

SARS-CoV-2 (COVID-19) em números

Yinon M. Bar-On¹, Avi Flamholz², Rob Phillips^{3,4}, e Ron Milo^{1*}

publicado em eLife, em 31 de março de 2020
<https://elifesciences.org/articles/57309>

¹ Weizmann Institute of Science, Rehovot 7610001, Israel ² University of California, Berkeley, CA 94720, USA

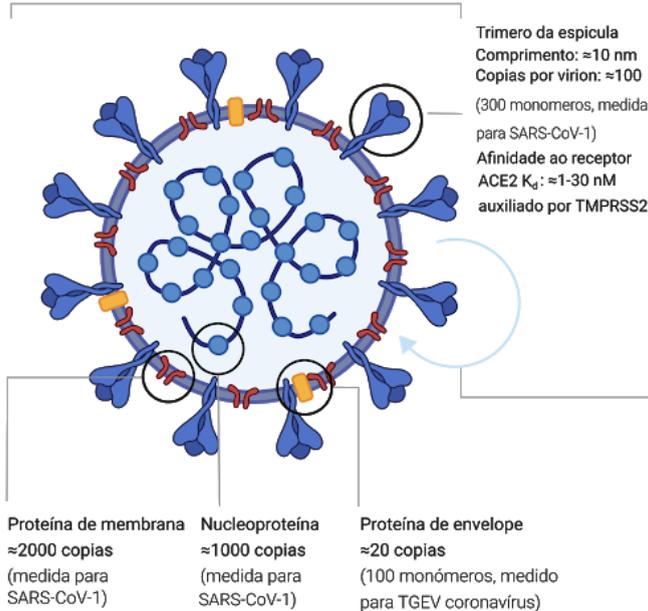
³ California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA ⁴ Chan Zuckerberg Biohub, San Francisco, CA 94158, USA

* Autor correspondente: ron.milo@weizmann.ac.il.

Comentários são bem-vindos; este artigo está sendo atualizado continuamente em: <https://bit.ly/2WOeN64>

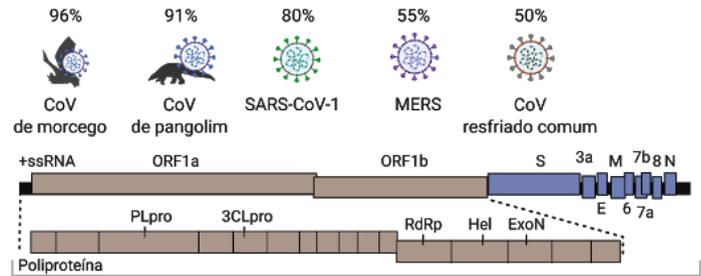
Tamanho e Conteúdo

Diametro: ≈ 100 nm
Volume: $\sim 10^6$ nm³ = 10^{-3} fL
Massa: $\sim 10^3$ MDa ≈ 1 fg



Genoma

Identidade nucleotídica com SARS-CoV-2



Tamanho do genoma: ≈ 30 kb; β -coronavírus com 10-14 ORF (24-27 proteínas)

Taxa de evolução: $\sim 10^{-3}$ nt⁻¹ ao ano⁻¹ (medida para SARS-CoV-1)

Taxa de mutação: $\sim 10^{-6}$ nt⁻¹ ciclo⁻¹ (medida para MHV coronavírus)

Escala de tempo da replicação

Em cultivo celular:

Entrada do vírion na célula: ~ 10 min (medido para SARS-CoV-1)

Fase eclipse: ~ 10 horas (momento de fazer vírions intracelulares)

Tamanho de rompimento: $\sim 10^3$ vírions (tamanho de rompimento)

Células hospedeiras

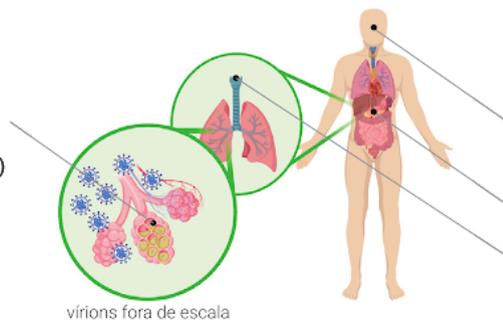
(lista provisória, número de células por pessoa)

Pneumócitos tipo I e tipo II ($\sim 10^{11}$ cels)

Macrófagos alveolares ($\sim 10^{10}$ cels)

Células mucosas da cavidade nasal ($\sim 10^9$ cels)

Volume da célula hospedeira: $\sim 10^3$ μ m³ = 10^3 fL



vírions fora de escala

Concentração

Valores máximos observados após diagnóstico (Woelfel et al. 2020; Kim et al. 2020; Pan et al. 2020)

Nasofaringe: 10^6-10^9 ARNs/cotonete

Garganta: 10^4-10^8 ARNs/cotonete

Fezes: 10^4-10^8 ARNs/g

Escarro: 10^6-10^{11} ARNs/mL

A contagem de RNA pode, notoriamente, superestimar a quantidade de vírions infecciosos

Resposta de Anticorpos - Soroconversão

Anticorpos surgem no soro após: $\approx 10-20$ dias

Manutenção de anticorpos:

$\approx 2-3$ anos (medido para SARS-CoV-1)

Estabilidade Viral no Ambiente

Relevância para segurança pessoal não está clara

	meia-vida	tempo para decair 1000 vezes
Aerossóis:	≈ 1 hr	$\approx 4-24$ hr
Superfícies: E.g. plástico, papelão e metais	$\approx 1-7$ hr (van Doremalen et al. 2020)	$\approx 4-96$ hr

Baseada na quantificação de vírions infecciosos. Testado a 21-23°C e umidade relativa do ar entre 40-65%. Números podem variar entre condições e tipos de superfícies (Otter et al. 2016). RNA viral pode ser observado em superfícies até mesmo após algumas semanas (Moriarty et al. 2020).

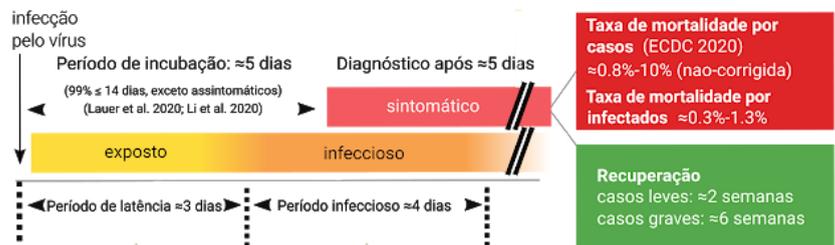
Note a diferença entre o símbolo \approx , que representa "aproximadamente" e conota acurácia dentro de um fator de 2; e o símbolo \sim indica "ordem de magnitude", ou acurácia dentro de um fator de 10

Progressão da Infecção "Característica" em um Único Paciente

Número básico de reprodução, R_0 : tipicamente 2-4 pessoas,

mas pode variar de acordo com local e tempo (Li et al. 2020; Park et al. 2020)

(número de casos gerados diretamente a partir de um único caso)



A variação entre indivíduos é considerável e ainda não está bem caracterizada. As estimativas são feitas a partir de parâmetros ajustados para a população média da China e não descrevem essa variabilidade (Li et al. 2020; He et al. 2020).

