

Versión 2. [medRxiv](#). Preprint. 2020
Nov 17 [revisado 2021 Abr 5].
doi: [10.1101/2020.11.16.20232009](https://doi.org/10.1101/2020.11.16.20232009)

PMCID: PMC7685332
[Otras versiones](#)
PMID: [33236021](#)

Este artículo es una preimpresión.

Los preprints no han sido revisados por pares. Para obtener más información sobre los preprints en PMC, consulte: [NIH Preprint Pilot](#).

El número total y la masa de los viriones del SARS-CoV-2

[Ron Remitante](#),^{1,†} [Yinon M. Bar-On](#),^{1,†} [Shmuel Gleizer](#),¹ [Biana Bernstein](#),^{1,2} [Avi Flamholz](#),³ [Rob Phillips](#),^{3,4} y [Ron Milo](#)¹

[Información del autor](#) [Información de derechos de autor y licencia](#) [Descargo de responsabilidad](#)

Este artículo ha sido publicado "[El número total y la masa de viriones del SARS-CoV-2](#)" en *Proc Natl Acad Sci U S A*.

El historial de versiones completo de esta preimpresión está disponible en [medRxiv](#).

Datos asociados

[Materiales complementarios](#)

Abstracto

La estimación de cantidades biológicas clave, como el número total y la masa de células en nuestro cuerpo o la biomasa de organismos en la biosfera en unidades absolutas, mejora nuestra intuición y comprensión del mundo vivo (¹⁻⁴). Tal perspectiva cuantitativa podría ayudar al esfuerzo intensivo actual para estudiar y modelar la propagación de la pandemia de COVID-19. Recientemente hemos recopilado datos cuantitativos a nivel de virus, así como a nivel comunitario, para ayudar a comunicar el conocimiento más avanzado sobre el virus SARS-CoV-2 al público y a los investigadores por igual y proporcionarles un conjunto de herramientas cuantitativas para pensar en la pandemia (⁵). Aquí aprovechamos dicha información cuantitativa para estimar el número total y la masa de viriones del SARS-CoV-2 presentes en un individuo infectado durante el pico de la infección.

Las cargas virales se miden comúnmente de dos maneras distintas: contando los genomas de ARN viral mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) y midiendo el número de unidades infecciosas en cultivo de tejidos (⁶). El segundo enfoque incubó células de mamíferos susceptibles con diluciones de una muestra de paciente para determinar la cantidad de muestra requerida para matar el 50% de las células. Este valor se utiliza para volver a calcular el título infeccioso en la muestra en unidades de "dosis infecciosa de cultivo de tejidos al 50%" o TCID₅₀ (por ejemplo, por el método de Reed y Muench (⁷)). El TCID₅₀ es análogo (y a menudo cuantitativamente similar) al ensayo de unidades formadoras de placa (PFU). Aquí, nos referimos a TCID₅₀ y PFU en general como "unidades infecciosas". Como estas dos modalidades de medición (copias del genoma del ARN y unidades infecciosas) difieren en los valores informados y la interpretación (un método que mide el número de ARN, el otro que mide el número de unidades infecciosas), informamos y comparamos las estimaciones derivadas de ambos enfoques.

Para estimar el número total de viriones presentes en un individuo infectado en el pico de la infección, nos basamos en tres estudios que midieron la concentración de ARN genómico del SARS-CoV-2 en los tejidos de macacos rhesus infectados 4 días después de la inoculación con el virus (⁸⁻¹⁰). Las concentraciones virales se midieron en muestras de todos los tejidos relevantes de los sistemas respiratorio, digestivo e inmunológico y los valores se dan en unidades de copias del genoma por gramo de tejido. Utilizamos valores medidos en macacos rhesus, ya que son el organismo más cercano a los humanos donde se dispone de datos tan completos. Utilizando estas mediciones estimamos el número total de viriones multiplicando la concentración de genomas virales en cada tejido por la masa tisular total (^{11, 12}). Suponemos que cada genoma está asociado con un virión (es decir, la proporción de viriones a copias del genoma $F_{\text{viriones a copias de ARN}} \approx 1$). En caso de que una gran fracción de las copias de ARN viral estén presentes como ARN "desnudo" (no encapsulado dentro de partículas virales), el uso de copias de ARN viral como un proxy para el número de partículas virales podría conducir a una sobreestimación. Ampliamos esta fuente de incertidumbre en la discusión. Como se ve en [Figura 1](#), los pulmones son los más grandes de estos tejidos sobre una base de masa ($M_{\text{pulmones}} \approx 1 \text{ kg}$). También se encontró que los pulmones albergan la mayor concentración de ARN viral ($C_{\text{pulmones}} \text{ copias del genoma} \approx 10^6 - 10^8 [\text{Copias de ARN}]$, ver [SI](#) para detalles completos y comparación con fuentes adicionales) y por lo tanto estimamos que los viriones en los pulmones son el

contribuyente dominante al número total de viriones en el cuerpo durante el pico de infección, con $C_{pulmones} \times M_{pulmones} \times F_{viriones}$ a copias de ARN = $N_{viriones} \times 10^6 - 10^8 [C_{pulmones} \times 1000 [g]] \times 1 [F_{viriones}]$ a copias de ARN = $10^9 - 10^{11}$ [viriones].

(1)

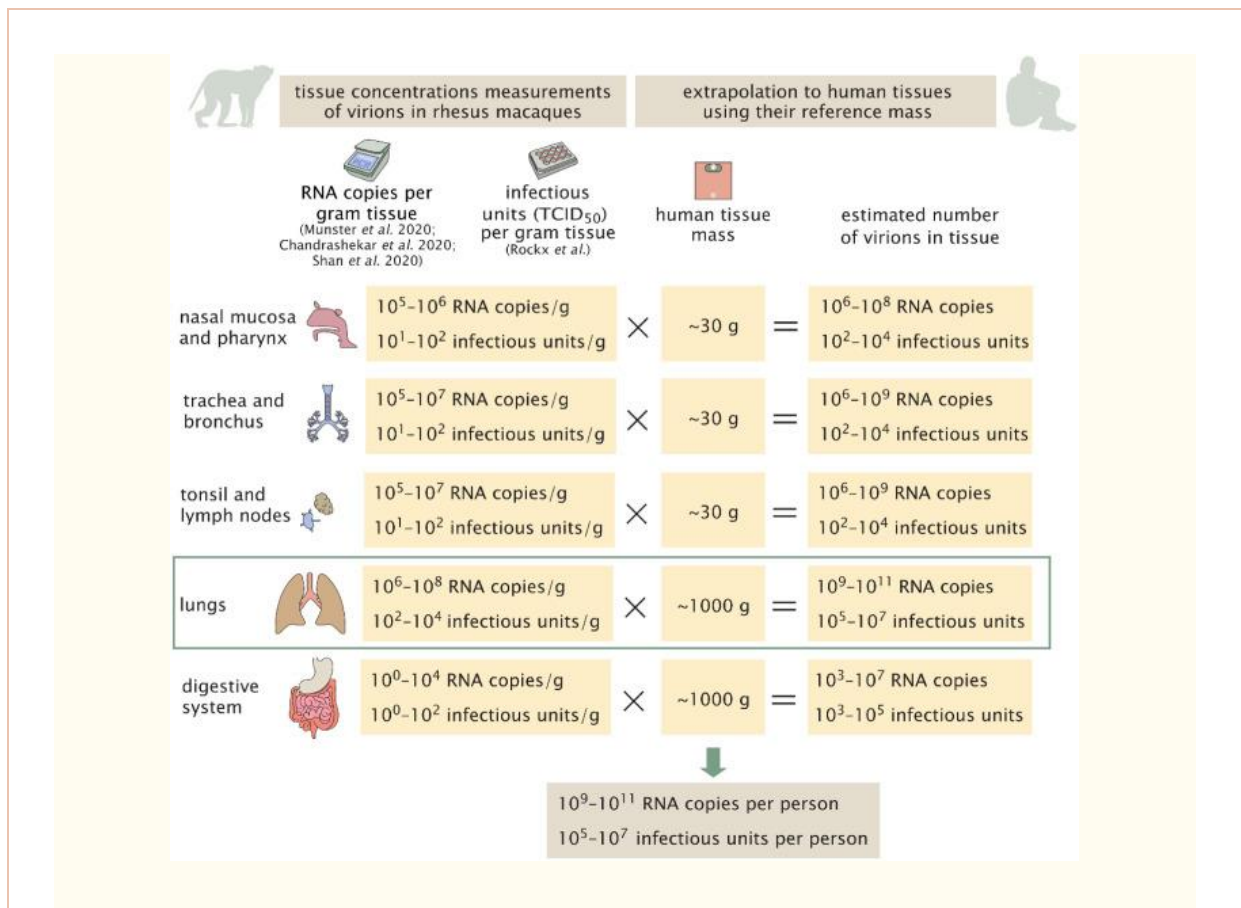


Figura 1:

Representación esquemática de la estimación del número de viriones en un individuo infectado.

