ASUNTOS SOBRE LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE NUEVAS ESPECIES DE CORONAVIRUS SARS-CoV-2

Bruna Letícia Domingues Molinari¹*

¹ Departamento de Medicina Veterinaria, Centro Universitario Inga / UNINGA, Maringá, Brasil.

* Autor para correspondencia:

Dirección: Rod. PR 317, 6114 Parque Industrial 200, Maringá, Paraná, Brasil. CEP: 87035-510.

Correo electrónico: bruna_molinari@hotmail.com.

DOI: 10.4025/rcvsp.v7i1.55497

RESUMEN

Desde diciembre del 2019, una nueva especie de coronavirus llamada SARS-CoV-2 ha sido asociada a miles de casos de enfermedad respiratoria grave en todo el mundo, siendo considerada un problema de salud pública. Comparaciones moleculares entre especies aisladas de SARS-CoV-2 y otras especies de coronavirus mostraron niveles de similitud de alrededor del 79% con la cepa humana SARS-CoV. Sin embargo, el análisis de alineamiento de secuencias mostró que los virus conocidos más estrechamente relacionados con SARS-CoV-2 son dos SL-CoV de murciélagos (~ 89%), revelando relaciones evolutivas similares y evidenciando que los murciélagos pueden actuar como reservorios de SARS-CoV-2. Sin embargo, fue detectado ARN viral en dos perros y dos gatos pertenecientes a propietarios infectados con SARS-CoV-2, en Hong Kong y Bélgica, y en un tigre mantenido en el Zoológico del Bronx en la ciudad de Nueva York. Además, hurones y gatos fueron altamente susceptibles a la infección por SARS-CoV-2 en un experimento llevado a cabo en un ambiente controlado. No obstante, no hay evidencia de que estos animales actúen como reservorios del virus. A pesar de la alta similitud genética encontrada entre las cepas de SARS-CoV-2, se han identificado mutaciones, principalmente en el gen de la proteína estructural S, pero hasta el momento, no hay evidencia suficiente para relacionar esa mutación específica en el genoma viral con el mayor número de pacientes infectados o muertes.

PALABRAS CLAVE: Murciélagos; Perros; Gatos Análisis molecular; SARS-CoV-2.

INTRODUCCIÓN

Los coronavirus (CoV) son virus envueltos de ARN de cadena sencilla, que pertenecen a la familia Coronaviridae y se asocian comúnmente con enfermedades respiratorias y entéricas leves en especies de aves y mamíferos en todo el mundo (WOO et al., 2009).

Durante diciembre del 2019, cinco pacientes mayores de cuarenta años ingresaron a hospitales con un diagnóstico inicial de neumonía de etiología desconocida en Wuhan, provincia de Hubei, China (LU et al., 2020a).

A través de técnicas de diagnóstico molecular, fue posible identificar una nueva cepa de Coronavirus (nuevo coronavirus 2019 o SARS-CoV-2) relacionada con la etiología de la enfermedad llamada COVID-19 (REN et al., 2020).

Debido a su potencial de propagación horizontal rápida, el SARS-CoV-2 ha emergido e infectado a miles de humanos en varios países, causando un escenario de pandemia y muchas muertes (BENVENUTO et al., 2020; HAIDER et al., 2020). En el momento de la preparación de este manuscrito, COVID-19 había resultado en más de 16.114.449 casos confirmados y más de 646.641 muertes en todo el mundo (OPAS / OMS).

En función de la gravedad de la enfermedad y a fin de proporcionar información para el desarrollo de vacunas y otras formas de control y prevención viral, se están desarrollando diversos estudios para permitir la comprensión del origen evolutivo, las características moleculares y antigénicas de este virus.

DESARROLLO

Las cepas de Coronavirus se clasifican en cuatro géneros en función de sus propiedades genéticas: *Alfacoronavirus* (α), *Betacoronavirus* (β), *Gammacoronavirus* (γ) y *Deltacoronavirus* (δ) (WOO et al., 2009). Antes de la emergencia del SARS-CoV-2, había seis CoV conocidos por infectar a los humanos: dos α -CoV (229E y NL63), cuatro β -CoV (OC43, HKU1, el Síndrome respiratorio agudo severo (SARS) -CoV y el Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS) -CoV), todos ellos con potencial confirmado de transmisión zoonótica (PERLMAN y NETLAND, 2009; ZAKI et al., 2012).

