasma

*Periodo de eclipse: Lapso transcurrido entre la desaparición de los viriones en el medio circundante, desnudación, liberación intracelular del genoma, sin aparición de nuevos viriones al interior de la célula.

*Periodo de latencia: Comprende desde la captación de viriones hasta la aparición del primer nuevo virión en la célula sin presencia de virus en el medio circundante.

patogénicas.

*Primer/cebador: Secuencia corta de nucleótidos, complementaria de una de las hebras del ADN molde a partir de la cual la ADN polimerasa incorporará nuevos desoxirribonucleótidos para la síntesis de una nueva cadena de DNA.

*Priones: Partículas proteicas modificadas desde una proteína normal de la membrana celular de la neurona. Se multiplican transformando proteínas normales en infecciosas. Ambos tipos de proteínas están compuestas por la misma secuencia de aminoácidos, pero se diferencian en la estructura tridimensional.

*Promotor: Región de ADN proximal a un gen, en la que proteínas relevantes

como la ARN polimerasa y factores de transcripción se unen para iniciar la transcripción de ese gen. Es la región en la que elementos reguladores (ya sea para mejorar o reprimir) se unen para obtener RNA transcrito (RNAm).

- *Provirus: ADN viral integrado en el genoma de una célula huésped o de un ex huésped. Ayuda a identificar si un determinado virus infectó a organismos celulares que actualmente no infectan.
- *Splicing (corte y empalme): Los intrones son escindidos del transcripto de ARNm primario y los exones se unen para generar un ARN maduro
- *Subunidad proteica: Es una cadena polipeptídica única, plegada.
- *Templado: Hebra de DNA dúplex que actúa como molde para la transcripción.
- *Unidad estructural: Unidad base para la construcción de la cápside o nucleocápside. Corresponde a la colección de varias subunidades proteicas (protómero) que se unen para conformar un bloque de ensamblaje mayor denominado capsómero.
- *Variante: Virus cuyo fenotipo difiere de la cepa original, pero que su estructura genética no es conocida.
- *Virión: Partícula viral completa o madura e infecciosa.
- *Viroide: Moléculas de RNA monocatenario y circular, sin cápside. Su RNA no funciona como mensajero ni tampoco contiene información para traducirlo a enzimas que participen en su replicación por lo que dependen totalmente del metabolismo de la célula hospedera para su replicación.

INTRODUCCIÓN

Los virus han estado entre nosotros desde tiempos memorables. Existe la hipótesis que los organismos fueron primero RNA y los únicos que en el mundo actual conservan ese genoma son los virus, convirtiéndose en las reliquias mejor adaptadas.

Es este alto éxito de adaptación y de mutación que confieren al virus la habilidad de parásito mejor capacitado para coexistir con su huésped por generaciones.

A lo largo de este trabajo, se hablará primero de generalidades virales, la historia desde el conocimiento de su existencia que nos permitió llegar a la disciplina de virología actual, los procesos de invasión celular para posteriormente adentrarnos en el virus responsable de la última pandemia del siglo, conociendo un poco de los avances biológico moleculares del mismo que han permitido la implementación de terapéutica profiláctica para estimular la inmunidad.

Por último, hablaremos de la prueba rápida antigénica como método de tamizaje, prueba que a pesar de no tener la misma sensibilidad que la técnica estándar de oro RTqPCR, posee ventajas que superan esta limitación, especialmente cuando la PCR no está disponible o cuando un tiempo de respuesta excesivo impiden utilidad clínica.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

En este apartado se plasman los momentos históricos que sentaron precedentes para la investigación en virología y su crecimiento como ciencia que al día de hoy, gracias a la secuenciación de próxima generación y análisis metagenómico es posible la identificación de nuevos virus.

En algunas culturas y sociedades, ya se llevaba a cabo la aplicación de métodos preventivos similares a lo que posteriormente se conocería y popularizaría como “vacunación” llevada a cabo por Jenner.

En el siglo XIII, específicamente en 1717, en lo que ahora es conocido como Estambul, Lady Mary Wortley Montagnu, mujer aristócrata británica y cuyo esposo fué embajador en Estambul, fué posiblemente la primera que intenta difundir la inoculación entre la población europea como método para evitar el contagio de la viruela, posterior a observar como se practicaba en los niños en Constantinopla la extracción de la secreción de una ampolla de un paciente con viruela leve e introducida en una herida provocada en la piel de un niño sano, que desarrollaba un caso mucho más leve de viruela del que hubiera contraído por vía natural y que además quedaba inmunizado de por vida.

Lady Mary, con ayuda de un médico de la embajada inglesa, probó con su hijo y este se convirtió en el primer inglés en recibir la *variolización*.

En Inglaterra, no se le permitió promover el nuevo método, pues la iglesia consideraba era una “práctica antinatural”, por que en muchas ocasiones la inoculación causaba complicaciones, enfermedad grave y muerte.

Casi 80 años más tarde, en 1792, Edward Jenner, tomando como punto de partida la variolización y tras observar que las personas que ordeñaban vacas sufrían de lesiones vesiculares en las manos,mas no desarrollaban enfermedad, concluyó que el agente etiológico debía ser similar al que infectaba al humano. Experimentó con el hijo de su jardinero, James Philipps ,logrando una inmunización con éxito y estableciendose así un principio preventivo.

Mencionemos un poco sobre el desarrollo e inicios de la microbiología, pues aunque la virología, es ahora una disciplina científica bien establecida, es un derivado de la misma.

Anton van Leeuwenhook (1632-1723), un Holandés fabricante de lentes construyó el primer microscopio (1668) y analizando varias muestras, fue el primero en notar la existencia de partículas que no eran observables a simple vista.

El francés, Louis Pasteur (1822-1895), (también creador de la vacuna contra el virus de la rabia(1885) tras experimentar con tejido seco de cadáveres de

conejos infectados) refutó la teoría de generación espontánea, con la “*teoría de germinación*”, cambiando el concepto a que, “*los microorganismos viven y se multiplican*”.

Su experimento consistió en hervir un caldo nutritivo en un matraz con cuello en forma de S (cuello de cisne) que impedía el paso de las bacterias presentes en el aire al caldo. La no inoculación ocasionaba no proliferación.

En cuanto a su heroico avance preventivo de desarrollo de inmunización pasiva contra el virus de la rabia, no logró aislar el agente, pero intuyó que el causante de la enfermedad se escapaba por los agujeros de los filtros que usaba.

La virología comenzó con el desarrollo de filtros de porcelana y kieselgur (tierra de diatomeas) para esterilizar el material de bacterias. Charles Edouard Chamberland presentó sus filtros de porcelana en 1884 trabajando junto con Louis Pasteur y tenían porosidades graduadas desde L1 (más grueso) a L13 (más fino) (3)

Shibasaburo Kitasato había desarrollado un filtro de porcelana particularmente fino para sus estudios, junto con el alemán Robert Koch, sobre la toxina del tétanos en 1891. Koch había demostrado que se podían separar bacterias a través de la filtración de extractos y lo filtrado se encontraba libre de bacterias. (3)

Estableció una serie de pasos metodológicos conocidos como “*postulados de Koch*” aplicados a todos los agentes microscópicos y que se convirtieron en la piedra angular de la “*teoría de los gérmenes de la enfermedad*”.

Entre otros logros, Koch detectó los bacilos del carbunco (1872), tuberculosis (1882) y del cólera (1884)

Hasta este momento, teníamos el conocimiento de las bacterias, pero no de los virus.

El viaje viral, es decir, los primeros avistamientos o contacto con conocimiento de los virus comienza con la *enfermedad del mosaico del tabaco*. Fue a finales del siglo XIX (1898), en su intento por averiguar la causa dadas sus consecuencias económicas por pérdidas de sembradíos, Dimitri Iwanowski analizó por primera vez el agente causal usando filtros recientemente desarrollados. (3)

A la par, en estudios independientes e inconsciente del trabajo anterior de Iwanowski, el científico holandés Martinus Beijerinck repitió el experimento con los mismos resultados, es decir, el paso sin obstáculos del agente a través de los filtros de porcelana de Chamberland. (3)

Tomando como base los experimentos de Koch, ambos prepararon un extracto de las hojas de tabaco con la enfermedad del mosaico y notaron que el causal, había logrado atravesar el filtro, concluyendo que se había descubierto una nueva entidad biológica, además de que al incubar dicho filtrado este no sufría proliferación, dando los primeros indicios de que el nuevo agente no era capaz de crecer por si mismo. (2)

Beijerinck usó el término *contagium vivum fluidum* -“*liquido vivo infeccioso*” para su descubrimiento y lo utilizó para el título de su publicación. (2)

Las partículas virales fueron observadas por primera vez por Loeffler & Frosch en ese mismo año, usando una combinación de filtros recientemente desarrollados, desde el agente que causaba fiebre aftosa en el ganado bovino, con el propósito de encontrar una prevención o cura. (3)
Dejaron conceptos claros como el que el agente etiológico era extremadamente pequeño, no se replicaba en medios de cultivo y solo lo hacían in vivo, en sus huéspedes.

Se mejoró el diámetro de los filtros que lograron ser de 0.2 micras (una cabeza de alfiler mide 2000 micras= 2 mm)

Los filtros seguían siendo los que diferenciaban a la nueva clase de agentes infecciosos. Dado que eran “no cultivables” extracorporalmente, se hacían pruebas o experimentos de infectividad con los sueros filtrados libres de bacterias en voluntarios humanos sanos

En 1927, Rivers en su revisión incluyó un párrafo sobre cálculos de tamaño que indicaba rangos de 20 a 200 nm que es sorprendentemente preciso. Se pudieron hacer estudios más detallados después de que Theodore Svedberg desarrollara en la década de 1920 las primeras ultracentrífugas.

En la década de 1930, Ernst Ruska y colegas desarrollaron los primeros microscopios electrónicos y en 1939 visualizó con ella el virus del mosaico del tabaco. (5) Ver imagen 1

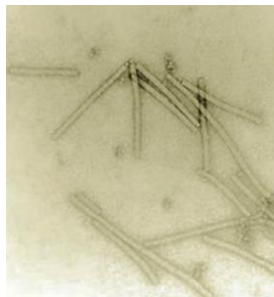


Imagen 1. Cristalización del virus del mosaico del tabaco-TMV con microscopio electrónico. Fuente: Wendell Stanley. Obra de dominio público. (2)

En años recientes, las últimas tecnologías de secuenciación se han perfeccionado y han mejorado sus costos por lo que la comunidad científica actualmente toma muestras de ambientes inhóspitos y secuencia todo material genético presente (análisis metagenómico) que posteriormente alimenta una base de datos (genoteca) para encontrar coexistencia o semejanza de organismos en diferentes nichos biológicos muy distintos.

La disciplina de virología pasó de ser experimentos individualizados en laboratorio con la intención de identificar un virus a ser actualmente una disciplina donde a través de software se analizan miles de secuencias en busca de virus.

3.MARCO TEÓRICO

3.1 VIRUS Y GENERALIDADES

Virus, proviene del latín que significa **veneno**. (11)

Virión, es una partícula completa de virus y además infecciosa que entrega el genoma viral a células huésped adecuadas.

La distinción entre ambas, parte del motivo que se pueden producir muchas partículas de virus, sin embargo, no todas son infecciosas y por tanto no son viriones. (11)

Los virus no están vivos, son cúmulos de biomoléculas, productos químicos, entidades proteicas organizadas, parásitos genéticos acelulares que utilizan células para proporcionarse recursos necesarios para su replicación.

Algo que intriga de los virus, es su tamaño, simetría y forma específicos. La epidemiología de las enfermedades virales está determinada por la inmunidad, susceptibilidades a infectarse, la proporción de infectados, el periodo de incubación y los patrones de transmisión. Pero, ¿que tal si existe una asociación entre la geometría viral y las características de los brotes? (4)

Los virus muestran amplias gamas de tamaños y formas que existen para su beneficio por selección natural pues el tamaño influye en su entrada y salida de células.

Las unidades con las que se miden son los nanómetros, siendo $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$.

El tamaño viral varía desde 20 nm (los ribosomas celulares miden 25 nm) para los enterovirus hasta grandes mimivirus que pueden medir hasta 400-800 nm de longitud. Una célula infectada puede albergar hasta 100.000 viriones y una infección crónica por el VIH produce cerca de 10^{11} viriones al día (cien mil millones) (23). Con el objetivo de tener una mejor apreciación en las dimensiones, en la imagen 2 podremos observar una comparativa de tamaño viral.

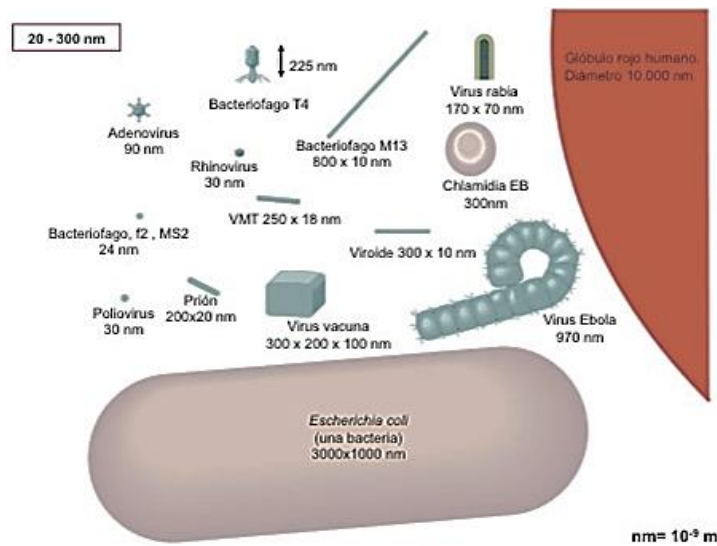


Imagen 2. ESQUEMA COMPARATIVO DE TAMAÑO VIRAL. Tomado del Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada-UGR

3.2 DESCUBRIMIENTO DEL GENOMA VIRAL

Antes de conocer que los ácidos nucleicos encontrados en el virus eran en realidad el material genético, es decir, los constructores de los genes, se desarrolló un experimento titulado “*experimento con licuadora Waring*” en 1952 por Alfred Hershey & Martha Chase quienes querían dilucidar si era el ADN o las proteínas los contenedores del material hereditario. Al principio, los científicos pensaban que las proteínas por su aparente mayor complejidad que el ADN eran el material genético.

Alfred y Martha usaron bacterias infectadas con bacteriófagos marcando con isótopos radiactivos el DNA de este último para observar en donde terminaba ese material genético posterior a infectar una bacteria, es decir, rastrear su camino.

Otro grupo de fagos fueron marcados solo en su cubierta proteica. Ambos grupos se utilizaron para infectar bacterias.

En ese momento sabían que cuando los fagos se unían a la superficie de una célula le inyectaban algo y ese algo daba las instrucciones que causaba que la bacteria hospedera produjera montones de fagos.

Cuando utilizaron fagos con proteínas marcadas, la radioactividad nunca se fusionó con la célula hospedera y no se detectó radioactividad en la siguiente generación de fagos y aquellos fagos marcados en su DNA, la radioactividad fue detectada en la bacteria hospedera y en la siguiente generación de fagos.

Con esto se demostró que el ADN del fago es el que se introduce en la célula y se asocia a la célula hospedera y es el que dirige la síntesis de nuevas generaciones de fagos pues estaba también asociado con su progenie.

En 1953, un año después, la estructura del DNA fue resuelta por Watson y Crick con este estudio como antecedente, por lo que marcó un inicio en la biología molecular.

Años más tarde H & C fueron merecedores del premio Nobel en 1969 por descubrir *el mecanismo de replicación y estructura genética de los virus*.

Los genomas, se pueden clasificar de acuerdo con la forma que tiene el ácido nucleico.

La mayoría de virus ARN son lineales. Pueden ser monocatenarios en la orientación que permite su traducción directa (es decir, sentido positivo ssRNA+), monocatenarios en la orientación antisentido a la traducción (ssRNA-) y bicatenarios (dsRNA).

Los genomas de virus de DNA pueden ser también monocatenarios o bicatenarios (ssDNA y dsDNA), circulares o lineales

Los genes que codifican para proteínas virales vienen en varias formas. Algunos tienen un solo gran *marco de lectura abierto (ORF)* que se traduce en una *poliproteína* grande que después sufre proteólisis selectiva para formar proteínas independientes. Otros casos, múltiples ORFs se traducen en proteínas individuales. Muchos virus expresan ARN *no codificantes* como los *microARN*. Además de secuencias para la producción de productos, los genomas virales tienen regiones que sirven como señales y desempeñan un papel estructural y de empaquetamiento en cápside.

Para terminar este apartado se mencionan hechos clave sobre los virus:

-Todos los genomas virales deben ser transcritos a RNAm y así poder ser traducidos por los ribosomas de la célula hospedera y hasta la fecha no se conocen excepciones a esta regla.

-Pese a que hay miles de virus distintos, solamente existe un número finito de genomas virales. Las estrategias de replicación pueden variar pero todos tienen que hacer RNAm.

3.3 ESTRUCTURA DEL VIRIÓN

Compuestos de proteínas en su mayoría *estructurales* que tienen la función de contener el genoma viral en una *cubierta estable y protectora- la cápside*. Otras proteínas estructurales reconocen y empaquetan el genoma viral dentro de esa cápside.

También hay proteínas que hacen posible obtener la envoltura viral lipídica a partir de la interacción con la membrana celular.

Tenemos aquellas que participan en lograr que el genoma viral llegue al interior de la célula hospedera interaccionando con sus receptores, fusionándose con la membrana celular y haciendo posible el desnudamiento del genoma para su replicación, pero además, otras proteínas interaccionan directamente con biomoléculas del hospedero para asegurar que el ciclo infeccioso sea eficiente, desencadenando amplia gama de respuestas antivirales y reordenamientos citoesqueléticos dramáticos, usando componentes de transporte celular para alcanzar los sitios de replicación y ensamble adecuados o con componentes del sistema inmune para evitar su rechazo. Las proteínas del virión pueden modular las respuestas celulares intrínsecas a los ácidos nucleicos virales y gestionan la maquinaria transcripcional para apoyar la replicación del virus.

Los viriones son estructuras *metaestables*, es decir, que no han alcanzado su estado de mínima energía. Dicho de otra manera, una molécula que puede adquirir diferentes estados de equilibrio, el estado metaestable es aquel estado de "*equilibrio aparente*", pero que puede cambiar a un estado más estable.

Para ejemplificar, en la imagen 3 observamos en el eje de "y" el estado de energía de la partícula viral y en el eje "x" se representa el tiempo. Los virus existen en el estado número 1(rojo), un estado débilmente estable. Un estado fuertemente estable, que corresponde al número 3 (azul) , tiene una conformación mínima de energía y por tanto energéticamente favorecido pero para llegar a este estado, la partícula atraviesa una transición (estado número 2) que sucede en los procesos de entrada al huésped donde tiene que superar la barrera energética de la célula.

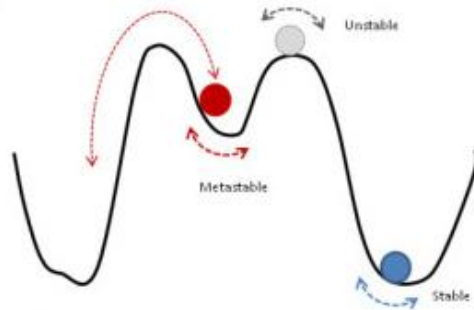


Imagen 3. Estado de energía de la partícula viral

Por lo tanto, para poder llevar a cabo cualquiera de las rutas endocíticas de las cuales no entraremos en detalle, es necesario que la cápside sea metaestable que, por un lado, sea resistente por un ensamble eficiente que soporte las tensiones ambientales extracelulares y que, por otro lado, sea fácil de desensamblarse una vez llegado al sitio apropiado de replicación para liberar su material genético, por esto, las interacciones entre las proteínas que conforman a la partícula viral tienen que ser no covalentes.

La estructura viral se crea por interacción autodirigida de unidades proteicas y que tienen interacciones idénticas no covalentes entre ellas. Son entes cargados de energía almacenada durante el ensamble y liberada por un agente externo en la desencapsidación o desnudamiento. (10)

El virión consiste en un genoma de ácido nucleico empaquetado en una cubierta protectora de la degradación lítica (cápside) y a veces una membrana (envoltura). Ambas, transportan, protegen y empaquetan durante la transmisión o durante la extensión dentro del huésped a la célula diana. Las estructuras de superficie median en la interacción entre el virus y célula diana por medio de una *proteína de adherencia vírica (PAV)*.

