

Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SRAS). Lecciones y retos.

Nereida Valero¹, Yraïma Larreal¹, Jesús Mosquera² y Enrique Rincón³.

¹Sección de Virología, ²Sección de Inmunología y Biología Celular, Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia y ³Neumonología, Hospital “Dr. Manuel Noriega Trigo”. Maracaibo, Venezuela.
Correo electrónico: nere98@hotmail.com/ nvalero@luz.edu.ve

Palabras clave: SRAS, Síndrome Respiratorio Agudo Severo, neumonía atípica, coronavirus, diagnóstico y prevención del SRAS.

Resumen. Después de varios meses de silencio, ante una nueva incursión del virus causante del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SRAS), investigadores en todo el mundo y especialmente asiáticos se enfrentan a un coronavirus que ha demostrado gran transmisibilidad y morbilidad y que constituye una gran incógnita en cuanto a origen y asociación con otros patógenos que actuando como oportunistas puedan agravar la progresión de la enfermedad. La comparación de la secuencia genómica de distintas cepas ha generado discrepancias en cuanto a si la epidemia de SRAS surgió como un brote único o fue producida por más de un genotipo; sin embargo este hecho es secundario ante la inminente amenaza que fue controlada en agosto de 2003 después de afectar a 8.422 individuos pero ante la cual se debe permanecer alerta, dado que está claro que no se ha marcado el fin del SRAS y que la aparición de un solo caso puede significar el comienzo de una nueva oleada, aunado a la aparición de otras enfermedades como la influenza aviaria. De allí la importancia de conocer las bases epidemiológicas sobre las cuales se ha establecido la morbi-mortalidad de esta afección y asegurar la persistencia de la vigilancia mundial en el futuro, hecho crucial para detectar a tiempo posibles casos y por ende controlar su diseminación.

Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). Lesson and challenges.

Invest Clín 2005: 46(1): 75 - 95

Key words: SRAS, Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS diagnosis, Coronavirus - Atypical pneumonia

Abstract. After four months of silence before a new incursion of severe acute respiratory syndrome virus (SARS), world wide investigators specially from Asia had have to face a coronavirus capable of great spreading and inducing high morbidity. The source and the capacity of this virus to associate with other opportunist microorganisms to induce progression of the disease, remain unclear. The comparison of the genomic sequence of different strains has generated discrepancies as for if the SARS epidemic arose as an unique outbreak or it was produced for more than one genotype. However, this fact is secondary to the imminent threat that was controlled in August of 2003, after affecting 8.422 individuals, but before which we should be remain alert, since it is clear that the end of the SARS is not yet here; and that the appearance of a single case can mean the beginning of a new wave, joining the outbreak of other diseases such as the avian flu. In this regard, it is very important to know the epidemic bases of morbid-mortality of SARS and to keep a world wide surveillance in order to detect possible further cases.

Recibido: 11-03-2004. Aceptado: 15-07-2004.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas que se transmiten por aerosoles deben ser tomadas muy en serio por su fácil transmisibilidad y altas tasas de morbilidad, sobre todo si hay ausencia de vacunas y fármacos específicos para su tratamiento. El descubrimiento de un nuevo coronavirus como causante de la neumonía atípica asiática o síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) provee el ejemplo más dramático de la emergencia de un nuevo patógeno humano con una alta tasa de propagación.

El SRAS es una enfermedad respiratoria de aparición reciente a nivel mundial. Los países más afectados han sido los del sudeste Asiático, Norteamérica y Europa. Investigadores alrededor del mundo han hecho grandes esfuerzos para encontrar el

agente causal de la enfermedad y prevenir su diseminación. El SRAS puede convertirse en una amenaza permanente en países en desarrollo, los cuales ya están afectados por enfermedades infecciosas como tuberculosis, malaria y SIDA, debido a fallas en los sistemas de vigilancia epidemiológica (1). Ante la reciente confirmación de nuevos casos de SRAS, se plantea una revisión de los diferentes reportes y resultados encontrados hasta la fecha.

ANTECEDENTES CRONOLÓGICOS Y ETIOLOGÍA

En noviembre de 2002 fueron reportados casos de neumonía atípica de causa desconocida en la provincia de Guangdong, al sur de China. Para mediados de febrero de 2003 se habían reportado 305 casos con

esta enfermedad en Hong Kong, que en Marzo es designada como Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS: siglas en inglés). La Organización Mundial de la Salud (OMS) institucionaliza la investigación y emite un alerta global, al identificar nuevos casos en Singapur y Canadá. El 24 de marzo de ese año el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades Infecciosas de los Estados Unidos de América (CDC) en colaboración con grupos de trabajo de Vietnam, Singapur, Tailandia, Hong Kong, Canadá y Taiwan anuncian con clara evidencia a un nuevo coronavirus aislado en pacientes con SRAS, por lo que la OMS recomienda no viajar a zonas afectadas y propone la implementación de sistemas de vigilancia globales. Entre noviembre de 2002 y agosto de 2003, se reportaron un total de 8.422 casos acumulados y 916 muertes en más de 28 países, con la mayor incidencia en China y Hong Kong (Tabla I). En enero de 2004 se confirmaron cuatro nuevos casos y se alerta sobre una nueva incursión viral en el sur de China (2-4).

Los ensayos realizados para determinar la etiología de SRAS no demostraron la presencia de agentes conocidos como Influenza A y B, Parainfluenza 1, 2 y 3, Virus Sincicial Respiratorio (VSR), Adenovirus, *Mycoplasma pneumoniae*, Hantavirus, Citomegalovirus, Hendra y Nipah virus (5-7); La presencia de *Chlamydia pneumoniae*, en muestras de lavado broncoalveolar de pacientes con SRAS fue probablemente un hallazgo ocasional y aunque ciertas partículas sugestivas de paramixovirus fueron observadas por investigadores alemanes mediante microscopía electrónica, los ensayos de Reacción en Cadena de la Polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) específicos para especies de la familia *Paramixoviridae* resultaron negativos (6). De hecho, inicialmente se pensó en el metapneumovirus humano (HMPV), representante de esta familia, dada su detección en muestras de pa-

cientes con SRAS (8). No obstante, investigadores de la Universidad de Hong Kong y del CDC, no detectaron evidencias de este agente cuando evaluaron muestras de pacientes con SRAS mediante amplificación genómica o detección de anticuerpos, excepto por la detección de un rinovirus que no tuvo implicación en el proceso patológico. Podría ser útil investigar estos hallazgos a fin de esclarecer el papel de éstos como oportunistas o cofactores que pudieran incrementar la progresión de la enfermedad y/o favorecer la eficiencia de la transmisión viral (9-11).

CARACTERÍSTICAS Y ORIGEN DEL NUEVO CORONAVIRUS

El agente causal de SRAS es un coronavirus perteneciente a la familia *Coronaviridae*, Orden *Nidovirales*; estos virus son esféricos, envueltos y pleomórficos, de simetría helicoidal y tienen un diámetro de 80-160 nm. Al microscopio electrónico tienen la apariencia de estar rodeados por un halo o corona a la que deben su nombre. Estos virus han estado implicados como causa del resfriado común en humanos y están asociados a enfermedad respiratoria, gastrointestinal, hepática y neurológica en animales (gatos, perros, cerdos, ratones y aves). El virus observado por microscopía electrónica, tiene una forma y apariencia distinta de los coronavirus comunes y el análisis genético sugiere que es un nuevo virus (SRAS-CoV) (9, 12). Un mecanismo parecido a lo que sucede en Influenza se ha hipotetizado para el SRAS. La emergencia de este virus se ha explicado por el surgimiento de un nuevo coronavirus humano con incrementados factores de virulencia, mutante proveniente de animal con capacidad de infectar células humanas, como recombinante de dos coronavirus humanos o de humano y animal; dado que estos virus tienen el genoma más largo de todos los de

TABLA I
NÚMERO DE CASOS DE SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO SEVERO POR PAÍS

Áreas	Número de Casos Acumulados			Estado		
	Femenino	Masculino	Total	Promedio de edad (Rango)	Nº de Casos Recuperados	Nº de Fallecimientos
Australia	4	2	6	15(1-45)	6	0
Brasil	1	0	1	4	1	0
Canadá	151	100	251	49(1-98)	200	41
China	Pend	Pend	5327	Pend	4649	349
China, Hong Kong (Región Admin. Espec.)	977	778	1755	40(0-100)	1448	300
China, Taiwán	0	1	1	28	1	0
Colombia	349	319	665	46(2-79)	475	180
Finlandia	0	1	1	24	1	0
Francia	1	6	7	49(26-61)	6	1
Alemania	4	5	9	44(4-73)	9	0
India	0	3	3	25(25-30)	3	0
Indonesia	0	2	2	56(47-65)	2	0
Italia	1	3	4	30.5(25-54)	4	0
Kuwait	1	0	1	50	0	0
Malasia	1	4	5	30(26-64)	3	2
Mongolia	8	1	9	32(17-63)	9	0
Nueva Zelanda	1	0	1	67	1	0
Filipinas	8	6	14	41(29-73)	12	2
República de Irlanda	0	1	1	56	1	0
República de Korea	0	3	3	40(20-80)	3	0
Rumania	0	1	1	52	1	0
Federación Rusa	0	1	1	25	0	0
Singapur	161	77	238	35(1-90)	205	33
Suráfrica	0	1	1	62	0	1
España	0	1	1	33	1	0
Suiza	1	2	3	33	3	0
Suecia	0	1	1	35	1	0
Tailandia	5	4	9	42(2-79)	7	2
Reino Unido	2	2	4	59(28-74)	4	0
Estados Unidos	16	17	33	36(0-83)	26	0
Vietnam	39	24	63	43(20-76)	58	5
Total	-	-	8422		7442	916