La estimación se realiza utilizando la carga viral medida en un gramo de tejido de macaco rhesus multiplicada por la masa de tejidos humanos en una persona adulta de referencia con un peso corporal total de 70 kg (¹¹). En el tracto digestivo las concentraciones están cerca del límite de detección.

Otros tejidos, como la mucosa nasal, la laringe, el árbol bronquial y los ganglios linfáticos adyacentes tienen una masa combinada de ~ 100 g (¹²) y concentraciones

máximas de 10^6 – 10^7 Copias de ARN/ml y, por lo tanto, contribuyen como máximo con un 10% adicional a una estimación basada únicamente en los pulmones ([Figura 1](#)).

Otro estudio ([13](#)) midió las concentraciones de virus infecciosos en tejidos de macacos rhesus infectados 4 días después de la inoculación utilizando métodos de cultivo celular. Este estudio informa mediciones en unidades de TCID₅₀. Los valores máximos en estas unidades son mucho más pequeños, del orden de 10^3 – 10^4 TCID₅₀/ml para el tejido pulmonar. Combinando estas mediciones con el volumen de tejido pulmonar humano adulto (≈ 1 L), obtenemos una estimación de 10^5 – 10^7 unidades infecciosas en un adulto, en comparación con 10^9 – 10^{11} Copias de ARN, estimadas a partir de los otros estudios ([Figura 1](#)). Estos datos sugieren una diferencia de aproximadamente 4 órdenes de magnitud entre las mediciones de RT-PCR de ARN viral y las mediciones de cultivo de tejidos de títulos virales en TCID₅₀ unidades. Para comprobar la consistencia de este resultado con la literatura publicada, se recopilaron 13 estudios que midieron tanto las copias de ARN viral del SARS-CoV-2 como la TCID₅₀ o PFU en monos y muestras humanas ([SI](#)). La relación característica entre las mediciones de copia de ARN y TCID₅₀ las mediciones son de aproximadamente 4 órdenes de magnitud, pero pueden variar entre 3 y 5 órdenes de magnitud. Atendemos a esta aparente discrepancia entre las copias genómicas virales y las unidades infecciosas en la Discusión. Continuamos analizando lo que se puede inferir de la evidencia de que el número total de viriones en un individuo infectado durante el pico de infección es de 10^9 – 10^{11} , y el número de unidades infecciosas es 10^5 – 10^7 .

Si bien las estimaciones se realizaron utilizando un valor de referencia para la masa pulmonar tomada de hombres adultos, se pueden generalizar al caso de mujeres y niños. Confiamos en la multiplicación de la concentración viral en los pulmones y la masa total de los pulmones. Los valores de referencia para la masa pulmonar muestran un valor menor en un 20% para las mujeres, y un 25-75% más pequeño para los niños de 5 a 15 años ([12](#)). Aunque se sabe que la COVID-19 afecta más a los hombres adultos que a las mujeres y los niños ([14](#), [15](#)), hay escasa información sobre la diferencia en las concentraciones virales entre el sexo y la edad. Una preimpresión ([16](#)) sugiere que la concentración viral en los niños es menor hasta en un orden de magnitud, pero el cambio que midieron no es consistente en todo el rango de edad. Suponiendo que el cambio en la carga viral medida representa un cambio similar en la concentración viral en el tejido pulmonar, y combinando las concentraciones con la masa pulmonar reducida, obtenemos que el número de viriones en una mujer infectada es similar al

estimado para los hombres (es decir, del mismo orden), y que un niño infectado probablemente lleva un orden de magnitud menos viriones.

Además de analizar el estado de un individuo infectado durante el pico de infección, también podemos estimar el número total de viriones y unidades infecciosas producidas en el transcurso de una infección, así como la tasa de producción de viriones dentro de un huésped humano. Para estimar el número total de viriones producidos durante una infección, observamos su relación con el número de viriones en el pico de infección. La carga viral de un individuo infectado generalmente aumenta bruscamente hasta alcanzar el pico y luego disminuye rápidamente. El hecho de que la curva de carga viral sea empinada significa que una gran fracción de todos los viriones producidos se producirá cerca del pico de infección. Se infirió que la vida media de los viriones del SARS-CoV-2 en el espacio extracelular era de aproximadamente 1-8 horas ([17-19](#)). Esto significa que en los 1-3 días cerca del pico de la infección, la producción viral acumulada debe ser aproximadamente 3-30 veces la carga viral instantánea observada ("snap-shot"). Debido a que la producción general de viriones está dominada por el período de tiempo cercano a la infección máxima, estimamos que la relación entre la producción total de viriones y su número máximo está en el rango de 3 a 30 (consulte [el SI](#) para obtener detalles, así como la derivación adicional de esta relación a partir de observaciones de células infectadas y el tiempo de residencia de los viriones en ellas). Combinando este factor con nuestras estimaciones para el número máximo de viriones y unidades infecciosas obtenemos una producción total de 3×10^9 – 3×10^{12} viriones, o 3×10^5 – 3×10^8 unidades infecciosas durante todo el curso de una infección característica.

Vete a:

[Cálculo del número total de células infectadas por el SARS-CoV-2](#)

Utilizamos nuestra estimación del número total de unidades infecciosas en el cuerpo de un individuo infectado para estimar el número de células que están infectadas por el virus durante el pico de infección. Para estimar el número total de células infectadas, estimamos cuántas unidades infecciosas se encuentran en cada célula infectada como se muestra en [Figura 2](#).

