

OTRO DESAFIO DE LA NATURALEZA: EL NUEVO CORONAVIRUS VIROLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA DEL SARS-COV-2

ANOTHER CHALLENGE OF NATURE: THE NEW CORONAVIRUS

VIROLOGY AND PHYSIOPATHOLOGY OF SARS-CoV-2

Dra. Gema Pérez A.¹, Dra. Camila Cordero R.², Dr. Luis Fidel Avendaño C.³

1.- Pediatra Neumóloga, Hospital Exequiel González Cortés y Clínica Vespucio, Universidad Finis Terrae y Universidad San Sebastián.

2.- Pediatra, Clínica Vespucio.

3.- Pediatra y Virólogo. Profesor Titular. Miembro Honorario Academia Chilena de Medicina. Programa de Virología. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

ABSTRACT

The recent outbreak of emerging severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) disease (COVID-19) has been brought to global attention in the search of knowledge about the virus and its pathogenesis. The immune response is essential to control and eliminate the infection, however, maladjusted immune responses may result in severe disease pathophysiology. Gaining a deeper understanding of the interaction between SARS-CoV-2 and the immune systems of the hosts may help us anticipate the development of persistent pulmonary inflammation and, why not, be the first step to therapeutic success and trying to save more lives. In this review, we provide an update on CoV virology and our vision of pathogenesis understanding it from the stages of infection, without forgetting the cytokine storm resulting from the interaction of the virus with ACE2 receptors widely distributed in the body.

Key Words: SARS-COV-2, immune response, ACE2 receptors, cytokines.

RESUMEN

La reciente emergencia de síndrome de distrés respiratorio agudo producido por coronavirus 2 (SARS-CoV-2), enfermedad denominada COVID-19 ha traído la atención mundial a la búsqueda de conocimiento sobre este virus y su patogenia. La respuesta inmune es esencial para controlar y erradicar la infección, sin embargo, las respuestas inmunes descontroladas pueden resultar en la fisiopatología de la enfermedad grave. Lograr una comprensión más profunda de la interacción entre SARS-COV-2 y el sistema inmune de los huéspedes podría ayudar a anticiparnos al desarrollo de una inflamación pulmonar persistente causada por el SARS-CoV-2, y por qué no, ser la puerta de entrada al éxito terapéutico e intentar salvar mayor número de vidas. En esta revisión, proporcionamos una actualización sobre la virología y nuestra visión de la patogenia, entendiéndola desde las fases o etapas de la infección, sin olvidar el estallido de citoquinas resultantes de la interacción del virus con los receptores ACE2 ampliamente distribuidos en el organismo.

Palabras Clave: SARS-COV2, respuesta inmune, Receptores ACE2, citoquinas.

INTRODUCCIÓN

La naturaleza – sin elucubrar sobre la potencial participación de Dios o el Diablo – ha puesto otra vez en problemas a la humanidad, desafiándola para observar cómo soluciona la emergencia de un virus con capacidad

pandémica. Desde la antigüedad se han descrito muchas pandemias – peste bubónica, viruela, poliomielitis, influenza, HIV/SIDA, etc. – que han causado millones de muertes. Ahora, en este mundo moderno está surgiendo un nuevo agente infeccioso que pone en jaque a la organización del mundo, en cuanto a entidades científicas, sistemas de salud, economía, producción, organizaciones religiosas, etc. en tanto que la defensa inmediata parece depender de las conductas del ser humano.

En efecto, ya había emergido en 2002 desde Asia un coronavirus denominado SARS-CoV (por el cuadro clínico que produce, síndrome respiratorio agudo severo),

Correspondencia:

Dra. Gema Pérez Alarcón
Hospital Exequiel González Cortés
Dirección Gran Avenida José Miguel Carrera Nro 3300 - San Miguel
Fono 225765650
gema.perez@clinicavespucio.cl.

transmisible por vía respiratoria, con letalidad de 9.5%, pero afortunadamente poco contagioso, que abarcó 24 países. Sólo con medidas de contención comunitaria se logró "cerrar el brote" el 2004 y la consecuente desaparición del virus.

El 2009 emergió una nueva pandemia, ahora por virus influenza A, (2009 Hsw1N1), fácilmente transmisible vía aérea y no muy letal. La población mayor de 60 años tenía inmunidad parcial por contactos anteriores; se disponía de antivirales y en menos de un año se desarrolló una vacuna. Hay controversias sobre el número de muertes provocadas, entre 18.337 (OMS) y 200.000 (1), pero al cabo de un año el virus quedó para siempre como "virus estacional" (virus influenza A H1N1 2009).

La nueva versión del coronavirus (SARS-CoV-2 o 2019-nCoV) tiene la particularidad de haber sido tempranamente identificada, lográndose implementar una técnica de diagnóstico altamente sensible y específica desde el comienzo. Entonces, estamos observando la generación de una pandemia desde su inicio, hecho nunca antes registrado. Es una prueba para la humanidad ver cómo se organizan la ciencia, la salubridad, el comercio, la industria, es decir, la comunidad entera, para superar este desafío. Por ahora el costo lo están asumiendo con sus vidas los de mayor edad portadores de patologías crónicas.