Las proteínas de la cápside o de unión a los ácidos nucleicos pueden asociarse con el genoma para formar la nucleocápside y que puede estar o no (virus desnudos) rodeada de una segunda cubierta protectora (virus con envoltura) tomada de la membrana celular del hospedero. Para que quede más clara la diferencia, la cápside es una de las dos partes de la nucleocápside, es solo la estructura proteica que rodea al genoma del virión y la nucleocápside es la cápside con el genoma adentro juntos, es decir, la asociación de ambos. (10)

Su formación es a partir de proteínas individuales que se asocian en subunidades o bloques progresivamente más grandes hasta formar una unidad mayor. En orden creciente tenemos: **subunidades proteicas** de cápside (cadenas polipeptídicas individuales) → se asocian en **protómeros** (subunidades

triangulares)→estos se asocian en **capsómeros**→ que se asocian en **cápside** que se forma alrededor del genoma en algunos virus o como una envoltura vacía (procápside) que será llenada por el genoma. (Imagen 4) (23)

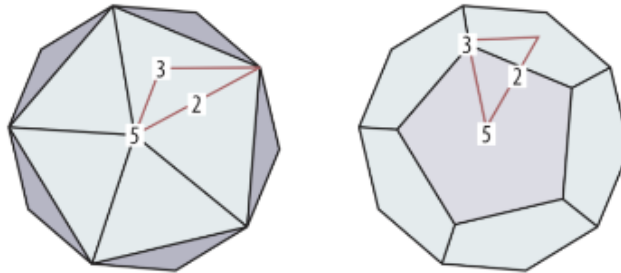


Imagen 4.1 Esquema de una cápside icosaédrica (20 caras triangulares) y de un dodecaedro (12 caras regulares) mostrando la localización de los ejes de simetría diméricos, triméricos y pentaméricos (2,3 y 5)

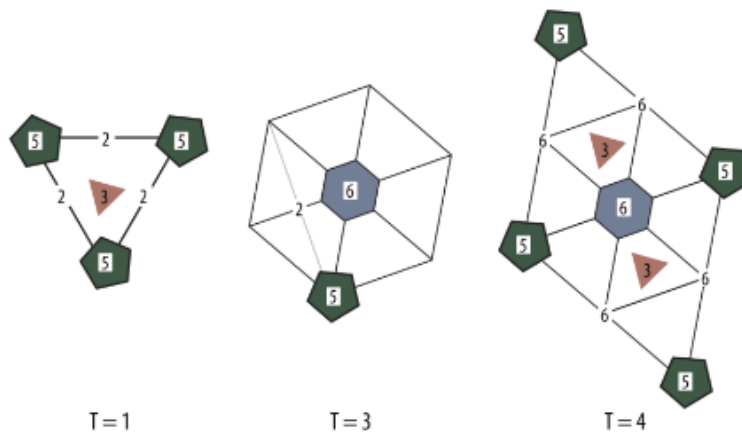


Imagen 4.2 Esquemas de un icosaedro y un dodecaedro que muestran la localización de los ejes de simetría dimérica, trimérica y pentamérica

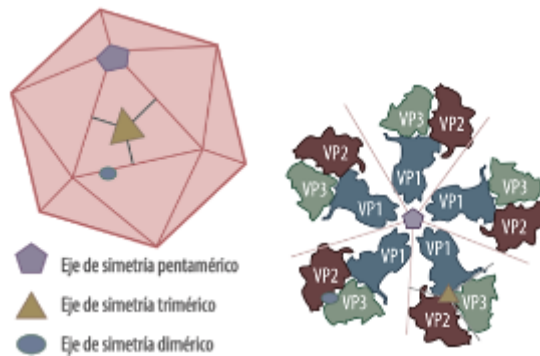


Imagen 4.3 Los péptidos de las cápsides virales (VP1, VP2 y VP3) se ensamblan de manera simétrica alrededor de ejes de simetría

Imágenes tomadas de libro de "Virología médica" por Manuel Antonio Vargas Córdoba (23)

Hay 3 estructuras básicas de cápside como *icosaédrica/poliédrica* (20 caras triangulares), *helicoidal* y *disposición compleja*. La mayoría de virus tienen las 2 mencionadas primero, los bacteriófagos en cambio tienen estructuras de cápside complicadas. (11)

La simetría icosaédrica es la más eficiente para formar una estructura cerrada. Su estructura se describe utilizando los *ejes de simetría*, que es donde confluyen en un mismo punto las subunidades protéicas. Los ejes de simetría son de tipo pentamérico (6 ejes de simetría quintuple), trimérico (10 ejes de simetría triple) o dimérico (15 ejes de simetría binaria).

Las cápsides icosaédricas contienen 60 copias de una subunidad protéica. Cada una de las caras del icosaedro está formada por triángulos (equiláteros); a su vez, las proteínas que componen los triángulos pueden ser irregulares y están formadas por un conjunto de 3 proteínas.

Como características, la cápside es rígida y soporta condiciones ambientales adversas.

Las cápsides helicoidales se forman a partir de nucleoproteínas que se ordenan en forma de hélice o espiral a lo largo de un eje, dejando en su interior un espacio para que se acomode el genoma viral. Esto da lugar a partículas virales en forma de “varilla” o “cilindro”. Las proteínas de cápside tienen interacciones equivalentes unas con otras, además de interactuar de la misma forma con el genoma viral. Los extremos de las proteínas con cargas (+) se disponen en contacto con las cargas (-) del genoma. Esto permite la construcción de estructuras grandes y estables con una misma subunidad protéica.

Un ejemplo es el virus del mosaico del tabaco-TMV.

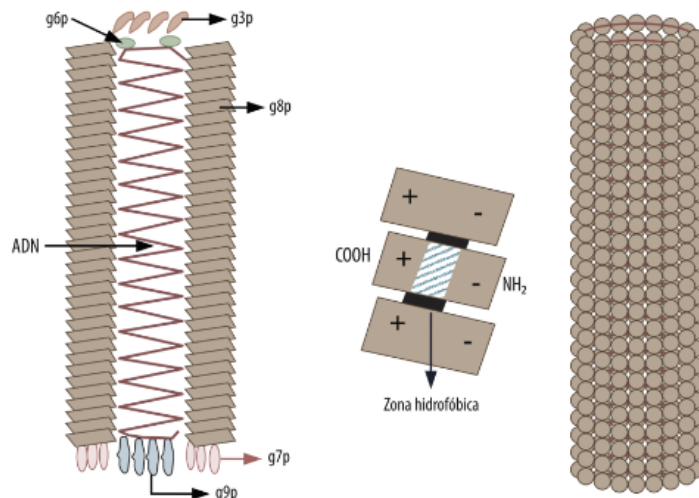


IMAGEN 5. Estructura de los virus con simetría helicoidal. Observar la disposición de las proteínas alrededor del genoma en forma de espina de pescado.

Imagen tomada de libro de “Virología médica” por Manuel Antonio Vargas Córdoba (23)

Independientemente del tipo de simetría de la cápside, el virión puede ser cubierto o desnudo. Los virus con cápside desnuda son resistentes a la desecación, temperaturas, ácidos, detergentes, bilis del tracto entérico. Muchos se transmiten por ruta fecal-oral o por aguas residuales mal tratadas. Es liberado de la célula mediante lisis. Puede propagarse con facilidad (en fómites, mano a mano, polvo). (10)

La envoltura es una membrana compuesta de lípidos, proteínas y glicoproteínas similar a las membranas celulares y solo puede mantenerse en soluciones acuosas. Es liberado mediante gemación (no necesitando destruir la célula para propagarse) o por lisis celular. Se altera fácilmente con la desecación, ácidos, detergentes y disolventes como éter por lo que los virus con envoltura deben permanecer húmedos y se transmiten por medio de fluidos, gotículas respiratorias, transfusiones de sangre y tejido (trasplantes) y no pueden sobrevivir a condiciones del tracto G.I. La mayoría de virus con envoltura son redondos con ciertas excepciones. (10)

La mayoría de gp virales poseen carbohidratos unidos a asparagina (con enlaces N) y se extienden a través de la cubierta, en muchos casos en forma de espinas o púas. Algunas de estas gp actúan como PAV (proteínas de enlace viral), también denominadas *antirreceptores virales*; las gp virales que se unen a eritrocitos se denominan hemaglutininas. Las PAV, moléculas encargadas de unión a los receptores celulares, son también antígenos principales que inducen una respuesta inmunitaria secundaria con formación de anticuerpos neutralizantes. (10) (23)

3.4 HERRAMIENTAS PARA EL ESTUDIO DE LOS VIRUS

La biología estructural es el nivel al que actúa la selección natural, si tras una mutación puntual una enzima conserva o no su actividad, si la modifica, o si cambia su afinidad entre un ligando y receptor. A este nivel también actúan drogas y moléculas reguladoras según la estructura dada por los átomos de la superficie de un determinado receptor. Puede decirse entonces, que la biología estructural es un nivel de comprensión fundamental de la vida y para el desarrollo de tecnologías. (25)

Las metodologías citadas a continuación otorgan información estructural de los viriones hasta una resolución molecular, dando detalles de la organización íntima de los componentes virales. El poder de resolución, permite distinguir estructuras cercanas a 4 Angstrom (0.4 nm) (24)

*Microscopia electrónica- La primera microfotografía fue de bacteriófagos en 1940 por Helmut Ruska

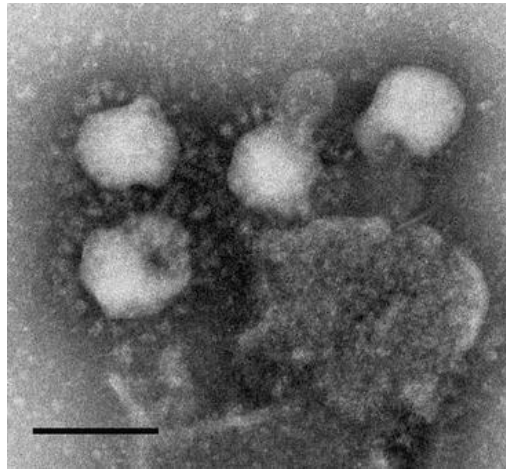


IMAGEN 6. SARS-crecido en cultivo celular, con tinción negativa. Fotografía de microscopia electrónica (H.R. Gelderblom, Robert Koch Institute, Berlin, Germany) (24)

Se utiliza de forma rutinaria para detectar y caracterizar morfológicamente todas las estructuras mayores de 15 nm de diámetro.

Un componente clave en la observación por ME es el uso de colorantes para incrementar el contraste entre los materiales biológicos y proporciona una alta resolución de las estructuras de la superficie viral. (5)

Las tinciones negativas consisten en teñir el medio alrededor del virus con materiales electrodenso- -ácido fosfotúngstico o acetato de uranilo.(5)
En un soporte se coloca la preparación de virus, se tiñe la partícula y se bombardea con electrones que pasan a través de la muestra y todo lo que toque el colorante provocará una imagen oscura. Imagen 6.

*Microscopia crioelectrónica-

Para investigar características ultraestructurales. Con una resolución de 3.2-20 Å(0.32 a 2.0 nm) Sin teñir la partícula, se congela una suspensión viral para obtener contraste. Cada uno de los virus congelados en el soporte, se encuentran en un ángulo de inclinación distinta, se toman cientos de fotografías de las partículas, se digitalizan y un software de reconstrucción las transforma mediante la ecuación “*derivada de Fourier*” logrando construir una forma tridimensional basada en todas las orientaciones individuales de cada microfotografía. Cualquier rastro de cambio en la morfología por una mutación o tratamiento farmacológico se puede detectar por comparación con el grupo control. (5)

Los costos de equipamiento, operación y mantenimiento necesarios para su uso son muy altos, de manera que solo una institución que tienen muchos usuarios es capaz de aprovechar la inversión.

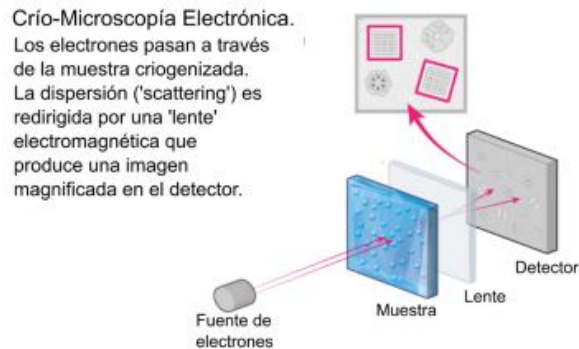


IMAGEN 7- El TEM produce una señal a partir de un haz de electrones que es dispersado por su interacción con la muestra y recogido por un detector que produce imágenes bidimensionales. (25)

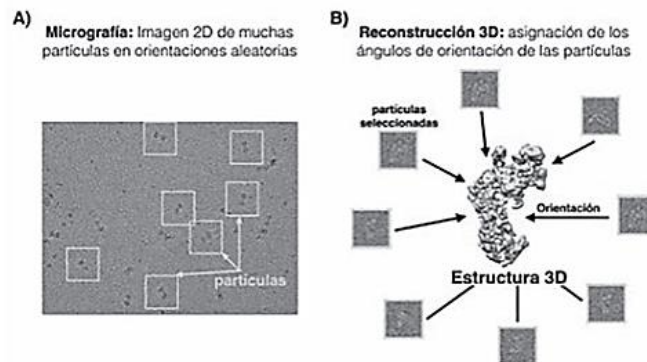


Imagen 8. A) Ejemplo de micrografía, que es una imagen 2D en donde se encuentran múltiples partículas con ángulos de orientación aleatorios. B) Reconstrucción tridimensional de la biomolécula del complejo (centro) (D'Imprima et al., 2016) utilizando técnicas de criomicroscopía electrónica. A cada partícula de la biomolécula se le asigna un ángulo de proyección (orientación) y la estructura tridimensional se reconstruye combinando muchas partículas con diferentes orientaciones. (25)

*Cristalografía por rayos X- Desde 1950 , la difracción de rayos X ha sido la técnica predominante para el estudio molecular. Logramos con ella la más alta resolución estructural hasta ahora- 1.7-3.1 Å (20-30 nm)(25) pero tiene limitantes, ya que depende de que se puedan formar cristales con el virus de interés, pues en muchas moléculas hay dificultad para que se formen. Se usan preparaciones de virus altamente purificados. Si se logra cristalizar, se bombardea con un haz de rayos X mientras paralelamente se va rotando. Los rayos chocan con los átomos del cristal y se desvían de su ruta original generando difracciones las cuales se colectan en una placa fotográfica. Con la rotación del cristal se logran obtener fotografías individuales y en un proceso parecido a la

reconstrucción tridimensional de la criomicroscopia electrónica se hace una sola imagen. Con esta técnica logramos ver cadenas de polipéptidos individuales de forma clara. El primer virus cristalizado fue el virus del mosaico del tabaco en 1935 pero no se logró resolver la estructura proteica debido a que por esa época las habilidades computacionales no eran suficientes y estas surgieron hasta los años 70.

3.5 CICLO INFECCIOSO O DE REPLICACIÓN VIRAL

Todos los genomas virales son parásitos intracelulares obligados que requieren, dependiendo en la variación en la cantidad de proteínas reguladoras en mayor o menor grado de una maquinaria para la síntesis de sus proteínas obtenida de la célula diana de un hospedero y en la que sus receptores, factores de entrada y factores que regulan su transcripción determinan la especificidad de tipo de célula y especie durante el proceso de infección.

La información codificada en el genoma incluye desde señales que regulan la replicación del mismo, su ensamblaje y empaquetamiento, regulación del tiempo en que sucede cada etapa del ciclo replicativo, modulación de las defensas del hospedero y para propagación a otras células y otros hospederos. Algunos productos son obligatorios como por ej la regulación para la replicación de su genoma o la modulación del sistema inmunitario del huésped, de lo contrario el virus no tendría éxito selectivo y desaparecería.

Los virus, son el mejor modelo para la teoría de *“supervivencia del más apto”*. Si los virus son demasiado exitosos en su replicación, matan rápidamente a sus hospederos y terminan eliminándose y cerrando el camino hacia la propagación, pero, si son demasiado pasivos, su huésped impide su crecimiento y pueden llegar a ser eliminados por mecanismos de defensa de la propia célula.

La enfermedad y muerte son en realidad un efecto indirecto de los virus, pues es la respuesta del huésped la que ocasiona más daño tisular, por lo que los virus evolucionan para llegar a un equilibrio en donde se replican productivamente en su huésped pero sin eliminarlo.

Algo importante es evitar antropomorfizar a los virus. Los virus NO piensan, se garantizan, ejecutan, planean, etc. Sus objetivos no están en torno al hombre, en realidad, ni siquiera podemos decir que tienen un objetivo. Sobreviven por que durante su replicación se producen un gran número de mutantes y la selección elimina a los mal adaptados. Las mutaciones que confieran mayores ventajas sobre un medio son los que permanecerán.

3.5.1 UNIÓN, PENETRACIÓN Y DESNUDAMIENTO

Encontrar a la célula hospedera sucede de manera aleatoria o fortuita. Ya que los virus no tienen mecanismos de locomoción, dependen de las colisiones aleatorias y el encuentro inicial con su célula hospedera es solo casualidad.

Las colisiones son dirigidas por el movimiento Browniano, fuerzas de difusión y electrostáticas y dentro de estas colisiones interaccionará con afinidad menor con células o restos celulares donde la infección no será productiva. Como se comentará más a detalle por mecanismos de especificidad que solo tendrán algunas células se permitirá la internalización del virión.

La interacción con la célula específica, lo hace a través de receptores de membrana, que son gp que cumplen su propio rol biológico, con funciones específicas dentro de la célula. De un lado, el virus aporta las *proteínas de unión*, *gp de fusión* y por otro lado, las células aportan los *receptores de membrana*. Esto otorga afinidad entre virión y célula, dando capacidad selectiva a tipo de hospedero, órgano o tejido, infección localizada o generalizada. (23)

Los diferentes agentes virales usan diversos receptores presentes en células de distintos linajes como moléculas de la superfamilia de inmunoglobulinas, integrinas, proteoglicanos, ácido siálico o neuramínico, receptores de LDL, etc. Algunos requieren más de una proteína para ingresar a la célula como VIH que utiliza un receptor para ligar la partícula y otro para desencadenar la endocitosis.

En general, la interacción entre receptor-ligando viral es casi siempre de baja afinidad pero la combinación de más de un receptor (un virus por lo regular tiene afinidad a más de uno) con más de un ligando ocasiona que la interacción sea de alta avidéz haciendo la diferencia pues permite que la partícula permanezca adherida fuertemente a la superficie celular. Una vez que existe dicha unión, el genoma puede entrar a la célula a través de la penetración de la membrana. (8)

El sitio intracelular correcto para la replicación viral dependerá del tipo de genoma que contenga el virión. Para los virus de DNA y algunos de RNA, se requiere de la importación del genoma viral al núcleo antes de la replicación, expresión de proteínas y ensamblaje. Sin embargo, para la mayoría de los virus de RNA, el ciclo replicativo sigue inmediatamente después de la liberación del genoma directamente en la membrana plasmática.

Como los virus no tienen mecanismos propios para introducirse a la célula, usurpan los mecanismos celulares usados para intercambiar materiales con el medio extracelular.

El mecanismo más usado es la endocitosis o también llamado *viropexia*, la cual se activa en el momento de interacción ligando-receptor, la membrana forma una invaginación en torno al virus que penetra en la célula y le permite navegar a lo largo del cuerpo celular en una vesícula con transporte dependiente de actina o por microtúbulos que emplean motores celulares como la dineína hacia la región perinuclear. (8)

La vía endocítica más comunmente usada es la mediada por clatrina. Otros pueden ser macropinocitosis, endocitosis caveolar/dependiente de balsa y vías independientes de clatrina-caveolina/balsa.

En el caso de virus con envoltura, luego de que el virión ha realizado endocitosis mediada por receptores, se forman endosomas.

Otros pocos virus (virus desnudos en su mayoría o como VIH-1) atraviesan directamente la membrana celular por un mecanismo llamado *penetración directa*, en el que después de la fijación abren una brecha en la membrana y se introducen directamente en el citoplasma.

La entrada utilizando el proceso endocítico de la célula ofrece ventajas. Primero, evitar la barrera del citoesqueleto de actina que se encuentra inmediatamente debajo de la membrana plasmática y forma una malla difícil de atravesar, permitiendo una navegación eficiente a través del citoplasma denso. Por otro lado, el acceso a entornos intracelulares específicos que le provee el endosoma le ofrece un micro-ambiente que favorecerá la fusión con el mismo, lo que permite que el genoma viral se libere al citoplasma. Son las proteasas endosomales o el bajo pH de estos organelos uno de los recursos que facilitan el desnudamiento. La caída del pH ocurre en la maduración endosomal y ocasiona cambios conformacionales en las proteínas virales que conducen a la fusión con el endosoma. (8)

Los virus con envoltura posterior a ser endocitados, usan este mecanismo, fusionan su envoltura viral con la membrana de la vesícula endocítica. Previo a su entrada, la fusión de los ligandos *gp de fusión* expuestos en la superficie viral al unirse a la membrana celular, cambian su conformación y se convierten en fusogénicas. La región de la proteína que directamente interacciona con la membrana se ha denominado *péptido de fusión* y es esta región la que desencadena el proceso de entrada en la célula. (8)

Los mecanismos de penetración de los virus desnudos son menos conocidos, y no se hizo investigación a fondo al respecto.

Explicando todo esto más a detalle, el proceso de fusión es altamente controlado. La *proteína de fusión* mantiene una “*conformación prefusión*” por

restricciones que provienen de otra parte de la misma proteína o de una proteína viral diferente asociada. La razón por la que se tiene control en su activación es debido a que de no ser así se fusionarían de manera aleatoria con cualquier membrana con la que interaccionen y recordemos que la oportunidad de fusión virus con célula solo es de una ocasión.

