

# COVID-19, ¿una nueva enfermedad inesperada?

David Escors<sup>8</sup>

Navarrabiomed-Fundación Miguel Servet.  
Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdISNA). Pamplona. Navarra. España

**Correspondencia:** David Escors [[descorsm@navarra.es](mailto:descorsm@navarra.es)]

## Resumen

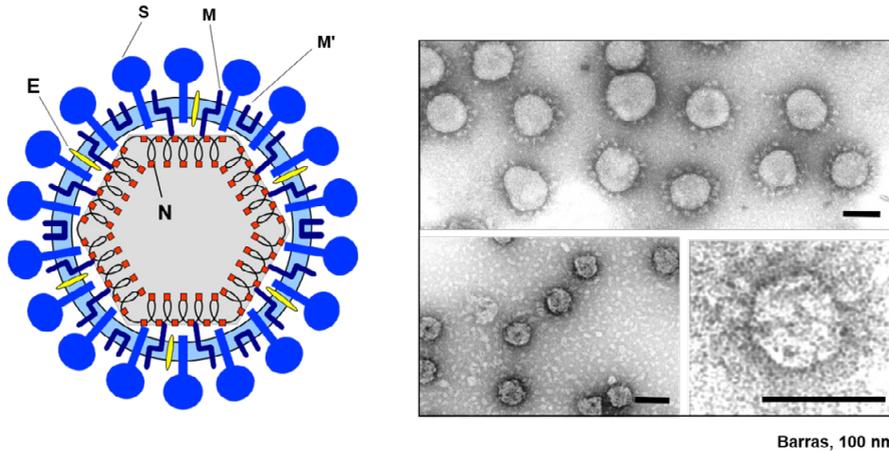
A finales del año 2019 se declaró un brote de neumonía atípica causado por el coronavirus SARS-CoV-2 en China. La epidemia se extendió por todo el mundo con mucha celeridad, sin que las medidas aplicadas por los distintos países para contenerla pudieran evitarlo. A principios del año 2020 la Organización Mundial de la Salud declaró oficialmente la pandemia, que causó la paralización de toda actividad social y económica a nivel planetario. Esta situación no tiene precedentes cercanos, pero al menos muchos virólogos sabían de antemano que podría suceder. En este comentario tratamos la pandemia de COVID-19 desde un punto de vista histórico, dado que tenemos que buscar su origen no en 2019, sino en el año 2003 con la aparición del primer brote de SARS.

**Palabras clave.** Coronavirus. SARS. MERS. Neumonía atípica. Zoonosis.

## INTRODUCCIÓN

Érase una vez entre los años 1997 y 2002 un estudiante de doctorado en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB) en Madrid, que pertenecía al grupo de investigación en coronavirus del profesor Luis Enjuanes. Su tesis doctoral trataba sobre el estudio de la estructura de los coronavirus, una familia de virus de vertebrados muy importante... al menos para los veterinarios. De hecho, los coronavirus causaban algo menos del 30% de los resfriados comunes. Cada vez que le preguntaban al estudiante de doctorado sobre el tema de su tesis, respondía... “estructura de coronavirus”<sup>1,2</sup> (Fig. 1), y esperaba resignado la cara de estupefacción del interesado cuando decía... *corona...* ¿QUÉ?

Seguramente el lector habrá adivinado que el estudiante de doctorado era yo mismo, y estará muy sorprendido de que los coronavirus hace poco más de 20 años fueran totalmente desconocidos para la población general, con excepción de los veterinarios y los coronavirólogos<sup>3</sup>. De hecho, el coronavirus de la hepatitis murina del ratón, MHV (*mouse hepatitis virus*), era y es uno de los azotes más temidos en los animalarios de los centros de investigación. Los coronavirus caninos y felinos se encuentran entre los agentes más importantes causantes de gastroenteritis en perros y gatos.



**Figura 1.** Estructura y composición de un coronavirus. A la izquierda, se muestra el esquema de la estructura del coronavirus de la gastroenteritis porcina transmisible (VGPT, o *transmissible gastroenteritis virus*, TGEV en inglés). Las partículas de coronavirus presentan una envuelta lipídica en la que se insertan los peplómeros o espículas del virus, compuestos por trímeros de proteína S (S). Estos peplómeros aparecen como una *corona* de espículas en preparaciones de microscopía electrónica (derecha, fotografía superior), lo que da nombre a la familia (*Coronaviridae*). La envuelta del virus contiene dos proteínas estructurales adicionales, la proteína de la membrana (M), que en algunos coronavirus aparece en dos formas (M y M'), y la proteína de la envuelta (E). El virión contiene una molécula de ácido ribonucleico (ARN) genómico de cadena simple y polaridad positiva (+ ssRNA) de aproximadamente 30000 nucleótidos, asociado a la proteína de la nucleocápsida (N). El ARN unido a la proteína N forma una nucleocápsida helicoidal que se empaqueta dentro del virión en una estructura pseudoesférica (cápsida interna o *core* en inglés). Esta estructura se une específicamente a la proteína M confiriendo estabilidad al virión. Las fotografías de la derecha muestran preparaciones de viriones purificados (superior), de cápsidas internas purificadas (inferior izquierda) y el detalle de una cápsida interna en el que se aprecia la estructura de hebra de la nucleoproteína del virus (inferior derecha). *Imagen procedente de la memoria de tesis doctoral del autor.*