Nos corresponde referirnos a los rubros de ciencia, donde comentaremos los aspectos virológicos y patogénicos.

ESTRUCTURA, REPLICACIÓN

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia Coronaviridae, que comprende 4 subfamilias (α , β , γ , y δ) que afectan a aves y mamíferos (camellos, ganado porcino y bovino, gatos, perros y murciélagos). Siete especies pueden comprometer al ser humano: cuatro (hCoV-229E, hCoV-NL63, hCoV-OC43 y hCoV-HKU1) causan infecciones respiratorias altas (resfrío común) y tres (SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2) pueden además provocar infecciones respiratorias bajas graves con alta letalidad (2).

El SARS-CoV-2 mide entre 60- 140 nm, tiene un genoma de una hebra de ARN de polaridad positiva(3,4), de 30.000 nucleótidos, con capacidad de codificar 5 proteínas estructurales: S, E, M, sM, N y al menos 8 proteínas funcionales no estructurales. Entre estas últimas destacan una ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp), para la replicación viral y dos proteasas (3CLpro) y (PLpro) encargadas de cortar la poliproteína formada inicialmente; una helicasa y otras. Se cree que la PLpro podría inhibir al interferón 3 y el NF-kB, induciendo inmunosupresión.

El virus posee una envoltura lipoproteica, de donde emerge la proteína S (spike) que actúa como ligando para la adsorción al epitelio respiratorio y le da la apariencia de corona al microscopio electrónico. La presencia de esta envoltura determina la labilidad del virus al medio ambiente, donde sobrevive entre 30 min. y cuatro días, dependiendo de las condiciones. Figura 1. (5)

Las células de la mucosa respiratorias expresan

en su membrana el receptor ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) que es un punto de anclaje para el SARS-CoV-2 mediante la proteína S permitiendo la adsorción viral, lo que puede ser facilitado por una serina-proteasa celular, TMPRSS2. Por criomicroscopía electrónica se ha determinado que la afinidad del SARS-CoV-2 por este receptor es 10 a 20 veces mayor que el SARS-CoV, lo que podría explicar su mayor transmisibilidad (5,6,7,8).

Una vez que el virus penetra a la célula se libera su ARN +, que actúa como mARN y genera una poliproteína que luego es cortada por proteasas virales para generar proteínas funcionales que repliquen el ARN+ genómico y formen mARN subgenómicos que se traduzcan en proteínas estructurales. Al final de este proceso que transcurre en el citoplasma, el ARN+ genómico se ensambla con las proteínas estructurales (N,M,E,S) (Figura 2) en una vesícula y es exocitado de la célula logrando diseminación local y sistémica (6,7). En la Tabla 1 se mencionan las principales proteínas que intervienen en el ciclo replicativo que podrían ser blanco de acciones antivirales.

La ARN polimerasa del virus influenza se caracteriza por ser muy "infiel" porque comete errores en la transcripción que pueden generar mutaciones, mientras que el coronavirus tiene una variabilidad genómica menor, a pesar de generar cambios. Así, si bien hay muchos hospederos animales de coronavirus, especialmente murciélagos, el salto de especie y la capacidad de transmitirse entre humanos se ha dado en muy contadas ocasiones, a diferencia de los virus influenza, que están frecuentemente atravesando la barrera de especie, aunque rara vez logran establecer una fácil transmisión de segunda y tercera generación entre seres humanos, porque necesitarían muchas más mutaciones accesorias.

PATOGENIA DEL SARS-CoV-2

La mayor parte de los estudios que existen y de la información descrita se ha extrapolado de la infección por SARS-CoV, responsable de la pandemia producida 2002 a 2004, por lo que hacen falta estudios específicos para determinar la patogenia a cabalidad de este virus en particular (9).

Creemos que explicar la patogenia de la enfermedad por etapas o fases permite una mejor comprensión para los clínicos de la fisiopatología de COVID-19, involucrando la respuesta inmune en cada una de esas etapas con el fin de intentar reconocer oportunidades de control y tratamiento de la actual pandemia. (Figura 3) (10).

ETAPA I (leve o infección temprana): el SARS-CoV-2 se transmite por gotitas vía respiratoria, y por contacto directo produciendo la inoculación del virus en la mucosa respiratoria donde el SARS-CoV-2 mediante la proteína de membrana S se une al receptor de la ACE2, presente predominantemente en epitelio respiratorio, donde inicia la replicación viral primaria. La mayoría de los pacientes logran contener la infección en este punto, dando lugar a una enfermedad autolimitada leve con pronóstico excelente.

Esta etapa clínicamente implica un período de

incubación y síntomas leves no específicos, como malestar general, fiebre y tos seca. El diagnóstico en esta etapa es por PCR y pruebas inmunológicas y el tratamiento se basa en alivio sintomático. Eventualmente podría utilizarse terapia antiviral como remdesivir, que podría reducir la duración de los síntomas, minimizar el contagio y prevenir la progresión de la enfermedad (9,10,11).