F. de I.: CDC (21).

ARN y frecuentemente recombinan no sólo entre ellos mismos, sino dentro de la familia, asociados a altas tasas de mutación. Aunado a ello está el hecho de que infectan animales. Recientemente estudios genéticos señalaron una posible asociación entre las civetas o gatos de algalia y un caso de SRAS, razón por la cual se eliminaron más de 10.000 civetas en los mercados de animales salvajes de la provincia de Guángdong (4). Se cree que el virus del SRAS ha saltado a la especie humana a partir de algún reservorio animal o ambiental no identificado. Es preciso llevar a cabo urgentemente nuevas investigaciones para determinar las fuentes de exposición humana, en particular la posible implicación de determinadas especies animales (13).

Los virus que causan infección respiratoria en humanos (resfriado común) son de los tipos 229E y OC43; ocasionalmente pueden producir neumonía en personas de edad avanzada, neonatos y pacientes inmunocomprometidos. De acuerdo a su composición antigénica los coronavirus se ubican en tres grupos distintos, siendo el 229E y OC43 pertenecientes a los grupos I y II respectivamente (14).

EPIDEMIOLOGÍA Y DEFINICIÓN DE CASOS CLÍNICOS

Transmisibilidad

El virus de SRAS es un virus de naturaleza altamente contagiosa, se han reportado tasas de ataque hasta de 50%. La vía más probable de diseminación de SRAS parece ser a través de gotas expelidas por los enfermos, cuando éstos tosen o estornudan, que podrían alcanzar a otras personas u objetos contaminados, incluso mascarillas sin antiseptia adecuada y usadas para micronebulizaciones. La diseminación en forma de aerosoles incrementa la permanencia de virus en el aire, además de abarcar mayores áreas como ocurre con los virus Influenza y Sa-

rampión. El grupo de mayor riesgo son personas con contacto directo con los individuos infectados (familiares, médicos y paramédicos) (5).

El nuevo agente asociado a SRAS es más estable que otros coronavirus humanos conocidos. Se ha reportado que puede sobrevivir en el medio hasta 3 horas después de ser expulsado al ambiente, en heces por más de 48 horas, si éstas son diarreicas hasta 4 días, en orina por más de 24 horas y en envases plásticos durante 48 horas. La alta concentración de ARN viral reportada en el esputo sugiere que la excreción de virus a partir del tracto respiratorio es la principal ruta de transmisión (3, 9, 15). La observación de una viremia baja hacia el 9° día del inicio de los síntomas, junto con la elevación de aspartato aminotransferasa y lactato deshidrogenasa, sugiere que este agente causal no se replica sólo en el tracto respiratorio. De hecho, ciertas evidencias indican que también podría ser diseminado por las heces, sin embargo, la detección de ARN viral en estas muestras no indica que el virus sea viable o transmisible por esta vía (16, 17).

El grupo de edad más afectado ha sido el de 25 a 34 años (16%). Se ha presentado con mayor frecuencia en las mujeres (56%) y los niños (0-14 años) han sido los menos afectados (3%), siendo el curso clínico menos agresivo en comparación con el adulto. La mortalidad depende del grupo etario afectado: 0-24 años (< 1%), 25-44 años (6%), 45-64 años (15%) y > 65 años (> 50%) (18, 19).

CLASIFICACIÓN DE CASOS SEGÚN LA OMS

Criterios clínicos

Para definir la enfermedad respiratoria como severa: Temperatura > 38°C, uno o más síntomas de enfermedad respiratoria (tos, disnea, hipoxia), evidencia radiográfica de neumonía, síndrome de *distress* respi-

ratorio (SDR), autopsia con hallazgos patológicos de SDR y causa no identificable en los casos letales.

Criterios epidemiológicos

Contacto con personas con historia de SRAS o que hayan viajado a áreas geográficas con transmisión documentada de la enfermedad o contacto cerrado durante los primeros 10 días de presencia de síntomas con personas conocidas o sospechosas de SRAS (20).

Criterios de laboratorio según CDC

Caso confirmado: a) Detección de anticuerpos contra SRAS-CoV usando inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA específica para anticuerpos producidos después de los 21 días del inicio de los síntomas. b) RT-PCR específica para el RNA viral positiva en los primeros 10 días después del inicio de la fiebre. Se puede detectar SRAS-CoV en muestras de suero, heces y secreción nasal. Una segunda prueba de PCR debe realizarse para confirmar la primera. c) Aislamiento de SRAS-CoV por cultivo.

Caso negativo: a) Ausencia de anticuerpos de SRAS-CoV en suero convaleciente obtenido 21 días después del inicio de los síntomas.

Caso indeterminado: Pruebas de laboratorio no realizadas o incompletas. Un PCR negativo o un cultivo viral negativo, no excluye la infección por coronavirus, en estos casos debe realizarse determinación de anticuerpos de una muestra tomada 21 días después del inicio de la enfermedad para determinar la infección (21).

Definición de casos

Representará un **caso sospechoso** toda persona que después del 1 de noviembre de 2002 haya presentado: fiebre (temperatura >38°C), tos o dificultad respiratoria y una o más de las siguientes exposiciones durante los 10 días anteriores a la aparición de sín-

tomas, contacto cercano con un caso sospechoso o probable de SRAS, y/o antecedente de viaje o residencia en un área con transmisión local reciente. También toda persona que fallezca a causa de una enfermedad respiratoria aguda de etiología desconocida en la que no se ha realizado autopsia y que ha estado expuesta a una o más de las siguientes situaciones de contacto anteriormente descritas.

Un **caso probable** es aquel a) sospechoso con radiografía de tórax con evidencia de infiltrados compatibles con neumonía o síndrome de *distress* respiratorio (SDR). b) sospechoso con resultados positivos, con una prueba o más por los métodos de laboratorio disponibles para el diagnóstico; c) sospechoso con hallazgos anatomopatológicos consistentes con un síndrome de *distress* respiratorio (SDR) de etiología desconocida.

En cuanto a la **reclasificación de casos** se pueden presentar las siguientes situaciones: a) un caso inicialmente clasificado como sospechoso o probable se considera descartado cuando a través de un diagnóstico alternativo se explica la causa de su enfermedad. b) Un caso inicialmente clasificado como sospechoso es reclasificado como probable cuando después de una exhaustiva investigación cumple con la definición de caso probable. c) Un caso sospechoso con radiografía (Rx) de tórax normal debe ser tratado y se le debe hacer un seguimiento de por lo menos 7 días. d) Un caso sospechoso en el cual la recuperación es adecuada pero en el que la causa de su enfermedad no ha sido suficientemente explicada por un diagnóstico alternativo debe seguir siendo considerado como sospechoso. e) Un caso sospechoso que fallece debe seguir siendo considerado como sospechoso cuando no ha podido realizarse la autopsia. Sin embargo, si el caso es identificado como parte de la cadena de transmisión del SRAS, el caso debe ser reclasificado como probable. f) Cuando

la autopsia determine que no existe evidencia anatomopatológica de SDR el caso debe ser descartado (5, 22, 23).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Esta infección puede ser leve o evolucionar a un cuadro de neumonía de extensión y severidad variable, pudiendo producir un cuadro de insuficiencia respiratoria aguda. Esta enfermedad se ubica dentro de la clasificación de neumonía atípica, debido a ciertas características como la ausencia de síntomas respiratorios superiores, la presencia de tos seca, el riesgo más marcado en los contactos del paciente y la leve desproporción de los síntomas respiratorios en comparación con los hallazgos radiográficos. Esta enfermedad tiene un período de incubación de 2 a 10 días; como toda neumonía, es una infección del parénquima pulmonar, que se manifiesta con fiebre mayor a 38°C (100%) asociada generalmente a malestar general (100%), dolor de cabeza (84%), mialgias (81%), mareo (61%), rigidez (55%) Después de 2 a 7 días se desarrollan síntomas respiratorios como tos seca no productiva (39%), dolor de garganta (23%) y disnea. La mayoría de los casos mejoran después de una semana pero algunos pacientes en especial los mayores de 40 años o con enfermedades respiratorias de base pueden progresar a insuficiencia respiratoria requiriendo de ventilación mecánica en un 10%-20% de los casos (19, 20, 24).