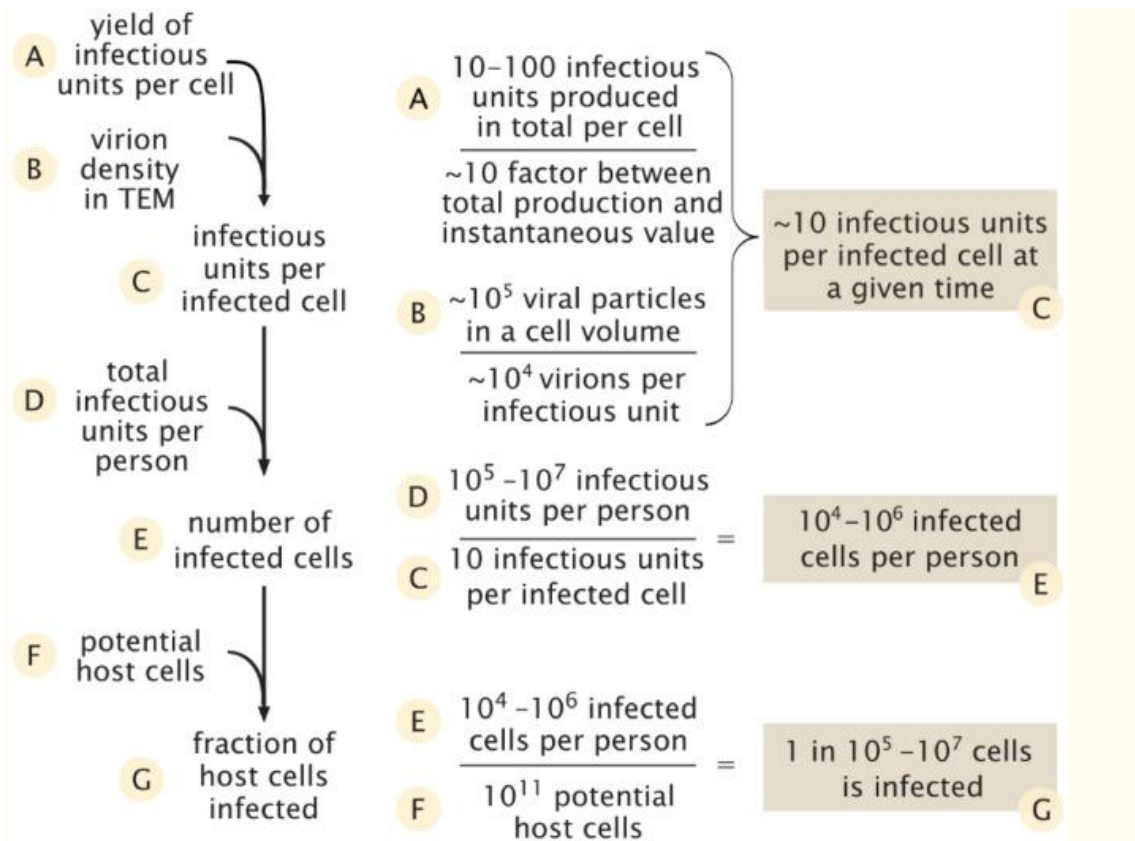


Figura 2:

Estimación del número de células infectadas y su fracción de las células huésped potencialmente relevantes.

Nos basamos en dos líneas de evidencia para estimar el número de unidades infecciosas dentro de una célula infectada en un momento dado. El primero son los datos sobre el número total de unidades infecciosas producidas por una célula infectada a lo largo de su vida, también conocido como el rendimiento. Como no tenemos conocimiento de estudios que informen directamente los valores del rendimiento de las células infectadas con SARS-CoV-2, se utilizaron los valores informados para otros betacoronavirus en combinación con los valores que derivamos de un estudio (20) de la cinética de replicación del SARS-CoV-2. Utilizando un ensayo de formación de placa para contar el número de unidades infecciosas, dos estudios previos midieron el rendimiento viral como 10-100 o 600-700 unidades infecciosas (21, 22). Uso de valores notificados para la cinética de replicación del SARS-CoV-2 (20) estimamos un rendimiento de ~ 10 unidades infecciosas por célula a las 36-48 horas de la infección, de acuerdo con el extremo inferior de estas estimaciones. Para convertir el número total de unidades infecciosas producidas en general por una célula en el

número de unidades que residen en la célula en un momento dado, estimamos que la relación entre estas dos cantidades es de 3 a 30 utilizando dos métodos independientes detallados en el [Sl](#). Combinando esta relación con nuestra estimación para el número total de unidades producidas por una célula, estimamos que, en un momento dado, hay entre unos pocos y unos pocos cientos de unidades infecciosas que residen en cada célula infectada.

La segunda línea de evidencia se refiere a la densidad de viriones dentro de una sola célula. Varios estudios han utilizado la microscopía electrónica de transmisión (TEM) para caracterizar la replicación intracelular de los viriones del SARS-CoV-2 dentro de las células ([23-26](#)). Usando siete exploraciones TEM tomadas de esos estudios, estimamos que la densidad de viriones dentro de las células infectadas es de 10^5 viriones por 1 pL (consulte [Dataset S1](#)). Como las células humanas atacadas por el SARS-CoV-2 tienen un volumen de ≈ 1 pL (lo que resulta en una masa celular de ≈ 1 ng) ([27, 28](#)), los datos de TEM indican que hay $\approx 10^5$ partículas virales dentro de una sola célula infectada en cualquier momento. Como se hizo anteriormente, asumimos una proporción de 1 unidad infecciosa resultante por 10^4 Viriones. Por lo tanto, las exploraciones TEM implican que hay ≈ 10 unidades infecciosas que resultarán de los viriones que residen dentro de una célula en un momento dado después de las etapas iniciales de la infección.

Siguiendo esas líneas de evidencia concluimos que en un momento dado hay $\sim 10^5$ viriones que residen dentro de una célula infectada que se traduce en ~ 10 unidades infecciosas. Usando la relación entre la producción total y el valor en un momento dado dentro de la célula, concluimos además que el rendimiento general de una célula infectada es de $\sim 10^5-10^6$ viriones o $\sim 10-100$ unidades infecciosas, coincidiendo con el rango medio de mediciones de otros betacoronavirus. Esta estimación también concuerda bien con los resultados recientes de los modelos dinámicos de infección por SARS-CoV-2 en el huésped ([29, 30](#)).

Podemos realizar un control de cordura utilizando consideraciones masivas para ver que nuestra estimación del número de viriones no está más allá de la cantidad máxima factible. Cada virión tiene una masa de ≈ 1 fg ([5](#)). Por lo tanto, 10^5 Los viriones tienen una masa de $\approx 0,1$ ng, aproximadamente el 10% de la masa total de una célula huésped de 1 ng y aproximadamente un tercio de su peso seco. Si bien es una fracción relativamente alta, esto todavía está dentro del rango observado para otras infecciones virales ([31, 32](#)).

Combinación de las estimaciones para el número total de unidades infecciosas en una persona cerca del pico de infección y el número de unidades infecciosas en una sola célula (*Cunidades infecciosas por célula*), podemos calcular el número de células infectadas alrededor del pico de infección:

$$\text{Nunidades infecciosas} = \text{Cunidades infecciosas por célula} \times \text{Ncélulas infectadas}$$
$$10^5 - 10^7 [\text{unidades infecciosas}] \times 10 [\text{unidades infecciosas/celda}] = 10^4 - 10^6 [\text{células}]. \quad (2)$$

¿Cómo se compara esta estimación con el número de células huésped potenciales para el virus? La vía de infección mejor caracterizada para el SARS-CoV-2 es a través de las células del sistema respiratorio, específicamente los neumocitos ($\sim 10^{11}$ células), macrófagos alveolares ($\sim 10^{10}$ células) y las células mucosas en la cavidad nasal ($\sim 10^9$ células) (27, 28). Otros tipos de células, como los enterocitos (células epiteliales intestinales) también pueden infectarse (33) pero representan un número similar de celdas (34) y, por lo tanto, no cambian el orden de magnitud de las células huésped potenciales. Como tal, nuestra mejor estimación para el tamaño del grupo de tipos de células que el SARS-CoV-2 probablemente infecta es, por lo tanto, $\sim 10^{11}$ células, y el número de células infectadas durante el pico de infección, por lo tanto, representa una pequeña fracción de este grupo potencial (1 de cada $10^5 - 10^7$).

Vete a:

Discusión

Nuestro análisis cuantitativo establece estimaciones para el número absoluto de viriones presentes en un individuo infectado, así como el número de viriones producidos durante la infección y el número total de células infectadas en el cuerpo. Hay varias formas en que uno puede aprovechar tales estimaciones cuantitativas para producir información sobre COVID-19. En primer lugar, tener estimaciones absolutas nos permite compararlas con otras cantidades en el cuerpo humano y así poner en contexto el número de viriones e incluso llegar a nuevos conocimientos. Por ejemplo, un cuerpo humano comprende $\approx 3 \times 10^{13}$ células (3). Esto significa que incluso para nuestra estimación más alta, es decir, 10^{11} viriones por huésped, las células humanas superan en número a los viriones en más de 100 veces. También podemos comparar nuestra estimación para el número total de células infectadas con el grupo total de células que expresan ACE2 (enzima convertidor de angiotensina 2) y TMPRSS2

(proteasa transmembrana, serina 2), el receptor y la proteasa principal en la que se basa el SARS-CoV-2 para infectar las células. Estudios de secuenciación de ARN unicelular (35-37) indican que un pequeño porcentaje de las células de los pulmones y las vías respiratorias expresan ACE2 y TMPRSS2. La mayoría de las células que se ha encontrado que expresan ambos son neumocitos tipo 2. Si bien estos resultados pueden estar sesgados debido a los efectos de abandono en las mediciones de solo unas pocas moléculas (37, 38), todavía es razonable que entre el 1% y el 10% de las células pulmonares y de las vías respiratorias contengan el receptor necesario para infectarse por el SARS-CoV-2, totalizando $\sim 10^9$ células. Este número es varios órdenes de magnitud más alto que nuestra estimación para el número total de células infectadas durante el pico de infección (10^4 – 10^6). Esto sugiere que de las células que expresan tanto ACE2 como TMPRSS2, solo una pequeña fracción, por ejemplo, 10^{-5} – 10^{-3} , están infectados por el virus.