El SARS-CoV y el MERS-CoV surgieron en China 2002 y Arabia Saudita 2012, respectivamente (ZHONG et al., 2003; ZAKI et al., 2012). Ambas especies se asociaron al síndrome respiratorio agudo severo en humanos y se detectaron en aproximadamente 27 países (WHOa; WHO b). Varios estudios mostraron que los murciélagos son el reservorio de una amplia variedad de coronavirus, incluidos los virus de tipo SARS-CoV y MERS-CoV (DREXLER et al., 2014). Sin embargo, hay evidencias de que otros animales también pueden actuar como reservorios u hospedadores incidentales de estos virus, contribuyendo para el mantenimiento en el entorno (GUAN et al., 2003; WANG et al., 2006; REUSKEN et al., 2013).

Para determinar el origen, la evolución y el parecido antigénico del SARS-CoV-2, se han realizado estudios moleculares sobre las secuencias de nucleótidos y proteínas del virus desde su descubrimiento. Las comparaciones entre los aislamientos del nuevo coronavirus y el SARS-CoV mostraron niveles de similitud de alrededor del 79%. Cuando se comparó con las secuencias de MERS-CoV, el rango de similitud fue de aproximadamente el 50% (LU et al., 2020b; REN et al., 2020). A pesar de la similitud con el SARS-CoV, el análisis filogenético reveló que el SARS-CoV-2 se encuentra dentro del género *Betacoronavirus*, pero en un clado diferente al del SARS-CoV, que era lo suficiente como para considerarse una nueva especie de betacoronavirus que infecta al ser humano (LU et al., 2020b; REN et al., 2020).

Adicionalmente, se realizó el análisis filogenético teniendo en cuenta las secuencias del genoma de betacoronavirus identificados a partir de roedores, ganado y murciélagos (LU et al., 2020b; REN et al., 2020). El análisis de alineamiento de secuencias mostró que los virus conocidos más estrechamente relacionados con el SARS-CoV-2 son dos SL-CoV de murciélago (bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21) identificados en 2005 en Zhoushan, Zhejiang, China, presentando 73-89 % de nucleótidos idénticos (WONG et al., 2019; LU et al., 2020b; REN et al., 2020). En el análisis filogenético, ambas especies provenientes de murciélagos se agruparon en el mismo clado que el SARS-CoV-2, revelando relaciones evolutivas similares y evidenciando que los murciélagos pueden actuar como reservorios de SARS-CoV-2 (LU et al., 2020b).

Para aclarar más detalles sobre los posibles huéspedes y reservorios de SARS-CoV-2, Ji et al. (2020) realizaron un análisis filogenético utilizando 271 secuencias del genoma del SARS-CoV-2 disponibles en las bases de datos GenBank y el uso de codones sinónimos (RSCU) utilizando secuencias de codificación disponibles del genoma SARS-Cov-2 (1CDS, codones 9672), del genoma SLCoVZC45 de murciélagos y de genomas de especies de vida silvestre como serpientes, erizos, marmotas, mantis y aves. El análisis filogenético reveló la alta similitud con los SL-CoV de murciélago, como se mencionó anteriormente. A su vez, el sesgo relativo del RSCU mostró que SARS-CoV-2, bat - SL - CoVZC45 y las serpientes de China tienen un sesgo similar del uso de codones, sin embargo, el SARS-CoV-2 y las serpientes tienen la mayor similitud, sugiriendo que las serpientes y los murciélagos pueden actuar como hospedadores o reservorios de virus. Como no hubo contacto entre los primeros humanos positivos para el SARS-CoV-2 con los murciélagos y la mayoría de ellos tenían antecedentes de exposición al virus en el mercado mayorista de mariscos de Huanan, donde se venden aves, serpientes, marmotas, pájaros, ranas y erizos, no se puede descartar la existencia de otros huéspedes o reservorios (LU et al., 2020a; JI et al., 2020).

La transmisión zoonótica viral es la hipótesis más aceptada para los primeros casos positivos de SARS-CoV-2. Aunque el SARS-CoV-2 comparte una alta similitud de nucleótidos con el coronavirus de murciélago, no se ha detectado en estos u otros animales antes de la pandemia. Sin embargo, en los últimos meses, se ha detectado ARN viral en dos perros y dos gatos que pertenecen a propietarios infectados con SARS-CoV-2, en Hong Kong y Bélgica (PRO / AH / EDR). En estos cuatro casos fue posible observar que todos los animales eran asintomáticos, se detectó baja titulación viral, no hubo transmisión de un animal a otro y las secuencias virales obtenidas de uno de los perros y su dueño eran idénticas, sugiriendo que la transmisión ocurrió del dueño al animal (PRO/AH/EDR; LEROY et al., 2020). Todos estos hallazgos contribuyen a la afirmación de que no hay evidencia de desarrollo de una infección productiva e infecciosa en perros y gatos.