Sin embargo, hasta el año 2003 las enfermedades humanas causadas por los coronavirus se restringían a resfriados comunes y a algunas gastroenteritis. Entre estos virus nos encontramos a los coronavirus humanos HCoV OC43 y HCoV 229E, cuyas infecciones tienen cierto grado de importancia en niños pequeños, personas mayores con otras enfermedades y en personas inmunosuprimidas. Pero en la práctica clínica, nadie se molestaba en identificar el patógeno como un coronavirus. Se trataban los síntomas con antipiréticos e hidratación, sin darle mayor importancia.

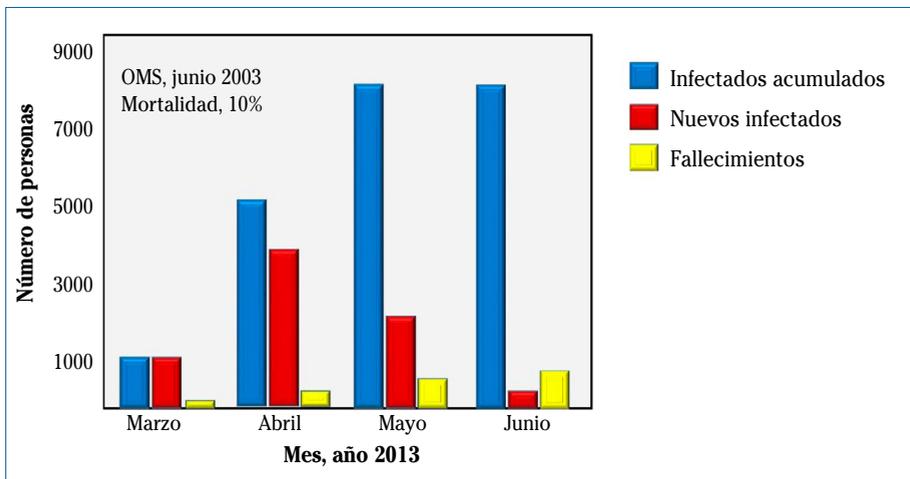
Así que, básicamente, 20 años atrás trabajábamos con una familia de virus de poca importancia en salud humana, pero muy importantes desde el punto de vista científico, al menos para los integrantes del laboratorio 114 del CNB.

## MARZO DE 2003

El mundo de los coronavirus cambió de forma radical en tres etapas distintas<sup>4</sup>. La primera comenzó en marzo del año 2003, hace casi 20 años. La segunda, en 2012 con el virus causante del síndrome respiratorio agudo del Medio Oriente (*Middle East respiratory coronavirus*, o MERS). La tercera, en 2019.

A comienzos del año 2003, el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta (CDC), Estados Unidos, y la Organización Mundial de la Salud (OMS) dieron la voz de alarma sobre un brote de neumonía atípica en China<sup>5</sup>. Esta neumonía atípica fue bautizada como *síndrome respiratorio agudo y severo* o SARS (*severe acute respiratory syndrome*) por el Dr Carlo Urbani, uno de los primeros médicos en luchar contra la propagación de la enfermedad<sup>6</sup>. El Dr Urbani falleció de SARS el 29 de marzo de 2003, pero su actuación hizo posible una rápida respuesta de la OMS para frenar la propagación de la enfermedad. SARS era una enfermedad nueva y desconocida; durante los primeros meses de ese año la prioridad absoluta estuvo centrada en la identificación del patógeno. Hasta que se frenó el brote alrededor de junio-julio de 2003, el agente causante de SARS había infectado a cerca de 9.000 personas, sobre todo en China, Canadá y Estados Unidos (Fig. 2), y causó unos 900 fallecimientos (10% de mortalidad).

Quizás debería recordar al lector, sobre todo si es relativamente joven, que la identificación de patógenos hace 20 años distaba mucho de los pro-



**Figura 2.** Datos de infectados acumulados, nuevos infectados y fallecimientos causados por SARS-CoV-1 de marzo a junio de 2003. El brote se logró controlar en junio/julio, cuando los nuevos casos se redujeron a menos de 500.