Existen 2 eventos que la conducen a adquirir una conformación fusogénica o dicho de otra manera, *mecanismos que controlan la fusión*:

1. Evento “desencadenante”. La gp de fusión viral, altamente hidrofóbica, se inserta en la membrana celular para catalizar el proceso de fusión. Antes de activarse mantiene su sitio de acción oculto para impedir interacciones inespecíficas, pero cuando el ligando viral (péptido de fusión) interacciona con su receptor se produce un cambio conformacional en la proteína de fusión que exhibe su sitio activo y este se inserta en la membrana celular.
2. Requerimiento de una proteasa que escinda de manera limitada y específica una secuencia de aminoácidos del precursor trimérico de cadena simple para exponer su sitio activo, es decir produce un rearrreglo en la secuencia y la nueva región N-terminal que se forma contiene el péptido de fusión. Este proceso es irreversible por lo que solo pueden actuar una vez y la proteasa es en realidad una proteína celular de huésped, por lo que es un factor limitante para que el virus pueda o no cultivarse en determinadas líneas celulares, ya que una proteasa puede solo estar presente en un solo tipo de célula.

Los péptidos de fusión se unen a la membrana y deshidratan la bicapa externa, consiguiendo reducir y superar la barrera energética al formar un intermediario lipídico curvo que finalmente ocasiona la fusión de las dos membranas. (8)

3.5.2 MONTAJE Y SALIDA

Típicamente, el virión naciente tiene su ensamblaje en el mismo sitio celular donde fue llevada a cabo la replicación, siendo entonces, en el citoplasma para la mayoría de virus RNA y en caso de virus DNA el ensamblaje inicia en el núcleo. Esto sucede una vez que se ha sintetizado un umbral de proteínas virales estructurales y copias genómicas. Durante esta fase hay formación de inclusiones que forman verdaderas fábricas virales. (23)

Los viriones sin envoltura se liberan durante la lisis celular (**citólisis**). (23)

Los viriones envueltos, después del ensamblaje de la cápside, sigue la *gemación* (endocitosis inversa) a través de una membrana celular, ya sea plasmática o de algún organelo como RE, Golgi para conseguir la envoltura y liberarse por fusión con la membrana plasmática. (11) (23)

Aunque la gemación no produce daño a la membrana celular, puede llevar a infecciones latentes.

En la imagen 9 se da un ejemplo y se resume todo el ciclo replicativo.

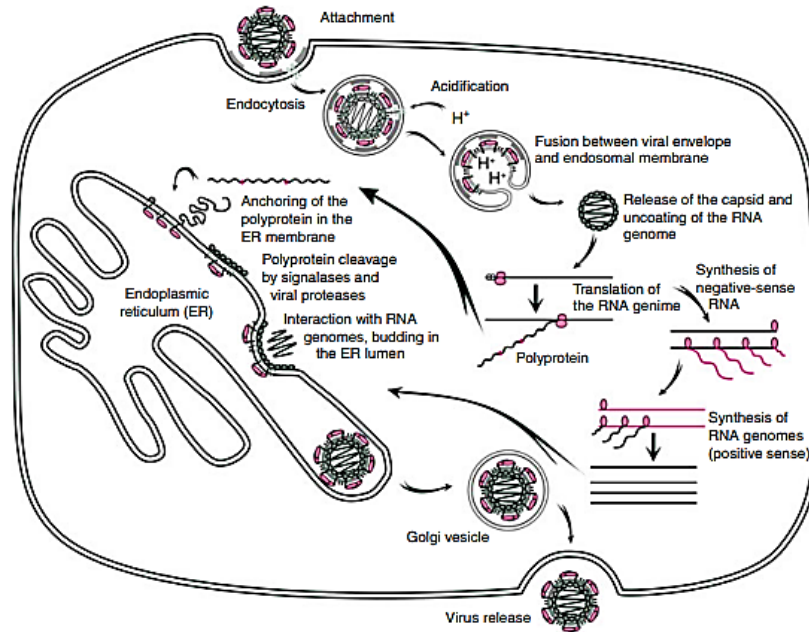


IMAGEN 9. El virus se adhiere a un receptor de membrana y penetra en al célula por endocitosis. La acidificación del endosoma induce la fusión de la membrana viral con la del endosoma y la cápside es liberada en el citoplasma. El genoma viral es usado como RNAm y traducido a una poliproteína. La poliproteína es captada por el RER a través de dominios de señal. (25)

3.6 CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Los principios, procedimientos y nomenclatura usados para nombrar taxones está a cargo de organizaciones que desarrollan las pautas necesarias. El comité que organiza y autoriza la clasificación taxonómica viral es ICTV-Comité Internacional de Taxonomía de Virus.

La taxonomía clasifica una entidad biológica en relación con otros organismos biológicos conocidos y la agrupa por jerarquía en función de características únicas que los identifican. Es una disciplina que clasifica a los organismos de acuerdo a propiedades compartidas y distintivas. (11)

Dentro del sistema ICTV, las dos principales divisiones taxonómicas son virus con *genomas de ARN* y virus con *genomas de ADN*. Los niveles posteriores se basan en el tamaño y estructura de la cápside (icosahedral, helicoidal o compleja), si la cápside está envuelta y luego la naturaleza del genoma (monocatenario o bicatenario, lineal o circular, segmentado o circular, su sentido (+) o (-), entre otras características). Con esta información se definen en familias, estas se subdividen en géneros, que son colecciones de especies relacionadas pero distintas. Si la familia es grande, la dividen en subfamilias que luego se dividen en géneros. Las subfamilias, géneros y especies se definen por su organización génica, mecanismo de replicación, susceptibilidad al estrés físico o químico, tropismo celular y propiedades inmunológicas. (11)

Dentro del sistema, los órdenes reciben el sufijo “-virales”, las familias usan “-viridae”, las subfamilias “-virinae”, y los géneros “-id”. Los nombres de las especies están en cursiva. (11)

Los CoV pertenecen al orden *Nidovirales*, la familia *Coronaviridae* y subfamilia *Orthocoronavirinae*. Los miembros del orden *Nidovirales* incluyen virus con los genomas de RNA más grandes, con tamaños que oscilan entre 13 y 41 kb. (11)

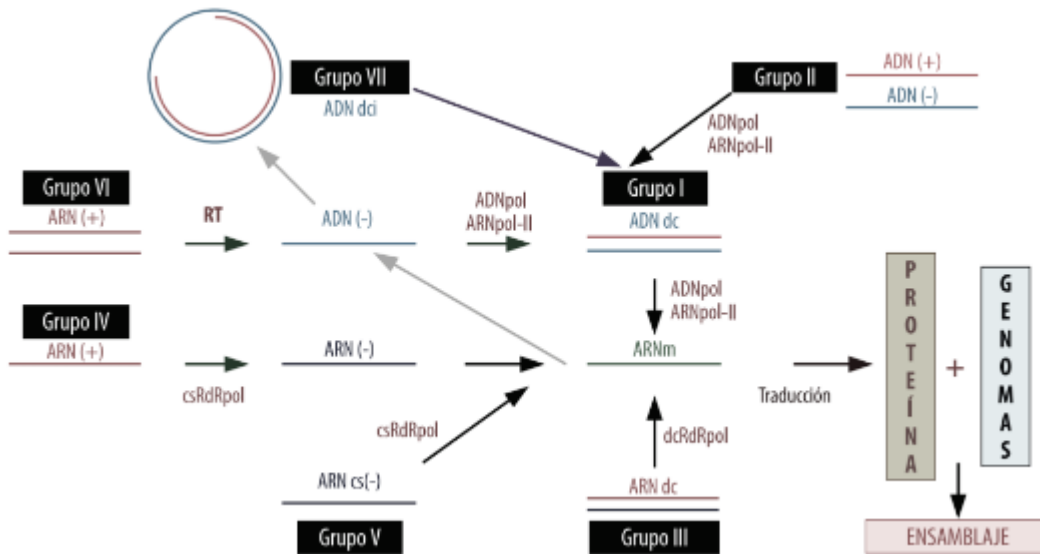
Según el informe de ICTV, la clasificación del Comité Internacional de Taxonomía Viral (por sus siglas en inglés) de 2019, la subfamilia *Orthocoronavirinae*, incluye 4 géneros: Alpha-CoV, Beta-CoV, Gamma-CoV, Delta-CoV.

El otro esquema de clasificación usado para los virus es el esquema desarrollado por David Baltimore. (ver esquema 1) (11)

3.6.1 CLASIFICACIÓN DE BALTIMORE

David Baltimore descubridor de la enzima *transcriptasa inversa* que le valió el premio Nobel en 1975, propuso clasificar a los virus en 1 de 7 grupos, con base a su mecanismo de producción del RNAm, que depende de si es DNA o RNA, la variación en su ácido nucleico (monocatenario o bicatenario) y su sentido. (11)

Como todos los genomas virales tienen que llegar al RNAm, al nombrar cualquiera de los 7 tipos de genoma virales, gracias a esta clasificación se pueden predecir las etapas que atravesará dicho genoma específico para llegar a la síntesis de RNA



Esquema 1. Clasificación de las 7 clases de genoma viral y su camino a la producción de ARNm para la traducción.

RT: retrotranscriptasa, ADNpol: ADN polimerasa, csRdRpol: RNA polimerasa dependiente de RNA de cadena sencilla, dcRdRpol: ARN polimerasa dependiente de ARN de cadena doble. (23)

*Grupo I: Virus con genoma de tipo ADN doble cadena (*Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Papovaviridae*, *Poxviridae*).

Adenoviridae y *Herpesviridae* se replican en el núcleo celular. *Poxviridae* se replica en citoplasma y posee su propia ADN polimerasa para replicar su genoma.

*Grupo II: Virus con genoma ADN cadena única (*Parvoviridae*). La replicación de esta familia se efectúa en núcleo. Se sintetiza cadena de ADN (-) que sirve de molde para síntesis de RNAm y de genomas virales.

*Grupo III: Genoma ARN doble cadena (*Reoviridae*). El genoma de esta familia es segmentado y cada segmento se transcribe en forma independiente para producir RNAm monocistrónico, es decir, capaz de sintetizar una sola proteína.

*Grupo IV: Genoma ARN cadena sencilla sentido (+) (*Astroviridae*, *Caliciviridae*, *Coronaviridae*, *Flaviviridae*, *Picornaviridae*, *Togaviridae*).

*Grupo V: Genoma ARN cadena sencilla y sentido (-). Dependen de una RNAP RNA dependiente

*Grupo VI: ARN doble cadena, sentido (+) y ADN intermediario en su ciclo (*Retroviridae*). Son los únicos virus en los que el RNA no codifica, sino que sirve de molde para la transcripción inversa.

*Grupo VII: Genoma ADN con ARN intermediario (*Hepadnaviridae*). También hacen retrotranscripción, pero esta se lleva a cabo durante el proceso de maduración viral

Cualquiera que sea el genoma, todos los virus confluyen en la producción intracelular de RNAm para la traducción final a proteínas virales.

3.7 MECANISMOS DE MUTACIÓN

Las tasas de mutación por sustitución de bases varían ampliamente entre los virus. Los de dsDNA (clase I Baltimore) tienen tasas de mutación de 10^{-7} por nucleótido por año. (11)

Las tasas de mutación para los virus RNA son mucho más altas, una adición equívoca por cada 10^3 a 10^4 nucleótidos polimerizados, es decir, que si tenemos por ejemplo, un genoma de 10 kb, tendremos de 1 a 10 mutaciones cada vez que la polimerasa lo replique. La síntesis de RNA, además de producción de mensajeros y nuevos genomas, es una fuente de enorme diversidad. A diferencia de los RNAP dependientes de DNA de la célula eucariota, que si tiene mecanismos de corrección, los virus RNA han evolucionado para cometer y no corregir sus errores. Esta alta tasa de mutación de los ARN típicos promueven la diversidad genética y adaptación viral. (11)

Los genomas también pueden evolucionar por recombinación y reordenamiento que en algunos virus las tasas pueden ser incluso más altas que las de sustitución de base.

En la recombinación, la polimerasa tiene que estar trabajando en copiar un templado y cerca de ese templado, ya sea mezclado o enredado está otro con polaridad similar. La polimerasa entonces, cambia de templado y esto genera un recombinante que tiene secuencias de ambos templados, generando genomas con secuencias distintas y por tanto diversidad.

El reordenamiento o “re-arreglos” ocurre en genomas RNA segmentado (como en caso de virus de influenzae) y una misma célula es coinfectada por más de una cepa del mismo virus, entonces los segmentos pueden reorganizarse y generar mezclas de las cepas en la nueva progenie viral y por tanto cambio antigénico que da lugar a cepas pandémicas.

Existe otro mecanismo de mutación en virus de RNA y es la “*síntesis de RNA sin templado o edición de RNA*” en la cual, la RNAP añade bases que no se encuentran especificadas en el templado. (11)

3.7.1 EVOLUCION EN EL ANFITRION

La evolución viral también ocurre dentro del hospedero durante el curso de la infección. Por ej. en portadores de VIH-1, hay un cambio de preferencia de correceptores de CCR5 en la fase aguda de la infección a CXCR4 durante la fase crónica. Estas selecciones al parecer impulsadas por el huésped, provoca adquisición de resistencia a medicamentos antivirales. También, los virus acumulan cambios genómicos al azar durante el curso de la replicación en huéspedes individuales, sobretodo en los virus de RNA con su alta tasa mutaciones puntuales, como se comentó previamente. (11)

3.8 SARS-CoV-2

3.8.1 ORIGENES EVOLUTIVOS

Los coronavirus humanos(HCoV) son patógenos conocidos desde mediados de la década 1960. Hasta la fecha hay siete conocidos y comprenden dos α -CoV:HCoV-229E y HCoV-NL63 y cinco β -CoV: HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2. (15)

Anterior al año 2002, existían pocos coronavirus circulando en seres humanos, productores de resfriados convencionales. A partir de ese año, fueron capaces de atravesar las barreras entre especies e infectar a los humanos provocando patologías respiratorias graves. En noviembre de 2002, surge el primer caso en China de SARS-CoV-1 que tuvo una transmisión sin precedentes entre personas y tenía alta tasa de mortalidad.

En Febrero 2003 surgen nuevos brotes, causantes de neumonía- el SARS-CoV y la vigilancia epidemiológica rastreo coronavirus relacionados en murciélagos *Rhinolophus*, sugiriéndolos como fuente probable, pero finalmente se descubrió un SARS-CoV en las civetas de las palmeras del Himalaya con una similitud del 99.8%.

En enero de 2004, finalizaba esta pandemia pero los científicos descubrieron que los coronavirus parecidos al SARS-CoV-1 tenían capacidad de infectar células humanas sin necesidad de tener una adaptación previa. (15)

HCoV-NL63 se detectó en el 2004, prevalece en todo el mundo y aparece con distribución estacional ocasionando por lo general enfermedad leve del tracto respiratorio, pero ha llegado a ser mortal en bebés y ancianos.

HKU1 se detectó en el 2005 y se asocia con NAC. En la mayoría de casos induce enfermedad leve.

En junio 2012 emerge MERS-CoV, obtenido del esputo de un paciente que falleció de neumonía y fallo renal en Arabia, Saudí. Casos similares afectaron a países circundantes y en mayo 2015 se comunica epidemia en Corea del Sur de un individuo migrante del oriente medio. El 80% de las investigaciones científicas apuntaron al murciélago como reservorio natural y los intermediarios fueron dromedarios, estableciendo la trayectoria evolutiva de MERS-Cov desde murciélagos a camellos y estos a humanos. (15)

Un nuevo CoV, surgió a finales de diciembre 2019 en un mercado “húmedo” de la región de Wuhan, China, donde la Comisión Municipal de Salud informó 27 casos

de neumonía y días después identificaron un nuevo coronavirus. Las pistas de su historia evolutiva nos llevan a los betacoronavirus altamente patógenos (b-CoV).

Para facilitar la transmisión entre especies a los humanos, los CoV zoonóticos deben interactuar con los receptores de superficie celular humana para facilitar la entrada celular y replicación. El RBD (dominio de unión al receptor) dentro de la proteína espiga establece contactos críticos con el receptor celular humano, ECA2, para facilitar la entrada viral. (12)

En un estudio se refuerza la existencia natural de virus relacionados con el SARS-CoV-2 en murciélagos *Rhinolophus* pues identificaron 17 alfacoronavirus y 7 nuevos betacoronavirus en 411 muestras de murciélagos recolectadas en la provincia de Yunnan, China. Cuatro de los siete betacoronavirus estaban estrechamente relacionados con el SARS-CoV-2 y los tres restantes con el SARS-CoV. Un dominio, mostró afinidad de unión débil por el receptor celular humano ECA2 (17)

Lo que es más importante, los autores identificaron una gran riqueza de murciélagos *Rhinolophus* en gran parte del sudeste asiático y el sur de China. Esta alta densidad de murciélagos podría facilitar la transmisión y recombinación dentro y entre especies del sarbeco transmitido por murciélagos. De hecho, múltiples especies de murciélagos pueden posarse juntas, lo que facilita más el intercambio. (12)

La primera muerte asociada a COVID-19 se reportó el 11 de enero de 2020 y el 12 de enero se publicó la secuencia genética del virus, la cual reveló compartía un 79% de la secuencia de SARS-CoV. El primer caso de COVID-19 fuera de China se informó en Tailandia el 13 de enero 2020 y una conferencia de prensa menciona “transmisión limitada de persona a persona”. En febrero 2020, se informó primera muerte fuera de China, y países de todo el mundo comenzaron a notificar casos. La OMS caracterizó la COVID-19 como pandemia el 11 de marzo de 2020.

La vigilancia genómica de muestras de SARS-CoV-2 durante el primer año de la pandemia reveló una mutación limitada.

La mutación D614G en la proteína espiga (S) fue la única mutación generalizada, con el genotipo G614 que desplazó a D614 en marzo 2020 y que implicó un aumento de afinidad a ECA2 a través de mecanismos que ocasionaban que el RBD ocupara una conformación “up” o “abierta”. En noviembre de 2020, la variante alfa comenzó a capturar titulares globales y coincidió con un aumento de casos en

Reino Unido y en 4 meses se convirtió en la secuencia genética dominante en todo el mundo. Este linaje, fue precedido por la aparición de la Beta, Delta, Gamma, Kappa y variantes Epsilon a principios de 2021. (13)

La mayoría de estas variantes fueron clasificadas como preocupantes (VoCs) por la OMS, pues demostraban aumento de transmisibilidad o cambios epidemiológicos; aumento de la virulencia o cambios en la presentación clínica de la enfermedad y también, disminución de la eficacia de las medidas sociales y de salud pública o diagnósticos, vacunas y terapias disponibles.

Finalmente, a finales de 2021, la variante Ómicron contenía un número sin precedentes de mutaciones y suplantó a la variante Delta como la variante más secuenciada en el mundo, **ver gráfico 1**.

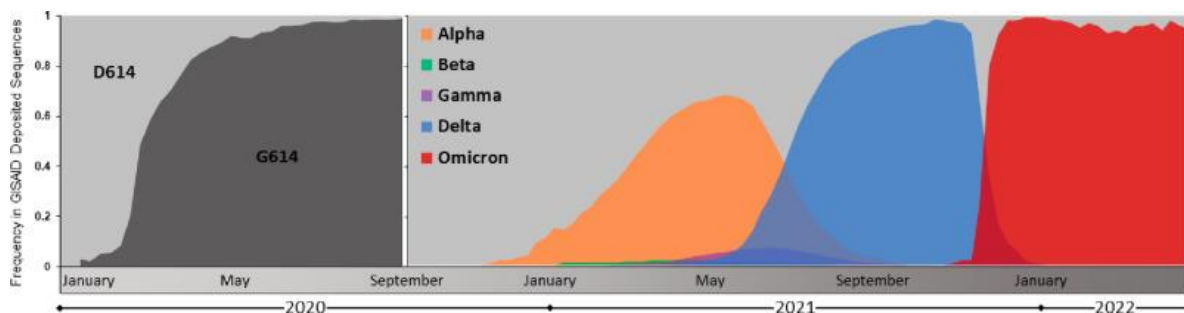


Gráfico 1. Emergencia del D614G y variantes preocupantes del SARS-CoV-2. Datos descargados de la Iniciativa Global para compartir datos sobre la influenza (GISAID). La prevalencia del genotipo G614 se muestra de enero a septiembre de 2020 y la prevalencia de linajes de variantes de preocupación a partir de septiembre 2020 a abril 2022. (15)

3.8.2 LA BIOLOGIA DEL SARS-CoV-2

3.8.2.1 ARQUITECTURA DEL GENOMA CoV Y ESTRUCTURA DEL VIRIÓN SARS-CoV-2

Los CoV tienen genomas muy grandes en comparación con otros virus de RNA con una longitud de 25 a 32 Kb, que consisten en una región no traducida (UTR) de 5', al menos seis marcos de lectura abiertos (ORF) centrales que están en todos los CoV, un número variable de ORF accesorios y una UTR de 3'. Este gran tamaño da cabida a la flexibilidad necesaria para adaptarse entre especies. (12)

Los primeros dos ORF, 1a y 1b abarcan dos tercios del genoma y codifican poliproteínas que se escinden en 16 péptidos no estructurales (NSP 1-16), la mayoría involucrados en la transcripción y replicación. (12)

Los ORF que se siguen controlan la diseminación del genoma y tienen un papel estructural. La envoltura viral se deriva de la membrana del retículo endoplásmico y es definida por proteínas estructurales que son la proteína matriz de la *membrana (M)*, la *proteína pequeña de la envoltura (E)* y la *glicoproteína de superficie spike (S)* y la *proteína de la nucleocápside (N)* (13)

*Spike ORF (S) codifica una proteína estructural que se une a los receptores del huésped y determina que células pueden infectarse (tropismo celular). En el caso de SARS-CoV-2, su receptor es ECA2

*ORF E codifica una proteína que participa en la curvatura, maduración, ensamblaje, liberación de la envoltura viral. Es la más pequeña de las proteínas estructurales. Aquellos coronavirus que carecen de esta proteína exhiben bajos títulos virales por producción de progenie incompetente para la propagación, demostrándose la naturaleza crítica de esta proteína en la replicación viral.