SARS-CoV-2 (COVID-19) em números

Yinon M. Bar-On¹, Avi Flamholz², Rob Phillips^{3,4}, e Ron Milo¹

¹Weizmann Institute of Science, Rehovot 7610001, Israel²University of California, Berkeley, CA 94720, USA

³California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA

⁴Chan Zuckerberg Biohub, 499 Illinois Street, SF CA 94158, USA

Resumo

A atual pandemia por SARS-CoV-2 é um duro lembrete de que, seja em um único hospedeiro humano ou em uma onda de infecção entre os continentes, a dinâmica viral geralmente é uma história sobre números. Nessa foto instantânea, nosso objetivo é fornecer uma fonte gráfica com curadoria única para os principais números que nos ajudam a entender o vírus que causa a atual crise global. A discussão é elaborada em cima de dois temas: 1) a biologia do vírus em si e 2) as características da infecção em um hospedeiro humano. Nosso resumo de uma página fornece números-chave sobre o SARS-CoV-2, majoritariamente baseado em literatura científica revisada por pares. Os números relatados em forma de sumário estão fundamentados nas referências anotadas abaixo. Os leitores são instados a lembrar que ainda restam muitas incertezas, e que o conhecimento sobre a pandemia e o vírus que a causa está evoluindo rapidamente. Nos parágrafos abaixo nós fornecemos cálculos preliminares que explicitam a compreensão que pode ser ganha ao conhecermos alguns números-chaves e usarmos a lógica quantitativa. Esses cálculos servem para melhorar nossa intuição através de checagens sanitárias, mas não substituem a análise epidemiológica detalhada.

1. Quanto tempo demora para uma única pessoa infectada levar a um milhão de infectados?

Se todos nós continuássemos nos comportando como de costume, quanto tempo demoraria para a pandemia ser disseminada de uma para um milhão de vítimas? O número básico de reprodução, R_0 , sugere que cada infecção gere diretamente 2 a 4 novas infecções, na ausência de contramedidas como distanciamento social. Uma vez que a pessoa esteja infectada, existe um período de tempo conhecido como período de latência antes que a pessoa seja capaz de transmitir o vírus. A estimativa mais atual do tempo de latência médio é de ≈ 3 dias seguido por ≈ 4 dias de infecciosidade próxima ao máximo (Li et al. 2020, He et al. 2020). A duração exata pode variar de pessoa a pessoa, sendo que, em algumas pessoas, o período infeccioso é muito maior. Usando $R_0 \approx 4$, o número de casos irá quadruplicar a cada ≈ 7 , ou dobrar a cada ≈ 3 dias. O crescimento de 1000 vezes (indo de 1 caso para 10^3) requer 10 duplicações, uma vez que $2^{10} \approx 10^3$; 3 dias x 10 duplicações = 30 dias, ou cerca de 1 mês. Então espera-se um crescimento de ≈ 1000 vezes em um mês, um milhão de vezes (10^6) em dois meses e um bilhão (10^9) em 3 meses. Mesmo que esse cálculo seja altamente simplificado, ignorando os efeitos de "super-disseminadores", da imunidade de rebanho e testagem incompleta, ele enfatiza o fato que vírus podem ser disseminados em ritmos desconcertantes quando não são tomadas contramedidas. Isso ilustra o porquê que limitar a disseminação viral por medidas de distanciamento social é crucial. Para uma maior discussão sobre o sentido de R_0 , períodos de latência de infecciosidade, assim como várias ressalvas, veja a seção "Definições".

2. Quais são os efeitos do distanciamento social?

Um exemplo quantitativo altamente simplificado ajudará a esclarecer a necessidade de distanciamento social. Suponhamos que você esteja infectado e encontre 50 pessoas ao longo de um dia de trabalho, se deslocando para o trabalho em transporte público, socializando e cumprindo suas tarefas diárias. Para trabalharmos com números redondos, vamos supor que você tenha chance de transmitir o vírus para 2% em cada um desses encontros, de forma que você provavelmente infecte 1 pessoa por dia. Se você estiver altamente infeccioso por 4 dias, você terá infectado 4 pessoas em média, o que está na margem superior dos valores de R_0 para SARS-CoV-2 na ausência de distanciamento social. Se, ao invés disso, você encontrar apenas 5 pessoas por dia (preferivelmente até menos) por causa do distanciamento social, então você terá infectado apenas 0.1 pessoa por dia, ou 0.4 pessoa antes que você se torne menos infeccioso. O efeito desejável do distanciamento social é fazer com que cada infecção presente produza menos de 1 infecção nova. Um número de reprodução efetiva (R_e) menor que 1 assegurará que o número de infecções eventualmente diminua. É criticamente importante que se obtenha rapidamente $R_e < 1$, o que será consideravelmente mais alcançável do que empurrar R_e para próximo de zero através de medidas de saúde pública.

3. Por que o período de quarentena é de duas semanas?

O período entre o momento da infecção e o início dos sintomas é chamado de período de incubação. O período de incubação para o SARS-CoV-2 é estimado em cerca de 5 dias (Lauer et al. 2020). Ainda assim, há muita variação entre as pessoas. Aproximadamente 99% daqueles que têm sintomas os apresentarão antes do dia 14, o que explica período de confinamento de duas semanas. É importante ressaltar que essa análise negligencia pessoas infectadas que nunca apresentam sintomas. Uma vez que pessoas assintomáticas normalmente não são testadas, ainda não está claro quantos desses casos existem, nem por quanto tempo os assintomáticos permanecem infecciosos.