cedimientos utilizados hoy en día. No existía la secuenciación de nueva generación (NGS), por ejemplo; mientras que hoy en día es normal secuenciar el genoma completo de cientos de aislados de enfermos en muy poco tiempo, en aquella época la búsqueda del patógeno responsable se basaba en procedimientos más *rudimentarios* (llamémosles “clásicos”). Por ejemplo, se probaron distintos antibióticos en los pacientes, sin efectos, lo que descartó la implicación de bacterias convencionales. El siguiente paso fue analizar las muestras derivadas de los pacientes directamente por microscopía y tras añadirlas a cultivos con células de distinta naturaleza. Este último procedimiento era rutinario para aislar patógenos virales y bacterianos que precisaran infectar células para crecer. Las primeras informaciones que tuvimos de estas pruebas restringieron los culpables básicamente a tres: paramixovirus, clamidias, y sorprendentemente, coronavirus. Tengo que confesar que, hace 20 años, ninguno de los integrantes de nuestro grupo se creía que los coronavirus fueran realmente los responsables. De hecho, las apuestas favorecían a los paramixovirus, una familia de virus que engloba a muchos patógenos respiratorios humanos. Simplemente, la experiencia que teníamos sobre los coronavirus humanos conocidos hasta la fecha nos hacía reticentes a pensar que un coronavirus fuera el agente causal de SARS.

Fue entonces cuando se confirmó que el patógeno era de hecho un coronavirus que no se había descrito previamente<sup>7-9</sup>. Únicamente los coronavirus se aislaron de forma sistemática en las muestras procedentes de pacientes. A continuación, se procedió a secuenciar el genoma del virus, tarea nada fácil en 2003: algo que hoy en día se puede hacer en unas horas, costó aproximadamente entre uno y dos meses, lo que para la ciencia *de la época* supuso un auténtico hito técnico. Finalmente, el grupo de nuestro colaborador Albert Osterhaus, demostró formalmente la asociación del nuevo coronavirus SARS-CoV aplicando los postulados de Koch<sup>10</sup>: 1) el virus se aislaba siempre de enfermos en laboratorios independientes; 2) el virus podía crearse a partir de las muestras de los enfermos en cultivos celulares; 3) el virus crecido en cultivos celulares reproducía la enfermedad en macacos; y 4) las personas enfermas generaban una respuesta inmunitaria específica frente a estos coronavirus, en forma de anticuerpos y linfocitos T.

## LA REVOLUCIÓN EN LA CORONAVIROLOGÍA

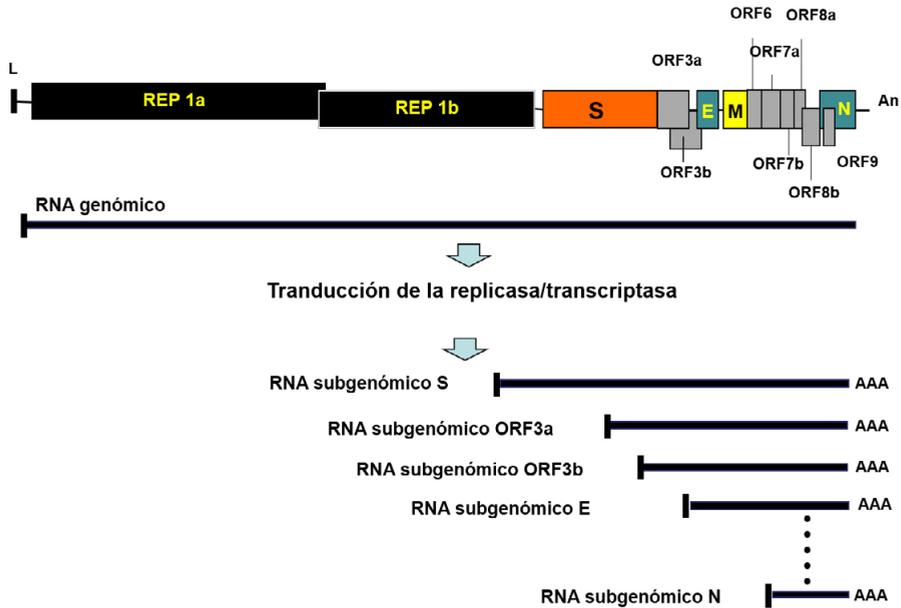
Me acuerdo como si fuera ayer de nuestra sorpresa cuando se confirmó que el causante de SARS era definitivamente un nuevo coronavirus. También recuerdo cómo analizábamos su genoma en nuestros ordenadores,

comparándolo con el genoma de los coronavirus conocidos. Fue entonces cuando Luis Enjuanes se propuso como objetivo prioritario la generación de un clon replicativo del virus en forma de ácido desoxiribonucleico (ADN) para poder estudiarlo y generar una vacuna recombinante<sup>11</sup> (Fig. 3). Era casi un deber para nuestro grupo, ya que mis compañeros de laboratorio habían sido los primeros en generar un clon infectivo de ADN de un coronavirus<sup>12</sup>. Especialmente, me gustaría mencionar a los doctores José Manuel González y Fernando Almazán, quienes hicieron posible semejante hito técnico y científico. Y no es una exageración, porque al comienzo del segundo milenio se pensaba que era técnicamente imposible, tal y como lo reflejó el Dr. Michael Lai en su comentario en PNAS<sup>13</sup>.