*ORF M codifica una proteína de membrana que interactúa con las proteínas del virión S,E,N y el RNA genómico viral. Es la proteína de envoltura más abundante y es crítico para facilitar la gemación y definir la forma del virión. Se considera, el organizador central de la envoltura pues coordina las demás proteínas estructurales.

*ORF N codifica para la proteína de la nucleocápside la cual es una proteína de unión a RNA. El genoma de 29891 bases que codifica para 9860 aminoácidos del SARS-CoV-2 consiste en una ssRNA sentido positivo, no segmentado, asociado con la proteína

estructural N. Las interacciones entre las proteínas N y M coordinan la formación de complejo de ssRNA y proteína N que comprimen y empaquetan el genoma dentro del virión.

Los ORF accesorios específicos de cada linaje también están presentes en esta región del genoma de disseminación y determinan como se adapta el virus a huéspedes específicos, modulan la señalización del interferón, producción de citocinas proinflamatorias o inducción de apoptosis. El ORF6 accesorio del SARS-CoV-2 muestra la toxicidad celular más alta de todos los ORF accesorios que tiene.

SARS-CoV y MERS-CoV presentan respectivamente unas 27000 y 31000 bases. Los tres β -coronavirus presentan entre 6 y 11 marcos abiertos de lectura (ORF)

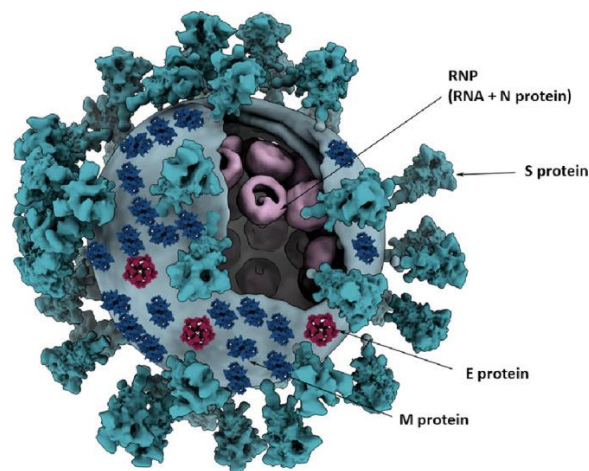


Imagen 10. Modelo tridimensional de un virión de coronavirus. (13) [SARS-CoV-2 3D \(sars3d.com\)](https://sars3d.com)

Estudios con crio-ET han reportado al virión como partícula esférica de 91+-11nm, resultados consistentes con el diámetro del virión SARS-CoV (85 nm) que fue determinado en 2008 también por métodos crio-ET. (13)

Cada virión de SARS-CoV-2 contiene distribuidas aleatoriamente en la superficie viral, aproximadamente 15-40 Proteínas S, de las cuales 97% tienen conformación prefusión. En SARS-CoV se determinó que tiene un aproximado de 90 proteínas S. Menos proteínas S proporcionan una ventaja, dada la susceptibilidad de esta para neutralización inmune, **ver imagen 11**.

En los viriones de SARS-CoV-2 se aproxima que hay una proteína pico por 1000 nm² de membrana de superficie, en contraste por ejemplo al virus de la influenza A que tiene aproximadamente una hemaglutinina por 100 nm². La disminución en densidad de la proteína S sugiere que la unión al receptor ECA-2 es menos dependiente de los efectos de avidéz como en el virus de la gripe A.

Un estudio crio-ET adicional con β -propiolactona condujo a la observación de inactivación química del virión, cambiando las proteínas S hacia la conformación de postfusión, alterando su perfil antigénico, hallazgo particularmente relevante ya que la inactivación química de patógenos es una de las estrategias comunes de vacunación, con β -propiolactona utilizada dentro de las formulaciones de la vacuna contra el SARS-CoV2.

En el SARS-CoV-2, el primer marco de lectura (ORF1a/b) traduce las proteínas pp1a y pp1b que se escindirán en 16 proteínas no estructurales (NSP) las cuales formarán la RNap viral. El resto del ORF codifica para proteínas estructurales y accesorias ya comentadas, **ver imagen 12**.

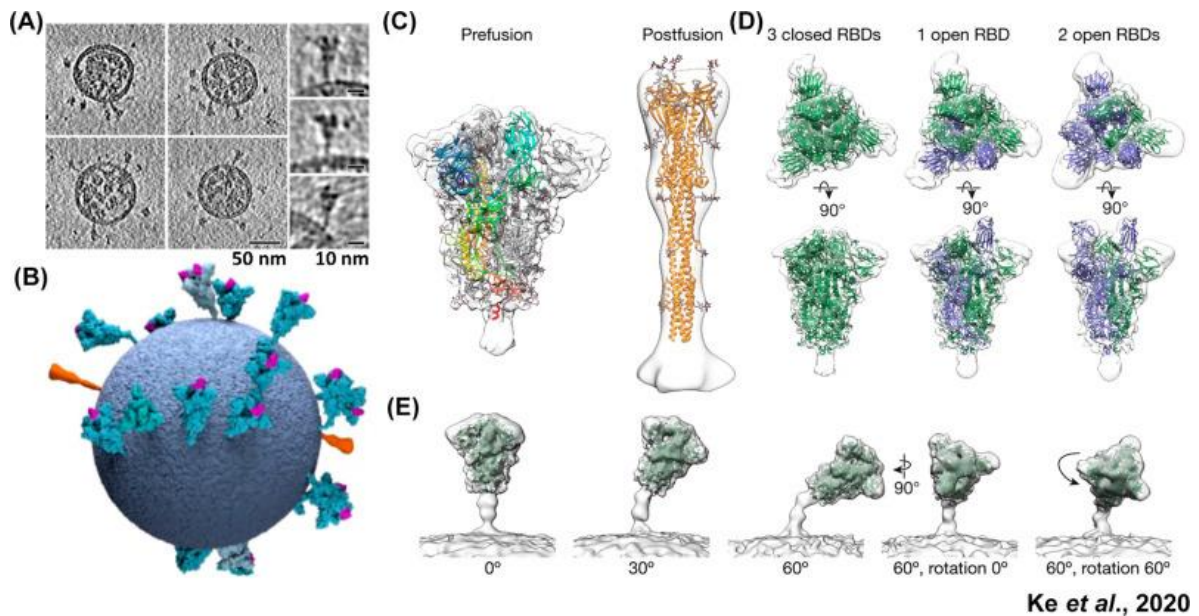


Imagen 11. (13) A)Proyecciones laterales de tres proteínas S individuales y cuatro viriones de SARS-CoV-2

B)Modelo tridimensional de un solo virión. Proteína S de prefusión en azul con RBDs color rosa. En naranja proteína S de postfusión.

C) Trímeros de proteína S de prefusión y postfusión

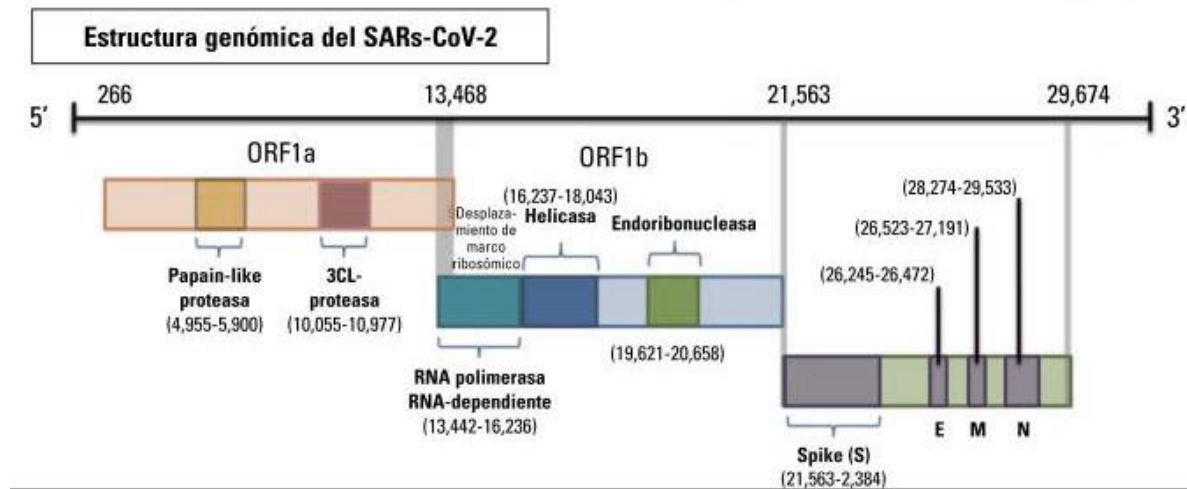
D) Conformaciones triméricas de proteína S en prefusión de viriones intactos- RBD abiertos coloreados de azul. La clasificación crio-ET in situ revela 3 estados distintos: *cerrada o “abajo”, abierta o “up” y una fracción con dos RBD en la conformación abierta.*

E)Rotaciones e inclinación de proteína S

*La primera estructura de la proteína S reportada, reveló el requisito de que el RBD adopte un abierto o “up” antes de activar el receptor ECA2

Los puntos de bisagra presentes en el tallo de la proteína S de prefusión permiten un alto grado de flexibilidad en relación con la membrana viral y se encontró que las proteínas S adoptan una amplia gama de ángulos de inclinación. Esta flexibilidad no se observó en las proteínas S de postfusión por lo que se propone que las proteínas rígidas de postfusión anclan la partícula viral en la membrana

celular y las proteínas S de prefusión flexible son capaces de “escanear” y unirse a receptores ECA2 adicionales, contribuyendo así a los efectos de avidéz, ver **esquema 2.** (13) (12)



Esquema 2. Estructura genómica del SARS-CoV-2

3.8.2.2 ENTRADA A LAS CÉLULAS

Unión al receptor ECA2 presente en las células del epitelio alveolar, endotelio y macrófagos alveolares, a través de RBD de la glicoproteína S la cual está compuesta por una subunidad S1 N-terminal que media la fijación celular y una subunidad amino-terminal S2 que facilita la fusión de las membranas viral y de huésped pues contiene la región proteica “proteína de fusión” y dos regiones HR1 y HR2 repetida 7 veces.

Al unirse a ECA2, el genoma viral puede atravesar la membrana plasmática celular por dos mecanismos de entrada distintos:

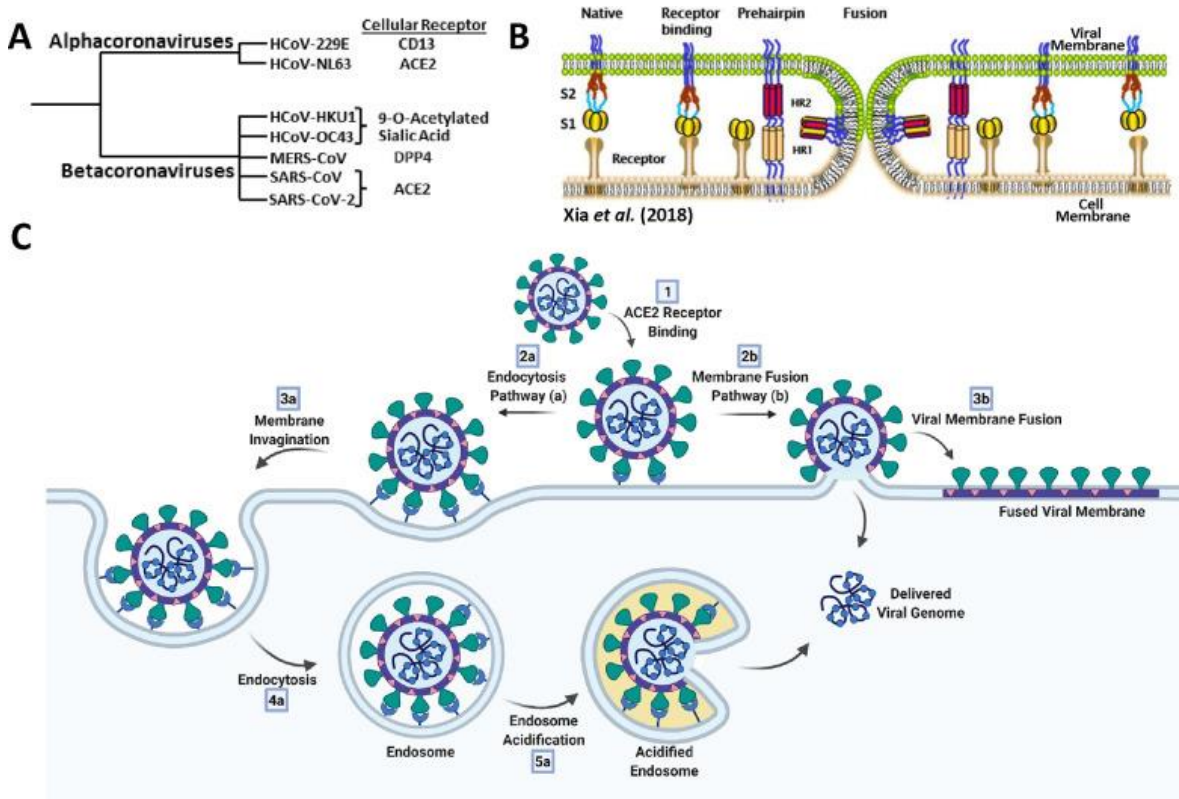
- 1) Vía de fusión de membrana (vía temprana): implica escisión de a proteína S en su límite S1/S2 por la proteasa del huesped TMPRSS2 (serina proteasa 2 transmembrana), dejando S2 expuesta. El dominio S2 se despliega, se extiende a la membrana de la célula huesped y adopta conformación postfusión. Esta proteína S postfusión une las dos membranas, fusionandolas.

- 2) Vía de endocitosis (vía tardía): No responde a la escisión por TMPRSS2. La fijación prolongada del RBD de la subunidad S1 a ECA2 activa el proceso innato de endocitosis de la célula huesped. La partícula se invagina en un endosoma y dentro de este secundario a su acidificación se activa la catepsina L y otras proteasas del huesped, que escinden el límite S1/S2 y se expone el dominio de

fusión de este último que se pliega sobre si misma para unir HR1 y HR2 provocando la fusión de la membrana endosoma-viral y liberación del virión al citoplasma.

Bloquear la proteína S o la proteasa TMPRSS2 son dianas terapéuticas para la creación de fármacos.

Otro mecanismo de entrada es el denominado “mejora dependiente de anticuerpos” (ADE) en el que anticuerpos no neutralizantes permiten la entrada del virus a los macrófagos. **ver esquema 3.**



Esquema 3. a) Miembros de los géneros α y β y los receptores celulares a los que se asocian. B) Modelo de fusión entre las membranas virales y celulares c) Endocitosis (a) y fusión de membrana (b) como mecanismos de entrada de SARS-CoV-2 a la célula. (13)

Las mutaciones dentro de la proteína S son tomadas en cuenta para caracterizar estructuralmente a las variantes emergentes del SARS-CoV-2, con varias mutaciones RBD compartidas entre múltiples VoCs. Estas mutaciones pueden provocar efectos sobre la afinidad de unión ACE2, siendo implicadas de hecho en un aumento de la misma, pues ocasiona mejores contactos con la región N-terminal del ACE2.

La síntesis de datos estructurales y bioquímicos reveló que el RBD del SARS-CoV-2 reconoce y se une mejor a ACE2 que el RBD del SARS-CoV.

La variante Ómicron contiene más de 3 veces el número de mutaciones de la proteína S en comparación con otras mutaciones en RBD-ACE2 permitiendo un escape de los anticuerpos inducidos por la vacuna, explicando el rápido reemplazo de la variante Delta por Ómicron a finales del 2021.

3.8.2.3 CORRECCIÓN Y MODIFICACIÓN DEL RNA

Los coronavirus , en comparación de los virus RNA típicos, tienen una alta fidelidad durante su replicación, pues tienen una tasa de mutación más baja y esto es debido a la capacidad del RTC para retroceder a lo largo de la cadena naciente de RNA y eliminar ribonucleótidos incorporados erróneamente.

El complejo de replicación transcripción-RTC es responsable de la transcripción de todo el genoma y de los RNAm codificados en el tercio final del genoma para síntesis de proteínas estructurales a través de secuencias reguladoras complementarias.

3.8.3 MECANISMOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLOGIA COVID-19:

El sistema inmunológico es variable funcionalmente en todos los seres humanos. Coevoluciona con los patógenos y es capaz de adelantarse a los mismos por procesos de recombinación somática en los linfocitos T y B. Esto y las comorbilidades o envejecimiento del sistema inmune en el hospedero ocasionan una gravedad variable a la infección o mejor dicho una respuesta inmunológica heterogénea.

Las partículas virales comienzan la estimulación inmune una vez en vías respiratorias altas y al progresar a vías respiratorias bajas hay replicación en los neumocitos tipo II, células endoteliales y macrófagos alveolares, desencadenando una neumonía en mayor o menor gravedad.(14)

La lisis celular amplifica la replicación por invasión a células adyacentes y también genera señales químicas para reclutar células de la inmunidad innata-macrófagos alveolares, mastocitos, células dendríticas y NK- y respuesta humoral con activación del complemento y anticuerpos inicialmente naturales.

El contacto previo a infecciones víricas con producción de linfocitos T de memoria y anticuerpos inducidos derivados de células plasmáticas, será determinante en la respuesta rápida y eliminación en la fase inicial de infección por SARS-CoV-2. Caso contrario en el que la no presencia de anticuerpos

neutralizantes, si no más bien naturales, puede proporcionar apoyo en la entrada del virión a la célula diana (ADE)(desglosado más adelante)

Los macrófagos alveolares activos liberaran citocinas proinflamatorias como *IL-6*, *TNF- α* , *IL-8* e *IL-1* mismas que directa o indirectamente, junto con las histaminas de los mastocitos activados, las anafilotoxinas C3a y C5a del complemento y anticuerpos naturales aumentan la permeabilidad endotelial alveolar, que facilitará la diapédesis de neutrófilos y monocitos que rápidamente se diferenciarán a más macrófagos y que de hecho reemplazarán a los macrófagos alveolares y a nuevas células dendríticas ocasionando una repoblación inmunológica en el tejido respiratorio, amplificandose la inflamación inicial. (14)

Las células presentadoras de antígeno (dendríticas) recogerán partículas víricas, madurarán y migrarán a los órganos linfoides secundarios para activar a linfocitos T colaboradores (Th) y citotóxicos (Tc) específicos al virus, mismos que tendrán una proliferación y posterior reclutamiento al tejido alveolar entre 6-10 días después para una respuesta más contundente con éxito en la eliminación de células infectadas pero con liberación de grandes cantidades de citocinas.

Paralelamente los Th mediarán la eficiencia de la respuesta inmune cooperando con las células B en los OLS para que produzcan cambio de isotipo e hipermutación somática para la elaboración de anticuerpos más específicos.

La eliminación rápida de las células infectadas, neutralización por anticuerpos específicos, con mínima inflamación en el tejido se traduce en una respuesta inmune funcional, caso contrario en la respuesta disfuncional existe excesiva infiltración de células de ataque, tormenta sistémica de citocinas e inflamación extendida ya no solo al tejido alveolar causando edema y neumonía sino compromiso multiorgánico.

El papel de los monocitos y macrófagos es el más relevante en la patogénesis.

Los macrófagos alveolares son la primera línea de defensa pulmonar y realizan la inmunovigilancia. Son originados en el desarrollo fetal y se sitúan adyacentes a los neumocitos tipo II que constituyen el 5-10% de epitelio y producen el surfactante pulmonar. Los neumocitos tipo I constituyen el 90% de epitelio y se encargan del intercambio gaseoso.

Los monocitos periféricos dependiendo del microambiente tisular se diferencian en macrófagos o en células dendríticas. En un principio los macrófagos alveolares coexisten con los inmigrantes derivados de monocitos pero en infecciones virales, bacterianas, presencia de tabaco o contaminantes se invierte la proporción. (14)

Los macrófagos alveolares pueden autorrenovarse y sobrevivir mucho tiempo. Tienen mayor tamaño, más citoplasma y son más tolerantes que los inmigrantes pues tienen mayor contacto con antígenos externos. Expresan receptores adicionales como CD200, SIRP- α y scavengers y secretan TNF- β para eliminación de patógenos, restos celulares y antígenos particulados *sin provocar inflamación o respuesta inmune*.

Los macrófagos alveolares se dividen en 2 grupos, los M1-like y los M2-like. Los M1 son defensivos a patógenos y se activan por IFN o LPS bacteriano. Tienen alta capacidad fagocítica y exocitosis de ROS y ON. Expresan HMC tipo II y otras moléculas que sirven de enlace con los linfocitos T.

Los M2 derivan de los M1. Su diferenciación es por TNF- β , IL-10 e IL-4 junto con IL-5, IL-6, e IL-13 secretadas por linfocitos Th y son encargados de *resolver la inflamación*, promoviendo la inmunosupresión e inhibiendo la fagocitosis y favoreciendo la tolerancia inmune. *Reparan tejidos y recuperan la homeostasis, promoviendo la angiogénesis y remodelación de matriz.* (14)

Los “receptores de reconocimiento de patrones” se dividen en 2 grupos, ambos importantes en la respuesta ante SARS-CoV-2 y son los PAMP y los DAMP.