De acuerdo a los síntomas y signos los pacientes con infección respiratoria producida por este virus se clasifican en tres grupos:

- Asintomático o enfermedad respiratoria leve.
- Enfermedad respiratoria moderada: Temperatura mayor de 38°C y uno o más de los hallazgos clínicos siguientes: tos, disnea o hipoxia.
- Enfermedad respiratoria severa: Temperatura mayor a 38°C y uno o más de

los hallazgos clínicos siguientes: tos, disnea, hipoxia, evidencia radiográfica de neumonía e insuficiencia respiratoria. Sólo del 10-20% de los casos desarrollan este cuadro (19, 20, 25).

HALLAZGOS DE LABORATORIO

Exámenes de laboratorio en pacientes con SRAS han mostrado: leucopenia, aproximadamente en el 50% de los pacientes, linfopenia y trombocitopenia. La función renal, en la mayoría de los pacientes permanece conservada. Pruebas hepáticas alteradas, en algunos las transaminasas están aumentadas 2-6 veces los valores normales, niveles altos de lactato deshidrogenasa y creatinfosfoquinasa (hasta 3.000 UI/L), hipoxemia, alcalosis respiratoria y en casos severos acidosis respiratoria (Tabla II) (26-28).

RADIOLOGÍA

La Rx de tórax puede ser normal durante el pródromo febril. Sin embargo, en la fase respiratoria se puede caracterizar por infiltrado intersticial focal y alveolar difuso, bilateral que se generaliza, llegándose a encontrar áreas de consolidación en la fase tardía del SRAS (18). No se ha encontrado derrame pleural. El seguimiento de estos pacientes, sobre todo radiológico y de funcionalismo pulmonar, permitirá saber si las lesiones desarrollaran fibrosis e insuficiencia respiratoria crónica (26, 29).

HISTOPATOLOGÍA E INMUNOPATOLOGÍA

La evaluación histopatológica del tejido pulmonar ha evidenciado daño difuso alveolar en diferentes niveles de progresión y severidad. Los efectos citopáticos en el pulmón son inespecíficos, con formación de membrana hialina, infiltrado inflamatorio mononuclear intersticial y descamación de neumocitos al espacio alveolar. Otros ha-

TABLA II
RESULTADOS DE LABORATORIO (PROMEDIO ± DE) DE LA COHORTE ESTUDIADA
EN LOS PRIMEROS SIETE DÍAS DE HOSPITALIZACIÓN

Variable*	1er día	3er día	5to día	7mo día
Hemoglobina (g/dL)	13,5 ± 1,7	13,1 ± 1,7	13,0 ± 1,6	12,9 ± 1,7
Plaquetas (×10 ⁹ /L)	150,2 ± 60,1	153,2 ± 61,3	164,9 ± 70,7	206,3 ± 89,9
Células Blancas (×10 ⁹ /L)	5,1 ± 2,1	5,1 ± 2,7	6,0 ± 3,4	8,3 ± 4,9
Neutrófilos (×10 ⁹ /L)	3,9 ± 2,0	4,0 ± 2,7	5,0 ± 3,3	7,2 ± 4,7
Linfocitos (×10 ⁹ /L)	0,9 ± 0,7	0,8 ± 0,7	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,4
Tiempo de protrombina (seg)	11,2 ± 4,7	12,7 ± 8,6	11,2 ± 4,6	11,3 ± 4,0
Tiempo parcial de tromboplastina activado (seg)	41,6 ± 8,9	44,8 ± 12,8	41,2 ± 8,1	36,3 ± 6,9
Sodio (mmol/L)	135,6 ± 3,4	135,9 ± 3,5	137,0 ± 4,4	139,2 ± 4,9
Urea (mmol/L)	4,7 ± 5,1	4,5 ± 4,5	4,6 ± 3,8	6,3 ± 7,2
Creatinina (μmol/L)	99,0 ± 111,8	94,3 ± 100,4	82,8 ± 23,8	82,7 ± 27,2
Bilirrubina (mmol/L)	10,0 ± 19,4	10, ± 17,8	12,5 ± 19,3	14,3 ± 16,3
Alanino Amino Transferasas (UI/L)	60,4 ± 150,4	67,4 ± 113,7	69,4 ± 72,3	89,8 ± 104,5

*Para convertir valores de creatinina a mg/dL, divida por 88.4, y para convertir valores de bilirrubina a mg/dL, divida por 17.1.

F de I: Tsang y cols. (25).

llazgos identificados incluyen hemorragia alveolar focal y necrosis de vías áreas finas. Se han reportado células sinciciales multinucleadas con gran contenido de vacuolas citoplasmáticas y hendiduras nucleares. El examen de hígado revela cambios microvasculares, hemorragias focales y necrosis hepática con cuerpos acidófilos, mientras que en el bazo se observan grandes áreas de necrosis isquémica y linfocitos atípicos en la zona periarteriolar (9, 19).

El entendimiento de la inmunopatogénesis del SRAS es difícil por el hecho de que la mayoría de los tejidos en la autopsia de estos pacientes son tomados en el periodo tardío de esta enfermedad, tiempo en el cual la patogenia viral inicial es oscurecida por infecciones secundarias o cambios debido a la terapia ventilatoria, esteroides u otros moduladores del sistema inmunitario. La entrada del coronavirus dentro de la cé-

lula blanco se hace a través de la proteína viral S (que forma las espículas) (30). Trabajos previos reportan que esta proteína es importante para la infectividad del virus gracias a su alta afinidad por el HLA-A*0201 y HLA-B*4601 con posterior respuesta de linfocitos T citotóxicos (31, 32).

Así mismo, se ha determinado que el virus puede entrar a la célula a través de la enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ACE 2), la cual está distribuida en la mucosa oral y nasal, pulmones, estómago, intestino delgado, colon, piel, nódulos linfáticos, hígado, riñón y cerebro (33, 34). Esto explica la amplia distribución en la localización del virus reportada en los estudios de pacientes fallecidos por SRAS (35). En el pulmón, se ha determinado que la célula blanco es el neumocito (36) y que la enfermedad se desarrolla en dos fases: al inicio se observa daño alveolar difuso con infiltra-

do leucocitario, edema y formación de membranas hialinas en periodos agudos y posteriormente hay fibrosis, metaplasia escamosa y células gigantes (37). El virus puede afectar directamente a las células induciéndole apoptosis o necrosis (38), además de inducir una respuesta inmunitaria que puede ser deletérea al organismo. La interacción virus-célula puede originar la infiltración de células sanguíneas al tejido pulmonar o a otros tejidos durante el SRAS y esto puede estar relacionado con la liberación de citocinas quimiotácticas generadas durante el proceso infeccioso en el pulmón (39). Al respecto, se ha reportado el aumento de quimiocinas plasmáticas como la MCP-1 (proteína-1 quimiotáctica de macrófagos), la IL-8 (quimiotáctica para neutrófilos) y la proteína 10 inducible por el interferón gamma. Como manifestación sistémica de la respuesta inmunitaria se han encontrado aumentadas en el plasma de pacientes con SRAS el interferón gamma, IL-1, IL-6 e IL-12 confirmando la activación de la inmunidad celular tipo Th1 y la respuesta del sistema innato en SRAS (40). Estas citocinas pueden tener un efecto deletéreo tanto a nivel local como a distancia. La sobreproducción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) por los macrófagos puede llevar a alveolitis a predominio de linfocitos T, que puede progresar a fibrosis pulmonar (41). Se piensa que en la fase temprana de la infección con daño alveolar difuso hay daño celular con infiltración de macrófagos y linfocitos. Estas células a través de la liberación de citocinas aumentan la producción de matriz extracelular como colágeno y fibronectina, originando que en la etapa tardía el daño alveolar se organice en fibrosis, agravándose con la ventilación mecánica y en donde las citocinas juegan un papel menor. A este nivel solo se encuentran pequeñas cantidades de virus en el tejido pulmonar. La presencia de macrófagos a nivel pulmonar puede estar representados

por el macrófago alveolar y el macrófago intersticial. El primero es efectivo como defensa no específica contra infecciones mientras que el intersticial coopera con los linfocitos intersticiales para la inducción de la respuesta inmunitaria específica (39). Esta última relación puede producir activación linfocitaria, producción de citocinas y anticuerpos. En este último caso el virus puede inducir a la producción de anticuerpos autoreactivos que pueden originar reacciones indeseables con la glicoproteína asialo-*mucoide* del suero humano (42). Así mismo los epítopes de las células T reactivas a la proteína S del virus inducen una respuesta específica de células T en individuos HLA-A2 positivos infectados con SRAS en recuperación de la infección (43). Este hecho sugiere la eliminación de virus por estos anticuerpos que al reaccionar con estos epítopes también pueden reaccionar con la proteína S viral. A pesar de haber una respuesta inmunitaria a la infección por el SRAS, la enfermedad se hace más severa al inicio de la infección donde se ha reportado disminución de las células del sistema inmunitario, originando un estado de inmunodeficiencia. Durante el número total de linfocitos y el SRAS sus poblaciones (CD45, CD3, CD4, CD8) declinan en la primera semana de la enfermedad llegando a sus valores más bajos en la segunda semana. Posteriormente los linfocitos y sus subpoblaciones gradualmente incrementan en la fase de recuperación de la enfermedad, dinámica que nos permitiría el diagnóstico de la severidad y pronóstico de la enfermedad (44). Las células asesinas naturales NK y subpoblaciones como la CD158b+*NK*, muy importantes en la respuesta a la infección viral, se encuentran disminuidas en SRAS (45). Aunado a la baja en el número total de linfocitos y sus poblaciones se ha demostrado una disminución en el número de subpoblaciones de células dendríticas circulantes que puede llevar a un estado de in-

munodeficiencia en la respuesta al SRAS. Esta disminución de las células dendríticas retorna a su nivel normal en los pacientes convalecientes (46). Al parecer, la infección por el virus de SRAS cursa con un periodo de infectividad con penetración del virus en las células blancas con destrucción de las mismas y o con la alteración del sistema inmunitario cursando con un estado de inmunodeficiencia mediado por daño de células inmunitarias pero a su vez, la producción de citocinas y de anticuerpos pueden inducir aumento en la severidad de la enfermedad y muerte.