Por lo tanto, enseguida intentamos conseguir una muestra de SARS-CoV-1 de nuestros colaboradores en China, pero su traslado desde China a España implicaba grandes problemas logísticos. Hay que recordar que en España no tuvimos enfermos de SARS; hubo un caso sospechoso en Bilbao que resultó ser finalmente una gripe común. Así que pedimos una muestra de ácido ribonucleico (ARN) purificado de células infectadas con SARS que proporcionaba el CDC a los investigadores, y a partir de esta muestra reconstruimos el genoma del virus al completo<sup>12,14</sup>. Fue durante este tiempo que dejé el laboratorio de Luis Enjuanes para continuar mi carrera científica por otros derroteros en *University College London*, Inglaterra, desarrollando tratamientos de terapia génica. De todos modos, el grupo de Luis Enjuanes se convirtió en uno de los mejores del mundo tanto en el estudio de la biología del SARS como en la generación de vacunas recombinantes a partir del clon replicativo de ADN<sup>15,16</sup>. De hecho, siguen utilizando la misma tecnología para la obtención de una vacuna contra el coronavirus causante de la COVID-19 y sus variantes<sup>17</sup>.

Las claves para entender las bases de la patogenicidad y transmisión de los virus se encuentran en el genoma (Fig. 3).

Todo el mundo se preguntaba, ¿por qué este coronavirus es tan patógeno? En nuestra experiencia, lo que caracterizaba a esta familia de virus era su poca patogenicidad en el ser humano. El estudio del genoma y su comparación con aislados de coronavirus en varias especies de animales silvestres en la zona del brote nos dio la clave. El coronavirus SARS saltó desde las civetas al ser humano, dado que los aislados obtenidos en estos animales eran prácticamente idénticos a los de los pacientes<sup>9,18,19</sup>. Más tarde se demostró su origen en poblaciones de murciélagos presentes en las zonas rurales cercanas al brote<sup>20</sup>. Por lo tanto, del murciélago pasó a la civeta, donde sufrió un proceso de adaptación, es decir, ciertos cambios en el genoma para poder crecer bien en las civetas. Estos cambios también confirieron a este coronavirus la capacidad de infectar seres humanos, y



**Figura 3.** Esquema de la organización genómica del coronavirus SARS y transcripción de ARN subgenómicos. Los genes replicasa (REP 1a, REP 1b) codifican las proteínas necesarias para la replicación y transcripción del ARN viral. Hay genes estructurales S, E, M y N. Los genes no estructurales (ORFs, *open reading frames*) confieren patogenicidad al virus. L: secuencia líder del ARN genómico; An: secuencia de poliadeninas. Bajo el esquema del genoma del virus se muestran los distintos ARN subgenómicos; todos funcionan como ARN mensajero para el gen situado más a la izquierda.

mediante otro pequeño proceso de adaptación pudo transmitirse eficazmente de persona a persona. Como suele suceder en brotes de virus procedentes de zoonosis, los virus originalmente poseen una gran patogenicidad y baja transmisibilidad. En el caso del coronavirus SARS, la patogenicidad venía dada por la presencia de varios genes (Fig. 3) que contrarrestaban las respuestas del sistema inmunitario, o afectaban a su replicación<sup>15,21</sup>.

Lo que más recuerdo es cómo, de un día para otro, los coronavirus se convirtieron en *estrellas mediáticas* y los virólogos que trabajábamos en esta familia de virus nos hicimos famosos. Por supuesto, famosos tipo *científicos entrevistados en cinco minutos en un telediario*, y no famosos tipo *futbolistas*. Durante los primeros meses después del brote en China, los gobiernos y las autoridades sanitarias realizaron un esfuerzo titánico para controlarlo y eliminarlo. China aplicó las estrategias que seguramente el lector conoce a la perfección y que funcionaron en el año 2003 (como se aprecia en la figura 2) pero que no fueron suficientes frente al brote de virus SARS-CoV-2 en 2019.

Estos esfuerzos realizados en 2003 pasaron desapercibidos para la mayoría del público general, y nadie supo lo cerca que estuvimos de una pandemia en dicho año causada por SARS-CoV-1, similar a la que sufrimos en 2019.

### TRAS EL SARS DE 2003

Durante los cuatro primeros años que siguieron al brote de 2003, se incrementó la inversión por parte de los organismos públicos y las empresas en la generación de vacunas contra coronavirus, especialmente SARS. Pero tan rápido como vino el interés, tras cinco años se desvaneció. Y fue entonces cuando apareció otro coronavirus (MERS) con un gran potencial pandémico<sup>22</sup>. Pero a pesar de este segundo aviso, los coronavirus pasaron a ser considerados patógenos potenciales sin gran interés en salud humana.

A finales de 2019, China alertó sobre el nuevo brote de SARS causado por un agente similar al virus de 2003<sup>23</sup>. A este virus se le denominó por tanto SARS-CoV-2. El resto, como ustedes bien saben, es historia conocida.