Los TLR reconocen estructuras conservadas comunes en grupos de patógenos, son endosómicos y se requiere fagocitosis e hidrólisis de los microorganismos para exponer su material genético a los mismos para su reconocimiento. El TLR-3 reconoce ARN viral de doble cadena, el TLR-7 y TLR-8 reconocen ARN de cadena sencilla.

Los receptores DAMP se han denominado “alarminas”. Son *moléculas quimiotácticas que activan el sistema inmune* como resultado del estrés, daño y/o muerte celular o tisular, señales de peligro homeostático como hipoxia cambios de pH, osm, estrés metabólico, estrés térmico. *Una célula dañada afecta a otras para que secreten más IL1, IL18, IL33, TNF e IFN- γ .* (14)

Las células infectadas por SARS-CoV-2 activan el *NLRP3-inflamasoma*, entran en piroptosis y secretan IL-1 β , IL-18, TNF- α e IL-33, se lisan y *liberan DAMP* iniciando inflamación y activación de macrófagos alveolares. En los fagolisosomas se degradan proteínas y liberan partículas de ARN víricas reconocidas por TLR 7 y 8.

El virus es opsonizado por anticuerpos no neutralizantes, de isotipo IgG e internalizado por receptores Fc del macrófago que activarán al mismo, además de ser paralelamente infectando mediante receptores ECA-2 y TMPRSS2.

La activación de los macrófagos mediante sus PRR (DAMP y PAMP) conduce a secreción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas, aumento de permeabilidad vascular y extravasación rápida de monocitos que se transforman a macrófagos o células dendríticas y además neutrófilos que amplificarán la inflamación. En segundo plano se extravasan también linfocitos T activados y los linfocitos B que producirán nuevos anticuerpos. (14)

Como mencionamos antes, la mayoría de individuos infectados con SARS-CoV-2 controlan la invasión y neutralizan haciendo que la respuesta inflamatoria decaiga y comiencen los mecanismos reparadores con la posterior recuperación, pero un 20% presentará neumonía grave o crítica por estado hiperinflamatorio que se ha definido como “*síndrome de liberación de citocinas-CRS*” o “*tormenta de citocinas*” ocasionado por activación excesiva de células inmunitarias con liberación descontrolada de citocinas y que inicia localmente pero que rápidamente se refleja en la circulación.

La citocina más crítica es la *IL-6* que aumenta en función de la gravedad de los pacientes. Esta citocina junto con la *IL-1β* señala a los macrófagos como principales contribuyentes más no los únicos.

El CRS está íntimamente ligado al “*síndrome de activación macrofágica-SAM*” que pertenece al grupo de patologías llamadas “*linfocitosis hemofagocíticas*” que produce *leucopenia, insuficiencia hepática, renal, hiperferritinemia, coagulopatía y desórdenes neurológicos* tal como en pacientes graves de la COVID-19 que experimentan una tormenta autoamplificada y un SAM con reclutamiento masivo de células inflamatorias al tejido pulmonar, mayor liberación de citocinas, proteasas, radicales libres y ON con daño severo de endotelio y epitelio alveolar, formación de membrana hialina y extravasación de líquidos desde los endotelios dañados, edema pulmonar, disminución de intercambio gaseoso, hipoxia, SDRA, fallo multiorgánico y muerte. (14)

Los neutrófilos son las primeras células en acudir ante una respuesta inflamatoria e inician respuestas muy rápidas y agresivas ante presencia de DAMP, bacterias, virus y hongos. Se extravasan a través de endotelio inflamado y liberan grandes cantidades de ROS, trampas extracelulares de neutrófilos-“NET” y tienen enorme capacidad fagocítica. En pacientes con SARS-CoV-2 son los *principales responsables de daño endotelial y de tejidos, trombosis y disfunción eritrocitaria, derivando a shock y fallo multiorgánico.*

En pacientes con COVID-19 hay una relación neutrófilo/linfocito muy incrementada en pacientes críticos entre el día 7 y 9 y que es predictivo de mortalidad.

El desequilibrio entre la producción de especies oxidantes y antioxidantes produce el estrés oxidativo que incluye *peroxidación lipídica y oxidación del ADN*. En infecciones virales hay disminución de las medidas antioxidantes pues *inhiben la transcripción nuclear de las mismas*. En pacientes de edad avanzada se ha observado disminución de la enzima antioxidante super-óxido-dismutasa-3 (SOD3).

Los niños en cambio, tienen neutrófilos menos reactivos, menos adherentes y equilibrio redox más estable.

Los eritrocitos son especialmente susceptibles a la oxidación provocando hipoxia y fallo respiratorio.

Por último, se ha descrito incremento de niveles circulantes de NET en pacientes de COVID-19. La netosis es un proceso regulado, diseñado para atrapar patógenos, pero tienen también capacidad directa de daño tisular colateral eliminando células epiteliales y endoteliales. En SARS-CoV-2 hay aumento de MPO e histona -H3 que son marcadores de la formación de NETS. Su aumento está asociado a neutrofilia y daño pulmonar. Además los NET tienen *capacidad de activar plaquetas y servir de nicho para la formación de trombos*. (14)

SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO

LINFOCITOS T: Responsables de la defensa específica frente a virus y tumores. Lo Th dirigen y regulan la respuesta inmune mediante liberación selectiva de citocinas y dependen de la información que les transmita el sistema innato

Los Tc eliminan las células infectadas, liberando gránulos citotóxicos, como granzima B y perforina A.

La respuesta innata eficiente y la “posible” presencia de células con memoria antigénica provoca que los pacientes expresen un fenotipo asintomático o moderado. Sin embargo el SARS-CoV-2 provoca comportamientos inadecuados en los macrófagos, NK, células dendríticas en sus rutas de expresión de los IFN y las MHC, retrasando la activación linfocítica, aumento de replicación viral.

SARS-CoV-2 interfiere en la respuesta de IFN de tipo I y III por hiperproducción de IL-1 β , IL-6 e IL-8 por el sistema innato.

La ausencia de linfocitos T podría provocar una repoblación de células innatas más agresivas que amplifican la inflamación. Pacientes asintomáticos, gravedad moderada presentan linfocitos T específicos del virus productores de IFN- γ , indicando que una respuesta adecuada de Th1 es responsable de la correcta eliminación viral.

En pacientes con COVID-19, la activación de Th es en los OLS por células dendríticas maduras, presentando partículas virales, además de proporcionar IL-2 que provocará la expansión clonal de Th específicos de IFN- γ (Th1). Si el microambiente presenta citocinas alternativas como IL-4,IL-6,TGF- β , IL-10 se produce respuesta Th2 (productoras de IL-4), Th17 (productoras de IL-17), Th22 (productoras de IL-22), Th1 (de IL-21), Treg (de IL-10, TGF β). Esta desviación de respuesta genera respuesta inadecuada ante el virus. (14)

A pesar de que el SARS-CoV-2 es un virus nuevo, se ha encontrado reconocimiento cruzado en los linfocitos T frente a otros coronavirus α y β , causantes de catarrros comunes. La mayoría de estas células de memoria son Th y reaccionan ante epítomos conservados de estos coronavirus.

La presencia de células de memoria en la población sugiere cierto grado inmune preexistente ante SARS-CoV-2. Se sugiere que las reacciones más fuertes a las vacunas sea por influencia de estas células de memoria.

LINFOCITOS B: Responsables de la defensa humoral específica frente a microorganismos con modo de vida extracelular como bacterias o virus en fase infecciosa o lítica.

En una primoinfección, requieren de tiempos de diferenciación largos, entre 5 y 14 días, mientras los mecanismos innatos y anticuerpos naturales contienen la infección.

Su activación en OLS inicia cuando se reconocen partículas viricas por IgM e IgD de su membrana. Desde que reconocen los virus los linfocitos B en zonas extrafoliculares van a activarse, proliferar y diferenciarse rápidamente y producir oleadas de LB plasmáticos secretores de IgM y en ciertos microambientes inflamatorios LB secretores de IgG. Es un linfocito poco específico, rápido activándose con vida media de 2-3 días, *no cambia de isotipo y no realiza mejora genética de sus Ig's (hipermutación somática), no produce memoria antigénica y tiene respuesta defensiva en ausencia de las células Th* (respuesta timo-independiente) para contener y eliminar microorganismos con la activación del complemento , opsonización, fagocitosis y neutralización. (14)

Los LB que son activados por el virus y cooperan con los LT previamente activados (respuesta timo-dependiente) migran al folículo donde sufren procesos de diferenciación a células plasmáticas, *cambio de isotipo de IgM a IgA, IgG o IgE en función de las citocinas que le proporcionen los LTh, hipermutación somática de sus regiones de reconocimiento y la formación de LB de memoria.* Tienen afinidad mejorada, opsonizan y neutralizan. *Los anticuerpos*

neutralizantes más eficientes son IgA diméricas de las mucosas, las 4 subclases de IgG en los tejidos y menos las IgM. IgG1, IgG3 e IgGA son opsonizantes.

Los infectados por SARS-CoV-2 presentan IgM específicas en las primeras 24 h; IgA e IgG específicas en los días 5-15 (media 10 días) desde la aparición de los síntomas, siendo las más relevantes las IgG anti proteína S y anti nucleocápside.

El dominio de la proteína S es la parte más inmunogénica y por tanto la que tiene mas capacidad de producir anticuerpos neutralizantes. Una carga viral alta se asocia con aumento de anticuerpos específicos, y estos, a un aumento en la gravedad, por un lado por un exceso de las respuestas B extrafoliculares timo-independientes y por otro a la falta de cooperación entre los LTfh y los LB por retraso en activación desde el sistema innato por interferencia del virus causando una inadecuada respuesta B folicular.

Los anticuerpos neutralizantes frente a proteína S es el método más eficiente para impedir la infección celular y constituye la base de la vacunación, pero tanto IgG o IgA presentan un papel opsonizante que favorece la infección en macrófagos, neutrófilos y células dendríticas que tienen receptores Fc.

La infección por neumonías previas podría provocar expansión de células B de memoria con producción de anticuerpos opsonizantes en vez de neutralizantes, favoreciendo la entrada viral en lugar de su eliminación pudiendo causar un cambio en el curso natural de un paciente de patología moderada a grave. *Las exposiciones previas a epítomos similares de infecciones locales, mediante reacciones cruzadas, explican la letalidad del SARS-CoV-2 en distintas partes del mundo y a la distinta letalidad por las distintas cepas del virus. Las personas más longevas tienen mayor probabilidad de experimentar el ADE por más probabilidad de exposición previa a mayor número de neumonías.* (14)

3.8.4 VACUNACIÓN

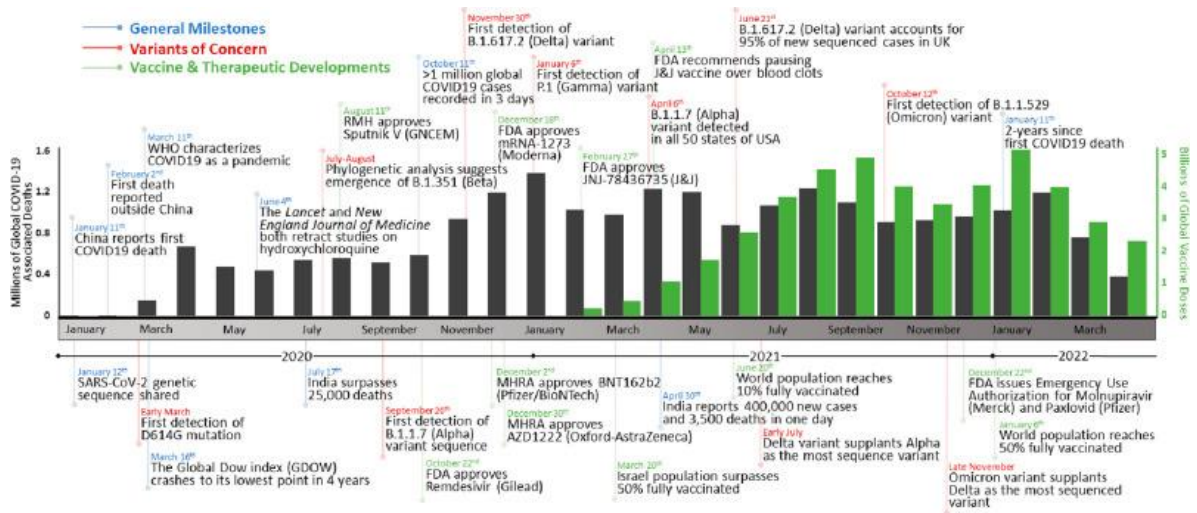
Los B-coronavirus se transmiten por vía respiratoria y mucosas y tienen replicación en el tracto respiratorio inferior, ocasionando neumonía que puede ser mortal. El tiempo promedio de incubación son 4-5 días y 97% expresan síntomas a los 11,5 días.

Al principio de la progresión de la pandemia, estaba claro que la vacunación era el enfoque profiláctico más prometedor para frenar la propagación del SARS-CoV-2. La tasa de desarrollo y aprobación de vacunas contra SARS-CoV-2 avanza a un ritmo sin precedentes.

El 8 de abril de 2020, el panorama de vacunación contra la COVID-19 incluía 115 vacunas candidatas que incluían enfoques tradicionales como virus completo

inactivo o virus vivo atenuado. Otros enfoques son más nuevos como, proteínas recombinantes y vectores. Las vacunas de ARN y ADN no se habían empleado en una vacuna con licencia, **ver esquema 4. (16)**

Las 10 vacunas en la fase 4 incluían tecnologías de ácidos nucleicos, virus enteros y vectores virales.



Esquema 4. Cronología del COVID-19 en pandemia. Hitos generales-azul, variantes preocupantes-rojo, vacunas y desarrollos terapéuticos- verde. Número de muertes globales-gris y dosis de vacuna administradas-verde, graficadas por mes en el transcurso de pandemia. (16)

Las vacunas de virus inactivos deben entrenar el sistema inmunológico con muchos epítomos diversos de SARS-CoV-2; sin embargo, la formación de agregados de virus o la desnaturalización/degradación de proteínas durante el proceso de inactivación pueden reducir significativamente su eficacia. Hasta el momento, las vacunas de RNAm demuestran eficacias más altas. Las vacunas enfocadas en proteína S también son vulnerables en su eficacia por mutaciones en una región de inestabilidad genética que llevan a VoC capaces de evadir parcialmente la inmunidad pasiva de las vacunas. La aparición del VoC ómicron cuya denominación científica es B.1.1.529 tenía un número alto de mutaciones.

Para abordar este problema, el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas (NIAID) de los EE.UU. puso en marcha proyectos para el desarrollo de vacunas pan-coronavirus que darán inmunidad frente a múltiples CoV. Se centran en la proteína S pero en las regiones conservadas que cubran todos los Sarbecovirus. (16)

La proteína S, especialmente su RBD, es un objetivo preferido, por ser capaz de generar una fuerte respuesta de células B y T. Sin embargo, otras proteínas

(como N) también son capaces de generar una respuesta robusta de células T, con la ventaja que *el gen de la nucleocápside tiene una conservación de secuencia alta y baja propensión a recombinación*. Ya se está probando como objetivo de vacuna sola o en combinación con la proteína S, o incluso un tercer ORF. Tres vacunas candidatas ya habían alcanzado la fase 2 en noviembre de 2021.

Se ha demostrado que las vacunas causan una respuesta neutralizadora suficiente para protección. El sitio corporal de administración influye en la respuesta inmune. *La mayoría de las vacunas contra virus respiratorios se administran via IM o ID y provocan respuesta inmune sistémica, pero con menor protección en mucosas comparativamente con la infección natural*.

En cuanto a la preocupación de potenciar la enfermedad por la vacuna, no se observó aumento de la enfermedad en ningún estudio de vacuna en humanos. Las respuestas inmunitarias deseadas incluían anticuerpos neutralizantes y respuestas inmunitarias celulares Th1.

El principal objetivo antigénico de las vacunas es la proteína S de superficie. Los anticuerpos que se unen al RBD de la proteína S evitan la unión a la célula huésped y neutralizan al virus. (16)

Dado que la mayoría de los inmunógenos y reactivos de la vacuna contra el SARS-CoV-2 eran basados en la secuencia de referencia original de Wuhan, las mutaciones VoCs emergentes justificaron una investigación urgente para evaluar sus consecuencias sobre la eficacia de la vacuna. Las dos vacunas de ARNm tenían una *formulación monovalente*, es decir, que *su objetivo antigénico era basado en la cepa salvaje*, con el tiempo, surge la *formulación bivalente*, la cual además de tener como *objetivo los antígenos de la cepa original también incluía objetivos para las subvariantes Ómicron BA.4 y BA.5. Desde abril del 2023, solo las vacunas bivalentes están autorizadas en E.U.*

- Pfizer-BioNTech, bivalente (Original y Ómicron) para personas de > 6 meses.
- Moderna, bivalente (Original y Ómicron), disponible para > 6 meses.
- Novavax, vacuna de proteína recombinante adyuvada (monovalente) está disponible para > 12 años. Aún no está disponible en una formulación multivalente (contienen antígeno solo de la cepa SARS-CoV-2 original) y por tanto hasta ahora es solo una alternativa ante la negación a recibir una ARNm. (16)

A partir de mayo 2023 la vacuna J&J ya no está disponible en EU.

No existen ensayos que comparen de manera precisa la eficacia entre las vacunas, pero evidencia limitada sugiere que la vacuna Moderna puede ser un

poco más eficaz que Pfizer. No está claro si la diferencia es clínicamente significativa.

Los datos sobre la vacuna Novavax son mas limitados.

En mayores de 12 a 64 años se recomienda una sola vacuna bivalente de ARNm, independientemente de que no estén vacunados o hayan recibido previamente dosis de vacuna monovalente. No necesitan vacunas adicionales, pero si hay condiciones de inmunocompromiso se sugiere una dosis adicional.

Para personas mayores de 65 años, la CDC permite una dosis bivalente adicional, pero esta dosis es opcional a menos que existan datos de inmunocompromiso, o comorbilidades asociadas.

Aquellos que recibieron una vacuna sin ARNm para la serie primaria, estudios indican una buena inmunogenicidad con una dosis de ARNm como refuerzo heterólogo y mayor efectividad que con refuerzo homólogo. La frecuencia y duración de los síntomas sistémicos (fiebre, escalofrios, mialgias) pueden ser ligeramente superiores con refuerzo con Moderna.

A menos que sea para evaluar sospecha de infección, las pruebas de rutina serológicas posterior a la vacunación para confirmar una respuesta de anticuerpos o para determinar si se deben administrar dosis adicionales no están indicadas. Muchas de las pruebas no detectarán el tipo de anticuerpos provocados por la vacunación. (16)

Los efectos secundarios a la vacunación pueden superponerse con síntomas de COVID-19. Si las reacciones sistémicas + síntomas respiratorios ocurren después de los primeros dos días posteriores a la vacunación o que duran varios días, son indicativos de posible COVID-19 y justifican las pruebas.

La vacunación se ha asociado con una mayor protección contra la hospitalización por COVID-19 en comparación con una infección previa en algunos estudios.

En antecedentes de COVID-19 puede haber mas probabilidad de efectos adversos locales y sistémicos después de una dosis de vacuna pero no es ni contraindicación o precaución para posteriores dosis.

El tiempo necesario para generar una respuesta inmune protectora después de la vacunación supera el periodo medio de incubación de SARS-CoV-2, por lo que es probable que la vacunación posterior a la exposición no reduzca el riesgo de infección después de esa exposición específica.

No se recomienda el uso de AINES como profilaxis antes de recibir la vacuna debido al impacto incierto en la respuesta inmune del huésped a la vacunación.
(16)

3.8.4.1 SEGUIMIENTO DE LAS VARIANTES SARS-CoV-2 POR LA OMS:

En la página oficial de la OMS se menciona que más del 98% de las secuencias genéticas disponibles desde febrero de 2022 corresponden a virus ómicron y que a partir de estos es más probable que surjan nuevas variantes del SARS-CoV-2, aunque sigue siendo posible la aparición de variantes derivadas de VoC anteriormente en circulación o de variantes completamente nuevas.

A finales de 2020, la OMS caracterizó la aparición de variantes en *variantes de interés-VOI* y *variantes de preocupación-VOC* para dar prioridad al monitoreo global y ajustar la respuesta al COVID-19.

A partir del 15 de marzo de 2023, los sublinajes omicrón son clasificados de manera independiente en el *sistema de seguimiento de variantes OMS* como variantes bajo vigilancia, variantes de interés o variantes de preocupación.

Se siguen nombrando con letras del alfabeto griego a las variantes de preocupación, pero ya no a las variantes de interés. Estos cambios identifican mejor las amenazas adicionales o nuevas. (16)

Las variantes consideradas preocupantes anteriormente en circulación son las variantes alfa, beta, gamma, delta y el linaje parental ómicron(B.1.1.529).

La variante XBB.1.5 ha sido clasificada como variante de interés.

Las definiciones de trabajo actuales publicadas en marzo 2023, se pueden consultar en la página oficial de la OMS.