ASPECTOS ULTRAESTRUCTURALES DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS ASOCIADO CON SRAS

El uso del microscopio electrónico para el análisis de tejidos en diferentes infecciones virales representa un instrumento sensible que no requiere de reactivos específicos para la localización viral y las alteraciones producidas a nivel celular. Los estudios acerca de los aspectos ultraestructurales del coronavirus asociado al SRAS se han realizado principalmente en cultivos celulares, lo que es una herramienta importante para el análisis de los hallazgos a nivel del tejido humano. Mediante la técnica de tinción negativa, el virus asociado a SRAS se presenta como una partícula redonda u oval con un diámetro de 60 a 120 nm. Está cubierto por una estructura formada por protuberancias de 10 a 20 nm y separadas por hendiduras. Esta estructura corresponde a la reportada para los coronavirus (Fig. 1A) (47). Estudios realizados en células Vero E6 después de ser infectadas por virus obtenido de pacientes con SRAS, muestran en los primeros 30 minutos, a los virus alineados en la superficie celular (Fig. 1B); éstos pasan al interior de la célula mediante fusión de sus envolturas con la membrana celular o por endocitosis.

Los nucleocápsidos penetran al citoplasma en grandes vacuolas (48). Las células infectadas presentan el efecto citopático caracterizado por la presencia de muchas vesículas citoplasmáticas vacías, disminución del número de mitocondrias y ruptura de las membranas mitocondriales internas y externas. El retículo endoplásmico disminuye y se edematiza (47). Las vesículas y sacos transversales del aparato de Golgi proliferan y contienen en su interior partículas virales en diferentes estados de maduración. Parte de las vesículas citoplasmáticas contienen partículas virales (Fig. 1C) y se localizan cerca de la membrana celular externa para liberar virus por exocitosis (49). Las vesículas que contienen estos virus son llamadas "vesículas relacionadas con la morfogénesis viral" (VMV), porque se sospecha que allí se ensamblan los virus (Figs. 1C y D) (47). Algunas partículas virales pueden encontrarse pegadas en la membrana celular formando arreglos cristalinos (49). La cromatina nuclear se encuentra acumulada y agregada en la parte interna de la membrana nuclear, observándose la presencia de gránulos en el núcleo. Algunas partículas virales se pueden encontrar en la matriz nuclear. Estas se presentan como nucleocápsidos electrondensos rodeados de un halo claro (Figuras 1F y G). La cisterna perinuclear se puede presentar edematizada con la presencia de sacos que contienen varias partículas virales (Fig. 1H). En base a estos datos morfológicos, se hipotetiza que las partículas virales inmaduras aparecerían en las VMV en donde se ensamblarían con el ácido nucleico, haciéndose más grandes y electrondensas. Después de lo cual los virus adquieren su envoltura gemando a través de estas vesículas o del retículo endoplásmico (Fig. 2A) con posterior salida de la célula. Si bien se describe que los coronavirus se duplican y ensamblan en el citoplasma (50, 51), la presencia del virus en el núcleo y en la cisterna perinuclear hace pensar que el

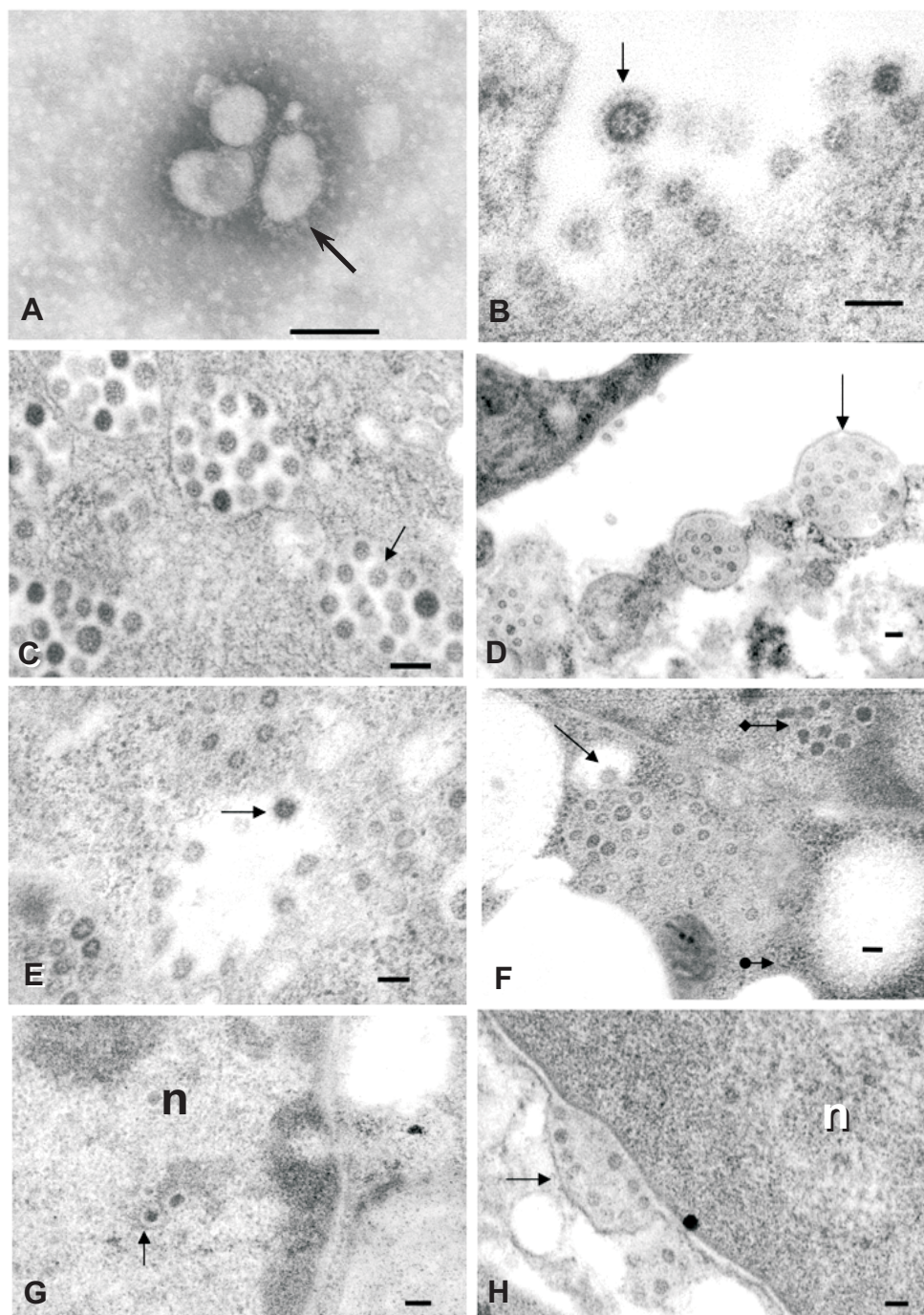


Fig. 1. A) Tinción negativa del virus asociado con el SRAS. B) Viriones en la parte externa de una célula, la flecha señala a una partícula viral típica con su envoltura. C) Viriones en vesículas relacionadas con la morfogénesis viral (VMV), nótese la presencia de partículas virales adoptando un patrón semejante a un pétalo (flecha). D) VMVs con membranas claras (flecha). E) Vesícula citoplasmática mostrando en su interior viriones. Nótese la presencia de una partícula viral con su envoltura (flecha). F) Partículas virales dentro de vesículas citoplasmáticas (flecha) y en el núcleo (flecha en cruz). G) Partículas virales en el núcleo (flecha). H) Presencia de partículas virales en la cisterna perinuclear (flecha). Barras: 100 nm (29).