### UNA GENERACIÓN MÁS TARDE

Han pasado casi 20 años desde ese primer brote de SARS y, por lo tanto, un reemplazo generacional. Para muchos lectores, el brote de SARS de 2003 es algo lejano, ¿si acaso conocido! El reemplazo generacional suele traer consigo también un conveniente y terapéutico olvido. Así que no es de extrañar que, para la mayoría de las personas, el brote de SARS-CoV-2 que generó la pandemia de COVID-19 fue algo nuevo, difícil de entender y que vino de *la nada* (o del espacio exterior, dependiendo del programa de televisión que tratara este tema). Pero como soy consciente de que la memoria es débil, recuerdo a los lectores que un impacto social similar ya lo vivimos en un pasado reciente, durante las pandemias de VIH-1, VIH-2, gripes varias y SARS-CoV-1, por poner unos ejemplos<sup>24-28</sup>. Pero para mí lo sorprendente fue que el nuevo brote de SARS no hubiera pasado antes. De hecho, en el año 2003 la posición del Gobierno de España fue la de asumir brotes anuales de SARS. Pero esto no ocurrió, y quizás fue lo que propició que el brote de 2019 fuera incontrolable. Nadie se lo esperaba, ni siquiera las autoridades chinas que se vieron desbordadas. De hecho, algunos científicos sí se lo esperaban, tal y como lo indicó la Sociedad Asiática de Neumología en junio de 2019 en su artículo de opinión<sup>29</sup>. También es cierto que la atención entre los epidemiólogos había pasado del SARS al MERS, otro coronavirus presente en Oriente Medio<sup>22</sup> que infecta a los seres humanos

a partir de camellos portadores de la enfermedad<sup>30</sup>. También en este caso se sospecha que su reservorio natural son los murciélagos debido a que sus coronavirus presentan una secuencia genómica muy parecida a los del MERS. De hecho, los brotes asociados al coronavirus MERS han causado casi mil muertos desde 2012 hasta la fecha.

Así que no es de extrañar que nadie se esperase un brote tan repentino de SARS. Porque no nos engañemos, SARS-CoV-2 es la *nueva versión* del coronavirus SARS-CoV-1 que ya intentó su propagación pandémica en 2003. De hecho, SARS-CoV-2 es menos virulento que SARS-CoV-1, lo que ha propiciado una propagación más silenciosa y eficiente. Para cuando quisimos darnos cuenta, el virus estaba fuera de control en la especie humana. Ya era tarde. Cuando las autoridades chinas comenzaron sus políticas de control, el virus ya se había propagado a otros países del mundo. Lamentablemente, en esos momentos, ya no se podía erradicar.

## LAS PANDEMIAS Y SUS CAUSAS

La gran mayoría de las pandemias ocasionadas por virus son zoonosis<sup>31</sup>. Es decir, son virus presentes en poblaciones animales que están en contacto con el ser humano y, si tienen la oportunidad y la capacidad, saltan la barrera de especie y nos infectan. La mayoría de las veces no suelen dar infecciones productivas. En otras ocasiones las enfermedades son tan severas que causan una muerte rápida, como el virus Ébola, evitando, como consecuencia, una propagación rápida del virus a otras personas. Pero en algunas ocasiones no causan infecciones tan severas y se mantienen ocultos durante un tiempo de incubación. Durante este tiempo, la persona infectada puede ir propagando inadvertidamente el virus a sus contactos más cercanos.

Hagamos un ejercicio breve de repaso rápido de los orígenes de las pandemias virales más importantes en la historia, al menos de las que tenemos datos. Se sospecha que la viruela apareció en los orígenes de la ganadería, posiblemente pasando desde los bóvidos a los seres humanos. Los retrovirus causantes del síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA, *acquired immunodeficiency syndrome* o *AIDS*) provinieron del virus de inmunodeficiencia en simios<sup>32</sup>. VIH-1 pasó del chimpancé al ser humano<sup>33</sup>, y el VIH-2 procedió de los monos mangabey grises a través de algún evento puntual que se propagó rápidamente a la población humana<sup>34</sup>. El coronavirus OC43 que causa resfriados comunes fue originalmente un virus vacuno; se sospecha que pasó al ser humano alrededor del año 1889 coincidiendo con la declaración de una pandemia llamada *la gripe rusa*, con sintomato-

logía parecida a la enfermedad COVID-19. Este hecho hace pensar que el coronavirus HCoV-OC43 fuera el agente causal de la gripe rusa, que tras un proceso de adaptación al ser humano acabó atenuándose<sup>35,36</sup>. Este efecto de adaptación y atenuación lo estamos reviviendo con la COVID-19, por supuesto acelerado por los programas de vacunación masiva. Varias cepas de coronavirus relacionados con SARS y MERS están presentes en múltiples especies de murciélagos en varios continentes<sup>20</sup>. De los murciélagos suelen pasar a otros hospedadores animales. En el brote de 2003, el virus SARS pasó a las civetas, donde se adaptó y mutó de tal manera que su salto al ser humano fue más sencillo<sup>18,19</sup>. Las civetas son animales que se venden en los mercados de Asia de forma rutinaria, como mascotas y también para su consumo. Teniendo en cuenta el enorme volumen de tráfico ilegal con animales silvestres desde Asia hacia otros países asiáticos y europeos, no es de extrañar que surjan brotes de origen zoonótico cada vez con mayor frecuencia<sup>37,38</sup>. Asimismo, la creciente invasión de hábitats naturales por poblaciones humanas hace que los contactos entre nuevos patógenos y los seres humanos sean cada vez más frecuentes.