**Variante bajo vigilancia (VUM): Variante con cambios genéticos que se sospecha afectan las características del virus y sus señales de crecimiento que confieren ventaja sobre otras variantes. Como el impacto epidemiológico no está claro, lo que requiere seguimiento y revaloración.*

**Variante de interés (VOI): Cambios genéticos que se sabe afectan la transmisibilidad, virulencia, evasión de anticuerpos, susceptibilidad a terapéutica y detección. Tienen ventaja de crecimiento sobre otras variantes circulantes en más de una región y sugieren riesgo emergente para salud pública mundial.*

**Variante de preocupación (VOC): Cumple la definición de VOI, pero a través de una evaluación de riesgo se determina cumple con:
-cambios que afectan la gravedad clínica*

-Cambios en la epidemiología de COVID-9 que causa un impacto en los sistemas de salud para brindar atención a los pacientes
-Diminución de la efectividad de las vacunas disponibles. (16)

3.8.4.2 CUESTIONES GENERALES DE EFICACIA:

Datos limitados sugieren eficacia de la vacuna bivalente contra la infección sintomática con las subvariantes BQ.1, BQ.1.1, y BF.7- las tres, descendientes de BA.5 y XBB.1.5 de Ómicron a pesar de la unión reducida de los anticuerpos neutralizantes anti- SARS-CoV-2.

Algunos estudios, sugieren que los refuerzos bivalentes que incluyen a la proteína S de BA.4/5 inducen niveles mas altos de anticuerpos contra el virus BA.4/5 en comparación con los niveles previos al refuerzo y en comparación con los refuerzos monovalentes.

Usar la vacuna bivalente versus monovalente es similar a actualizar la vacuna contra la influenza estacional; cada año se producen nuevas vacunas con nuevos objetivos antigenicos que coincidan con el virus circulante.

Aunque inicialmente se informaron tasas de eficacia extremadamente altas en la prevención de infecciones sintomáticas, su efectividad ha disminuido con el tiempo por la inmunidad menguante y evasión inmune por ciertas variantes. Aún así, las vacunas continuan brindando buenos niveles de protección contra la enfermedad grave, riesgo de hospitalización y muerte en comparación con personas no vacunadas. (16)

La eficacia menguante es, que la protección de la vacuna contra la infección disminuye, pero la protección contra hospitalización y muerte disminuyen menos.

3.8.4.3 IMPACTO EN EL RIESGO DE TRANSMISIÓN:

La vacunación generalizada reduce el riesgo de transmisión general ya que es menos probable que las personas se infecten. *Antes de la aparición de Ómicron los datos también sugirieron que los que desarrollan infección a pesar de la vacunación tienen menos probabilidades de transmitirla a otros.*

También se puede disminuir la probabilidad de transmisión por la vacunación en el contexto de infección por Ómicron. (16)

3.8.4.4 VACUNA PFIZER-BioNTech COVID-19 (BNT162b2) Y MODERNA COVID-19 (mRNA-1273):

Vacunas de ARNm administradas en una nanopartícula lipídica para expresar una proteína S de longitud completa

Se han relacionado con aproximadamente un 90 por ciento o más de efectividad para prevenir la hospitalización, admisiones a UCI y muerte en adolescentes y adultos. Algunos datos sugieren que la efectividad en niños de 5 a 11 años puede ser menor, pero no está claro si esta disminución está relacionada por el surgimiento de Ómicron que dominó poco después de la introducción de la vacuna para niños. (16)

La efectividad disminuye con el tiempo y puede disminuir la protección contra la infección con ciertas variantes, pero la protección contra enfermedad grave sigue siendo sustancial.

Los ensayos con Moderna tras dos dosis tuvieron un 94.1% de eficacia en disminuir COVID-19 sintomático en mayores de 18 años. En mayores de 65 años la eficacia fue del 86.4%

Los ensayos de Pfizer tras dos dosis la colocan con un 95% de efectividad para COVID-19 sintomática en mayores de 16 años. En mayores de 65 años con otras comorbilidades la eficacia fue de 91.7%. En un seguimiento más prolongado a los 2 meses, la eficacia disminuyó levemente a 90% a los 4 meses y a 84% a los 6 meses.

Pfizer autorizada en México el 03/03/2022.

3.8.4.5 VACUNA Ad26.COVS.2 (Janssen/Johnson & Johnson):

Vacuna de subunidad de proteína recombinante compuesta por glicoproteínas de punta trimérica. Además de los efectos adversos locales y sistémicos comunes, se ha asociado con trombosis con trombocitopenia y síndrome de Guillain Barre en muchos estudios. Después de su dosis única los estudios dieron un 56.3% en disminución de COVID-19 moderado y de 74.6% grave/crítico. Autorizada en México el 27/05/2021. (16)

3.8.4.6 VACUNA ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222(Universidad de Oxford, AstraZeneca):

Se basa en un vector de adenovirus de chimpancé incompetente para la replicación y que expresa la proteína S. Además de los efectos adversos locales y sistémicos comunes, se ha asociado con riesgo muy bajo de eventos tromboticos asociados con trombocitopenia. El riesgo tromboembólico general es incierto.

Después de dos dosis eficacia para prevenir infección sintomática del 70-76%. Autorizada en México el 21/04/2021 y cuenta con recomendación por el programa de precalificación para medicamentos y vacunas de la OMS. (16)

3.8.4.7 VACUNA Convidencia-Ad5-nCoV (CanSino Biologics):

Vector de adenovirus 5 incompetente para la replicación que expresa la proteína S. En los primeros ensayos, la inmunidad preexistente al adenovirus 5 y la edad avanzada se asociaron a títulos más bajos de anticuerpos neutralizantes; esto limita su utilidad en lugares donde prevalece la inmunidad preexistente. Eficacia de 57.5% para infección sintomática y 91.7% para enfermedad grave. Disponible en México y autorizada el 08/02/2021. (16)

3.8.4.8 VACUNA Gam-COVID-Vac/Sputnik V:

Desarrollada en Rusia y registrada el 11 de agosto de 2020. Utiliza dos vectores de adenovirus incompetentes (adenovirus humano tipo 26 y adenovirus humano recombinante tipo 5) para la replicación que expresan una Gp S completa. Disponible en México. Los 20 casos de COVID-19 grave que ocurrieron 21 días después de la primera dosis estaban en el grupo placebo. Eficacia del 91.6% en prevención sintomática a la segunda dosis. No se consideran eventos adversos graves relacionados con la vacuna. Aprobada en México. (16)

3.8.4.9 VACUNA CoronaVac (Sinovac):

Vacuna COVID-19 inactivada con adyuvante de hidróxido de aluminio. Disponible en México. En varios estudios , la eficacia de la vacuna fue <83.5% y menor efectividad en mayores de 70 años. (16)

3.8.5 MÉTODO DE DIAGNÓSTICO- PRUEBA RÁPIDA ANTIGÉNICA

*CerTest SARS-CoV-2

Ensayo inmunocromatográfico de un solo paso para la detección cualitativa de antígenos de nucleocápside de SARS-CoV-2 a partir de muestras de hisopados nasofaríngeos procedentes de pacientes sospechosos de infección por COVID-19 que ofrece resultados en 10 minutos.

Con autorización de COFEPRIS para su uso y venta en México desde el 2021. Cuenta con registro CE-IVD. Validada para muestras frescas y aquellas que se encuentren en medios de transporte virales.

El diluyente de muestra inactiva al SARS-CoV-2, 99.68% después de 1 minuto y 99.98% después de 10 minutos.

El cartucho de la prueba contiene una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 fijados en la línea de test (T) y anticuerpos policlonales de conejo fijados en la línea de control dirigidos contra una proteína específica.

Las recomendaciones de la OMS para uso de Ag-RDT establecen que la prueba puede emplearse como método de detección de individuos en riesgo y aislar rápidamente casos positivos en brotes confirmados por PCR, también para monitorear la tendencia en incidencia de enfermedad en comunidades y detección temprana y aislamiento de casos positivos en los centros de salud.

La evidencia sobre el uso de Ag-RDT se centra principalmente en sintomáticos con menos de 5-7 días desde el inicio de sus síntomas y, a partir de ese periodo, la sensibilidad es insuficiente, por lo que no pueden considerarse un reemplazo de la RT-PCR, sino un complemento para el diagnóstico, sin embargo, también ya se ha señalado que estas pruebas pueden ser útiles para individuos asintomáticos, pues tienen cargas virales similares a los casos sintomáticos, siendo particularmente útiles en situaciones de alta prevalencia de enfermedad, significando que la prueba puede utilizarse como herramienta de cribado en poblaciones asintomáticas.

Entre sus beneficios destaca la sensibilidad de 96% para muestras PCR positivas con Ct <25 y de 90% para muestras PCR positivas con Ct <30 esta última de una evaluación del INDRE en 2021

La especificidad ofrecida es de 98.4% y algunos estudios la han colocado incluso como 100%

-FUNDAMENTO:

El material absorbente donde se coloca la muestra contiene un conjugado de anticuerpos monoclonales de ratón frente a SARS-CoV-2 con látex de poliestireno rojo y otro conjugado con latex de poliestireno verde y proteína específica de unión-.

Los antígenos de la muestra diluida en un paciente positivo reaccionarán con el conjugado rojo que se encuentran en la ventana para dispensar la muestra, posteriormente por capilaridad la mezcla avanza a través de la membrana de nitrocelulosa en donde existen fijados en la línea de test (T) anticuerpos secundarios anti-SARS-CoV-2 que capturarán el complejo coloreado y se formará una línea roja. La intensidad del color depende de la concentración de antígenos presentes en la muestra.

De no existir el antígeno en la muestra, no se forma inmunocomplejo y por tanto no habrá captura en la ventana de resultados. Independientemente de esto, los anticuerpos policlonales inmovilizados en la ventana de resultados en la línea de control vs proteína específica de unión van a recibir el conjugado de control y la línea verde siempre aparecerá.

4. OBJETIVO

Conocer y comparar la incidencia de enfermedad por SARS-CoV-2 antes y posterior a la implementación de tratamiento profiláctico en un hospital privado de Ciudad de México, Hospital Angeles Pedregal tomando como referencia diagnóstica la prueba de tamizaje rápida antigénica en el periodo comprendido abril 2021 a abril 2023.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mutación de SARS-CoV-2, su rápida adaptación al ser humano, la globalización y su fácil vehículo de transmisión, convirtieron rápidamente los intentos de las organizaciones de salud para controlar la crisis epidémica en ineficaces y a una necesidad de implementar en un breve periodo de tiempo enfoques terapéuticos profilácticos que se sumaran a las medidas que intentaban disminuir la dispersión entre la población. Tener un conocimiento sobre incidencia epidemiológica con métodos rápidos de rutina y que resulten sencillos de reproducir y a bajo costo en un momento de economía lábil para conocer el impacto funcional o no de la terapéutica actual sirvieron y sirven como base para plantear necesidades a futuro próximo en la implementación de nuevos enfoques o dianas a donde se dirigirán los nuevos tratamientos.

6. JUSTIFICACIÓN

La técnica estándar de oro en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 es la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa de transcripción inversa (RTqPCR).

El principal problema en el uso rutinario es que requiere al menos algunas horas para dar un resultado por lo que en momentos de crisis de pandemia se requería de diagnósticos más rápidos para clasificación de situaciones de emergencia en el medio hospitalario. Es un método caro, que requiere de personal entrenado con comprensión total de la metodología y fundamento además de un equipo especializado más difícilmente disponible en los servicios de salud.

Estas desventajas (exceptuando el costo) se eliminaron cuando se añadieron primers de detección a ensayos automatizados de análisis molecular por PCR múltiple en el panel respiratorio del FILMARRAY con generación de resultados confiables y contundentes en un periodo de tiempo de solo 45 min permitiendo definir rápidamente la internación de pacientes y descartar o identificar coexistencias de otros patógenos virales comunes.

Los síntomas inespecíficos, la saturación de los servicios de salud, el desconocimiento inicial de tasa de transmisión, la poca experiencia del personal de salud y la salud emocional de la población mundial en crisis fueron algunos de factores que determinaron la necesidad urgente de tener un método diagnóstico que rápidamente otorgara un panorama o perspectiva en la que se basarían la toma de decisiones inmediatas en los pacientes y además por que un punto clave en el control de la pandemia era el diagnóstico temprano.

Las pruebas de diagnóstico rápido de antígenos (Ag-RDT) eran prometedoras para superar varias de las limitaciones que eran preocupantes, y a pesar de mostrar una menor sensibilidad diagnóstica al método de referencia, su bajo costo, mejora en tiempos de entrega y la posibilidad de emplearse como pruebas en el punto de atención, hizo que permanecieran vigentes durante toda la emergencia sanitaria y hoy día.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realiza estudio epidemiológico, unicéntrico, retrospectivo, analítico y descriptivo de la eficacia de vacunación contra SARS-CoV-2 utilizando la base de datos del laboratorio Hospital Ángeles Pedregal de las pruebas de tamizaje rápida antigénica positivas en un periodo de tiempo comprendido 1 de Abril 2021 a 31 de abril 2023.

Los criterios de inclusión fueron todos los pacientes que acudieron ambulatoriamente desde venta externa, venta auto, también los que acudieron a urgencias, preadmisión e internos. No se tomaron en cuenta variables demográficas como edad o sexo, ni clínicas de la población de estudio (síntomas) para excluir en el estudio.

Se define como variable dependiente -Prueba de tamizaje antigénica CerTest como método de detección de SARS-CoV-2.

Como variable independiente -Todo paciente que acude a toma de prueba previo a la implementación de estrategia nacional de vacunación y posterior a la implementación de la misma.

-La variable cualitativa nominal es el resultado positivo o negativo arrojado por la prueba CerTest SARS-CoV-2 en pacientes ambulatorios y hospitalizados durante todo el periodo de tiempo en que se desarrollo este estudio.

En las variables cuantitativas discretas tenemos el número de pruebas totales obtenidas durante el periodo de tiempo que duró este análisis.

Se divide en dos grupos tomándo como fecha de inicio el 1 de abril del 2021 que es el primer registro en base de datos y se toma como fecha de referencia o de comparativa el final de etapa 5 de la estrategia nacional de vacunación que finalizó el 31 de marzo de 2022 donde se incluía la totalidad de la población.

El proceso de recolección de muestra se realizó de acuerdo a las recomendaciones y procedimiento interno a partir de hisopados nasofaríngeos colocados en un medio de transporte universal para su mantenimiento y posterior almacenamiento.

La muestra era transportada a temperatura ambiente al area de proceso que se encuentra en Microbiología de manera inmediata, en donde se efectuaba de acuerdo a las recomendaciones del inserto de la marca comercial CerTest Biotec.

El tiempo de procesamiento de acuerdo al inserto es de 15 minutos completos,

con un reporte de tolerancia de 2 h en sistema, se hizo entrega total de resultados a los pacientes y personal médico. Los datos personales de los pacientes se mantienen anónimos durante este estudio.

Al ser prueba de tamizaje los resultados son cualitativos, reportándose como positivo o negativo a la presencia de antígeno.

Se realiza estadística descriptiva obteniendo la totalidad de pruebas positivas y negativas por mes, así como media, mediana y moda y medidas de variabilidad como desviación estándar y se realizará una comparativa de resultados positivos previo a la vacunación y posterior a la misma representando en tablas y gráficos los resultados obtenidos.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizaron un total de 38,379 pruebas antigénicas en el periodo 1 de abril 2021 a 30 de abril 2023.

En los gráficos 1 y 2 a continuación, se coloca el total de pruebas por mes durante los 25 meses de estudio. Se observa un aumento de incidencia en el año 2022, con mayor tasa de positivos en el mes de enero, seguido de febrero, para posteriormente disminuir y volver a aumentar en los meses de junio y julio.

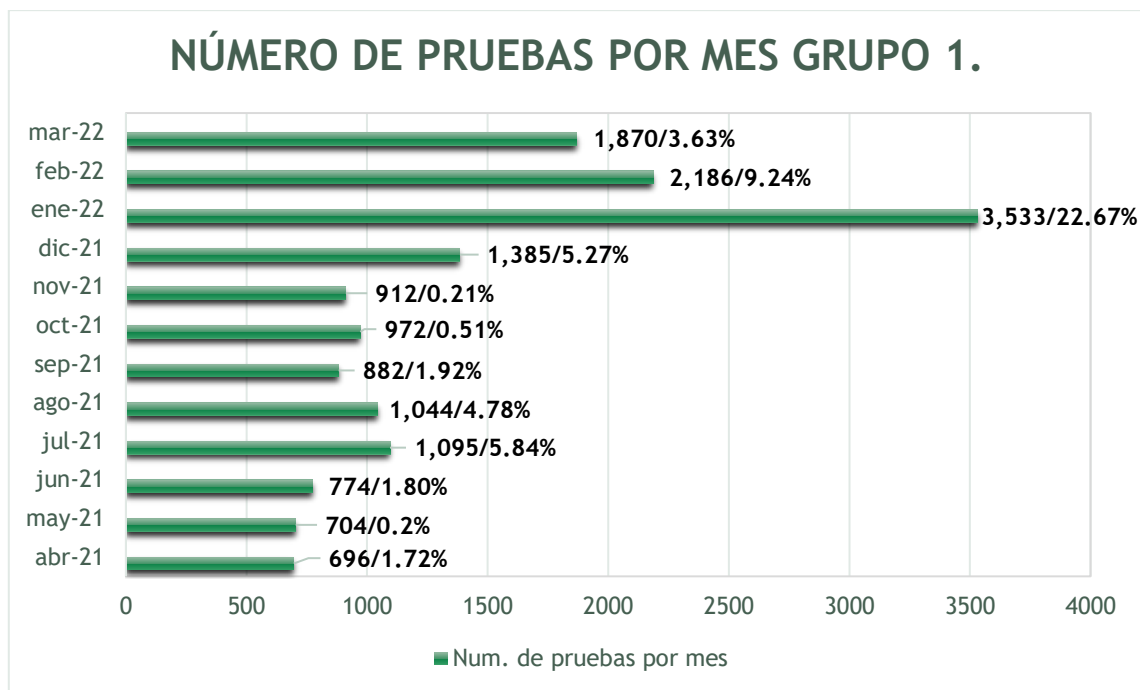


Gráfico 1.

NÚMERO DE PRUEBAS POR MES GRUPO 2.

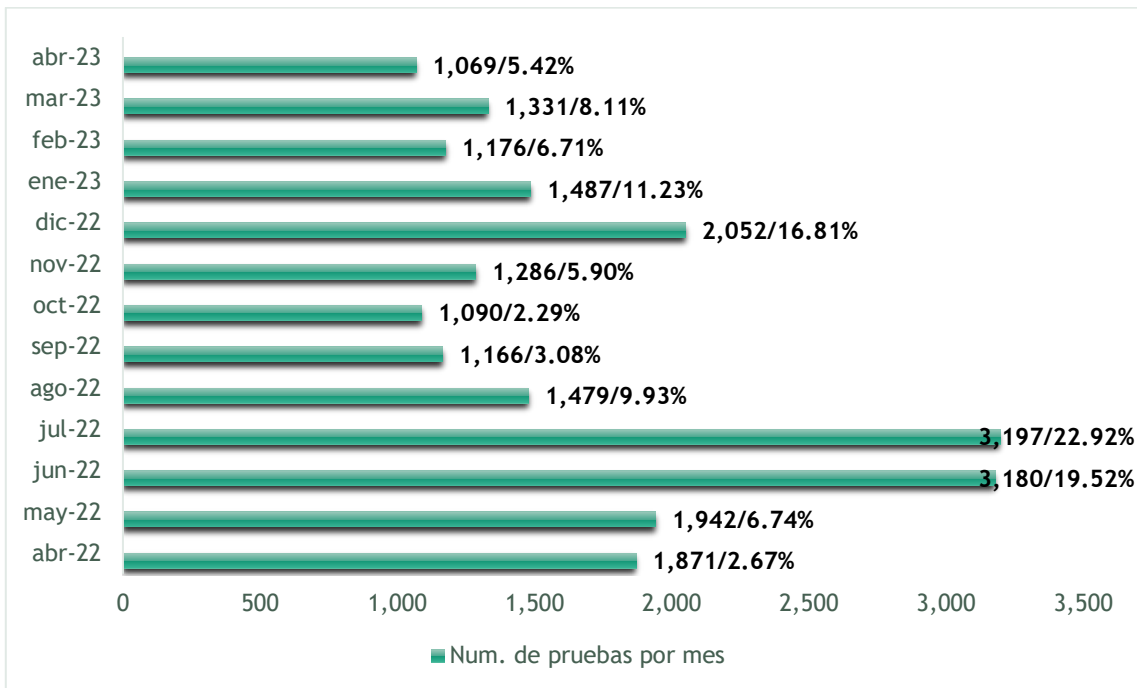


Gráfico 2.

En el **grupo 1** comprendido de 1 de abril 2021 a 31 de marzo 2022 se realizaron un total de 16,053 pruebas de las cuales 1,310 fueron positivas representando el 8.16% de infectados. Ver gráfico 3.

De las 16,053 pruebas, 8,543 se realizaron a sexo femenino con positividad en 763 representando un 4.75% tomando en cuenta las pruebas totales y 8.93% tomando en cuenta solo el total de pruebas realizadas a mujeres; 7,510 pruebas de las 16,053 en sexo masculino con positividad en 547 con porcentajes de 3.40% y 7.28% respectivamente. Ver gráfico 4. Del total de pruebas positivas en este periodo(1,310), 763 en sexo femenino corresponden a un 58.24% y 547 en sexo masculino 41.75%. Ver gráfico 5.