4. Como as máscaras N95 bloqueiam o SARS-CoV-2?

As máscaras N95 foram projetadas para remover mais de 95% de todas as partículas de até 0.3 microns (μm) de diâmetro (NIOSH 42 CFR Part 84). De fato, as medições da eficiência de filtração das máscaras N95 mostram que elas são capazes de filtrar $\approx 99.8\%$ das partículas com diâmetro de $\approx 0.1 \mu\text{m}$ (Reynolds et al. 2017). O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado de $0,1 \mu\text{m}$ de diâmetro, então

máscaras N95 são capazes de filtrar a maioria dos vírions livres, mas elas fazem mais do que apenas isso. Como? Os vírus são frequentemente transmitidos por gotículas respiratórias produzidas durante a tosse ou o espirro. Gotículas respiratórias são normalmente divididas em dois grupos de tamanhos, em gotículas grandes ($> 5 \mu\text{m}$ de diâmetro) que caem rapidamente no chão e, portanto, transmitem apenas em distâncias curtas, e as gotículas menores ($\leq 5 \mu\text{m}$ de diâmetro). Gotículas menores podem evaporar em "núcleo de gotícula" que permanecem suspensas no ar por períodos significativos e podem ser inaladas. Alguns vírus, como o do sarampo, podem ser transmitidos por núcleos de gotículas (Tellier et al. 2019). Até o presente, não existem evidências diretas que mostrem a transmissão do SARS-CoV-2 por núcleo de gotículas. Em vez disso, acredita-se que gotículas maiores são os principais vetores de transmissão do SARS-CoV-2, normalmente por se depositarem em superfícies que são tocadas e transportadas pelas mãos até membranas mucosas como os olhos, nariz e boca (CDC 2020). O tamanho típico de grandes gotículas produzidas durante espirro é de $\sim 100 \mu\text{m}$ (Han J. R. Soc. Interface 2013), enquanto que o diâmetro de núcleos de gotículas produzidos durante a tosse está na casa de $\sim 1 \mu\text{m}$ (Yang et al. 2007). Portanto, as máscaras N95 provavelmente protegem contra vários modos de transmissão.

5. Quão semelhantes são SARS-CoV-2 do vírus do resfriado comum e do vírus da gripe?

O SARS-CoV-2 é um beta-coronavírus cujo genoma é uma fita de RNA simples de ≈ 30 kb. A gripe é causado por uma família completamente diferentes de vírus RNA, chamada Influenzavírus. O genoma do vírus influenza são menores (≈ 14 kb), codificado em 8 fitas diferentes de RNA, e infectam as células humanas de forma diferente que os coronavírus. O "resfriado comum" é causado por uma variedade de vírus, incluindo o alguns coronavírus e rinovírus. O coronavírus causador do resfriado (cepas OC43 and 229E) é bastante semelhante ao SARS-CoV-2 quanto ao tamanho do genoma (dentro de 10%) e conteúdo genético, mas um tanto quanto diferentes do SARS-CoV-2 na sequência ($\approx 50\%$ nucleotide identity) e gravidade da infecção. Uma faceta interessante dos coronavírus é que eles têm o maior genoma de todos os vírus RNA conhecidos (≈ 30 kb). Esses genomas grandes levam os pesquisadores a suspeitar da presença de "mecanismos de revisão" para reduzir a taxa de mutação e estabilizar o genoma. De fato, os coronavírus tem uma exonuclease de revisão chamada ExoN, o que explica as baixas taxas de mutação ($\sim 10^{-6}$ por sítio por ciclo) em comparação com o influenza ($\approx 3 \times 10^{-5}$ por sítio por ciclo) (Sanjuan et al. 2010). Tal taxa de mutação relativamente menor será interessante para futuros estudos de previsão da velocidade em que os coronavírus conseguem evadir os esforços de imunização

6. Quanto se sabe sobre o genoma e o proteoma do SARS-CoV-2?

SARS-CoV-2 tem um genoma de RNA polaridade positiva e fita simples que codifica 10 genes e produz 26 proteínas de acordo com uma anotação do NCBI (NC_045512). Como 10 genes codificam mais de 20 proteínas: Um gene longo orf1ab codifica uma poliproteína que é clivada em 16 proteínas por proteases codificadas pelo próprio orf1ab. Em adição às proteases, a poliproteína codifica a RNA polimerase e seus fatores associados para copiar o genoma, fazer a revisão via exonuclease, e diversas outras proteínas não estruturais. Os genes restantes codificam predominantemente os componentes estruturais do vírus: (I) a espícula protéica que se liga ao receptor cognato nas células humanas ou animais; (II) a nucleoproteína que empacota o genoma; e (III) duas proteínas ligadas à membrana. Apesar de muito do trabalho atual esteja centrado em entender o papel de proteínas "acessórias" no ciclo de vida viral, nós estimamos que seja possível atribuir funções bioquímicas ou estruturais claras para apenas metade dos produtos genéticos do SARS-CoV-2.

7. O que podemos aprender com a taxa de mutação do vírus?

Ao estudar a evolução viral, pesquisadores normalmente usam duas medidas para descrever a taxa de mudança genômica. A primeira taxa evolutiva, que é definida como uma média do número de substituições que se tornam fixas por ano em

cepas do vírus, da unidade de mutações por sítio por ano. A segunda é a taxa de mutação, que é o número de substituições por sítio por ciclo de replicação. Como podemos relacionar esses dois valores? Considere uma única mutação em um sítio no final de um ano. A única medida de taxa de mutação in beta-coronavírus sugere que este sítio irá acumular $\sim 10^6$ mutações em cada rodada de replicação. Cada rodada do ciclo replicativo leva ~ 10 horas, então tem-se 10^3 ciclos/ano. Multiplicando a taxa de mutação pelo número de replicações, e negligenciando os efeitos em potencial de seleção evolutiva e deriva, chegamos a 10^3 mutações por sítio por ano, consistente com a taxa evolutiva inferida a partir do sequenciamento dos genomas dos coronavírus. Como nossa estimativa é consistente com a taxa medida, inferimos que o vírus passa por replicação quase contínua em ambiente selvagem, gerando novas mutações constantemente que são acumuladas com o passar do ano. Usando nosso conhecimento da taxa de mutação, também podemos traçar inferências sobre infecções únicas. Por exemplo, uma vez que a taxa de mutação é $\sim 10^6$ mutações/sítio/ciclo e que 1 mL de escarro contenha até 10^7 cópias de RNA viral, inferimos que cada sítio possa ser mutado mais de uma vez em tal amostra.

8. Quão estável e infeccioso o vírus é em superfícies?

O RNA do SARS-CoV-2 já foi identificado em várias superfícies após várias semanas após a última vez em que foram tocadas (Moriarty et al. 2020). Nas definições, esclarecemos que a diferença entre detecção do RNA viral e vírus ativo. A probabilidade de infecção humana de tal exposição ainda não foi caracterizada, uma vez que os experimentos para se fazer tal determinação são muito desafiadores. No entanto, cuidado e medidas de proteção devem ser tomadas. Estimamos que, durante o período infeccioso, uma pessoa infecciosa e não-diagnosticada toca superfícies dezenas de vezes. Essas superfícies serão subsequentemente tocadas por centenas de outras pessoas. A partir do número básico de reprodução $R_0 \approx 2-4$, podemos inferir que nem todos tocando tais superfícies serão infectados. Definições mais detalhadas do risco de infecção ao tocar superfícies precisam ser estudados urgentemente.