Además de la infección de perros y gatos, el genoma ARN del SARS-CoV-2 también se encontró en un tigre de cuatro años mantenido en el zoológico del Bronx en la ciudad de Nueva York, llamado Nadia, que presentó tos seca y disminución del apetito. La hermana de Nadia, Azul, dos tigres siberianos y tres leones africanos también desarrollaron los mismos signos clínicos, sin embargo, no han sido probados (JAMES, 2020).

En adición a lo mencionado anteriormente, Shi et al. (2020) desarrollaron un experimento en un ambiente controlado y descubrieron que los hurones y los gatos son altamente susceptibles al SARS-CoV-2, los perros tienen baja susceptibilidad y los cerdos, pollos y patos no son susceptibles al virus. Esta susceptibilidad está relacionada con las características moleculares de la proteína estructural viral S, una glicoproteína de la envoltura que está involucrada en la unión del virus a la célula huésped que puede experimentar recombinación genética y extender el número de hospederos del virus (LI et al., 2016). Además, aunque en su estudio fue posible detectar la transmisión viral entre gatos, una vez que las condiciones no eran naturales, se necesitan más estudios para dilucidar el riesgo de infección de mascotas por humanos, así como el papel de los gatos infectados como fuentes de infección de otras mascotas y humanos.

Los coronavirus poseen el mayor genoma de sentido positivo de una sola cadena de ARN dentro del virus (Su et al., 2016). Las mutaciones genéticas y la recombinación son comunes entre esta familia de virus y generalmente ocurren durante su ciclo de replicación (Su et al., 2016). Aunque el análisis genético mostró que las primeras cepas de SARS-CoV-2 detectadas en China eran casi idénticas (99,9%), sugiriendo que se originaron de una misma fuente, muchas secuencias nuevas del genoma ya se obtuvieron de cepas de diferentes países, y a pesar de la alta identidad genética encontrada entre ellos, se han identificado mutaciones, principalmente en el gen de la proteína estructural S LU et al., 2020b;

ZEHENDER et al., 2020; Castillo et al., 2020). Recientemente, en base a estas diferencias genéticas entre las cepas de SARS-Cov-2, Tang et al. (2020) y la base de datos GISAID (www.gisaid.org/CoV2020) propusieron su clasificación en linajes / subtipos.

La alta tasa de diseminación viral y la presión ambiental pueden contribuir a la mutación del genoma y la aparición de nuevos subtipos de SARS-CoV-2. Hasta el momento, no hay evidencia suficiente para relacionar la mutación específica en el genoma viral con un mayor número de pacientes infectados o muertes (Castillo et al., 2020). Sin embargo, se necesita una vigilancia constante de las mutaciones que surgen.

CONCLUSIÓN

Dada la gravedad de la pandemia de COVID-19, a pesar de todos estos descubrimientos recientes y los avances en los programas de control y profilaxis, muchos problemas relacionados con el origen evolutivo, las características moleculares y antigénicas del SARS-CoV-2 siguen ser aclarados y se necesitan más estudios para una mejor comprensión y adopción de medidas preventivas efectivas.