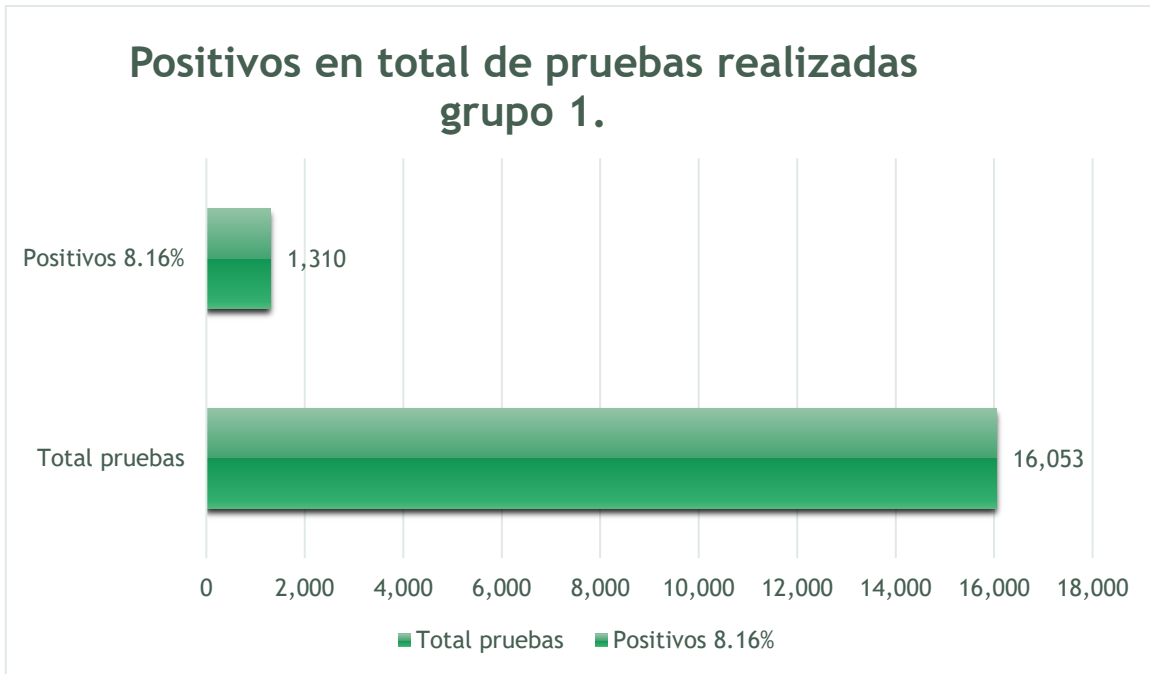


Gráfico 3.

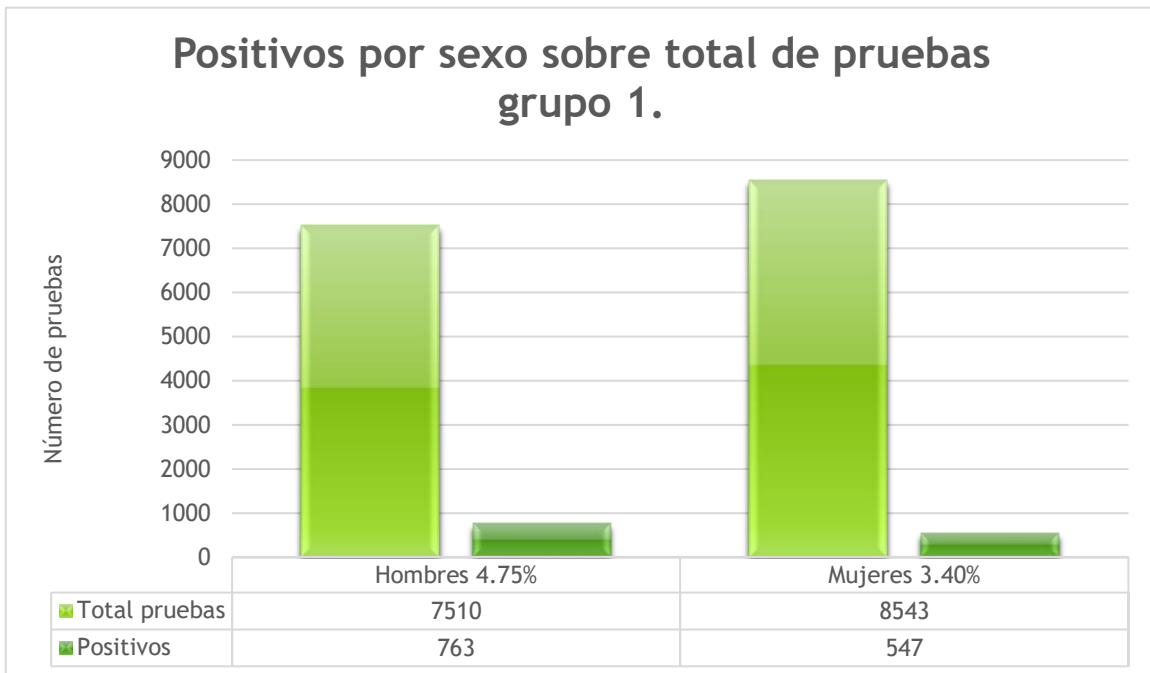


Gráfico 4.

POSITIVOS POR SEXO DE TOTAL DE PRUEBAS POSITIVAS.

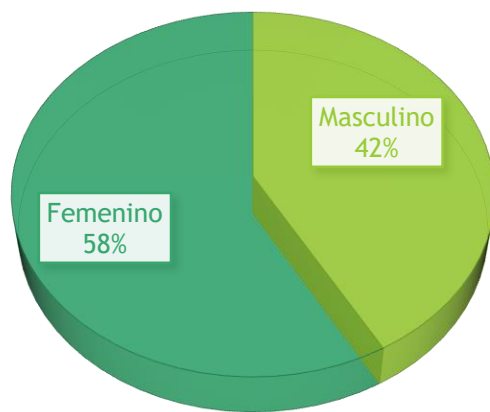


Gráfico 5.

En el mes de Abril 2021 de un total de 696 pruebas realizadas, 12 personas salieron positivas representando 1.72%; Mayo de 704 pruebas 2 positivas con 0.2%; Junio 774 pruebas, 14 positivas, 1.80%; Julio 1,095 pruebas, 64 positivas con porcentaje de 5.84%; Agosto 1,044 pruebas, 50 positivos, 4.78%; Septiembre 882 pruebas, 17 positivos, 1.92%; Octubre 972 pruebas, 5 positivos, 0.51%; Noviembre 912 pruebas, 2 positivos, 0.21%; Diciembre 1,385 pruebas, 73 positivos, 5.27%; Enero 2022 3,533 pruebas, 801 positivos con porcentaje 22.67%; Febrero 2022, 2,186 pruebas, 202 positivos con 9.24%; Marzo 2022 1,870 pruebas, 68 positivos con 3.63%.

En la tabla 1 se puede observar a modo de resumen los resultados, además de los resultados positivos por sexo.

MES	POSITIVO	SEXO		NEGATIVO	SEXO		PBAS F	PBAS M	TOTAL PBAS
		F	M		F	M			
Abril 2021	12	5	7	684	350	334	355	341	696
Mayo 2021	2	1	1	702	367	335	368	336	704
Junio 2021	14	9	5	760	406	354	415	359	774
Julio 2021	64	39	25	1,031	533	498	572	523	1,095
Agosto 2021	50	23	27	994	507	487	530	514	1,044
Septiembre 21	17	6	11	865	487	378	493	389	882
Octubre 2021	5	1	4	967	514	453	515	457	972
Noviembre 21	2	2	0	910	466	444	468	444	912
Diciembre 21	73	46	27	1,312	708	604	754	631	1,385
Enero 2022	801	480	321	2,732	1,387	1,345	1,867	1,666	3,533
Febrero 2022	202	117	85	1,984	1,057	927	1,174	1,012	2,186
Marzo 2022	68	34	34	1,802	998	804	1,032	838	1,870
Total	1,310	763	547	14,743	7,780	6,963	8,543	7,510	16,053

TABLA 1.

En gráfico 6 se compara el total de pruebas realizadas vs positivas mensualmente.

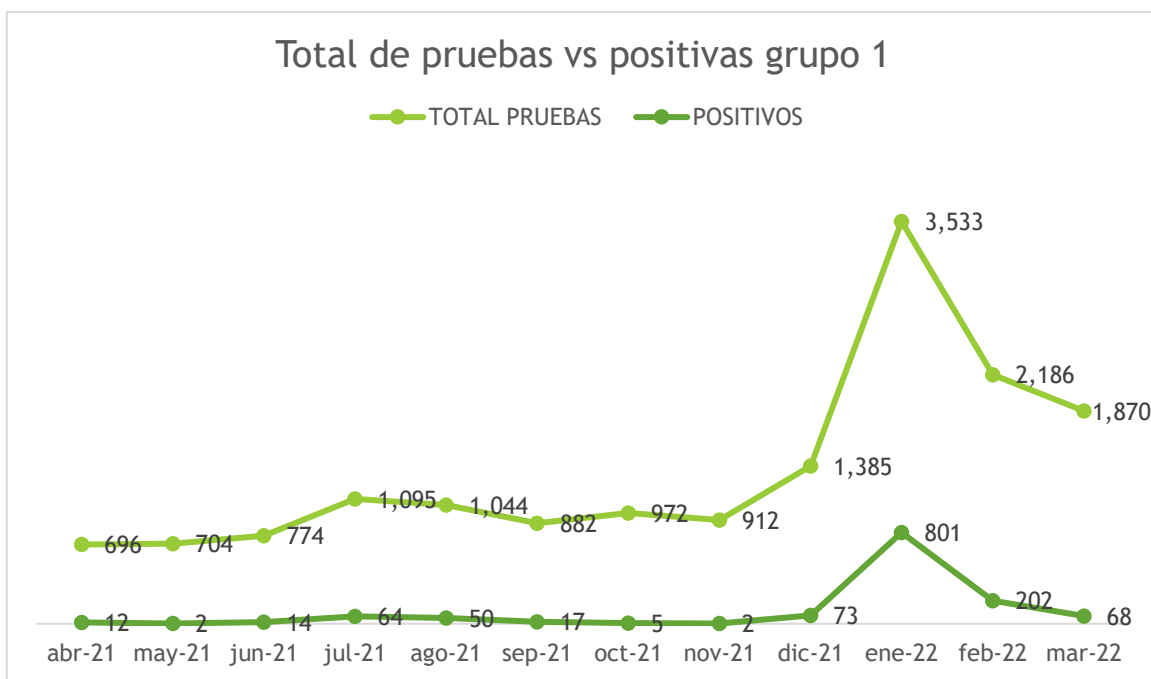


Gráfico 6.

De 1 de abril 2021 a 31 marzo 2022 se realiza análisis de positivos por grupo de edad que se resume en tabla 2.

En primera década de vida se tuvo un total de 86 positivos que en porcentaje al total de pruebas positivas representaron el 6.56%; segunda década 121 positivos con 9.23%; tercera década 221 positivos con 16.87%; cuarta década 237 positivos con 18.09%; quinta década 276 positivos con 21.06%; sexta década 195 positivos con 14.88%; séptima década 97 positivos con 7.40%; octava década 52 positivos con 3.96%; novena década 21 positivos con 1.60% y décima década 4 positivos con 0.30%.

EDAD	POSITIVOS
0-10	86
10-20	121
20-30	221
30-40	237
40-50	276
50-60	195
60-70	97
70-80	52
80-90	21
90-100	4
>100	0
	TOTAL=1,310

TABLA 2

En el **grupo 2** a partir de abril 1 del 2022 hasta abril 30 del 2023 se realizaron un total de 22,326 pruebas de las cuales 2,572 fueron positivas representando el 11.52% de infectados. Ver grafico 7.

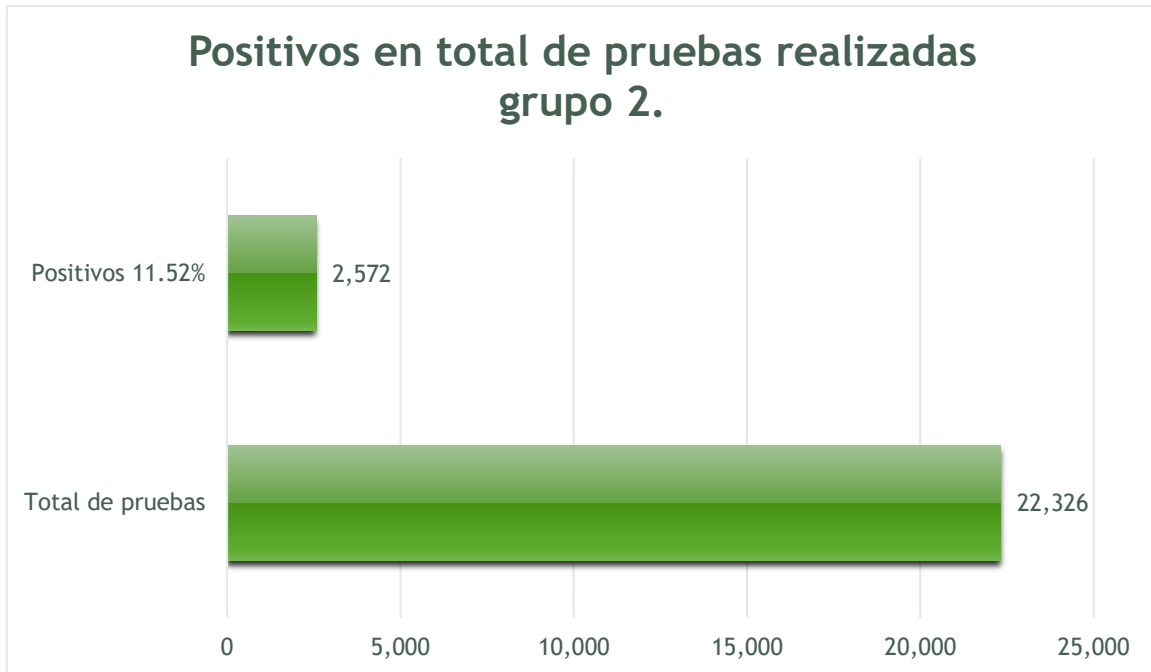


Gráfico 7.

De las 22,326 pruebas, 12,270 se realizaron a sexo femenino con positividad en 1,410 representando un 6.31% tomando en cuenta las pruebas totales y 11.49% tomando en cuenta solo el total de pruebas realizadas a mujeres; 10,056 pruebas de las 22,326 en sexo masculino con positividad en 1,162 con porcentajes de 5.20% y 11.55% respectivamente. Ver gráfico 8.



Gráfico 8.

En el mes de Abril 2022 de un total de 1,871 pruebas realizadas, 50 personas salieron positivas representando un porcentaje de 2.67%; Mayo de 1,942 pruebas 131 positivas con 6.74%; Junio 3,180 pruebas, 621 positivas, 19.52%; Julio 3,197 pruebas, 733 positivas con porcentaje de 22.92%; Agosto 1,479 pruebas, 147 positivos, 9.93%; Septiembre 1,166 pruebas, 36 positivos, 3.08%; Octubre 1,090 pruebas, 25 positivos, 2.29%; Noviembre 1,286 pruebas, 76 positivos, 5.90%; Diciembre 2,052 pruebas, 345 positivos, 16.81%; Enero 2023, 1,487 pruebas, 167 positivos con porcentaje 11.23%; Febrero 2023, 1,176 pruebas, 79 positivos con 6.71%; Marzo 2023, 1,331 pruebas, 108 positivos con 8.11%; Abril 2023, 1,069 pruebas, 58 positivos con 5.42%.

De los 2,572 positivos en este periodo, 1,410 fueron de sexo femenino representando un 54.82% del total y 1,162 del sexo masculino representando 45.17%. Ver gráfico 9.



Gráfico 9.

En la tabla 3 se puede observar a modo de resumen los resultados.

MES	POSITIVO	SEXO		NEGATIVO	SEXO		TOTAL PBAS	PBAS F	PBAS M
		F	M		F	M			
<i>Abril 2022</i>	50	35	15	1,821	1,009	812	1,871	1,044	827
<i>Mayo 2022</i>	131	65	66	1,811	992	819	1,942	1,057	885
<i>Junio 2022</i>	621	327	294	2,559	1,403	1,156	3,180	1,730	1,450
<i>Julio 2022</i>	733	397	336	2,464	1,368	1,096	3,197	1,765	1,432
<i>Agosto 2022</i>	147	85	62	1,332	750	582	1,479	835	644
<i>Septiembre 2022</i>	36	19	17	1,130	598	532	1,166	617	549
<i>Octubre 2022</i>	25	11	14	1,065	554	511	1,090	565	525
<i>Noviembre 2022</i>	76	43	33	1,210	675	535	1,286	718	568
<i>Diciembre 2022</i>	345	204	141	1,707	930	777	2,052	1,134	918
<i>Enero 2023</i>	163	88	75	1,324	751	573	1,487	839	648
<i>Febrero 2023</i>	79	50	29	1,097	583	514	1,176	633	543
<i>Marzo 2023</i>	108	53	55	1,223	684	539	1,331	737	594
<i>Abril 2023</i>	58	33	25	1,011	563	448	1,069	596	473
	TOTAL=2,572	1,410	1,162	TOTAL=19,754	10,860	8,894	TOTAL=22,326	12,270	10,056

TABLA 3.

Nuevamente se realiza análisis de positivos por grupo de edad que se resume en tabla 4.

EDAD	POSITIVOS
0-10	166
10-20	252
20-30	258
30-40	323
40-50	459
50-60	442
60-70	326
70-80	235
80-90	95
90-100	15
>100	1
	TOTAL= 2,572

TABLA 4.

En la gráfica 10 se compara el total de pruebas realizadas vs positivas mensualmente.

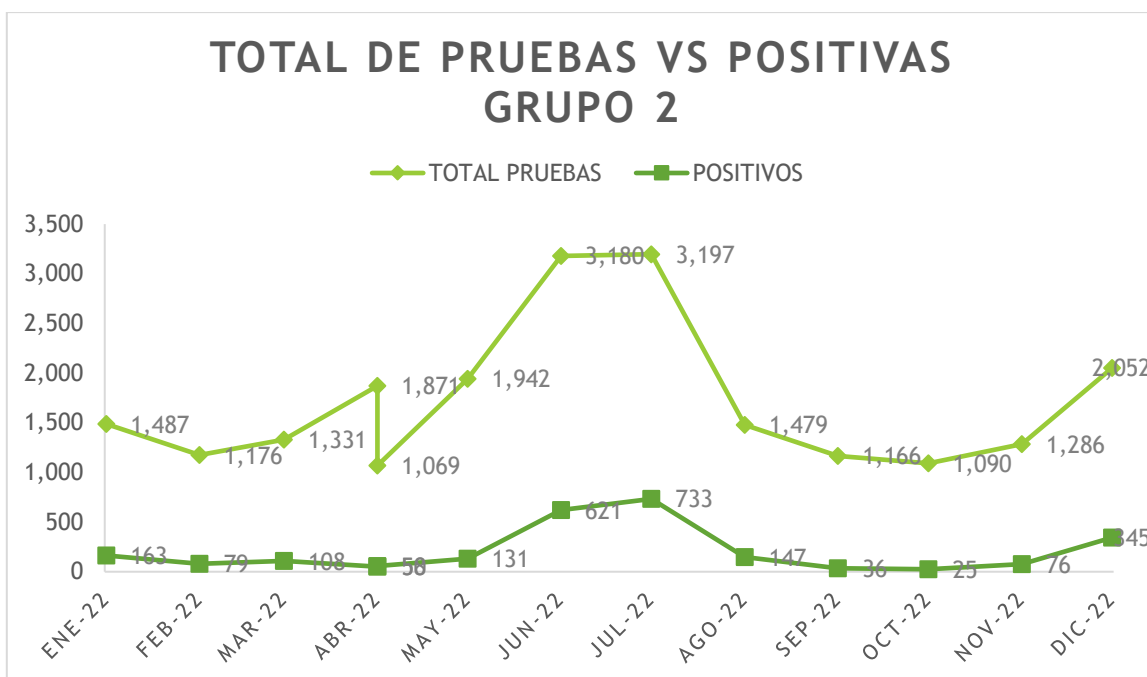


Gráfico 10.

Haciendo una comparativa de total de pruebas mensual entre ambos grupos desglosamos el siguiente gráfico 11 y en el gráfico 12 hacemos la comparativa entre ambos grupos de positivos por mes.