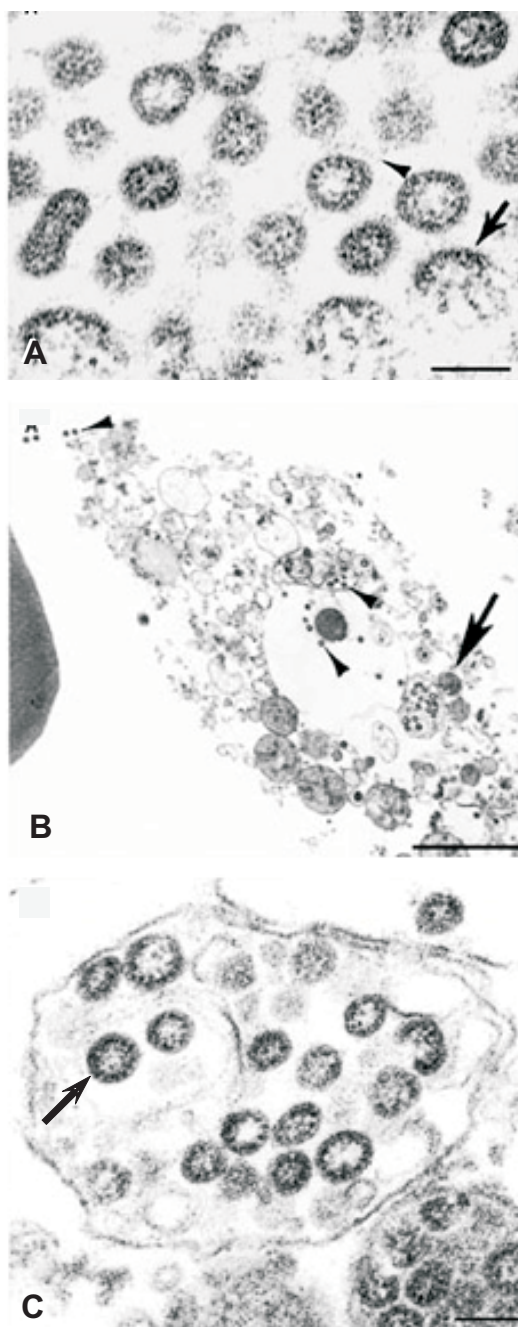


Fig. 2. A) Partículas virales gemando dentro del retículoendoplasmico (flecha) y dentro de la cisterna en células Vero E6. La cabeza de flecha muestra las protuberancias de la envoltura viral. B) Células con efecto citopático y partículas virales obtenidas del lavado bronquial de una paciente con SRAS. La flecha gruesa señala un acúmulo de viriones, el cual se encuentran amplificados en C. Barra: 100 nm. (9).

virus asociado a SRAS puede representar un nuevo coronavirus y que su sitio de ensamblaje y morfogénesis puede haber cambiado (47). Los estudios realizados en humanos afectados por SRAS han demostrado la presencia de virus relacionados con los coronavirus extra e intracelularmente en diferentes tejidos y lavados bronquiales (Figura 2B y C) (9). Se han encontrado inclusiones virales en el citoplasma del epitelio alveolar y macrófagos alveolares y en el endotelio de los vasos pequeños con un diámetro de 80-160 nm (52-54).

Los leucocitos de sangre periférica pueden también ser afectados por el virus. Se ha demostrado la presencia de partículas virales asociadas a coronavirus, especialmente en linfocitos T de sangre periférica en donde los virus se replican (47, 55). Si bien se ha reportado afectación hepática durante el SRAS y evidencia de la presencia del antígeno viral a través de RT-PCR, no se han encontrado partículas virales, mitocondrias gigantes o aumento del número de micro o macro vesículas en el tejido hepático (27). También se ha reportado la presencia de partículas virales en las células del intestino grueso y delgado en pacientes con SRAS (17). La presencia de apoptosis y la infiltración de monocitos es un fenómeno general en el SRAS. El virus induce apoptosis en células T y B del pulmón, bazo y nódulos linfáticos, disminuyendo los mecanismos de defensa inmunitarios (47).

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO, SEROLÓGICO Y MOLECULAR

El proceso de confirmación de este nuevo patógeno como agente causal de SRAS constituyó un proceso riguroso, puesto que no fue suficiente la detección morfológica, genómica o serológica. Para confirmar que el nuevo coronavirus era el agente causal del SRAS fue necesario que se cumplieran los postulados de Koch, los cuales

establecen que el patógeno debe encontrarse en todos los casos de la enfermedad, debe ser aislado del paciente y replicado en cultivo, purificado e inoculado en un hospedador susceptible sano reproduciendo la enfermedad original y ser aislado de nuevo a partir del hospedador infectado experimentalmente (56).

Dado el grado de transmisibilidad, las condiciones para el manejo de las muestras requieren laboratorios nivel 3 de bioseguridad y en un área en la que no se cultiven virus conocidos. Las muestras utilizadas para el estudio virológico fueron diversas y variadas entre las que se mencionan: suero, lavado o hisopado naso y orofaríngeo, esputo, lavado broncoalveolar y tejidos (pulmón, riñón, nódulo linfático) de la mayoría de los órganos (en los casos de autopsias) tomadas dentro de los primeros 10 días del inicio de la fiebre. La muestra ideal parece ser el esputo debido a la alta concentración de partículas virales encontrada en esta muestra (107 millones de copias/mL); sin embargo se desconoce la duración de la viremia, las rutas de excreción y el tiempo de duración de las mismas, por lo que los intentos de aislamiento después de este período podrían arrojar resultados negativos (57). Para la identificación del virus fueron necesarios una variedad de métodos de aislamiento y diagnóstico que incluyeron cultivo en células Vero, inoculación de huevos embrionados de gallina e intracerebral de ratones lactantes, microscopía electrónica, inmunohistoquímica, detección de anticuerpos por ELISA e IFI, amplificación por RT-PCR y secuenciación específica del genoma (5, 6, 9, 18).

Investigadores de la Universidad de Hong Kong, lograron el aislamiento de un coronavirus en células de riñón fetal de mono rhesus (FRhK-4) a partir de biopsia de pulmón y aspirado nasofaríngeo proveniente de dos pacientes con SRAS. Este virus produjo efecto citopático (ECP) con cé-

lulas sinciciales multinucleadas, pero sin evidencia de inclusiones virales, 2 a 4 días después de su inoculación y después de sucesivos pases, las células afectadas mostraron una apariencia redondeada y retráctil, abarcando toda la monocapa celular. Científicos del CDC encontraron un ECP similar 2 a 5 días después de haber inoculado muestras de riñón, orofaringe y esputo en células de riñón de mono (Vero E6). Las preparaciones de microscopía electrónica a partir de extractos de estos cultivos demostraron a través de sus características morfológicas la presencia de partículas compatibles con un coronavirus. Científicos alemanes y canadienses trabajando separadamente también lograron aislar un virus que produjo ECP en células Vero, seis días después de incubarlas con muestras respiratorias de paciente con neumonía atípica. Estos aislados fueron luego caracterizados como Coronavirus mediante RT-PCR. El crecimiento de coronavirus humano en células Vero es inusual, ya que estos virus prefieren líneas celulares selectas y cultivo de órganos o ratones lactantes para su propagación (50, 58).

Los ensayos serológicos para la detección de anticuerpos anticoronavirus se realizaron por determinación de Inmunoglobulina M (IgM) por IFI y ELISA usando como antígeno células Vero infectadas con muestras de pacientes con SRAS, 14 a 21 días después del inicio de los síntomas. La detección de anticuerpos en sueros pareados (agudo y convaleciente) ha sido evaluada en pacientes sospechosos de neumonía atípica, donantes sanos y personas infectadas con coronavirus conocidos. Sólo los pacientes con SRAS mostraron seroconversión de más de 4 diluciones, usando como antígeno el propio coronavirus aislado. La carencia de reactividad serológica a este nuevo coronavirus entre individuos sanos sugiere que este virus no ha circulado previamente; la falta de reacción con suero de personas infectadas con otros coronavirus implica que

hay poca reactividad antigénica cruzada entre el nuevo virus aislado y los coronavirus conocidos 229E y OC43 (51, 58).

Los ensayos moleculares han sido efectuados básicamente a través de RT-PCR y secuenciación. La RT-PCR puede detectar material genético, pero esto no garantiza que lo observado se trate de un virus vivo o de una partícula inmadura incapaz de producir enfermedad (47, 51, 58).

La amplificación y secuenciación de una región conservada del gen de la polimerasa fue realizada utilizando "random primers" u oligonucleótidos genéricos diseñados a partir de la alineación de secuencias de coronavirus de humanos y animales. La secuencia obtenida fue luego utilizada para diseñar cebadores específicos que reconocieran sólo el coronavirus aislado de pacientes con SRAS; esta última se utilizó para comparar con cepas relacionadas y previamente caracterizadas (6, 58-60).

El análisis de la secuencia de un fragmento de 646 pares de bases (pb) indicó, preliminarmente, que los virus aislados de muestras de aspirados nasofaríngeos y heces pertenecían al grupo antigénico II de los coronavirus, presentando una homología del 57% con la ARN polimerasa de coronavirus de bovinos y hepatitis de múridos, confirmando que aunque pertenecen a la familia *Coronaviridae* son diferentes a los dos coronavirus humanos conocidos (229E y OC43) y fue denominado SRAS-CoV (58, 61, 62).