Glossário

Medidas Clínicas

Período de Incubação: tempo entre exposição e sintomas.

Soroconversão: tempo entre exposição ao vírus e resposta detectável de anticorpos.

Inferências Epidemiológicas

R_0 : o número médio de casos diretamente gerados a partir de uma infecção individual

Período de Latência: tempo entre exposição e se infecciosidade.

Período infeccioso: tempo pelo qual um indivíduo permanece infeccioso.

Intervalo de infecciosidade semi-máxima: intervalo de tempo durante o qual a probabilidade de transmissão viral é maior que a metade do pico de infecciosidade. Este intervalo é semelhante ao período infeccioso, mas aplica-se também aos casos em que a probabilidade de infecção não é uniforme ao longo do tempo.

Espécies virais

SARS-CoV-2: coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave. Um beta-coronavírus causador da presente pandemia de COVID-19.

SARS-CoV-1: beta-coronavírus que causou, em 2002, o surto de SARS na China.

MERS: um β -coronavírus que causa o surto de Síndrome Respiratória do Oriente Médio que começou na Jordânia em 2012.

MHV: Vírus da hepatite murina, um beta-coronavírus modelo no qual boa parte da pesquisa em laboratório é feita.

TGEV: Vírus da gastroenterite transmissível, um alfa-coronavírus modelo que infecta suínos.

229E e OC43: duas cepas de coronavírus (alfa- e beta-, respectivamente) que causam uma fração dos resfriados comuns.

Ciclo de Vida Viral

Período Eclipse: tempo entre a entrada viral e o aparecimento de vírions intracelulares.

Período de Latência (em nível celular): tempo entre a entrada viral e o aparecimento de vírions extracelulares. Não confundir com o período de latência epidemiológica descrita abaixo.

Tamanho de rompimento: número de vírions produzidos a partir da infecção de uma única célula. O termo "rendimento viral por célula" é mais apropriado para vírus não-líticos como SARS-CoV-2.

Vírião: uma partícula viral.

Poliproteína: uma proteína longa que é clivada em um certo número de proteínas distintas. Diferente de um polipeptídeo, que é uma cadeia linear de aminoácidos que fazem uma proteína.

Biologia Humana

Macrófago Alveolar: células imunológicas encontradas nos pulmões que engolfam materiais estranhos como poeira e micróbios (fagócitos profissionais).

Pneumócitos: células pulmonares não imunológicas.

ACE2: Enzima Conversora de Angiotensina 2, o receptor de superfície das células de mamíferos ao qual o SARS-CoV-2 se liga.

TMPRSS2: Serino-Protease Transmembranar 2, uma serino-protease ligada à membrana em mamíferos que cliva o trímero da espícula viral após sua ligação com ACE2, expondo o peptídeo de fusão que participa na fusão da do envelope à membrana, que permitirá a injeção do RNA dentro do citoplasma hospedeiro.

Nasofaringe: espaço acima do palato mole no fundo do nariz e que conecta o nariz a boca.

Nota

Note a diferença entre o símbolo \approx , que indica "aproximadamente" e conota acurácia dentro de um fator de 2, e o símbolo \sim , que indica "ordem de magnitude" ou acurácia dentro de um fator de 10.

Mais definições e métodos de mensuração

O que significam R_0 , "período de latência" e "período infeccioso"?

O número básico de reprodução, R_0 , estima a média do número de novas infecções geradas diretamente a partir de uma única pessoa infectada. O zero subscrito denota referência aos estágios iniciais de uma epidemia, quando todos na região são susceptíveis (por exemplo, não há imunidade) e nenhuma medida de combate foi tomada. Uma vez que a geografia e a cultura afetam quantas pessoas encontramos diariamente, assim como o quanto as tocamos e o quanto compartilhamos comida com elas, as estimativas de R_0 podem variar entre locais. Além disso, como R_0 é definido pela ausência de medidas de combate e de imunidade, somos capazes de avaliar o R efetivo (R_e). No princípio de uma epidemia, antes das medidas de combate, $R_e \approx R_0$. Passam-se vários dias antes que uma pessoa recém-infectada se torne infecciosa. Este "período de latência" e tipicamente seguido por vários dias de infecciosidade chamado de "período infeccioso". É importante entender que valores relatados para todos esses parâmetros são médias populacionais inferidas a partir de modelos epidemiológicos para contar os infectados, sintomáticos, e pacientes morrendo. Uma vez que os testes são sempre incompletos, a aplicação do modelo é imperfeita e a variação dos dados entre locais diferentes, existe uma considerável incerteza associada aos valores relatados. Além disso, essas medianas e médias de melhor-ajuste não correspondem à variação interpessoal. Por exemplo, o RNA viral era detectável em pacientes com sintomas moderados por até 1 semana após o início dos sintomas, e por mais de 2 semanas nos pacientes com sintomas graves (ECDC 2020). Apesar de RNA detectável não ser o mesmo que vírus ativo, tal evidência demanda cautela ao usar parâmetros médios e incertos para descrever a pandemia. Por que não há publicadas distribuições detalhadas sobre esses parâmetros entre pessoas? Mensurações diretas dos períodos de latência e de infecciosidade em nível individual são extremamente desafiadores, uma vez que a identificação acurada do momento preciso da infecção é muito difícil.

Qual é a diferença entre medições do RNA viral e vírus infeccioso?

O diagnóstico e a quantificação dos vírus se utilizam de diversas metodologias. Uma abordagem comum é a quantificação do RNA viral em um ambiente (por exemplo, uma superfície) ou amostra clínica (por exemplo, escarro) via transcrição reversa reação em cadeia da polimerase quantitativa (RT-qPCR). Este método mede o número de cópias do RNA viral em uma amostra. A presença do RNA viral não implica, necessariamente, a presença de vírions infecciosos. Os vírus poderiam ser defectivos (por exemplo, devido a mutações) ou terem sido inativados por condições ambientais. Para avaliar a concentração de vírus infecciosos, pesquisados medem a "dose infecciosa de 50% do cultivo celular" ($TCID_{50}$). Medir a $TCID_{50}$ envolve infectar, em replicatas, células em cultivo susceptíveis com diluições do vírus e observar em qual diluição a metade das células em cultivos se tornam infectadas nas replicatas. As contagens virais reportadas pelo $TCID_{50}$ tendem a ser muito mais baixas que a carga viral medida por RT-qPCR, o que pode ser uma das razões porque estudos que se baseiam em mensuração de RNA (Moriarty et al. 2020) reportam persistência viral em superfícies por tempo muito mais longo do que estudos baseados em $TCID_{50}$ (van Doremalen et al. 2020). É importante manter isso em mente ao se interpretar dados de carga viral em estudos como, por exemplo, o relato de RNA viral em fezes de pacientes por diversos dias após a recuperação (We et al. 2020). Contudo, para muitos vírus até uma baixa dose pode levar à infecção. Para o resfriado comum, por exemplo, uma dose de ~ 0.1 $TCID_{50}$ é suficiente para infectar metade das pessoas expostas (Couch et al. 1966).