Debido a que el sistema inmune es la principal línea de defensa contra el SARS-CoV-2, es interesante examinar cuantitativamente la respuesta inmune conocida en comparación con las cargas virales que estimamos aquí. Por ejemplo, podemos comparar el número máximo de partículas virales (10^9 – 10^{11}) al número de anticuerpos que el cuerpo produce para combatir la infección por SARS-CoV-2. Niveles de anticuerpos IgG específicos del SARS-CoV-2 (C_{IgG}) se midieron 3 semanas después del inicio de los síntomas, mostrando una concentración sérica de ~ 10 $\mu\text{g/ml}$ (39). Solo $\approx 5\%$ del total de anticuerpos IgG anti-espiga (la proteína viral responsable de permitir la unión y fusión con la célula huésped) tiene la capacidad de neutralizar el virus ($f_{neutralizante}$) (40). Combinación de la concentración de anticuerpos IgG neutralizantes con un peso molecular Medio igG (MW_{IgG}) de 150 kDa (41) estimamos el número de anticuerpos neutralizantes por ml de suero ($C_{neutralizante}$):

$$C_{YOG} \times f_{neutralización} \times 1 MW_{YOG} \times N_{Avogadro} = C_{neutralización} 10^{-5} [g_{YOG} mL] \times 5\% [neutralización_{YOG}] \times 1150,000 [molg] \times 6 \times 10^{23} [moléculas mol] = 3 \times 10^{12} [moléculas neutralizantes mL]. \quad (3)$$

Combinando esta estimación con la medición de la concentración viral dentro del tejido pulmonar y teniendo en cuenta 30-40 trímeros de pico en cada virión del SARS-CoV-2 (42, 43) podemos estimar la proporción de anticuerpos neutralizantes a proteínas de espiga viral como

$C_{\text{neutralización}} = C_{\text{pulmones viriones}} \times N_{\text{proteínas espiga}} = R_{\text{anticuerpos neutralizantes/proteínas espiga}} \times 3 \times 10^{12} [\text{moléculas neutralizantes/mL}] \times 106-108 [\text{partículas virales/mL}] \times 30 = 103-105 [\text{anticuerpos neutralizantes/proteína espiga}]$. (4)

Trabajos previos sobre otros virus de ARN morfológicamente similares como la influenza y el flavivirus encontraron que una proporción de 1 anticuerpo neutralizante unido por 2-4 proteínas de unión al receptor era suficiente para neutralizar la unión de un virión a su receptor celular in vitro ([44](#), [45](#)). Tomada al pie de la letra, nuestra estimación parece sugerir un exceso de anticuerpos neutralizantes. Hay varios factores que harán que la concentración efectiva de anticuerpos que experimenta el virus sea menor. En primer lugar, las concentraciones de anticuerpos en el tejido pulmonar tienden a ser más bajas que las de la sangre. En segundo lugar, muchas de las proteínas espiga están ampliamente glicosiladas. Estas glicosilaciones protegen muchos de los sitios de unión para neutralizar anticuerpos ([43](#)) y así disminuir la eficiencia de la neutralización ([46](#)). Sin embargo, es importante recordar que la medida más relevante para la efectividad de la neutralización de anticuerpos, es la fracción de proteínas de espiga viral que se unen a anticuerpos neutralizantes. Esta fracción está determinada por la fuerza de la unión de los anticuerpos neutralizantes (nAb) a las partículas virales, dada por la constante de disociación K_d ([45](#)).

Siguiendo la relación de primer orden:

Fracción limitada por $nAb = \frac{[nAb]}{[nAb] + K_d}$ (5)

Como las constantes de disociación para la unión anticuerpo-epítipo están principalmente en el rango de 1-10 nM ([47](#), [48](#)) obtenemos:

$[nAb] = 3 \times 10^{12} [\text{moléculas neutralizantes/mL}] \times 16 \times 10^{23} [\text{mol moléculas}] \times 1000 [\text{mL}] = 3 \times 10^{-9} [\text{mol/L}] = 3 [\text{nM}]$ *receptores de fracción unidos por* $nAb = \frac{3 [\text{nM}]}{3 [\text{nM}] + 1-10 [\text{nM}]} = 25\% - 75\%$ (6)

Por lo tanto, a pesar de que la relación entre el número de anticuerpos neutralizantes y las partículas virales es alta, un número tan alto de anticuerpos es esencial para garantizar que se unan suficientes epítopos (se necesita una proporción aún mayor para algunos medicamentos antivirales, como se muestra en el [SI](#)).

Más allá del brazo humoral de la respuesta inmune, las células T también son una parte integral de la orientación de los antígenos virales. Aunque los casos graves de COVID-19 tienden a tener una menor concentración de células T en la sangre, tienen una fracción más alta de células T específicas para sars-CoV-2 que los casos leves de COVID-19 (49). Aquí las células T específicas del SARS-CoV-2 denotan células T que mostraron marcadores de activación y proliferación después de la estimulación con grupos de péptidos del SARS-CoV-2 (49). Podemos utilizar las concentraciones de células CD4+ y CD8+ en la sangre en combinación con su fracción de células específicas del SARS-CoV-2 (49) para estimar 1–2 células CD4+/μL y 0,2–0,3 células CD8+/μL específicas para el SARS-CoV-2 en pacientes convalecientes y casos graves. Suponiendo que el volumen de sangre de un paciente es ~ 5L y que el 1-2% de los linfocitos residen en la sangre (34), estimamos que hay hasta 10⁹ Células T específicas del SARS-CoV-2 en casos graves, con una fracción desconocida encontrada en el tejido infectado, o 1 por cada 1-100 partículas virales en el pico de la infección, y 10²–10⁴ tales células T por célula infectada.

En nuestras comparaciones, generalmente nos basamos en nuestras estimaciones para los valores característicos de la carga viral máxima en individuos infectados, que corresponden al centro de la distribución de los valores medidos (específicamente el rango intercuartílico, entre los cuantiles 25% -75%). Sin embargo, es importante tener en cuenta que existe un alto grado de variabilidad en las cargas virales, superando los 6 órdenes de magnitud, como se puede ver en las muestras tomadas del sistema respiratorio superior (50). Esta amplia variación refleja la diferencia entre las personas, así como las diferencias en la carga viral a través de la progresión de la infección dentro de un individuo infectado (51). Por lo tanto, los casos extremos podrían exceder el rango intercuartílico proporcionado por dos órdenes de magnitud adicionales, alcanzando valores de 10¹³ partículas virales en una sola persona en el pico de la infección, mientras que hasta el 10% de las células que expresan ace2 y TMPRSS2 están infectadas. La variación en el número de viriones, en relación con la gravedad de la enfermedad y su resultado, se detalla en el [S1](#). También es importante tener en cuenta que la carga viral en diferentes tejidos del cuerpo huésped cambia a lo largo de la infección, con algunos tejidos probablemente infectados desde el principio y otros más tarde en la infección (52).