Científicos alemanes realizaron la secuenciación de un fragmento de 300 pb. La comparación filogenética con secuencias relacionadas indicó que el nuevo coronavirus aislado en cultivo celular a partir de esputo segregó entre los grupos genéticos II y III y su similitud fue de 61% con coronavirus bovinos y 54% con el virus de la diarrea epidémica porcina (61-63).

El genoma completo de este coronavirus resultó en un rango de 29.725 a 29.736

nucleótidos (64, 65). El CDC anunció sus propios resultados de la secuencia del virus reportando 15 nucleótidos adicionales a los reportados en Canadá. Investigadores chinos también lograron descifrar el código del nuevo coronavirus, reportando 29.725 kb organizados en 11 marcos de lectura abierta conteniendo una región estable que codifica para una ARN polimerasa ARN dependiente y una región variable que codifica para los genes estructurales S, E, M y N y 5 proteínas no caracterizadas aún (55). La comparación de la secuencia del aislado de Canadá y China con la secuencia descrita por el CDC reveló una similitud cercana al 100%, lo que sugirió que la epidemia de SRAS habría surgido aparentemente como un brote epidémico único, no demostrándose alguna evidencia de que haya sido creado por el hombre (66).

La información de la secuencia del genoma completo abre las puertas para la exploración profunda de la etiología, patogénesis y evolución de la enfermedad, crear drogas antivirales, desarrollar vacunas, elaborar primers más específicos y ensayos diagnósticos que permitan la detección temprana del virus causante de SRAS (5, 6, 67, 68).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En los pacientes con enfermedad respiratoria leve hay que hacer el diagnóstico diferencial con virus respiratorios comunes (Influenza, Parainfluenza, Adeno y Rinovirus, Sincicial Respiratorio), con los coronavirus humanos conocidos e infecciones causadas por bacterias típicas: *Streptococcus* y *Stafilococcus pneumoniae*, y atípicas como *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma* y *Chlamydia pneumoniae*. Aunque el diagnóstico diferencial del SRAS puede llegar a ser tan complejo con la inclusión de virus como Hantán, varicela, sarampión, entero y arnavirus, rickettsias, Hendra y Nipah virus,

es importante que los síntomas, signos, hallazgos radiológicos, de laboratorio se asocien al nexo epidemiológico de contacto, anteriormente descrito (5, 9).

En pacientes con neumonía se debe hacer el diagnóstico diferencial con otras neumonías de la comunidad. Contribuyen al diagnóstico diferencial entre SRAS y estas neumonías, los siguientes hechos: Las neumonías por neumococos (que son las más frecuentes de las neumonías extrahospitalarias) se acompañan de leucocitosis y responden a antibióticos (5, 9, 24).

TRATAMIENTO

No existe un tratamiento específico para el SRAS, pero se ha utilizado terapia antiviral como la ribavirina usada en el tratamiento de Influenza (por su amplio espectro y actividad contra los ARN virus, sin embargo su eficacia no ha sido completamente demostrada y los estudios *in vitro* no han arrojado resultados favorables) o el inhibidor de neuraminidasa oseltamivir. También se ha usado lopinavir/ritonavir muchas veces asociados con rivabirina o con pulsos de esteroides. La eficacia de estos esquemas terapéuticos continúa en discusión, al igual que el uso de nebulizaciones con broncodilatadores (Albuterol) y antibioticoterapia con betalactámicos y macrólidos o fluoroquinolonas (5, 19, 26, 69).

MANEJO DE LOS CASOS

Los pacientes con síntomas de SRAS deben ser dirigidos inmediatamente a una sala hospitalaria previamente designada para tal efecto. Debe utilizarse mascarilla quirúrgica. Se recogerá historia clínica detallada, incluyendo viajes y la ocurrencia de enfermedades agudas en personas de contacto en los últimos 10 días. Se realizará radiografía de tórax y hemograma completo. Si la radiografía mostrara un resultado posi-

tivo, el paciente debe ser hospitalizado y analizar en laboratorios adecuados (que deben estar preparados para recibir y procesar estas muestras) y en coordinación con las autoridades nacionales de salud. Si la Rx de tórax es normal, hay que prevenir el contacto con secreciones y evaluar la temperatura y los hallazgos hematológicos (21, 26, 70).

PREVENCIÓN

Para evitar la diseminación de la enfermedad, la OMS ha tomado medidas preventivas en países donde se han reportado casos de SRAS; alguna de ellas incluyen, restricción de visitas a estos países, vigilancia epidemiológica de pacientes con signos de SRAS, que entren a hospitales y aeropuertos y medidas de seguridad para trabajadores de la salud como el uso de trajes y mascarillas especiales. Para evitar accidentes de laboratorio, se implementó el cultivo y la manipulación de virus previamente inactivados en laboratorios de contención biológica (21, 70).

Las autoridades sanitarias de todos los países que han sido afectados por el SRAS y los que puedan estar en riesgo deben remitir guías en la que se informa de las medidas de vigilancia y control a adoptar en puertos aéreos, marítimos y fronteras de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS. Según los cuales, en la actualidad, no hay elementos que justifiquen ningún tipo de restricción de viajes a los pasajeros. Sin embargo, sí se aconseja que aquellas personas que hayan viajado a esas áreas, estén pendientes a la aparición de la más mínima sintomatología sugestiva para solicitar atención médica (20, 21).

La prevención de la infección por Coronavirus ha sido exitosa en animales a través de la implementación de vacunas, por lo que el desarrollo de una vacuna contra el nuevo coronavirus en humanos es una posibilidad real; sin embargo es importante

considerar que siendo alta la tasa de mutación genética en estos virus especialmente en la proteína S, esto podría llevar a la evolución de nuevas cepas virales, mecanismo mediante el cual algunos virus escapan de las defensas del hospedador (60). A este respecto, científicos canadienses de la "iniciativa acelerada de vacuna contra el "Síndrome Respiratorio Agudo Severo" crearon y experimentaron en animales de laboratorio tres vacunas contra esa enfermedad. Estas propuestas, que reúnen recursos de las universidades de Columbia británica, Saskatchewan y Ottawa, además de laboratorios privados, experimentaron las vacunas en ratones y conejos y pronto llevarán a cabo experiencias con hurones y primates. Si estos estudios confirman resultados esperados, una vacuna contra el SRAS podría estar lista para su experimentación en los humanos en un año y medio, tiempo récord si se toma en cuenta que el SRAS apareció hace menos de un año. Así mismo, los investigadores chinos están sometiendo a pruebas una vacuna basada en el virus-vacuna, considerado como más peligroso y caro que las alternativas canadienses; sin embargo estos hallazgos no han sido hasta la fecha publicados en revistas científicas (71).

REFLEXIONES

Una de las lecciones más importantes que ha dejado la primera epidemia del siglo XXI (por su gran impacto social, político, económico y familiar) es que el virus causante del SRAS es un patógeno emergente que puede llegar a provocar una pandemia de severas consecuencias si no se activan las medidas de control y vigilancia y se implementan estrategias como la institucionalizada oportunamente por la OMS que coordinó la investigación internacional conjunta con el CDC y los Departamentos de Salud y Servicios Humanos de los países afectados.

Hecho que permitió la creación de una alianza que produjo descubrimientos científicos y epidemiológicos con una rapidez sin precedentes y que estimuló, además, la comunicación oportuna e intercambio de información eficaz para el control efectivo de la epidemia.

Otra lección no menos importante es la adopción y activación de sistemas de vigilancia para enfermedades respiratorias, escaso en la gran mayoría de los países en vías de desarrollo, los cuales presentan un déficit o inexistencia de políticas de prevención al respecto, menos aún la dotación de laboratorios de investigación con infraestructura y reactivos adecuados para el diagnóstico oportuno de este tipo de enfermedades. Es un buen momento para prepararse al respecto, dado que pareciera que el SRAS seguirá amenazando al sistema mundial de salud pública. La OMS advierte que la persistencia de la vigilancia mundial es crucial en un futuro. Todos los equipos de salud y de investigación a nivel mundial tienen el deber de seguir en alerta máxima para detectar los posibles casos; sin embargo la OMS podría mediar este esfuerzo, de manera que se asegure en cada país la capacidad de diagnóstico y vigilancia para éste y otros virus emergentes.

Tomando en cuenta que la llegada y entrada del virus causante del SRAS a nuestro país es posible y relativamente fácil dada la permeabilidad de los sistemas de vigilancia y a la ubicación estratégica de Venezuela.

La cooperación y conformación de vínculos interinstitucionales es esencial. Se hace necesario promover encuentros para informar tanto a investigadores y autoridades sanitarias como al resto de la comunidad en relación al SRAS y las medidas de prevención y control, así como acentuar la vigilancia epidemiológica y si llegase a existir un caso comprobado, hacer cumplir pautas establecidas por organismos internacionales

para evitar el caos vivido en los países afectados y la pérdida de personal de salud altamente capacitado, como es el caso del Dr. Carlo Urbani, experto investigador en el área y víctima lamentable de esta epidemia (72).