Qual é a diferença entre taxa de fatalidade por caso e taxa de fatalidade por infecção?

As estatísticas globais a respeito de novas infecções e fatalidades estão transbordando em muitos países, fornecendo visões um tanto quanto diferentes quanto à severidade e progressão da pandemia. Avaliar a gravidade da pandemia é fundamental para se traçar diretrizes políticas e, por isso, muito esforço tem sido feito na quantificação. A medida mais comum para a gravidade da doença é a taxa de mortalidade. Uma medida comumente relatada é a taxa de mortalidade por caso (TMC), que é a proporção de óbitos dentro do total de casos diagnosticados. A TMC reportada em países diferentes varia significativamente, de 0,3% a 10%. Diversos fatores-chave afetam a TMC. Primeiro, parâmetros demográficos e práticas associadas a risco aumentado ou reduzido variam muito entre sociedades. Por exemplo, a prevalência de tabagismo, a idade média da população, e a capacidade do sistema de saúde. De fato, a maior parte das pessoas morrendo de SARS-CoV-2 tem alguma condição médica preexistente, como doença cardiovascular e tabagismo (China CDC 2020). Também existe um viés em potencial na estimativa de TMC. Por exemplo, uma tendência em identificar mais os casos graves (viés de seleção) tende a superestimar a TMC. Por outro lado, existe um atraso entre o início

dos sintomas e o óbito, o que pode levar a subestimação da TMC no início da progressão de uma epidemia. Até quando esses fatores são corrigidos, a TMC não nos dá um quadro completo de muitos dos casos uma vez que aqueles com sintomas leves e os assintomáticos não são testados. Portanto, a TMC tende a superestimar a taxa de mortalidade por pessoa infectada, chamada de taxa de mortalidade por infecção (TMI). Geralmente, consegue-se estimar o número total de pessoas infectadas ao testar uma amostragem aleatória para anticorpos anti-virais, cuja presença indica que o paciente foi previamente infectado. Até o momento da escrita, tais testes não estão disponíveis em larga escala, então pesquisadores recorrem a dados gerados a partir de cidadãos estrangeiros retornando para casa vindos de países afetados para substituir tais informações (Verity et al. 2020), ou usam modelos epidemiológicos para estimar o número de casos não documentados (Li et al. 2020). Estes métodos fornecem um vislumbre da real gravidade da doença.

Qual é o tempo de replicação e o tamanho de rompimento viral?

Duas características importantes para o ciclo viral são o tempo que leva para o vírus produzir progênie infecciosa e a quantidade de progênie que cada célula infectada produz. O rendimento de novos vírus por célula infectada e melhor definido em vírus líticos, como aqueles que infectam bactérias (bacteriófagos), pois os eles replicam dentro da célula e subsequentemente rompem a célula para liberar uma "explosão" de progênie. Essa medida é normalmente chamada de "tamanho de rompimento". SARS-CoV-2 não libera sua progênie rompendo a celular, mas sim fazem brotamento contínuo (Park et al. 2020). Mesmo sem haver rompimento, nós podemos estimar a média do número de vírus produzidos por uma única célula infectada. Medir o tempo do ciclo replicativo completo ou o tamanho do rompimento *in vivo* é muito desafiador, e portanto, pesquisadores normalmente recorrem a medição desses valores em cultivo celular. Existem várias formas de estimar essa quantidade, mas a mais comum e simples usa a dinâmica de crescimento em "um-passo". O princípio chave desse método e assegurar que apenas um ciclo replicativo aconteça. Isso é conseguido tipicamente através da infecção de células com um grande número de vírus, de tal forma que cada célula seja infectada deixando, portanto, nenhuma oportunidade para infecções secundárias. Considerando que a entrada do vírus na célula é rápida (estimamos 10 minutos para o SARS-CoV-2), o tempo que leva para produzir a progenia por ser estimado pela quantificação da defasagem entre a inoculação e o aparecimento de novos vírus intracelulares, também conhecido como "período de eclipse". O período de eclipse não conta o tempo que leva para liberar novos vírus da célula. O tempo entre a entrada na célula até o aparecimento do primeiro vírus extracelular, conhecido como "período de latência" (não confundir com o período de latência epidemiológica, ver Glossário), estima a duração do ciclo replicativo completo. O tamanho de rompimento pode ser estimado ao se esperar até que a produção de vírus seja saturada, e então dividindo o rendimento total de vírus pelo número de células infectadas. Enquanto que em ambos os tempos, de ciclo replicativo completo e de tamanho de rompimento, podem variar significativamente em um hospedeiro animal devido a fatores que incluem o tipo de célula infectada e a ação do sistema imune, esses números nos fornecem uma visão quantitativa aproximada do ciclo de vida viral no nível celular.

Referências e trechos

Note que para cerca de 10 dos 45 parâmetros, os valores são da literatura para outros coronavírus. Nós estamos aguardando as medidas correspondentes para o SARS-CoV-2.

Tamanho e conteúdo

Diâmetro: (Zhu et al. 2020) - "micrografias eletrônicas de partículas de 2019-nCoV coradas negativamente geralmente eram esféricas com certo pleomorfismo (Figure 3). Diâmetro variou entre cerca de 60 a 140 nm."

Volume: Usando o diâmetro e assumindo que o vírus e uma esfera

Massa: Usado o volume e densidade de ~ 1 g per mL

Número de trômeros da espícula de superfície: (Neuman et al. 2011) - "Nosso modelo prediz ~90 espículas por partícula."

Tamanho dos trômeros da espícula de superfície: (Zhu et al. 2020) - "Partículas tiveram espículas bastante distintas, cerca de 9 a 12 nm, deram ao vírus uma aparência de coroa solar."

Afinidade de ligação do receptor (K_d): (Walls et al. 2020) - Walls et al. reporta um K_d de ≈1 nM para o domínio de ligação na Tabela 1 usando interferometria de Biolayer com K_{on} de ≈1.5×10⁵ M⁻¹ s⁻¹ e K_{off} de ≈1.6×10⁻⁴ s⁻¹. (Wrapp et al. 2020) - Wrapp et al. reporta K_d de ≈15 nM para a espícula (Fig.3) e ≈35 nM para o domínio de ligação (Fig.4) usando ressonância plasmônica de superfície com K_{on} de ≈1.9×10⁵ M⁻¹ s⁻¹ e K_{off} de ≈2.8×10⁻³ s⁻¹ para a espícula e K_{on} de ≈1.4×10⁵ M⁻¹ s⁻¹ e K_{off} de ≈4.7×10⁻³ s⁻¹ para o domínio de ligação. A principal discordância entre os estudos parece ser o K_{off}.