Otra forma en que podemos usar nuestras estimaciones para producir nuevos conocimientos es tomando una visión global y extrapolando los números observados

en un solo individuo infectado a toda la población. Por ejemplo, podemos estimar el número de partículas virales que residen en todos los humanos infectados en un momento dado. El número total de partículas virales en el pico de infección se demostró anteriormente como 10^9 – 10^{11} partículas virales (este rango corresponde al rango del percentil 25%-75%). Debido a que las cargas virales de los individuos están distribuidas aproximadamente logarítmicamente ([53](#)), el promedio aritmético del número de partículas virales en el pico de infección estaría en el extremo superior del rango, incluso más allá del percentil 75 (10^{11} – 10^{12} partículas). Hay una rápida caída en las cargas virales después del pico de infección, por lo que el número total de partículas virales está dominado por aquellos individuos infectados que están cerca del pico de infección (dentro de 1-2 días). Suponiendo que durante la mayor parte del curso de la pandemia ha habido un total de 1 a 10 millones de personas infectadas cerca del pico de infección a nivel mundial en un momento dado (incluidas las que no han sido detectadas, consulte [S1](#) para obtener más detalles; ([54](#))), llegamos a un total de 10^{17} – 10^{19} partículas virales o 10^{13} – 10^{15} unidades infecciosas en un momento dado. Del mismo modo, la media aritmética del número de partículas producidas en el transcurso de la infección de un individuo promedio es 10^{12} – 3×10^{13} partículas virales (N —*partículas virales producidas por persona*), o 10^8 – 3×10^9 unidades infecciosas (ver [S1](#) para la derivación detallada del rango de incertidumbre).

Se pueden contextualizar estas estimaciones utilizando una perspectiva de masa absoluta. Cada virión tiene una masa de ≈ 1 fg ([5](#)). Por lo tanto, incluso cuando el cuerpo lleva 10^9 – 10^{11} partículas virales, estas tienen una masa de sólo alrededor de 1-100 μ g, es decir, 1-100 veces menos que la masa de una semilla de amapola. La masa total de viriones que residen en la humanidad en un momento dado es del orden de 0,1 a 10 kg. Además, utilizando el número total de partículas virales producidas a lo largo de una infección, podemos derivar la masa total de todas las partículas virales del SARS-CoV-2 jamás producidas a lo largo de esta pandemia actual (concentrándose en los humanos que encontramos que actualmente dominan sobre los reservorios animales). Suponemos que el número total de personas infectadas estará en el rango de 0.5 a 5 mil millones de personas, lo que representa escenarios futuros optimistas y pesimistas para la pandemia (ver [S1](#) para más detalles). Para calcular el número total de viriones que se habrán producido al final de la pandemia, multiplicamos el número total de personas infectadas por el número total de partículas virales producidas sobre una infección de una persona promedio (que es la media aritmética de la distribución entre las personas). Luego multiplicamos este número por la masa promedio de un

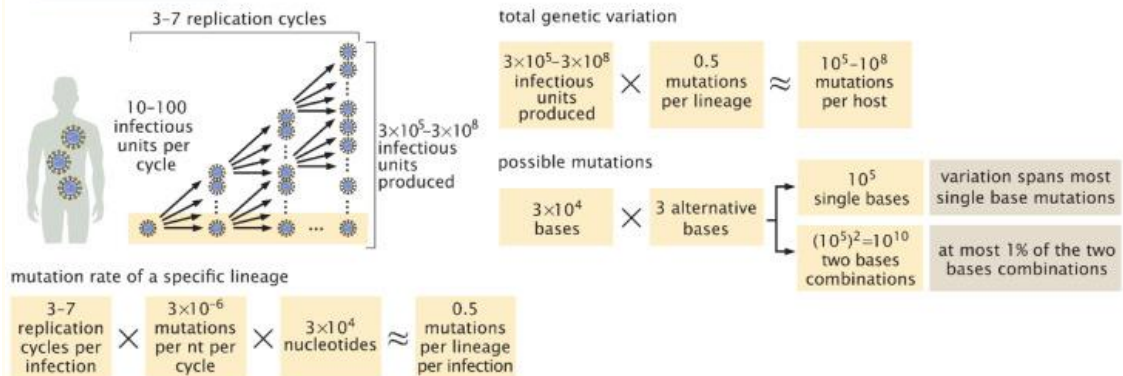
solo virión para encontrar la masa total de partículas virales producidas globalmente para una infección tan generalizada (ver [SI](#) para detalles de la estimación de incertidumbre):

$$N_{\text{personas infectadas}} \times M_{\text{partícula viral}} \times N_{\text{partículas virales producidas por persona}} = M_{\text{todas las partículas virales producidas}} \\ (0,5-5) \times 10^9 [\text{personas}] \times 10^{-18} [\text{kg partícula viral}] \times (10^{12}-3 \times 10^{13}) [\text{partículas virales producidas persona}] = 10^3-10^5 \text{ kg. (7)}$$

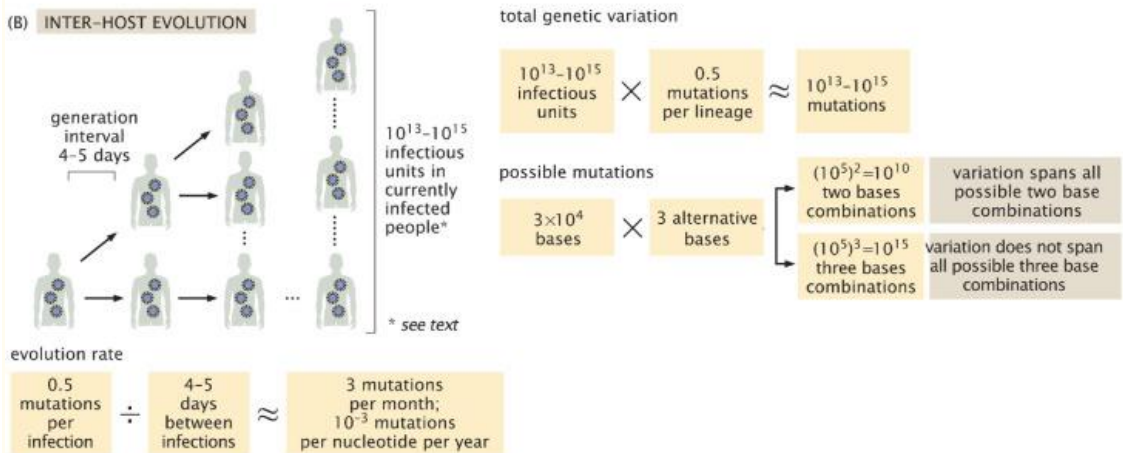
Finalmente, utilizamos nuestras estimaciones del número total de virus en un humano infectado para examinar la evolución del SARS-CoV-2 y, específicamente, estimar la tasa de aparición de nuevas variantes. Al estudiar la diversidad genética del SARS-CoV-2, podemos definir dos medidas diferentes para la diversidad. El primero es la diversidad a lo largo de un linaje genético de viriones, que se propagan desde la cepa ancestral en Wuhan hasta los viriones que circulan actualmente. El segundo es la diversidad entre una población de viriones, por ejemplo, la población de viriones presentes en el cuerpo de un individuo infectado. Comenzamos calculando el número promedio de mutaciones acumuladas a lo largo de un linaje específico de viriones ancestros que conducen desde el comienzo de la replicación viral en el huésped hasta el final de la infección del huésped. En estos cálculos nos basamos en estimaciones de la tasa de mutación por ciclo de replicación por sitio ($3 \times 10^{-6} \text{ nt}^{-1} \text{ ciclo}^{-1}$) que se han medido para MHV, otro betacoronavirus ([5](#)). Además, asumimos que cada huésped humano está infectado por unas pocas unidades infecciosas ([55-57](#)), y utilice el rendimiento estimado de $\sim 10-100$ unidades infecciosas por célula. Por lo tanto, se supone que cada ciclo de infección produce de 10 a 100 unidades infecciosas que, a su vez, infectan otras células. Como se estimó anteriormente, hay $3 \times 10^5-3 \times 10^8$ unidades infecciosas producidas en el transcurso de una infección. Suponiendo un crecimiento exponencial, todo el curso de la infección tomará de 3 a 7 ciclos de replicación viral ([Figura 3A](#)). Como el genoma del SARS-CoV-2 tiene una longitud de 30.000 nucleótidos, podemos calcular el número esperado de mutaciones que se acumulan en un virus que es el producto de 3-7 ciclos de replicación utilizando la tasa de mutación por ciclo:

$$3 \times 10^4 [\text{nt}] \times 3-7 [\text{ciclo infección}] \times 3 \times 10^{-6} [\text{mutaciones ciclo nt}] \sim 0.5 [\text{mutaciones infección}] \\ (8)$$