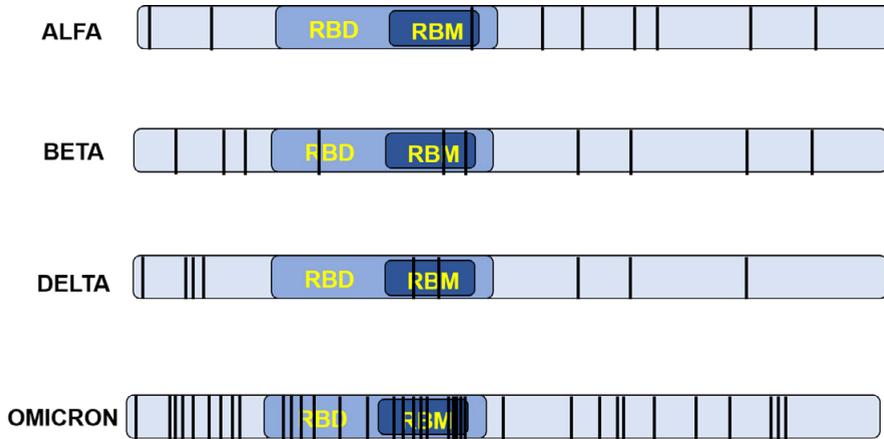
## LAS CONSECUENCIAS DE LA PANDEMIA

En primer lugar, las incontables vidas perdidas. ¿Alguien tiene la culpa del brote de 2019? Realmente no, el olvido es una característica humana, y, lamentablemente, eso sucedió después del brote de 2003. De hecho y desde una perspectiva histórica, las pandemias son muy frecuentes en las poblaciones humanas. Seguramente muchos de los lectores no recuerdan los tiempos duros del SIDA, con millones de muertes mundiales, sin cura, sin esperanza, hasta que entre los años 1992 y 1993 se introdujeron los tratamientos con anti-retrovirales varios que lo han hecho relativamente crónico. Tener SIDA era una sentencia de muerte, y los enfermos de SIDA sufrían en muchos casos discriminación social. Hoy en día eso se ha olvidado. Ahora es la COVID-19, mañana no sabemos qué puede ser.

Sin embargo, hay una consecuencia de la presente pandemia de COVID-19 que no ha tenido precedentes, los ingentes esfuerzos económicos para frenarla. La paralización de la actividad mundial. El miedo social al virus, que ha condicionado (y condiciona) la vida de millones de personas. Por primera vez en la historia, una pandemia ha logrado paralizar toda la actividad mundial, como si de una novela de Stephen King se tratara.

Pero, según mi opinión, todavía no hemos aprendido la lección. El virus se ha controlado por una combinación de vacunación masiva en la población, pero también por la adaptación natural del virus al ser humano.

Pongamos por ejemplo el caso de la variante ómicron. Si analizamos la secuencia de la proteína de la espícula (proteína S) de las distintas variantes, vemos que los cambios son masivos en la variante ómicron (Fig. 4). Esta acumulación tan alta de cambios hace pensar que surgió en una población que estaba ya vacunada, o en personas que habían pasado previamente la enfermedad. Esta variante y sus derivadas se caracterizan por una gran transmisibilidad, pero con una disminución importante en virulencia y patogénesis. Pero no se confundan, esto es relativamente bueno. SARS-CoV-2 no se va a marchar, se va a convertir en un virus endémico de la población humana como ya lo son los coronavirus humanos HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-HKU1 y HCoV-NL63. Pierden virulencia, y acaban ocasionando enfermedades respiratorias de poca importancia, con la excepción de las poblaciones más vulnerables.



**Figura 4.** Mutaciones puntuales con cambios de aminoácidos en la proteína S de las variantes más comunes de SARS-CoV-2. La figura muestra esquemáticamente las moléculas de proteína S de SARS-CoV-2 de las cepas indicadas. Las rayas verticales muestran las posiciones con mutaciones que ocasionan cambios de aminoácidos, en comparación con la secuencia estándar de la variante original SARS-CoV-2 Wuhan. Los dominios de unión al receptor (RBD) y el motivo de unión al receptor (RBM) se indican dentro de las moléculas de proteína S.

## CONCLUSIÓN

La INVESTIGACIÓN en mayúsculas no falla. Las tecnologías para nuevas y mejores vacunas existen desde hace muchos años. Conocemos muy bien el sistema inmunitario humano. Hemos aprendido mucho sobre cómo actuar, qué logística es necesaria. Ahora es necesario implementar estas estrategias a largo plazo, para que sean permanentes.