Membrana (M: 222 aa): (Neuman et al. 2011) - "Usando os dados de espaçamento M para cada vírus (Fig.6C), daria ~1100 M2 de moléculas em média por partícula de SARS-CoV, MHV and FCoV"
Envelope (E: 75 aa): (Godet et al. 1992) - "Baseado na razão molar estimada e assumindo que o virion do coronavírus contém de 100 (Roseto et al., 1982) a 200 espículas, cada uma composta por 3 moléculas S (Delmas and Laude, 1990), pode-se inferir que aproximadamente 15 a 30 cópias da proteína ORF4 são incorporadas no virion do TGEV (Purdue strain)."

Nucleoproteína (364 aa): (Neuman et al. 2011) - "Razões estimadas de proteínas M/ N purificadas de coronavírus variam de cerca de 3M:1N (Cavanagh, 1983; Escors et al. 2001b) a 1M:1N (Hoque and Brian, 1986; Liu and Inglis, 1991), resultando em 730–2200 moléculas de N por virion."

Genoma

Tip: (ViralZone) fs+RNA "Monopartido, linear ssRNA(+) genome"

Tamanho do Genoma: (Wu et al. 2020) - Figura 2

Número de genes: (Wu et al. 2020) - "O genoma do SARS-CoV-2 tem 10 'quadros de leitura aberta' (open reading frames - ORF) (Fig. 2A)." Ou (Wu et al. 2020). - "o genoma do 2019-nCoV foi anotado como tendo 14 ORFs codificando 27 proteínas".

Número de proteínas: (Wu et al. 2020). - "Ao alinhar com a sequência de aminoácidos do SARS PPTab e analisando as características de sítios de clivagem por restrição reconhecidos por 3CLpro e PLpro, nós especulamos que PPTab tenha 14 sítios proteolíticos na PPTab de SARS-CoV-2 (Fig. 2B). PLpro cliva tres sítios em 181–182, 818–819, e 2763–2764 no N-terminal e CLpro corta em outros 11 sítios no C-terminal, e formam 15 proteínas não estruturais"

Taxa de Evolução: (Koyama et al. 2020) - "Taxas de mutação estimadas para SARS, MERS e OC43 mostram grande variação, cobrindo um espaço de 0.27 a 2.38 substituições ×10⁻³ / sítio / ano (10⁻⁶). Evidência recente e ainda não publicada sugere que a taxa de mutação seja da mesma ordem de magnitude para SARS-CoV-2."

Taxa de Mutação: (Sanjuan et al. 2010) - "[vírus da hepatite murina] ... Portanto, a taxa de mutação estimada e corrigida é μ_{mut/c} = 1.9×10⁻⁶ / 0.55 = 3.5 × 10⁻⁶."

Similaridade Genômica: Para todas as espécies exceto pangolin: (Wu et al. 2020) - "após análises filogenéticas e alinhamento de sequências de 23 coronavírus de várias espécies. Nos encontramos tres coronavírus de morcegos (96%, 88% e 88% para Bat-Cov RaTG13, bat-SL-CoVZXC12 e bat-SL-CoVZC45, respectivamente) tem a maior identidade genética com o SARS-CoV-2 (Fig. 1A). Além disso, como mostrado na Fig. 1B, o Bat-Cov RaTG13 exibe a ligação mais próxima com SARS-CoV-2. Essas evidências filogenéticas sugerem que SARS-CoV-2. Pode ter evoluído de CoV de morcegos, especialmente RaTG13. Dentre todos os coronavírus humanos SARS-CoV exibiu a maior identidade genômica (80%) com SARS-CoV-2. E MERS/ isolado NL13845 também tem 50% de identidade com SARS-CoV-2". Para pangolin: (Zhang et al. 2020) - Figure 3

Escala de Tempo da Replicação

Entrada do virion na célula: (Schneider et al. 2012) - "Experimentos prévios revelam que o vírus e internalizado em 15 min" and (Ng et al. 2003) - "Dentro dos primeiros 10 minutos, algumas partículas virais foram internalizadas em vacúolos (seta) que estavam logo abaixo da superfície da membrana plasmática (Fig. 2, setas). ... A observação aos 15 minutos pós infecção (p.i.) não diferiu muito da aos 10 minutos (Fig. 4a)"

Período Eclipse: (Schneider et al. 2012) - "O ciclo replicativo do SARS-CoV desde a adsorção até a liberação de progênie infecciosa leva cerca de 7 a 8 horas (dados não mostrados)" e (Harcourt et al. 2020) - Figura 4 mostra virions sendo liberados após 12-36 horas, mas devido ao fato de ser crescimento em múltiplas etapas, isso representa o limite superior do ciclo replicativo.

Tamanho de rompimento: (Hirano et al. 1976) - "O rendimento de vírus ativos médio por célula foi estimado em cerca de 6–7×10² unidades formadoras de placa." Esse dado e para MHV, mais pesquisas são necessárias para verificar tais valores para SARS-CoV-2.

Célula Hospedeira

Tip: (Shieh et al. 2005) - "Imunohistoquímica e ensaios de hibridização *in situ* demonstraram evidências de que a infecção pelo coronavírus associado a SARS (SARS-CoV) em várias células epiteliais do trato respiratório, predominantemente pneumócitos do tipo II e em macrófagos alveolares do pulmão." e (Walls et al. 2020) - "o SARS-CoV-2 usa ACE2 para entrar nas células alvo" e (Rockx et al. 2020) - "Em macacos infectados com SARS-CoV-2, o vírus é excretado do nariz e garganta em ausência de sinais clínicos, e foram detectados pneumócitos do tipo I e II em focos difusos de dano alveolar e glândulas mucosas da cavidade nasal... No trato respiratório superior, foram encontrados focal 5 ou expressão de antígenos do SARS-CoV-2 localmente extensos em células epiteliais de glândulas mucosas da cavidade nasal (septum e concha) em todos os quatro macacos, sem nenhuma lesão histológica associada (fig. 2)."

Número de células de pneumócitos do Tipo II e macrófagos celulares: (Crapo et al. 1982) - Tabela 4 e (Stone et al. 1992) - Tabela 5

Número de células e volume de células epiteliais em glândulas mucosas: (ICRP 1975) - superfície da área da cavidade nasal, (Tos & Mogensen 1976) e (Tos & Mogensen 1977) - densidade das glândulas mucosas, (Widdicombe 2019) - volume das glândulas mucosas, (Ordoñez et al. 2001) e (Mercer et al. 1994) - volume das células mucosas. Nós dividimos o volume da glândula mucosa pelo volume da célula mucosa para encontrar o número total de células mucosas na glândula mucosa. Nos multiplicamos a densidade de superfície das glândulas mucosas pela área da cavidade nasal para encontrar o número total de glândulas mucosas, e então multiplicamos o número total de glândulas mucosas pelo número de células mucosas por glândula mucosa arrive at the total number of mucous cells in a mucous gland.