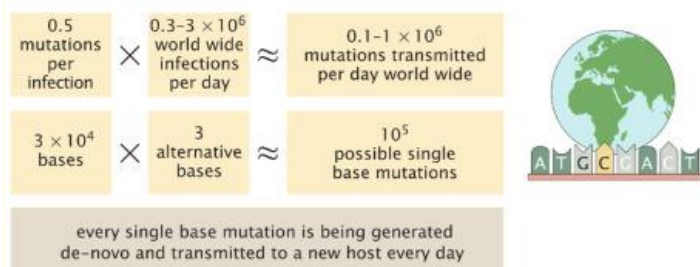
(A) IN-HOST EVOLUTION



(B) INTER-HOST EVOLUTION



(C) WORLD WIDE MUTATION POTENTIAL



[Abrir en una ventana separada](#)

Figura 3:

La relación entre el número de viriones producidos en un individuo infectado y la evolución del SARS-CoV-2.

Utilizamos nuestras estimaciones para el número total de viriones producidos durante una infección, junto con otras características epidemiológicas y bioquímicas del SARS-CoV-2 para estimar la tasa de acumulación de mutaciones dentro de un huésped infectado (A) y dentro de la población (B). Consideramos tanto la evolución a lo largo de un linaje genético específico de viriones como la diversidad entre una población de viriones, ya sea dentro de un huésped infectado (A) o dentro de la población total (B).

Además, observamos la mutación de novo generada y transmitida a los recién infectados en comparación con todas las posibles mutaciones de base única (C).

Por lo tanto, si rastreamos un solo linaje de viriones desde el momento en que comenzaron a replicarse en el cuerpo hasta el final de la infección, este linaje se acumularía en el rango de 0.1-1 mutaciones en promedio en todo su genoma ([Figura 3A](#)). Teniendo en cuenta que el tiempo medio entre infecciones sucesivas, conocido como intervalo de generación, es de aproximadamente 4-5 días, podemos estimar una tasa global de mutaciones ≈ 3 por mes en el transcurso de la epidemia ([Figura 3B](#)). Esto es consistente con los valores empíricos observados durante la pandemia para el SARS-CoV-2 de aproximadamente $10^{-3} \text{ nt}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ([58, 59](#)), también conocida como la tasa de evolución. La tasa de evolución se estima a partir de la tasa observada de acumulación de mutaciones en genomas secuenciados desde diferentes puntos de tiempo a lo largo de la pandemia mediante la reconstrucción de árboles filogenéticos ([59](#)). Por lo tanto, incluye tanto la tasa de acumulación de mutaciones neutras como los efectos de la selección natural. Esta tasa estimada de evolución coincide con el número de mutaciones observadas en variantes presentes en la actualidad, aproximadamente un año después del inicio de la pandemia, la mayoría de las cuales contienen alrededor de 20-30 mutaciones. Los ejemplos extremos en términos de número de mutaciones, de variantes como B.1.1.7, se acumularon cerca de 40 mutaciones en comparación con las primeras cepas aisladas.

Podemos usar nuestras estimaciones de la tasa de mutación viral para evaluar la tasa esperada de aparición de una mutación de base única específica. Considere el ejemplo de una sustitución de un solo nucleótido que resulta en la mutación E484K en la que el glutamato (E) en la posición 484 se reemplaza con lisina (K). Esta mutación requiere una sustitución específica en una ubicación específica: la primera base del codón debe cambiar de G a A. Como cada nucleótido puede mutar a otros 3 (por ejemplo, G puede convertirse en A, T o C) y el genoma contiene 30.000 nucleótidos, hay ≈ 100.000 posibles sustituciones de un solo nucleótido al genoma del SARS-CoV-2. Como se concluyó anteriormente, se acumulan alrededor de 0,5 mutaciones en cada ciclo de infección del huésped. Sin tener en cuenta los efectos de la selección (es decir, asumiendo que los viriones mutantes son igualmente capaces de infección y propagación), o las posibilidades variables de mutación entre los nucleótidos, esperamos que tal mutación específica se observe en una de cada ~ 200.000

infecciones. En los últimos meses, se han identificado cientos de miles de casos en todo el mundo todos los días y es probable que muchos casos adicionales no se hayan identificado. De hecho, como se muestra en [Figura 3C](#), el número estimado de mutaciones generadas diariamente (10^5 – 10^6 mutaciones/día) probablemente exceda el número total de posibles sustituciones de un solo nucleótido al genoma del SARS-CoV-2 ($\approx 10^5$ sustituciones) asumiendo 0,3-3 millones de nuevos casos al día en todo el mundo. Como tal, nuestras estimaciones implican que cada mutación base se genera de novo y se transmite a un nuevo huésped del SARS-CoV-2, en algún lugar del mundo, todos los días.

Además de considerar un linaje específico de virus SARS-CoV-2, también podemos considerar la diversidad genética a nivel poblacional y estimar la variabilidad total en todo el repertorio de unidades infecciosas producidas durante un solo curso de infección. Como estimamos que 3×10^5 – 3×10^8 las unidades infecciosas se producen durante una infección, cada una resultante de un linaje de ancestros y mutaciones, esperamos que en general tengan alrededor de 10^5 – 10^8 mutaciones en todas las unidades infecciosas. Algunas de estas mutaciones que ocurrieron en ciclos tempranos aparecerán en muchas progenies posteriores dentro del huésped, mientras que las generadas en el ciclo más reciente aparecerán en un solo genoma viral. Debido a que el genoma del SARS-CoV-2 tiene 30.000 nucleótidos de largo, los 10^5 – 10^8 las mutaciones en todos los viriones producidos en el transcurso de una sola infección probablemente cubran todas las posibles sustituciones de nucleótidos individuales ([Figura 3A](#)). Incluso cubren una fracción significativa de los posibles pares de sustituciones de un solo nucleótido. Si nos fijamos globalmente en el número total de unidades infecciosas de SARS-CoV-2 actualmente presentes dentro de la población humana infectada, que estimamos anteriormente en 10^{13} – 10^{15} , esperamos que cada combinación de dos sustituciones de nucleótidos y muchas, aunque no todas, tres sustituciones de nucleótidos estén presentes en al menos una unidad infecciosa ([Figura 3B](#)).

Esta gran diversidad genética podría implicar ingenuamente que las mutaciones ventajosas se apoderarán rápidamente de la población debido a la selección natural, pero hay varios factores que ralentizan la tasa de selección. Estos factores incluyen la epistasis, un fenómeno en el que una sola mutación se vuelve ventajosa solo en el fondo de otras mutaciones específicas. Otro factor clave es el cuello de botella genético impuesto durante la transmisión de viriones entre individuos infectados. Se

espera que estos cuellos de botella ralentifiquen la selección, ya que solo una pequeña fracción de la diversidad generada en el huésped se transmite a las generaciones futuras ([55-57](#)). Esta comprensión cuantitativa pone de relieve los casos en los que la selección puede ocurrir durante un período de tiempo significativo sin cuellos de botella, como el caso de infecciones largas y persistentes, por ejemplo, en pacientes inmunocomprometidos ([60-62](#)). Por lo tanto, concluimos que una contabilidad cuidadosa del número de viriones puede dar una idea del proceso de evolución viral dentro y entre los huéspedes.