Es necesario estar preparado para asumir la responsabilidad en el manejo y seguimiento de los casos, así como la logística de acción, la cual recae en gran medida en el Estado, aunque es bueno señalar que la misma debe ser compartida en todos los niveles, con la única finalidad de evitar que la enfermedad se disemine.

La epidemia de SRAS ha sido controlada, pero las autoridades sanitarias no deben bajar la guardia porque todo parece indicar que no se ha marcado el fin del SRAS. La aparición de nuevos casos puede significar el comienzo de una nueva oleada después de un silencio de varios meses, sin dejar de mencionar la aparición de otras enfermedades como la influenza aviaria, cuyas implicaciones en el cuadro epidemiológico de una región podrían ser muy severas. Podría ser que se trate de una enfermedad estacional, es posible que la fuente original del brote siga en el medio ambiente o puede que el virus aún circule en un reservorio animal y espere las condiciones adecuadas para infectar nuevamente al humano. Son muchas las incógnitas, y las investigaciones deben continuar dado que los resultados que se generen de ellas son de importancia decisiva para manejar de forma adecuada otro posible brote y definir en la medida de las posibilidades: ¿Qué va a ocurrir en el futuro?

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Carlo Urbani, especialista en enfermedades infecciosas e investigador de amplia trayectoria, quien asumió la responsabilidad de investigación y manejo de los casos de SRAS y fue víctima fatal de esta epidemia.

REFERENCIAS

1. **Lleras A.** Síndrome Respiratorio Agudo Severo ¿Una Pandemia?. *Kasmera* 2002; 31(1):5-6.
2. **World Health Organization.** Cumulative number of reported cases of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS) Geneva: 2003. Available from: <http://www.who.int/crs/SRAScountry>.
3. **Geberding J.** Faster but Fast Enough? Responding to the Epidemic of Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(20):2030-2031.
4. **World Health Organization.** Suspected SRAS case still under close watch. Available from: <http://www.info.gov.hk/info/SRAS/eindex.htm>.
5. **Poutanem SM, Low DE, Henry B, Finkelstein S, Rose D, Green K, Tellier R, Draker R, Adachi D, Ayers M, Chan AK, Skowronski DM, Salit I, Simor AE, Slutsky AS, Doyle PW, Krajden M, Petric M, Brunham RC, McGeer AJ, and members of the National Microbiology Laboratory, Canada, and the Canadian Severe Acute Respiratory Syndrome Study.** Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome in Canada. *N Engl J Med* 2003; 348(20):1995-2005.
6. **Drosten C, Günther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt HR, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RA, Berger A, Burgüiere AM, Cinatl J, Eickmann M, Escriou N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra JC, Müller S, Rickerts V, Stürmer M, Vieth S, Klenk HD, Osterhaus AD, Schmitz H, Wilhelm H.** Identification of a novel Coronavirus in patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(20):1967-1976.
7. **Majarrez MA.** Virus Influenza: Enigmas del pasado y del presente. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1999; 12(4):290-299.
8. **Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Wals EE.** Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003; 87:785-790.
9. **Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S,**

- Urbani C, Comer J, Lim W, Rollin P, Dowel SF, Ling A, Humphrey CD, Shieh W, Guarner J, Paddock C, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang J, Cox N, Hughes J, LeDuc J, Bellini W, Anderson L, and members of the SRAS working group. A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(20):1953-1965.
10. Peret TC, Boivin G, Li Y, Couillard M, Humphrey C, Osterhaus AD, Erdmann DD, Anderson LJ. Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America. *J Infect Dis* 2002; 185:1660-1663.
 11. Nissen MD, Siebert DJ, Mackay IM, Sloots TP, Withers SJ. Evidence of human metapneumovirus in Australian children. *Med J Aust* 2002; 176(4):188.
 12. Zhang Q, Cui J, Huang X, Lin W, Tan D, Xu J, Yang Y, Zhang J, Zhang X, Li H, Zheng H, Chen Q, Yan X, Zheng K, Wan Z, Huang J. Morphology and Morphogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS)-associated Virus. *J Pathol* 2003; 200:282-289.
 13. Organización Mundial de la Salud. Confirmando en el laboratorio el caso de SRAS en el Sur de China. Available from: http://www.who.int/csr/don/2004_01_05/es/.
 14. Holmes KV. Coronaviridae and their replication. *Virology*. Fields BN, Knipe D. Raven Press, New York; 1996, p 841-856.
 15. Seto WH, Tsang D, Yung RW, Ching TY, Ng TK, Ho M, Ho LM, Peiris JS. Advisors of Expert SRAS group of Hospital Authority. Effectiveness of precautions against droplets and contact in prevention of nosocomial transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS). *Lancet* 2003; 361(9368):1519-1520.
 16. Cheng VC, Hung IF, Tang BS, Chu CM, Wong MM, Chan KH, Wu AK, Tse DM, Chan KS, Zheng BJ, Peiris JS, Sung JJ, Yuen KY. Viral replication in the nasopharynx is associated with diarrhea in patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Clin Infect Dis* 2004; 38(4): 467-475.
 17. Leung WK, To KF, Chan PK, Chan HL, Wu AK, Lee N, Yuen KY, Sung JJ. Enteric involvement of Severe Acute Respiratory Syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology* 2003; 125(4): 1011-1017.
 18. Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, Nicholls J, Yee WK, Yan WW, Cheung MT, Cheng VC, Chan KH, Tsang DN, Yung RW, Ng TK, Yuen KY; and SRAS study group. Coronavirus as possible cause of Acute Severe Respiratory Syndrome. *Lancet* 2003; 361:1312-1313.
 19. Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt G, Ahuna A, Yung MY, Leung CB, To KF, Lui SF, Szeto CC, Chung S, Sung JJ. A Major Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003; 348:1986-1994.
 20. World Health Organization. Case definitions for surveillance of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS). Geneva: 2003. Available from: <http://www.who.int/csr/SRAS/casedefinition>).
 21. Centers for Disease Control and Prevention. Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS). Atlanta: 2003. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/SRAS/>.
 22. Preliminary Clinical Description of Severe Acute Respiratory Syndrome. *MMWR* 2003; 52:255-256.
 23. World Health Organization Weekly epidemiological record. 78(12):81-88. Available from: <http://www.who.int/wer/pdf/2003/wer7812>.
 24. Hon KL, Leung CW, Cheng WT, Chan PK, Chu WC, Kwan YW, Li AM, Fong NC, Ng PC, Chiu MC, Li CK, Tam JS, Fok TF. Clinical presentation and outcome of Severe Acute Respiratory Syndrome in children. *Lancet* 2003; 361:1701-1703.
 25. Falsey AR, Walsh EE. Novel coronavirus and Severe Acute Respiratory Syndrome. *Lancet* 2003; 361(9366):1312-1313.
 26. Tsang K, Ho P, Ooi G, Yee W, Wang T, Chan M, Lam W, Seto W, Yam L, Cheung T, Wong P, Lam B, Ip M, Chan J, Yuen K, Lai K. A Cluster of Cases of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003; 348(20): 1977-1985.
 27. Chau TN, Lee KC, Yao H, Tsang TY, Chow TC, Yeung YC, Choi KW, Tso YK, Lau T, Lai ST, Lai CL. SRAS-associated vi-