REFERENCIAS

- BENVENUTO, D.; GIOVANETTI, M.; SALEMI, M.; PROSPERI, M.; FLORA, C.; ALCANTARA, J.C.J.; ANGELETTI, S.; CICCOCCHI, M. The global spread of 2019-nCoV: a molecular evolutionary analysis. **Pathogens and Global Health**, v.114, p.64-67, 2020. <DOI:10.1080/20477724.2020.1725339>.
- CASTILLO, A.E.; PARRA, B.; TAPIA, P.; ACEVEDO, A.; LAGOS, J.; ANDRADE, W.; ARATA, L.; LEAL, G.; BARRA, G.; TAMBLEY, C.; TOGNARELLI, J.; BUSTOS, P.; ULLOA, S.; FASCE, R.; FERNÁNDEZ, J. Phylogenetic analysis of the first four SARS-CoV-2 cases in Chile. **Journal of Medical Virology**, 2020. <DOI:10.1002/jmv.25797>.
- DREXLER, J.F.; CORMAN, V.M.; DROSTEN, C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. **Antiviral Research**, v.101, p.45–56, 2014. <DOI:10.1016/j.antiviral.2020.104902>.
- GUAN, Y.; ZHENG, B.J.; HE, Y.Q.; LIU, X.L.; ZHUANG, Z.X.; CHEUNG, C.L.; LUO, S.W.; LI, P.H.; ZHANG, L.J.; GUAN, Y.J.; BUTT, K.M.; WONG, L.K.; CHAN, K.W.; LIM, W.; SHORTRIDGE, K.F.; YUEN, K.Y.; PEIRIS, J.S.M.; POON, L.L.M. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. **Science**, v.302, p.276–278, 2003. <DOI:10.1126/science.1087139>.
- HAIDER, N.; YAVLINSKY, A.; SIMONS, D.; OSMAN, A.Y.; NTOUMI, F.; ZUMLA, A.; KOCK, R. Passengers' destinations from China: Low risk of Novel Coronavirus (2019-nCoV) transmission into Africa and South America. **Epidemiology and Infection**, v.148, p.e41, 2020. <10.1017/S0950268820000424>.
- JAMES, A. A Tiger at Bronx Zoo Tests Positive for COVID-19. **ABC News**. Disponible em: <https://wpde.com/news/coronavirus/a-tiger-at-bronx-zoo-tests-positive-for-covid-19>. Acesso em: 29 jul. 2020.
- JI, W.; WANG, W.; ZHAO, X.; ZAI, J. LI, X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. **Journal of Medical Virology**, v.92(4), p.433-440, 2020. <DOI:10.1002/jmv.25682>.
- LEROY, E.M.; GOUILH, M.A.; PICOUX, J.B. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and

- domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. **One Health**, v.13;100133, 2020. <DOI: 10.1016/j.onehlt.2020.100133>.
- LI, F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annual Review of Virology*, v.3(1), p.237–261, 2016. <DOI: 10.1146/annurev-virology-110615-042301>.
- LU, H.; STRATTON, C.W.; TANG, Y. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. **Journal of Medical Virology**, v.92, p.401-402, 2020a. <DOI: 10.1002/jmv.25678>.
- LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P.; YANG, B.; WU, H. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding, **Lancet**, v.395 (10224), p.565–574, 2020b. <DOI:10.1016/S0140-6736(20)30251-8>.
- OPAS/OMS. Organização Pan Americana de Saúde/Organização Mundial de Saúde. Folha informativa – **COVID-19 (doença causada pelo novo coronavírus)**. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875>. Acesso em: 27 jul. 2020.
- PERLMAN, S. and NETLAND, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.439–450, 2009. <10.1038/nrmicro2147>.
- PRO/AH/EDR. **COVID-19 update (30): China (Hong Kong), Dog, Suspected, Serology Pending**. Disponível em: <http://promedmail.org/post/20200306.7057595>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- PRO/AH/EDR. **COVID-19 update (56): China (Hong Kong) Animal, Dog, Final Serology Positive**. Disponível em: <http://promedmail.org/post/20200326.7146438>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- PRO/AH/EDR. **COVID-19 update (45): China (Hong Kong) animal, dog, 2nd case PCR Positive**. Disponível em: <http://promedmail.org/post/20200319.7112693>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- PRO/AH/EDR. **COVID-19 update (58): Belgium, Cat, Clinical Case, Request For Information**. Disponível em: <http://promedmail.org/post/20200326.7151215>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- PRO/AH/EDR. **COVID-19 update (70): China (Hong Kong) Cat, Pets And Stock**. Disponível em: <http://promedmail.org/post/20200326.7173286>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- REN, L.L.; Wang, Y.; WU, Z.; XIANG, Z.; GUO, L.; XU, T.; JIANG, Y.; XIONG, Y.; LI, Y.; LI, X.; LI, H.; FAN, G.; GU, X.; XIAO, Y.; GAO, H.; XU, J.; YANG, F.; WANG, X.; WU, C.; CHEN, L.; LIU, Y.; LIU, B.; YANG, J.; WANG, X.; DONG, J.; LI, L.; HUANG, C.; ZHAO, J.; HU, Y.; CHENG, Z.; LIU, L.; QIAN, Z.; QIN, C.; JIN, Q.; CAO, B.; WANG, J. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. **Chinese Medical Journey**, v.133, p.1015-1024, 2020. <DOI:10.1097/CM9.0000000000000722>.
- REUSKEN, C.B.; HAAGMANS, B.L.; MULLER, M.A.; GUTIERREZ, C.; GODEKE, G.J.; MEYER, B.; MUTH, D.; RAJ, V.S.; VRIES, L.S.; CORMAN, V.M.; DREXLER, J.F.; SMITS, S.L.; TAHIR, Y.E.E.; SOUSA, R.; BEEK, J.; NOWOTNY, N.; MAANEN, K.; HERMOSO, E.H.; BOSCH, B.J.; ROTTIER, P.; OSTERHAUS, A.; SCHMIDT, C.G.; DROSTEN, C.; KOOPMANS, M.P.G. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralizing serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. **Lancet Infectious Disease**, v.13, p.859–866, 2013. <DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70164-6>.