One of the strengths of a holistic quantitative analysis such as the one performed here is its ability to expose interesting “quirks” that are otherwise elusive. One such observation is the ratio of $\sim 10^4$ between the RNA copies measured using RT-PCR and the number of infectious units measured in TCID₅₀. Ratios on the order of 10^3 – 10^4 between viral particles and PFUs were observed in animal viruses such as Poliovirus and Papillomavirus ([63](#)). Ingenuamente, tal proporción sugeriría que solo el 0,01% de los viriones producidos son realmente infecciosos. Esta relación implica que el SARS-CoV-2 no es muy eficiente en la producción de progenie infecciosa. Si bien no tenemos una explicación clara para esta aparente baja eficiencia, hay varios factores posibles que afectarán esta proporción. En primer lugar, la medición de las copias de ARN puede no corresponder directamente a los viriones reales, pero también mide el ARN viral desnudo. Segundo, mientras que TCID₅₀ es el ensayo más ampliamente disponible para medir el título infeccioso, puede no reflejar con precisión el número real de viriones infecciosos, por ejemplo, porque las condiciones en el ensayo pueden no ser óptimas para la infección por SARS-CoV-2. Otra posibilidad es que muchos viriones no sean infecciosos debido al efecto neutralizador de los anticuerpos de unión y, por lo tanto, la proporción puede representar el efecto de la respuesta inmune y el cambio durante el período de infección.

Más allá de exponer estos aspectos cuantitativos, un análisis holístico nos permite identificar grandes brechas de conocimiento en la literatura disponible. Por ejemplo, el rendimiento de virión por célula infectada se conoce solo a partir de unos pocos estudios sobre diferentes tipos de betacoronavirus de hace más de 40 años ([21](#), [22](#)). Del mismo modo, las mediciones de la tasa de mutación por nucleótido por ciclo en el SARS-CoV-2 son de mucho interés pero faltan. Como se discutió anteriormente, la relación cuantitativa entre las copias de ARN viral, las partículas virales y las unidades infecciosas no se caracteriza completamente para el SARS-CoV-2, y por lo tanto la

investigación adicional podría ayudar a restringir y explicar mejor los diferentes valores. Además, un modelo que describa la relación cuantitativa entre la producción de anticuerpos y las métricas de infección ayudaría a probar cuantitativamente las estimaciones presentadas aquí.

Establecer estimaciones para el número total y la masa de viriones del SARS-CoV-2 en individuos infectados nos permite conectar varios aspectos de la pandemia, desde la inmunología hasta la evolución, y resaltar patrones y relaciones emergentes que no son obviamente evidentes. Se espera que tener una mejor información cuantitativa sobre el proceso de infección a nivel celular, a nivel intra-huésped y a nivel inter-huésped capacite a los investigadores con mejores herramientas para combatir la propagación de COVID-19 y comprender su evolución, incluido el aumento de variantes de preocupación.

Importancia:

Conocer el número absoluto de viriones en una infección promueve una mejor comprensión de la dinámica de la enfermedad y la respuesta del sistema inmunológico. Aquí utilizamos el mejor conocimiento actual sobre las concentraciones de viriones en individuos infectados para estimar el número total y la masa de viriones SARS-CoV-2 en una persona infectada. Aunque cada persona infectada porta un estimado de 1 a 100 mil millones de viriones durante el pico de infección, su masa total no es más de 0.1 mg. Esto curiosamente implica que todos los viriones del SARS-CoV-2 actualmente en todos los huéspedes humanos tienen una masa de entre 100 gramos y 10 kilogramos. Combinando la tasa de mutación conocida y nuestra estimación del número de viriones infecciosos cuantificamos la tasa de formación de variantes genéticas.

Vete a:

Material complementario

Suplemento 1

[Haga clic aquí para ver.](#) (124K, xlsx)

Suplemento 2

[Haga clic aquí para ver.](#) (1.1M, pdf)

Vete a:

Reconocimientos

Nos gustaría agradecer a Itai Benhar, Gidon Eshel, Shai Fuchs, Thierry Mora, Eran Segal, Maya Shamir, Ziv Shulman, Huicheng Shi, Harinder Singh, Einat Vitner, Aleksandra Walczak, John Yin por sus valiosos comentarios sobre este manuscrito.

Financiación:

Esta investigación fue apoyada por el Consejo Europeo de Investigación (Proyecto NOVCARBFIX 646827), Israel Science Foundation (Grant 740/16), Beck-Canadian Center for Alternative Energy Research, Dana y Yossie Hollander, Ullmann Family Foundation, Helmsley Charitable Foundation, Larson Charitable Foundation, Wolfson Family Charitable Trust, Charles Rothschild, Selmo Nussenbaum, Miel de Botton (R.M.), los Institutos Nacionales de Salud (1R35 GM118043-01 (Maximizing Investigators Research Award)) (R.P.), Merkin Institute for Translational Research (R.P.), el Consejo Israelí de Educación Superior (CHE) a través del Weizmann Data Science Research Center y por una beca de investigación de Madame Olga Klein – Astrachan (R.S.). R.M. es el Presidente Profesional Charles y Louise Gartner. Y.M.B. es un becario Azrieli

Vete a:

Referencias

1. Moran U., Phillips R., Milo R., SnapShot: números clave en biología. *Celda* 141, 1262–1262.e1 (2010). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Sender R., Fuchs S., Milo R., Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell* 164, 337–340 (2016). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Sender R., Fuchs S., Milo R., Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 14, e1002533 (2016). [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Bar-On Y. M., Phillips R., Milo R., The biomass distribution on Earth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 6506–6511 (2018). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

5. Bar-On Y. M., Flamholz A., Phillips R., Milo R., SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife* 9 (2020). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Case J. B., Bailey A. L., Kim A. S., Chen R. E., Diamond M. S., Growth, detection, quantification, and inactivation of SARS-CoV-2. *Virology* 548, 39–48 (2020). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Reed L. J., Muench H., A Simple Method of Estimating Fifty Percent Endpoints. *Am. J. Epidemiol.* 27, 493–497 (1938). [[Google Scholar](#)]
8. Munster V. J., et al., Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature* (2020) 10.1038/s41586-020-2324-7 [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Chandrashekar A., et al., SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* 369, 812–817 (2020). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Shan C., et al., Infection with novel coronavirus (SARS-CoV-2) causes pneumonia in Rhesus macaques. *Cell Res.* 30, 670–677 (2020). [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Snyder W. S., et al., “*Report of the Task Group on Reference Man*” (ICRP, 1975). [[Google Scholar](#)]
12. ICRP, “*Basic Anatomical and Physiological Data for Use in Radiological Protection Reference Values*” (ICRP, 2002) (April 30, 2020). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Rockx B., et al., Patogénesis comparativa de COVID-19, MERS y SARS en un modelo de primates no humanos. *Ciencia* 368,1012-1015 (2020). [Articulo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
14. Salje H., et al., Estimating the burden of SARS-CoV-2 in France. *Ciencia* (2020) 10.1126/science.abc3517 (14 de mayo de 2020). [Articulo gratuito de [PMC](#)][[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[GoogleScholar](#)]
15. OMS, “*Informe de la Misión Conjunta OMS-China sobre la Enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19)*”(OMS, 2020). [[Google Scholar](#)]
16. Jones T.C., et al., *An analysis of SARS-CoV-2 viral load by patient age* (2020).
17. Chen P. Z., et al., Heterogeneity in transmissibility and shedding SARS-CoV-2 via droplets and aerosols. *medRxiv*, 2020.10.13.20212233 (2020). [[Google Scholar](#)]

18. Wang S., et al., Modeling the viral dynamics of SARS-CoV-2 infection (Modelado de la dinámica viral de la infección por SARS-CoV-2. *Matemáticas. Biosci.* 328, 108438 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
19. Hattaf K., Yousfi N., Dinámica del modelo de infección por SARS-CoV-2 con dos modos de transmisión y respuesta inmune. *Matemáticas. Biosci. Ós.* 17, 5326–5340 (2020). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Plante J. A., et al., Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Naturaleza*592,116–121 (2021). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
21. Robb J. A., Bond C. W., Pathogenic murine coronaviruses. I. Caracterización del comportamiento biológico in vitro y del ARN intracelular específico del virus de los virus JHMV fuertemente neurotrópicos y A59V débilmente neurotrópicos. *Virología*94,352–370 (1979). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
22. Hirano N., Fujiwara K., Matumoto M., Virus de la hepatitis de ratón (MHV-2). Ensayo de placa y propagación en células DBT de línea celular de ratón. *Jpn. J. Microbiol.* 20,219–225 (1976). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Imai M., et al., Hámsters sirios como modelo animal pequeño para la infección por SARS-CoV-2 y el desarrollo de contramedidas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*117,16587–16595 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
24. Kim J.-M., et al., Identificación de coronavirus aislado de un paciente en Corea con COVID-19. *Osong Public Health Res Perspect* 11, 3–7 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
25. Klein S., et al., SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography. *Laboratorio Cold Spring Harbor*,2020.06.23.167064 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
26. Ogando N. S., et al., SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology (Replicación del coronavirus-2 en células Vero E6: cinética de replicación, adaptación rápida y citopatología). *J. General Virol.* 101,925–940 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]