- ral hepatitis caused by a novel coronavirus: Report of three cases. *Hepatology* 2004; 39:302-310.
28. **Zhong YF, Gao XM, Wang SL, Xie ZG, Ma Y, Fang WG, Zou WZ, Li XL, Zhang QY, Wang W, Zhao ZD, Gu J.** Pathologic study of circulating blood leukocytes in Severe Acute Respiratory Syndrome. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2003; 83:2137-2141.
29. **Nicolaou S, Al-Nakshabandi N, Müller N.** Radiologic Manifestations of Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(20):2006.
30. **Hofmann H, Hattermann K, Marzi A, Gramberg T, Geier M, Krumbiegel M, Kuate S, Uberla K, Niedrig M, Pohlmann S.** S protein of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus mediates entry into hepatoma cell lines and is targeted by neutralizing antibodies in infected patients. *J Virol* 2004; 78: 6134-6142.
31. **Sylvester-Hvid C, Nielsen M, Lamberth K, Roder G, Justesen S, Lundegaard C, Worning P, Thomadsen H, Lund O, Brunak S, Buus S.** SRAS CTL vaccine candidates; HLA supertype-, genome-wide scanning and biochemical validation. *Tissue Antigens*. 2004; 63(5):395-400.
32. **Baomei Wang, Huabiao Chen, Xiaodong Jiang, Minghui Zhang, Tao Wan, Nan Li, Xiangyang Zhou, Yanfeng Wu, Feng Yang, Yizhi Yu, Xiaoning Wang, Ruifu Yang, Xuetao Cao.** Identification of an HLA-A*0201-restricted CD8⁺ T-cell epitope SSp-1 of SRAS-CoV spike protein. *Blood* 2003; 11:4072-4075.
33. **Ching Chong KY, Hon CC, Hi Hui RK, Yeung Wong RT, Yip CH, Zeng F, Ching Leung CC.** Molecular advances in severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SRAS-CoV). *Geno Prot.& Bioinfo* 2003; 1:247-262.
34. **Turner AJ, Hiscox JA, Hooper NM.** ACE2: from vasopeptidase to SRAS virus receptor. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25:291-294.
35. **Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely A, Navis G, Van Goor H.** Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SRAS coronavirus. A first step in understanding SRAS pathogenesis. *J Pathol* 2004; 203:631-637.
36. **Ding Y, He L, Zhang Q, Huang Z, Che X, Hou J, Wang H, Shen H, Qiu L, Li Z, Geng J, Cai J, Han H, Li X, Kang W, Weng D, Liang P, Jiang S.** Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SRAS) associated coronavirus (SRAS-CoV) in SRAS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol* 2004; 203:622-630.
37. **Chow KC, Hsiao CH, Lin TY, Chen CI, Chiou SH.** Detection of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus in pneumocytes of the lung. *Am J Clin Pathol* 2004; 121:574-580.
38. **Nicholls JM, Poon LL, Lee KC.** Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003; 361:1773-1778.
39. **Yan H, Xiao G, Zhang J, Hu Y, Yuan F, Cole DK, Zheng C, Gao GF.** SRAS coronavirus induces apoptosis in Vero E6 Cells. *J Med Virol* 2004; 73:323-331.
40. **Julkunen I, Sareneva T, Pirhonen J.** Molecular pathogenesis of influenza A virus infection and virus-induced regulation of cytokine gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; 12: 171-180.
41. **Wong CK, Lam CWK, Wu AKL, Ip WK, Lee NLS, Chan IHS, Lit LCW, Hui DSC, Chan MHM, Cheng SSC, Spng JJY.** Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin Exp Immunol* 2004; 136:95-103.
42. **Miyazaki Y, Araki K, Vesin C.** Expression of a tumor necrosis factor-alpha transgene in murine lung causes lymphocytic and fibrosing alveolitis. A mouse model of progressive pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1995; 96:250-259.
43. **Wang D, Lu J.** Glycan arrays lead to the discovery of auto-immunogenic activity of SRAS-CoV. *Physiol Genomics* 2004; 18:245-248.
44. **Wang YD, Sin WY, Xu GB, Yang HH, Wong TY, Pang XW, He XY, Zhang HG, Ng JN, Cheng CS, Yu J, Meng L, Yang RF, Lai ST, Guo ZH, Xie Y.** T-cell epitopes in severe acute respiratory syndrome

- (SRAS) coronavirus spike protein elicit a specific T-cell immune response in patients who recover from SRAS. *J Virol* 2004; 78:5612-5618.
45. **He ZP, Dong QM, Zhuang H, Song SJ, Liu ZY, Feng X.** Dynamics of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in patients with severe acute respiratory syndrome. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2004; 25:124-126.
 46. **Wang D, Lu J.** The involvement of natural killer cells in the pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. *Am J Clin Pathol* 2004; 121: 507-511.
 47. **Zhang QL, Ding YQ, He L, Wang W, Zhang JH, Wang HJ, Cai JJ, Geng J, Lu YD, Luo YL.** Detection of cell apoptosis in the pathological tissues of patients with SRAS and its significance. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2003; 23:770-773.
 48. **Ng ML, Tan SH, See EE, Ooi EE, Ling AE.** Early events of SRAS coronavirus infection in vero cells. *J Med Virol* 2003; 71: 323-331.
 49. **Ng ML, Tan SH, See EE, Ooi EE, Ling AE.** Proliferative growth of SRAS coronavirus in Vero E6 cells. *J Gen Virol* 2003; 84: 3291-3303.
 50. **Garoff H, Hewson R, Opstelten DJE.** Virus maturation by budding. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62:1171-1190.
 51. **Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE.** *Fields Virology*, 4th ed. Williams Lippincott & Wilkins:Philadelphia; 2001.
 52. **Lai RQ, Feng XD, Wang ZC, Lai HW, Tian Y, Zhang W, Yang CH.** Pathological and ultramicrostructural changes of tissues in a patient with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2003; 32:205-208.
 53. **Ding YQ, Wang HJ, Shen H, Li ZG, Geng J, Han HX, Cai JJ, Li X, Kang W, Weng DS, Lu YD, Yao KT.** Study on etiology and pathology of Severe Acute Respiratory Syndrome. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2003; 32:195-200.
 54. **He L, Ding YQ, Che XY, Zhang QL, Huang ZX, Wang HJ, Shen H, Li ZG, Cai JJ, Zhang JH, Geng J, Li X, Zhang WL, Han HX, Kang W, Yang L, Lu YD.** Expression of the monoclonal antibody against nucleocapsid antigen of SRAS-associated coronavirus in autopsy tissues from SRAS patients. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 2003; 23(11):1128-1130.
 55. **Wang CE, Li YC, Wu XH, Cao JT, Yan G, Li JF, Si BY, Yu M, Qin ED, Zhu QY.** Ultrastructural characteristics of SRAS associated virus in infected cells. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2003; 32:209-211.
 56. **Ho W, Hong Kong Hospital Authority Working Group on SRAS.** Guideline on management of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003; 361:1313-1315.
 57. **Charles M.** Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS) and Coronavirus Testing. *MMWR* 2003; 52(14):297-302.
 58. **Pujol F.** Un nuevo Coronavirus es el causante de la neumonía atípica. Available from: <http://caibeo.ucv.vt/vitae/VitaeNueva/homevitae.htm>.
 59. **Van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA.** A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7(6):719-724.
 60. **Ruan YJ, Wei CL, Ee AL, Vega VB, Thoreau H, Su ST, Chia JM, Ng P, Chiu KP, Lim L, Zhang T, Peng CK, Lin EO, Lee NM, Yee SL, Ng LF, Chee RE, Stanton LW, Long PM, Liu ET.** Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SRAS coronavirus isolated and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet* 2003; 361 (9371):1779-1785.
 61. **Mcintosh K, Kapikian AZ, Hardison KA, Hartley JW, Chanock RM.** Antigenic relationships among the coronaviruses of man and between human and animal coronaviruses. *J Immunol* 1969; 102: 1109-1118.
 62. **Holmes K.** SRAS-Associated Coronavirus. *N Engl J Med* 2003; 348(20):1948-1951.
 63. **Ni AP, Wang Z, Liu Y, Liu SD, Han YH, Shen Y, Qiang BQ.** Isolation and identification of SRAS-coronavirus in nasal and throat swabs collected from clinically diagnosed SRAS patients. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2003; 25:520-524.
 64. **University of Leicester.** "Diagrama del genoma de un coronavirus". *Coronavirus*. Available

- lable from: <<http://www.micro.msb.le.ac.uk/3035/Coronaviruses.html>>.
65. **Arizona State University.** "Modelo de la estructura de un coronavirus" Coronavirus. Available from: <<http://lsvl.la.asu.edu/ubep2003/participants/blount/>>.
 66. **Russell Kightley Media.** "Replicación de los coronavirus". Imágenes de ciencia. Available from <<http://www.rkm.com.au/VIRUS/CORONAVIRUS/coronavirus-replication.html>>.
 67. **Ding Y, Wang H, Shen H, Li Z, Geng J, Han H, Cai J, Li X, Kang W, Weng D, Lu Y, Wu D, He L, Yao K.** The clinical pathology of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS): a report from China. *J Pathol* 2003; 200:282-289.
 68. **Kuiken T, Fouchier RA, Schutten M, Rimmelzwaan GF, Van Amerongen G, Van Riel D, Laman JD, De Jong T, Van Doornum G, Lim W, Ling AE, Chan PK, Tam JS, Zambon MC, Gopal R, Drosten C, Van Der Werf S, Eseriou N, Manu-
guerra JC, Stohr K, Peiris JS, Osterhaus AD.** Newly discovered coronavirus as the primary cause of Severe Acute Respiratory Syndrome. *Lancet* 2003; 362:263-270.
 69. **Chu CM, Cheng VC, Hung IF, Wong MM, Chan KH, Chan KS, Kao RY, Poon LL, Wong CL, Guan Y, Peiris JS, Yuen KY.** Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SRAS: initial virological and clinical findings. *Thorax* 2004; 59(3):252-256.
 70. **Ho W, Hong Kong Hospital Authority Working Group on SRAS, Central Committee of Infection Control.** Guideline on management of Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS). *Lancet* 2003; 361: 1313-1315.
 71. **Boletín Epidemiológico semanal del IPK.** Crean Científicos Canadienses tres prototipos de vacunas contra SRAS. 2003; 13(49):1-3.
 72. **Reilley B, Van M, Sermand D, Dentico N, SRAS and Carlo Urbani.** *N Engl J Med* 2003; 348(20):1951-1952.