Creo que no podemos *pasar página* como sucedió entre los años 2003 y 2005. No podemos olvidar que, aunque la COVID-19 se haya atenuado, esta enfermedad es solo una más de las que acabarán saltando a la humanidad. Las apuestas están por un coronavirus tipo MERS, pero podemos sorprendernos y enfrentarnos a algún virus todavía desconocido.

---

### *Agradecimientos*

Agradecemos al Instituto de Salud Carlos III por la financiación concedida al grupo de OncolInmunología para el desarrollo de nuevas vacunas contra SARS-CoV-2 (COV20/00000), y al programa de proyectos de investigación e innovación de la Unión Europea, Horizon 2020, por la financiación para el desarrollo de nuevas vacunas contra agentes infecciosos (proyecto ISOLDA, acuerdo de financiación No 848166).

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. ESCORS D, CAMAFEITA E, ORTEGO J, LAUDE H, ENJUANES L. Organization of two transmissible gastroenteritis coronavirus membrane protein topologies within the virion and core. *J Virol* 2001; 75: 1228-12240. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.24.12228-12240.2001>
2. ESCORS D, ORTEGO J, LAUDE H, ENJUANES L. The membrane M protein carboxy terminus binds to transmissible gastroenteritis coronavirus core and contributes to core stability. *J Virol* 2001; 75: 1312-1324. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.3.1312-1324.2001>
3. ENJUANES L, SOLA I, ALMAZAN F, ORTEGO J, IZETA A, GONZALEZ JM et al. Coronavirus derived expression systems. *J Biotechnol* 2001; 88: 183-204. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00281-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00281-4)
4. DHAMA K, KHAN S, TIWARI R, SIRCAR S, BHAT S, MALIK YS et al. Coronavirus disease 2019-COVID-19. *Clin Microbiol Rev* 2020; 33. <https://doi.org/10.1128/CMR.00028-20>
5. HOLMES KV, ENJUANES L. *Virology*. The SARS coronavirus: a postgenomic era. *Science* 2003; 300: 1377-1378. <https://doi.org/10.1126/science.1086418>
6. REILLEY B, VAN HERP M, SERMAND D, DENTICO N. SARS and Carlo Urbani. *N Engl J Med* 2003; 348: 1951-1952. <http://doi.org/10.1056/NEJMp030080>
7. KSIAZEK TG, ERDMAN D, GOLDSMITH CS, ZAKI SR, PERET T, EMERY S et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348: 1953-1966. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030781>
8. ROTA PA, OBERSTE MS, MONROE SS, NIX WA, CAMPAGNOLI R, ICENOGLE JP et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003; 300: 1394-1399. <https://doi.org/10.1126/science.1085952>

9. ESCORS D, ENJUANES L. Las enfermedades infecciosas virales emergentes: el coronavirus del síndrome respiratorio agudo y severo. *Historia Natural* 2003; 1: 48-52.
10. FOUCHIER R, KUIKEN T, SCHUTTEN M, VAN AMERONGEN G, VAN DOORNUM GJJ, VAN DEN HOOGEN BG et al. Aetiology: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature* 2003; 423: 240. <https://doi.org/10.1038/423240a>
11. RUAN YJ, WEI CL, EE AL, VEGA VB, THOREAU H, SU STY et al. Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet* 2003; 361: 1779-1785. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13414-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13414-9)
12. ALMAZÁN F, GONZÁLEZ JM, PÉNZES Z, IZETA A, CALVO E, PLANA-DURÁN J et al. Engineering the largest RNA virus genome as an infectious bacterial artificial chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 5516-5521. <http://doi.org/10.1073/pnas.97.10.5516>
13. LAI M. The making of infectious viral RNA: No size limit in sight. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 5025-5027. <http://doi.org/10.1073/pnas.97.10.5025>
14. ALMAZÁN F, DEDIEGO ML, GALÁN C, ESCORS D, ALVAREZ E, ORTEGO J et al. Construction of a severe acute respiratory syndrome coronavirus infectious cDNA clone and a replicon to study coronavirus RNA synthesis. *J Virol* 2006; 80: 10900-10906. <https://doi.org/10.1128/JVI.00385-06>
15. CASTAÑO-RODRIGUEZ C, HONRUBIA JM, GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ J, DE DIEGO ML, NIETO-TORRES JL, JIMENEZ-GUARDEÑO JM et al. Role of severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporins E, 3a, and 8a in replication and pathogenesis. *MBio* 2018; 9. <https://doi.org/10.1128/mBio.02325-17>
16. GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ J, HONRUBIA JM, FERNÁNDEZ-DELGADO R, WANG L, CASTAÑO-RODRÍGUEZ C, ZÚÑIGA S et al. Genetically engineered live-attenuated Middle East respiratory syndrome Coronavirus viruses confer full protection against lethal infection. *MBio* 2021; 12. <https://doi.org/10.1128/mBio.00103-21>
17. MALICOAT J, MANIVASAGAM S, ZUÑIGA S, SOLA I, MCCABE D, RONG L et al. Development of a single-cycle infectious SARS-CoV-2 virus replicon particle system for use in biosafety level 2 laboratories. *J Virol* 2022; 96: e0183721. <https://doi.org/10.1128/JVI.01837-21>
18. TU C, CRAMERI G, KONG X, CHEN J, SUN Y, YU M et al. Antibodies to SARS coronavirus in civets. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 2244-2248. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040520>
19. SONG HD, TU CC, ZHANG GW, WANG SY, ZHENG K, LEI LC et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 2430-2435. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409608102>
20. LI W, SHI Z, YU M, REN W, SMITH C, EPSTEIN JH et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science* 2005; 310: 676-679. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
21. DEDIEGO ML, PEWE L, ALVAREZ E, REJAS MT, PERLMAN S, ENJUANES L. Pathogenicity of severe acute respiratory coronavirus deletion mutants in hACE-2 transgenic mice. *Virology* 2008; 376: 379-389. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2008.03.005>