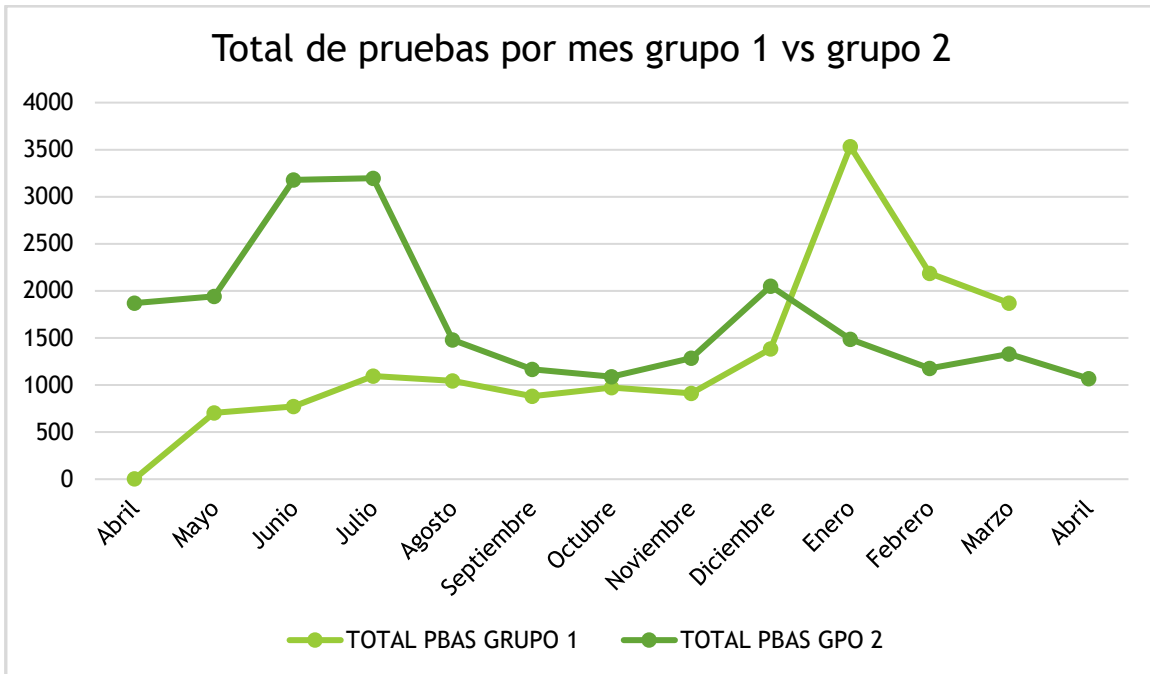


Gráfico 11.

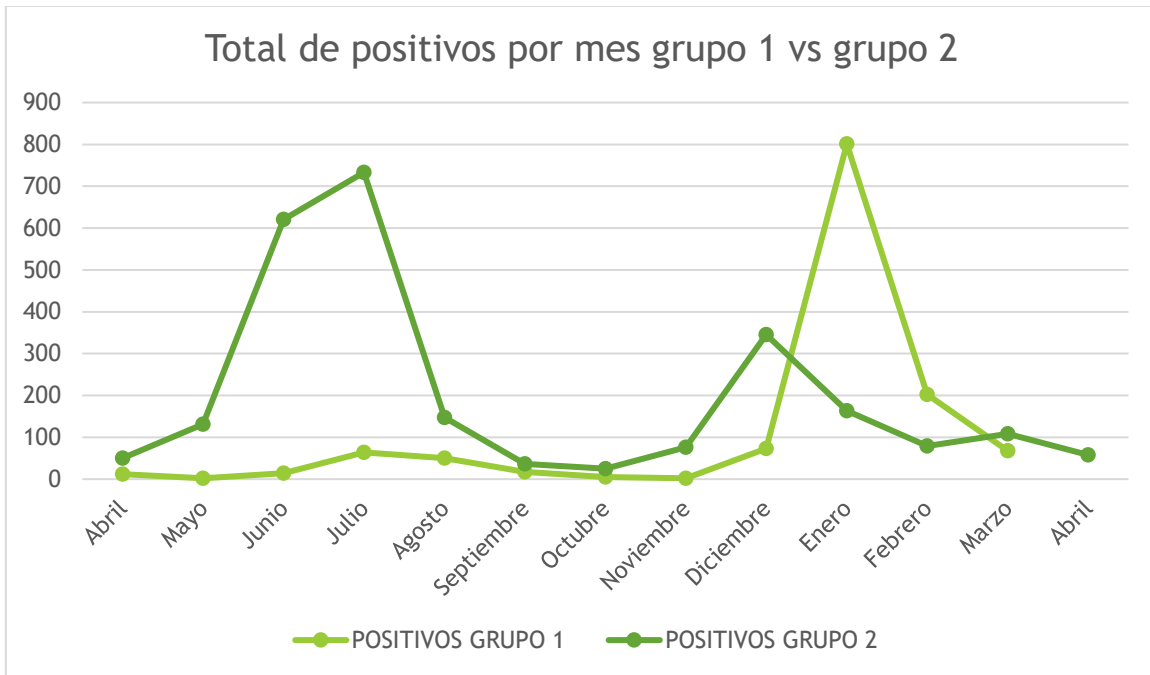


Gráfico 12.

Por último, se hace una comparativa de ambos grupos de porcentaje de positividad mensual, desglosado en la tabla 5.

MES	GRUPO 1	GRUPO 2
Abril	1.72%	2.67%
Mayo	0.2%	6.74%
Junio	1.80%	19.52%
Julio	5.84%	22.92%
Agosto	4.78%	9.93%
Septiembre	1.92%	3.08%
Octubre	0.51%	2.29%
Noviembre	0.21%	5.90%
Diciembre	5.27%	16.81%
Enero	22.67	11.23%
Febrero	9.24%	6.71%
Marzo	3.63%	8.11%
Abril		5.42%

TABLA 5.

9. Hipótesis

HIPÓTESIS NULA

No existe diferencia de positividad en las pruebas de tamizaje para SARS-CoV-2 al inicio de la pandemia y posterior a la implementación de un sistema de vacunación.

HIPÓTESIS ALTERNA

Existe una disminución en el número de positivos en pruebas de tamizaje posterior a la implementación del sistema de vacunación global.

10. Discusión

La globalización actual tiene impacto e influencia económica y social que obligaron ante la pandemia por SARS-CoV-2, notificada el 11 de marzo 2020 por la OMS, a la mayoría de países a realizar una estrategia participativa para intentar frenar la dispersión.

Dentro de las necesidades urgentes iniciales era conocer el mecanismo de patogenicidad y la cadena de transmisión y frenarla con medidas de contención en lo que se desarrollaba una estrategia profiláctica. Identificar a los contagiados con un método rápido, confiable y accesible suponían el primer reto.

Las pruebas serológicas con detección de antígenos son hoy día una prueba diagnóstica útil y eficaz para cumplir este propósito pues permiten un análisis a gran escala, ofrecen resultados rápidos y a un menor costo.

Su implementación permitió tratar a los infectados identificados, decidir su aislamiento y reducir su propagación viral, así como orientar las decisiones de las autoridades.

La OMS decide clasificar como VoC a aquellas que aumentaban la transmisión, disminuían la eficacia de las medidas sociales, diagnósticas y terapéuticas disponibles, para darles prioridad de monitoreo global y ajustar la respuesta al COVID-19.

A partir de enero 2020 cuando se publicó la secuencia genética del SARS-CoV-2 y durante el primer año se observó una mutación limitada. La primera, en marzo 2020, en la que se observó desplazamiento de D614 por G614 secundaria a una mutación en proteína S que confirió ventaja viral por afinidad a los receptores ECA2. En noviembre de mismo año surge la variante alfa en UK y se alza como secuencia dominante en todo el mundo en tan solo 4 meses; para Enero 2021 fue la variante detectada en 50 estados de USA. También en Noviembre 2020 se obtienen primeros registros de la variante Delta.

No se contaba con método diagnóstico rápido para esas fechas (autorizado por COFEPRIS en México en el 2021) por lo que no se cuenta con datos que soporten el impacto de dichas variantes en la población hospitalaria.

A principios del 2021 aparecen las VoC β , δ , γ (enero 2021), κ y ϵ . Dos sucesos ocurren en Junio 2021, la variante δ es secuenciada en 95% de casos en UK y 10%

de la población mundial alcanza la vacunación. La variante Ómicron tuvo su primera detección en Octubre 2021 con su linaje parental B.1.1.529 (denominación científica). Esta variante tenía alta tasa de mutaciones en la proteína S y hacia vulnerable la efectividad de la vacunación.

Analizando los resultados de abril a diciembre 2021 tenemos poca detección de positivos con un muy ligero pico en julio (5.84% positividad en pruebas) y agosto (4.78%) que coincide con fechas donde la variante Delta se encontraba en circulación. En Diciembre, momento en que la variante Ómicron ascendía como dominante, nuevamente tenemos un aumento (5.27%).

Observamos un pico mayor en incidencia en enero 2022 con un total de 801 positivos de 3,533 pruebas que en porcentaje son 22.37% de infectados. En este periodo, aún comprendido en el grupo 1, la OMS ya había declarado que se había alcanzado una vacunación mundial del 50%, pero se pudo apreciar el impacto de la variante en circulación (ómicron) y además de que en esas fechas aunque había medidas de contención, estas habrían disminuido y el mes previo ocurrieron reuniones en grupo.

Febrero 2022 fue también un mes con relativo pico en tasa de infección (9.24%). A partir de este mes, se declaró que 98% de las secuencias genéticas disponibles correspondían a subvariantes de Ómicron BQ.1, BQ.1.1 y BF.7, las tres descendientes de BA.5 y XBB.1.5.

En este estudio, los grupos de edad más afectados son tercera (20-30), cuarta (30-40), quinta (40-50) y sexta (50-60) décadas de vida (menor en esta última) muy probablemente debido a que, a pesar de las medidas de contingencia estrictas, dichos grupos de edad son y fueron parte de la etapa productiva laboral y económicamente activa.

En los meses siguientes, a partir de abril ya correspondiente a nuestro grupo 2 y con la totalidad de población mexicana vacunada, la tasa de contagios tuvo una disminución y nuevamente sucedió un pico importante en junio (19.52%) y julio (22.92%) 2022. De acuerdo a la página oficial coronavirus.gob.mx en México a partir de la semana 20, 99% de las secuencias registradas fueron variante Ómicron (BA.2, BA.2.12.1, BA,2.9 principalmente)- En la semana 21, 100% fueron variante Ómicron.

Comparando ambos grupos, en el grupo 2 se realizaron 39% más de pruebas que en grupo 1. Este aumento de pruebas pudiera explicarse, ya que se levantaron medidas de contención y terminó el confinamiento estricto, además la necesidad de movilización en la economía obligaron a que la población regresara a la rutina y una causa más fue que dentro de las medidas obligadas para viajar dentro y

fuera de país, así como para realizar cirugías programadas, admisión a hospitales y screening de rutina dentro de sector laboral en las empresas se requería se comprobara ausencia de infección.

Se observa un aumento en contagios en grupos de edad 0-10 y 10-20 en grupo 2 en relación a grupo 1. De acuerdo a la Estrategia Nacional para el Regreso Seguro a las Escuelas de Educación Básica de la SEP, el ciclo escolar 2020-2021 inició con la estrategia *Aprende en Casa*, por lo que era de esperar que los grupos de edad que no corresponden al sector laboral tuvieran menos exposición y por tanto menor tasa de contagio en ese año. El 16 de abril 2021 el Gobierno de México inició estrategia de vacunación para docentes. El 23 de agosto 2021 se establecieron disposiciones para el desarrollo del ciclo escolar 2021-2022 de forma presencial. Dentro de las intervenciones se continuaba con programa de lavado de manos, uso de cubrebocas obligatorio, mantener distancia, entre otros. La implementación de estas medidas se vieron reflejadas aún en una baja tasa de contagio en estos grupos de edad. Además de la disminución de otras medidas restrictivas en año 2022, en Octubre de ese año el Gobierno de México sugiere la “no obligatoriedad” del uso del cubrebocas. En Diciembre ocurrió otro pico con porcentaje de 16.81% en relación al total de pruebas realizadas ese mes.

No se observó en este estudio una diferencia estadística en la tasa de contagio dirigida hacia un sexo ya que fue bastante homogéneo entre hombres y mujeres en todos los grupos etarios.

El 5 de mayo 2023 la OMS hace oficial el término de la pandemia.

La estrategia de vacunación en México contempló alcanzar 5 etapas. La primera comprendida en diciembre 2020-febrero 2021 para personal de salud de primera línea con biológico Pfizer/BioNTech; la segunda de febrero-abril 2021 para personal de salud restante y >60 años; tercera abril-mayo 2021 para personas de 50-59 años; cuarta mayo-junio 2021 para personas de 40-49 años y quinta junio 2021-marzo 2022 para el resto de población.

La vacunación en el país se realizó con 7 diferentes farmacéuticas: Pfizer, AstraZeneca, CanSino, Sputnik V, Sinovac, J&J, Moderna y un tema que era de preocupación fue la implementación de esquemas de vacunación con variación en el tipo de biológico aplicado. No hay ensayos con comparación precisa sobre la eficacia entre las vacunas ni si la diferencia tiene relevancia o peso clínico.

El principal objetivo de las vacunas es la proteína S de superficie. Las dos vacunas de RNAm (Pfizer y Moderna) tenían 1 formulación *monovalente* (objetivo antigénico basado en la cepa salvaje).

Desde abril 2023 se autorizó en E.U la formulación *bivalente* (dirigida contra antígenos de la cepa original y contra las subvariantes Ómicron BA.4 y BA.5)

A pesar de que la eficacia de la vacunación ha disminuido con el tiempo, aún hay protección contra la enfermedad grave, riesgo de hospitalización y muerte en comparación con los no vacunados(16). Antes de la aparición de Omicrón se sabía que la vacunación generalizada disminuía el riesgo de transmisión general pero también se puede disminuir esta probabilidad de transmisión en el contexto de infección por Omicrón, incluso datos limitados sugieren eficacia de la vacuna bivalente contra la infección sintomática (16).

11. Conclusión

-De acuerdo a los porcentajes obtenidos, no se pudo observar una clara disminución en la tasa de infección previo y posterior a la implementación de la estrategia de vacunación, sin embargo, ocurrieron varios sucesos de índole social y económica que hicieron distintas las probabilidades de contagio entre ambos grupos como se relaciona en los resultados obtenidos y los puntos ya anteriormente descritos y por tanto no fue posible valorar con este estudio el impacto de la respuesta biológica.

-Debido al alto número de mutaciones en la proteína S de ómicron, la estrategia para la nueva terapia a futuro debe dedicar esfuerzos en dirigirse a una región de epítomos conservados y de hecho, este es otro punto clave a considerar para la evaluación sobre la efectividad o no de la vacunación en la tasa de incidencia pues, al ser una variante que sale de las características del sitio blanco de acción, tendría que analizarse la vacuna bivalente (que se dirige a esos nuevos sitios antigénicos de la mutante) con la incidencia de positivos en la población, sin embargo, al no ser de carácter obligatorio su aplicación, la mayoría de población no contará con la inmunidad del biológico.

-A partir de este análisis podría profundizarse el impacto de la estrategia de vacunación sobre los pacientes hospitalizados por severidad en la COVID-19 evaluando específicamente el tipo de biológico aplicado a cada paciente, aunque, comparar la gravedad de estas nuevas subvariantes con las cepas anteriores es difícil, ya que los niveles de inmunidad son diferentes en la población, pero es probable que sí hubieran causado un daño mayor si hubieran aparecido antes del lanzamiento de los biológicos.

-Comparar la prueba rápida antigénica versus PCR multiplex en la tasa de detección para aumentar la evidencia del método en relación a monitorear la tendencia en incidencia de enfermedad ya que los datos sobre sensibilidad de la prueba proceden de ensayos en personas con síntomas, que suelen tener cargas virales elevadas, sin embargo, implementar el ensayo resulta de gran utilidad para disminuir dudas de posibilidad de infección en contextos de eventos cotidianos como viajes, eventos multitudinarios, periodos vacacionales, etc.
-De igual forma nos puede permitir hacer un análisis retrospectivo de las características epidemiológicas propias de una institución de asistencia en salud privada contra los hallazgos o lo experimentado en el sector público pues por la variación socioeconómica, nuevamente, las posibilidades de contagio eran distintas.

14. Bibliografía

1. Saville, J. W., Berezuk, A. M., Srivastava, S. S., & Subramaniam, S. (2022). Three-Dimensional Visualization of Viral Structure, Entry, and Replication Underlying the Spread of SARS-CoV-2. *Chemical reviews*, 122(17), 14066-14084. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c01062>
2. Méthot P. O. (2016). Writing the history of virology in the twentieth century: Discovery, disciplines, and conceptual change. *Studies in history and philosophy of biological and biomedical sciences*, 59, 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2016.02.011>
3. Mettenleiter T. C. (2017). The First "Virus Hunters". *Advances in virus research*, 99, 1-16. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2017.07.005>
4. Fletcher, G. J., Christopher, S., & Gnanamony, M. (2009). Why does size matter for viruses--a new paradigm on viral size. *Medical hypotheses*, 73(2), 133-137. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.02.029>
5. Zhang, Y., Hung, T., Song, J., & He, J. (2013). Electron microscopy: essentials for viral structure, morphogenesis and rapid diagnosis. *Science China. Life sciences*, 56(5), 421-430. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4476-2>
6. Nagy, P. D., & Richardson, C. D. (2012). Viral replication--in search of the perfect host. *Current opinion in virology*, 2(6), 663-668. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.001>
7. Salmond, G. P., & Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: past, present and future. *Nature reviews. Microbiology*, 13(12), 777-786. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3564>
8. Harrison S. C. (2015). Viral membrane fusion. *Virology*, 479-480, 498-507. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.043>
9. Gutiérrez, Michelle, & López, Susana. (2010). Mecanismos de entrada de virus: una manera de conocer a la célula. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 13(1), 26-34. Recuperado en 03 de mayo de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2010000100003&lng=es&tlng=es.
10. Sección 5. Virología, Capítulo 36. páginas 362-366, *Microbiología médica*, 9ª edición
11. Pellett, P. E., Mitra, S. y Holland, T. C. (2014). Fundamentos de virología. *Manual de neurología clínica*, 123, 45-66. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53488-0.00002-X>

12. Banerjee A. (2021). Virus hunters: Discovering the evolutionary origins of SARS-CoV-2. *Cell host & microbe*, 29(7), 1031-1033. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.06.012>
13. Saville, J. W., Berezuk, A. M., Srivastava, S. S. y Subramaniam, S. (2022). Visualización tridimensional de la estructura viral, entrada y replicación subyacente a la propagación del SARS-CoV-2. *Revisiones químicas*, 122(17), 14066-14084. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c01062>
14. Sanz, J. M., Gómez Lahoz, A. M., & Martín, R. O. (2021). Papel del sistema inmune en la infección por el SARS-CoV-2: inmunopatología de la COVID-19 [Role of the immune system in SARS-CoV-2 infection: immunopathology of COVID-19]. *Medicine*, 13(33), 1917-1931. <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.05.005>
15. Ezzikouri, S., Nourlil, J., Benjelloun, S., Kohara, M., & Tsukiyama-Kohara, K. (2020). Coronavirus disease 2019-Historical context, virology, pathogenesis, immunotherapy, and vaccine development. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 16(12), 2992-3000. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1787068>
16. Edwards KM, Orenstein WA. Vacunas para COVID-19. In: UpToDate, (Accesed on april 28, 2023.)
17. Sayeh Ezzikouri, Jalal Nourlil, Soumaya Benjelloun, Michinori Kohara & Kyoko Tsukiyama-Kohara (2020) Enfermedad por coronavirus 2019: contexto histórico, virología, patogenia, inmunoterapia y desarrollo de vacunas, *vacunas humanas e inmunoterapia*, 16:12, 2992-3000, DOI : [10.1080/21645515.2020.1787068](https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1787068)
18. Amoutzias, G. D., Nikolaidis, M., Tryfonopoulou, E., Chlichlia, K., Markoulatos, P., & Oliver, S. G. (2022). The Remarkable Evolutionary Plasticity of Coronaviruses by Mutation and Recombination: Insights for the COVID-19 Pandemic and the Future Evolutionary Paths of SARS-CoV-2. *Viruses*, 14(1), 78. <https://doi.org/10.3390/v14010078>
19. 1 Konings et al. SARS-CoV-2 Variantes de esquema de nombres de interés y preocupación propicio para el discurso global, *Nature Microbiology* 2021 Jul;6(7):821-823.
20. Trobajo-Sanmartín, C., Navascués, A., Miqueleiz, A., & Ezpeleta, C. (2021). Evaluation of the rapid antigen test CerTest SARS-CoV-2 as an alternative COVID-19 diagnosis technique. *Infectious diseases (London, England)*, 53(9), 730-732. <https://doi.org/10.1080/23744235.2021.1902563>
21. Pérez-García, F., Romanyk, J., Gómez-Herruz, P., Arroyo, T., Pérez-Tanoira, R., Linares, M., Pérez Ranz, I., Labrador Ballesteros, A., Moya

- Gutiérrez, H., Ruiz-Álvarez, M. J., & Cuadros-González, J. (2021). Diagnostic performance of CerTest and Panbio antigen rapid diagnostic tests to diagnose SARS-CoV-2 infection. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 137, 104781. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104781>
22. Srivastava, A., Hollenbach, J. La inmunogenética de COVID-19. *Inmunogenética* 75 , 309-320 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00251-022-01284-3>
23. Cossio, P. (s. f.). La microscopía electrónica: una herramienta para visualizar las biomoléculas. *Revista de extensión cultural*, 62. https://medellin.unal.edu.co/revista-extension-cultural/images/revista/rec62/REC_62-29-32.pdf
24. Modrow, S., Falke, D., Truyen, U., Schätzl, H. (2013). Virus con genomas de ARN monocatenario de sentido positivo. En: *Virología Molecular*. Springer, Berlín, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20718-1_14
25. Florez, Alfredo & Guerra, Daniel. (2018). Crío-microscopía electrónica. Resolviendo la estructura molecular de la vida al detalle atómico. *Acta Herediana*. 61. 99. 10.20453/ah.v61i0.3300.
26. Sitio oficial: <https://coronavirus.gob.mx/wp-content/uploads/2022/06/2022.06.13-Variantes-COVID-MX.pdf>