27. Stone K.C., Mercer R. R., Gehr P., Stockstill B., Crapo J. D., Relaciones alométricas de números celulares y tamaño en el pulmón de mamíferos. *Am. J. Respir. Célula Mol. Biol.* 6,235–243 (1992). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Crapo J. D., Barry B. E., Gehr P., Bachofen M., Weibel E. R., Número de células y características celulares del pulmón humano normal. *Respir. Dis.* 126,332–337 (1982). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Ke R., Zitzmann C., Ribeiro R.M., Perelson A. S., Kinetics of SARS-CoV-2 infection in the human upper and lower respiratory tracts and their relationship with infectiousness. *bioRxiv* (2020) 10.1101/2020.09.25.20201772 [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
30. Gonçalves A., et al., Timing of Antiviral Treatment Initiation is Critical to Reduce SARS-CoV-2 Viral Load (El momento del inicio del tratamiento antiviral es crítico para reducir la carga viral del SARS-CoV-2). *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 9, 509–514 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Milo R., Phillips R., *Cell Biology by the Numbers*, 1ª edición (Garland Science, 2015) 10.1201/9780429258770 (28 de marzo de 2021). [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Chen H. Y., Di Mascio M., Perelson A. S., Ho D. D., Zhang L., Determinación del tamaño de la explosión del virus in vivo utilizando un SIV de ciclo único en macacos rhesus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104,19079–19084 (2007). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Lamers M.M., et al., SARS-CoV-2 infecta productivamente los enterocitos intestinales humanos. *Ciencia* (2020) 10.1126/science.abc1669 [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Remitente R., Milo R., La distribución del recambio celular en el cuerpo humano. *Nat. Med.* 27,45–48 (2021). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
35. Sungnak W., et al., los factores de entrada al SARS-CoV-2 están altamente expresados en las células epiteliales nasales junto con genes inmunes innatos. *Nat. Med.* 26,681–687 (2020). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Lukassen S., et al., el receptor del SARS-CoV-2 ACE2 y TMPRSS2 se expresan principalmente en células secretoras transitorias bronquiales. *EMBO J.* 39, e105114 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

37. Ziegler C. G. K., et al., SARS-CoV-2 Receptor ACE2 es un gen estimulado por interferón en células epiteliales de las vías respiratorias humanas y se detecta en subconjuntos celulares específicos a través de los tejidos. *Celda* 181, 1016–1035.e19 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
38. Valyaeva A. A., Zharikova A. A., Kasianov A. S., Vassetzky Y. S., Sheval E. V., Lung epithelial stem cells express SARS-CoV-2 entry factors: implications for COVID-19. *bioRxiv*, 2020.05.23.107334 (2020). [[Google Scholar](#)]
39. Iyer A. S., et al., Dinámica e importancia de la respuesta de anticuerpos a la infección por SARS-CoV-2. *medRxiv* (2020) 10.1101/2020.07.18.20155374 [[CrossRef](#)] [[GoogleScholar](#)]
40. Rogers T. F., et al., Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model (Aislamiento de anticuerpos neutralizantes potentes contra el SARS-CoV-2 y protección contra enfermedades en un modelo animal pequeño). *Ciencia* 369,956–963 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
41. Janeway C. A., Travers P., Walport M., Capra D. J., *Immunobiology* (Taylor & Francis Group UK: Garland Science, 2001). [[Google Scholar](#)]
42. Yao H., et al., Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus. *Celda* 183,730–738.e13 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
43. Turoňová B., et al., In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibilidad mediada por tres bisagras. *Ciencia* 370,203–208 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
44. Taylor H. P., Armstrong S. J., Dimmock N. J., Relaciones cuantitativas entre un virus de la influenza y anticuerpos neutralizantes. *Virología* 159,288–298 (1987). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
45. Pierson T.C., Diamond M. S., A game of numbers: the stoichiometry of antibody-mediated neutralization of flavivirus infection. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 129,141–166 (2015). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
46. Schön M. P., et al., COVID-19 and immunological regulations - from basic and translational aspects to clinical implications. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 18,795–807 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]

47. Chi X., et al., Humanized single domain antibodies neutralize SARS-CoV-2 by targeting the spike receptor binding domain. *Nat. Commun.* 11, 4528 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
48. Seydoux E., et al., Analysis of a SARS-CoV-2-Infected Individual Reveals Development of Potent Neutralizing Antibodies with Limited Somatic Mutation. *Inmunidad* 53,98–105.e5 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
49. Schub D., et al., High levels of SARS-CoV-2-specific T cells with restricted functionality in severe courses of COVID-19. *JCI Insight* 5 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
50. Jacot D., Greub G., Jaton K., Opota O., Carga viral del SARS-CoV-2 en pacientes y en comparación con otros virus respiratorios. *Los microbios infectan.* (2020) 10.1016/j.micinf.2020.08.004 [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[GoogleScholar](#)]
51. He X., et al., Dinámica temporal en la diseminación viral y transmisibilidad de COVID-19. *Nat. Med.* 26,672–675 (2020). [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Hou Y. J., et al., SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Celda* 182,429–446.e14 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
53. Kissler S.M., et al., SARS-CoV-2 viral dynamics in acute infections.. *bioRxiv*(2020) 10.1101/2020.10.21.20217042 [[CrossRef](#)] [[GoogleScholar](#)]
54. Roser Max, Ritchie Hannah, Ortiz-Ospina Esteban, Hasell Joe, Pandemia de coronavirus (COVID-19). *Nuestro mundo en datos* (2020) (22 de marzo de 2021). [[Google Scholar](#)]
55. Popa A., et al., Genomic epidemiology of superspreading events in Austria reveals mutational dynamics and transmission properties of SARS-CoV-2. *Sci. Transl. Med.* 12 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[GoogleScholar](#)]
56. Martin M. A., Koelle K., Reanálisis de datos de secuenciación profunda de Austria apunta hacia un pequeño cuello de botella de transmisión del SARS-COV-2 del orden de uno a tres viriones. *Laboratorio Cold Spring Harbor*,2021.02.22.432096 (2021). [[Google Scholar](#)]

57. Lythgoe K. A., et al., Within-host genomics of SARS-CoV-2. *Laboratorio Cold Spring Harbor*, 2020.05.28.118992 (2020). [[Google Scholar](#)]
58. Duchene S., et al., Señal temporal y el umbral filodinámico del SARS-CoV-2. *Virus Evol* 6, veaa061 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Koyama T., Platt D., Parida L., Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Toro. Órgano Mundial de la Salud*. 98,495–504 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Kemp S. A., et al., SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection (Evolución del SARS-CoV-2 durante el tratamiento de la infección crónica). *Nature*(2021) 10.1038/s41586-021-03291-y [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Choi B., et al., Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host (Persistencia y evolución del SARS-CoV-2 en un huésped inmunocomprometidos). *N. Engl. J. Med.* 383,2291–2293 (2020). [Artículo gratuito de [PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Khatamzas E., et al., Emergence of multiple SARS-CoV-2 mutations in an immunocompromised host. *medRxiv* (2021). [[Google Scholar](#)]
63. Jane Flint S., Racaniello V. R., Rall G. F., Skalka A.M., Enquist L. W., *Principles of Virology, Volume 1: Molecular Biology (ASM Books)*, 4th Ed. (ASM Press, 2015). [[Google Scholar](#)]
-