22. DE GROOT RJ, BAKER SC, BARIC RS, BROWN CS, DROSTEN C, ENJUANES L et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the Coronavirus Study Group. *J Virol* 2013; 87: 7790-7792. <http://doi.org/10.1128/JVI.01244-13>
23. LI Q, GUAN X, WU P, WANG X, ZHOU L, TONG Y et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel Coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med* 2020; 382: 1199-1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
24. DURACK DT. Opportunistic infections and Kaposi's sarcoma in homosexual men. *N Engl J Med* 1981; 305: 1465-1467. <https://doi.org/10.1056/NEJM198112103052408>
25. ARRÉ-SINOUSI F, CHERMANN JC, REY F, NUGEYRE MT, CHAMARET S, GRUEST J et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220: 868-871. <http://doi.org/10.1126/science.6189183>
26. CLAVEL F, GUÉTARD D, BRUN-VÉZINET F, CHAMARET S, REY MA, SANTOS-FERREIRA MO et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986; 233: 343-346. <http://doi.org/10.1126/science.2425430>
27. CLAVEL F, MANSINHO K, CHAMARET S, GUETARD D, FAVIER V, NINA J et al. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with AIDS in West Africa. *N Engl J Med* 1987; 316: 1180-1185. <http://doi.org/10.1056/NEJM198705073161903>
28. POPOVIC M, SARNGADHARAN MG, READ E, GALLO RC. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984; 224: 497-500. <http://doi.org/10.1126/science.6200935>
29. PARK S, PARK JY, SONG Y, HOW SH, JUNG K-S. Respiratory Infections Assembly of the APSR. Emerging respiratory infections threatening public health in the Asia-Pacific region: A position paper of the Asian Pacific Society of Respiriology. *Respirology* 2019; 24: 590-597. <https://doi.org/10.1111/resp.13558>
30. HAAGMANS BL, AL DHAHIRY SHS, REUSKEN CBEM, RAJ VS, GALIANO M, MYERS R et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: an outbreak investigation. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 140-145. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70690-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70690-X)
31. ENJUANES L, SOLA I, ZÚÑIGA S, HONRUBIA JM, BELLO-PÉREZ M, SANZ-BRAVO A et al. Nature of viruses and pandemics. *Coronaviruses. Curr Res Immunol* 2022; 3: 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.crimmu.2022.08.003>
32. CHAKRABARTI L, GUYADER M, ALIZON M, DANIEL MD, DESROSIERS RC, TIOLLAIS P et al. Sequence of simian immunodeficiency virus from macaque and its relationship to other human and simian retroviruses. *Nature* 1987; 328: 543-547. <https://doi.org/10.1038/328543a0>
33. GAO F, BAILES E, ROBERTSON DL, CHEN Y, RODENBURG CM, MICHAEL SF et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* 1999; 397: 436-441. <http://doi.org/10.1038/17130>
34. CHEN Z, LUCKAY A, SODORA DL, TELFER P, REED P, GETTIE A et al. Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) seroprevalence and characterization of a distinct HIV-2 genetic subtype from the natural range of simian immunodeficiency virus-infected sooty mangabeys. *J Virol* 1997; 71: 3953-3960. <http://doi.org/10.1128/JVI.71.5.3953-3960.1997>

35. ERKOREKA A, HERNANDO-PÉREZ J, AYLON J. Coronavirus as the possible causative agent of the 1889-1894 pandemic. *Infect Dis Rep* 2022; 14: 453-469. <https://doi.org/10.3390/idr14030049>
36. BERCHE P. The enigma of the 1889 Russian flu pandemic: A coronavirus? *Presse Med* 2022; 51: 104111. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2022.104111>
37. SHI W, SHI M, QUE T-C, CUI X-M, YE R-Z, XIA L-Y et al. Trafficked Malayan pangolins contain viral pathogens of humans. *Nat Microbiol* 2022; 7: 1259-1269. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01181-1>
38. NGA NTT, LATINNE A, THUY HB, VAN LONG N, NGOC PTB, ANH NTL et al. Evidence of SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in Sunda pangolins (*Manis javanica*) confiscated from the illegal wildlife trade in Viet Nam. *Front Public Health* 2022; 10: 826116. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.826116>