- SHI, J.; WEN, Z.; ZHONG, G.; YANG, H.; WANG, C.; HUANG, B.; LIU, R.; HE, X.; SHUAI, L.; SUN, Z.; ZHAO, Y.; LIU, P.; LIANG, L.; CUI, P.; WANG, J.; ZHANG, X.; GUAN, Y.; TAN, W.; WU, G.; CHEN, H.; BU, Z. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus2. **Science**, v.368, p.1016-1020, 2020. <DOI: [10.1126/science.abb7015](https://doi.org/10.1126/science.abb7015)>.
- SU, S.; WONG, G.; SHI, W.; LIU, J.; LAI, A.C.K.; ZHOU, J.; LIU, W.; BI, Y.; GAO, G.F. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. **Trends in Microbiology**, v.24, p.490-502, 2016. <DOI: [10.1016/j.tim.2016.03.003](https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003)>.
- TANG, X.; WU, C.; LI, X.; SONG, Y.; YAO, X.; WU, X.; DUAN, Y.; ZHANG, H.; WANG, Y.; QIAN, Z.; CUI, J.; LU, J. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. **Microbiology**, v.7, p.1012-1023, 2020. <DOI: [10.1093/nsr/nwaa036](https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036)>.
- WANG, L.F.; SHI, Z.; ZHANG, S.; FIELD, H.; DASZAK, P.; EATON, B.T. Review of bats and SARS. **Emerging Infectious Disease**, v.12, p.1834-1840, 2006. <DOI: [10.3201/eid1212.060401](https://doi.org/10.3201/eid1212.060401)>.
- WHOa. World Health Organization. **Summary of probably SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003**. Disponível em: https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/. Acesso em: 31 jul. 2020.
- WHOb. World Health Organization. Coronavirus infections: disease outbreak news. Disponível em: <http://www.who.int/csr/don/26-april-2016-mers-saudi-arabia/en/>. Acesso em: 31 jul. 2020.
- WONG, A.C.P.; LI, X.; LAU, S.K.P.; WOO, P.C.Y. Global epidemiology of bat coronaviruses. **Viruses** v.11, pii: E174, 2019. <DOI:10.3390/v11020174>.
- WOO, P.C.; LAU, S.K.; HUANG, Y.; YUEN, K.Y. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. **Experimental biology and medicine (Maywood)**, v.234, p.1117-1127, 2009. <DOI:10.3181/0903-MR-94>.
- ZAKI, A.M.; VAN BOHEEMEN, S.; BESTEBROER, T.M.; OSTERHAUS, A.D.; FOUCHIER, R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. **The New England Journal of Medicine**, v.367, p.1814-1820, 2012. <DOI: [10.1056/NEJMoa1211721](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721)>.
- ZEHENDER, G.; LAI, A.; BERGNA, A.; MERONI, L.; RIVA, A.; BALOTTA, C.; TARKOWSKI, M.; GABRIELI, A.; BERNACCHIA, D.; RUSCONI, S.; RIZZARDINI, G.; ANTINORI, S.; GALLI, M. Genomic characterization and phylogenetic analysis of SARS-COV-2 in Italy. **Journal of Medical Virology**, 2020. <DOI: [10.1002/jmv.25794](https://doi.org/10.1002/jmv.25794)>.
- ZHONG, N.S.; ZHENG, B.J.; LI, Y.M.; POON; XIE, Z.H.; CHAN, K.H.; LI, P.H.; TAN, S.Y.; CHANG, Q.; XIE, J.P.; LIU, X.Q.; XU, J.; LI, D.X.; YUEN, K.Y.; PEIRIS, GUAN, Y. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. **Lancet**, v.362, p.1353-1358, 2003. <DOI: [10.1016/s0140-6736\(03\)14630-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)14630-2)>.