Volume dos pneumócitos do Tipo II: (Fehrenbach et al. 1995) - "Morfometria revelou que apesar da variação inter-individual devido a presença de um certo inchaço edematoso, as células estavam dentro da variação normal do tamanho como indicado pela estimativa do volume médio de 763 ± 64 μm³"

Volume do macrófago alveolar: (Crapo et al. 1982) - "macrófagos alveolares foram as maiores células encontradas dentre as populações estudadas, com volume médio de 2,491 μm³"

Concentração

Nasofaringe, Garganta, Fezes e Escarro: (Woelfel et al. 2020) - Figura 2. e (Kim et al. 2020) - Figura 1 e (Pan et al. 2020) - Figura. Nós consideramos a carga viral máxima de cada paciente em esfregaços nasofaríngeos, esfregaços de garganta, fezes ou em escarro.

Resposta de Anticorpos - Soroconversão

Tempo de soroconversão (período de tempo até que anticorpos específicos sejam detectáveis no sangue): (Zhao et al. 2020) - "A soroconversão apareceu sequencialmente para anticorpos, IgM e depois IgG, com tempo médio de 11, 12 e 14 dias, respectivamente" e (To et al. 2020) - "Para 14 pacientes com amostras de soro disponíveis 14 ou mais dias após o início dos sintomas, taxas de soro positividade foram de 94% para anti-NP gG (n=15), 88% para anti-NP IgM (n=14), 100% para anti-RBD IgG (n=16), e 94% para anti-RBD IgM (n=15)"

Manutenção da resposta humoral contra o vírus

(Wu et al. 2007) - "Dentre os 176 pacientes que tiveram Síndrome Aguda Respiratória Grave (severe acute respiratory syndrome (SARS)), anticorpos específicos para SARS foram mantidos por em média 2 anos, e uma redução significativa na porcentagem de positivos para imunoglobulina-G e seus títulos ocorreram no terceiro ano."

Antibody Response - Seroconversion

Seroconversion time (time period until a specific antibody becomes detectable in the blood): (Zhao et al. 2020) - "The seroconversion sequentially appeared for Ab, IgM and then IgG, with a median time of 11, 12 and 14 days, respectively" and (To et al. 2020) - "For 16 patients with serum samples available 14 days or longer after symptom onset, rates of seropositivity were 94% for anti-NP IgG (n=15), 88% for anti-NP IgM (n=14), 100% for anti-RBD IgG (n=16), and 94% for anti-RBD IgM (n=15)"

Maintenance of antibody response to virus: (Wu et al. 2007) - "Among 176 patients who had had severe acute respiratory syndrome (SARS), SARS-specific antibodies were maintained for an average of 2 years, and significant reduction of immunoglobulin G-positive percentage and titers occurred in the third year."

Estabilidade do Vírus ao Ambiente

Meia-vida em superfícies: [\(van Doremalen et al. 2020\)](#) - Para meia-vida, usamos a Tabela Suplementar 1. Para tempo de decaimento de $\sim 10^4$ para ~ 10 TCID₅₀/L⁻¹ ar ou mL⁻¹ meio, usamos a primeira vez em que o título atingiu o limite de detecção para superfícies na Figura 1A. Para aerossóis, usamos 10 meias-vidas (redução de 1000 vezes, de 10^4 para 10, o que significa uma redução de concentração de 10 meias-vidas) da Tabela Suplementar 1. Mais estudos são urgentemente necessários para esclarecer as implicações da estabilidade do vírus na probabilidade de infecções a partir de aerossóis e superfícies.

Estabilidade do RNA em superfícies: [\(Moriarty et al. 2020\)](#) - "O RNA do SARS-CoV-2 foi identificado em uma variedade de superfícies em cabines tanto de passageiros sintomáticos e quanto assintomáticos infectados por até 17 dias após as cabines terem sido desocupadas no Diamond Princess, porém antes de procedimentos de desinfecção ter sido feito (Takuya Yamagishi, Instituto Nacional de Doenças Infecciosas, comunicação pessoal, 2020)."

Virus Environmental Stability

Half life on surfaces: [\(van Doremalen et al. 2020\)](#) - For half-lives we use Supplementary Table 1. For time to decay from $\sim 10^4$ to ~ 10 TCID₅₀/L⁻¹ air or mL⁻¹ medium, we use the first time titer reached detection limit in Figure 1A for surfaces. For aerosols, we use ten half-life values (1000-fold decrease from 10^4 to 10, meaning 10 halvings of concentration) from Supplementary Table 1. More studies are urgently needed to clarify the implications of virion stability on the probability of infection from aerosols or surfaces.

RNA stability on surfaces: [\(Moriarty et al. 2020\)](#) - "SARS-CoV-2 RNA was identified on a variety of surfaces in cabins of both symptomatic and asymptomatic infected passengers up to 17 days after cabins were vacated on the Diamond Princess but before disinfection procedures had been conducted (Takuya Yamagishi, National Institute of Infectious Diseases, personal communication, 2020)."

Progressão da Infecção "Característica" em um Único Paciente

Número básico de reprodução R_e: [\(Li et al. 2020\)](#) - "Nossa estimativa média do número efetivo de reprodução, Re - equivalente ao número básico de reprodução (R0) no início da epidemia - é 2,38 (95% CI: 2,04-2,77)" e [\(Park et al. 2020\)](#) - "Nosso R0 estimado da distribuição agrupada teve média de 2.9 (95% CI: 2.1-4.5)."

Período Latente (da infecção ao início da transmissão): [\(Li et al. 2020\)](#) - "Em adição, a estimativa média dos períodos de latência e infecciosidade foram de aproximadamente 3,69 e 3,48 dias, respectivamente." e Tabela 1 e [\(He et al. 2020\)](#) - Usamos o tempo que demora para a infectividade atingir metade do seu pico, que acontece dois dias antes do início dos sintomas, de acordo com a Figura 1b. Uma vez que os sintomas surgem após 5 dias (ver período de incubação), isso significa

Período de Incubação (da infecção aos sintomas): [\(Lauer et al. 2020\)](#) - "O período de incubação médio foi estimado em 5.1 dias (95% CI, 4.5 a 5.8 dias), e 97.5% daqueles que desenvolvem sintomas o fazem dentro de 11.5 dias (CI, 8.2 a 15.6 dias) de infecção. Essas estimativas implicam que, com suposições conservadoras, 101 a cada 10 000 casos (99o percentil, 482) irão desenvolver sintomas após 14 dias de monitoramento ativo ou quarentena." e [\(Li et al. 2020\)](#) - "o período de incubação média foi de 5.2 dias (95% intervalo de confiança [CI], 4.1 to 7.0), com o percentil 95o da distribuição em 12.5 dias."

Período de Infecciosidade (sobreposto parcialmente ao período de latência): [\(Li et al. 2020\)](#) - "Em adição, a estimativa média dos períodos de latência e infecciosidade foram de aproximadamente 3,69 e 3,48 dias, respectivamente." e Tabela 1 e [\(He et al. 2020\)](#) Nós quantificamos o intervalo entre a metade da infecciosidade máxima do perfil de infecciosidade na Figura 1b.

Duração da Doença: [\(WHO 2020\)](#) - "Usando dados preliminares disponíveis, o tempo médio do início da recuperação clínica de casos leves e de aproximadamente 2 semanas e de 3-6 semanas para pacientes graves ou críticos."

Tempo até diagnóstico: [\(Xu et al. 2020\)](#) - Usamos dados de casos com momento do início dos sintomas e a data da confirmação do caso e calculamos o tempo médio de intervalo entre essas duas datas.

Taxa da Mortalidade por Caso: [\(ECDC distribuição geográfica dos casos em 29/03/2020\)](#) - Usamos os dados de todos os países com mais de 50 casos fatais e calculamos a Taxa de Mortalidade por Caso bruta e não-correlacionada para cada país. A extensão representa as taxas mais altas e mais baixas observadas.

Taxa da Mortalidade por Infectado: [\(Verity et al. 2020\)](#) - "Obtivemos uma TMI total para a China de 0,66% (0,39-1,33%)" e [\(Ferguson et al. 2020\)](#) - "A TMI estimada de Verity et al. 12 foi ajustada para considerar uma taxa de ataque não-uniforme, dando uma TMI total de 0,9% (95% intervalo creditável, 0,4-1,4%)."

"Characteristic" Infection Progression in a Single Patient

Basic reproductive number, R_e: [\(Li et al. 2020\)](#) - "Our median estimate of the effective reproductive number, Re—equivalent to the basic reproductive number (R0) at the beginning of the epidemic—is 2.38 (95% CI: 2.04–2.77)" and [\(Park et al. 2020\)](#) - "Our estimated R0 from the pooled distribution has a median of 2.9 (95% CI: 2.1–4.5)."

Latent period (from infection to being able to transmit): [\(Li et al. 2020\)](#) - "In addition, the median estimates for the latent and infectious periods are approximately 3.69 and 3.48 days, respectively," and Table 1 and [\(He et al. 2020\)](#) - We use the time it takes the infectiousness to reach half its peak, which happens two days before symptom onset based on Figure 1b. As symptoms arise after 5 days (see incubation period), this means the latent period is about 3 days.

Incubation period (from infection to symptoms): [\(Lauer et al. 2020\)](#) - "The median incubation period was estimated to be 5.1 days (95% CI, 4.5 to 5.8 days), and 97.5% of those who develop symptoms will do so within 11.5 days (CI, 8.2 to 15.6 days) of infection. These estimates imply that, under conservative assumptions, 101 out of every 10 000 cases (99th percentile, 482) will develop symptoms after 14 days of active monitoring or quarantine." and [\(Li et al. 2020\)](#) - "The mean incubation period was 5.2 days (95% confidence interval [CI], 4.1 to 7.0), with the 95th percentile of the distribution at 12.5 days."

Infectious period (partially overlaps latent period): [\(Li et al. 2020\)](#) - "In addition, the median estimates for the latent and infectious periods are approximately 3.69 and 3.48 days, respectively." and Table 1 and [\(He et al. 2020\)](#) - We quantify the interval between half the maximal infectiousness from the infectiousness profile in Figure 1b.

Disease duration: [\(WHO 2020\)](#) - "Using available preliminary data, the median time from onset to clinical recovery for mild cases is approximately 2 weeks and is 3-6 weeks for patients with severe or critical disease"

Time until diagnosis: [\(Xu et al. 2020\)](#) - We used data on cases with known symptom onset and case confirmation dates and calculated the median time delay between these two dates.

Case Fatality Rate: [\(ECDC geographic distribution of cases from 29/03/2020\)](#) - We use data from all countries with more than 50 death cases and calculate the uncorrected raw Case Fatality Rate for each country. The range represents the lowest and highest rates observed.

Infected Fatality Rate: [\(Verity et al. 2020\)](#) - "We obtain an overall IFR estimate for China of 0.66% (0.39%, 1.33%)" and [\(Ferguson et al. 2020\)](#) - "The IFR estimates from Verity et al. 12 have been

adjusted to account for a non-uniform attack rate giving an overall IFR of 0.9% (95% credible interval 0.4%-1.4%)."

Reconhecimentos

We thank Uri Alon, Niv Antonovsky, David Baltimore, Rachel Banks, Arren Bar Even, Naama Barkai, Molly Bassette, Menalu Berihoon, Biana Bernshtein, Pamela Bjorkman, Cecilia Blikstad, Julia Borden, Bill Burkholder, Griffin Chure, Lillian Cohn, Bernadeta Dadonaite, Emmie De wit, Ron Diskin, Ana Duarte, Tal Einav, Avigdor Eldar, Elizabeth Fischer, William Gelbart, Alon Gildoni, Britt Glausinger, Shmuel Gleizer, Dani Gluck, Soichi Hirokawa, Greg Huber, Christina Hueschen, Amit Huppert, Shalev Itzkovitz, Martin Jonikas, Leeat Keren, Gilmor Keshet, Marc Kirschner, Roy Kishony, Amy Kistler, Liad Levi, Sergei Maslov, Adi Millman, Amir Milo, Elad Noor, Gal Ofir, Alan Perelson, Steve Quake, Itai Raveh, Andrew Rennekamp, Tom Roeschinger, Daniel Rokhsar, Alex Rubinsteyn, Gabriel Salmon, Maya Schuldiner, Eran Segal, Ron Sender, Alex Sigal, Maya Shamir, Arik Shams, Mike Springer, Adi Stern, Noam Stern-Ginossar, Lubert Stryer, Dan Tawfik, Boris Veitman, Aryeh Wides, Tali Wiesel, Anat Yarden, Yossi Yovel, Dudi Zeevi, Mushon Zer Aviv, e Alexander Zlokapa pela resposta positiva ao manuscrito. As figuras foram criadas usando Biorender.

Traduzido por:

- Camila Freze Baez, PhD. Gerst lab (Weizmann Institute of Science)