ETAPA II (moderada o con compromiso pulmonar):

en esta etapa el virus alcanza el tracto respiratorio inferior estableciéndose la afección pulmonar, con replicación viral e inflamación localizada. Patológicamente a nivel pulmonar se ha demostrado daño bilateral difuso con exudados fibromixoides, formación de membrana hialina, infiltrados inflamatorios intersticiales compuestos predominantemente por linfocitos. En espacios intra-alveolares se han identificado sincicios multinucleados indicando cambios citopatológicos de tipo viral. La respuesta inflamatoria del huésped produce daño localizado (9,10,11,12).

Clínicamente en esta etapa se desarrolla una neumonía viral, con tos, fiebre y posiblemente hipoxia (lo que diferencia etapa IIa y IIb). Alteración de la imagenología torácica y de exámenes de laboratorio. La mayoría de los pacientes requiere hospitalización. El tratamiento consiste en soporte y podrían considerarse antivirales. El uso de corticoides se ha planteado a partir de la etapa IIb (10,13,14)

ETAPA III (grave o hiperinflamación sistémica):

Una minoría de pacientes con COVID-19 pasará a la tercera y más grave etapa de la enfermedad, que se manifiesta como un síndrome de hiperinflamación sistémica extrapulmonar. (Figura 4) (11). Esta respuesta inflamatoria se ha dividido en 2 fases:

Respuesta inflamatoria primaria: ocurre tempranamente luego de la infección viral. Se caracteriza por: 1. Replicación viral rápida y activa que puede llevar a apoptosis masiva de células epiteliales y endoteliales con la consiguiente fuga vascular, desencadenando la liberación de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias. Además, podría causar piroptosis en macrófagos y linfocitos, lo que junto con los infiltrados linfocitarios pulmonares, explican la linfopenia periférica. 2. Downregulation de ACE2 producido por la proteína S de membrana del SARS-CoV-2, llevando a disfunción del SRA con amplificación de la inflamación y permeabilidad vascular, el consecuente edema pulmonar y disminución de la función pulmonar. 3. La respuesta antiviral del huésped, que puede llevar al aumento de citoquinas, daño celular, apoptosis y piroptosis. La mayoría de los pacientes pueden soportar e incluso retroceder la inflamación producida en esta etapa.

Respuesta inflamatoria secundaria: inicia con la generación de inmunidad adaptativa y aparición de anticuerpos neutralizantes (NAb), siendo uno de los más importantes la IgG anti-S que puede ser causante de daño pulmonar persistente, aumentando el riesgo de muerte. Aún no se conoce completamente el mecanismo por el cual

produce el daño, se ha propuesto que la IgG anti-S altera la polaridad de macrófagos promoviendo la producción y acumulación de MPC-1 y IL-8 a nivel pulmonar. El inicio de esta actividad inflamatoria parece estar mediada por la unión del complejo formado por IgG anti-S + virus, con el receptor Fc de macrófagos, que al bloquear el Fc reduce la producción de citoquinas inflamatorias. También es posible que la formación de este complejo active la vía clásica del sistema del complemento, llevando a mayor daño celular (10,13,15). Esto produciría respuesta inflamatoria sistémica incontrolable, producida por una tormenta de citoquinas producto de la liberación de grandes cantidades de citoquinas pro-inflamatorias (IFN- α , IFN- γ , IL-1b, IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF β , etc.) y quimioquinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.). Esto desencadena un violento ataque del sistema inmune al organismo, causando SDRA y falla multiorgánica, y finalmente la muerte (10,11,13,15)

Otro mecanismo descrito en esta etapa es la disfunción inmunológica asociada a células periféricas T CD4 y CD8 muestran reducción e hiperactividad en pacientes con cuadros severos, que determina concentraciones elevadas de T CD4 proinflamatorias y gránulos citotóxicos de T CD8, sugiriendo sobreactivación de células T (11,13).

De qué dependen las diferentes respuestas del hospedero, aún es un misterio. Algunos estudios especulan un posible mecanismo de amplificación de la infección viral dependiente de anticuerpos (ADE) que ocurre en algunos pacientes con actividad humoral sub-óptima que no es capaz de remover el virus por completo, generando replicación viral e inflamación persistente.

Clínicamente en esta etapa, se pueden detectar shock, insuficiencia respiratoria e incluso colapso cardiopulmonar. La afectación de los órganos sistémicos, incluso la miocarditis, se manifestaría durante esta etapa. Los marcadores de inflamación sistémica suelen ser elevados. La terapia debe ser individualizada dependiendo del uso de agentes inmunomoduladores. El uso de corticosteroides puede justificarse en conjunto con el uso de inhibidores de citoquinas como tocilizumab (inhibidor de IL-6) o anakinra (antagonista del receptor de IL-1), así como el uso de inmunoglobulina intravenosa (IGIV) (10). En general, el pronóstico y la recuperación de esta etapa crítica de la enfermedad es malo, y el rápido reconocimiento y despliegue de dicha terapia puede tener el mayor rendimiento. Otros estudios han considerado un rol protagónico al interferón a nivel pulmonar, que pareciera estar mucho más disminuido en SARS-CoV-2 que lo visto previamente en SARS-CoV, pero se desconoce el mecanismo de producción de esa situación (17). Si bien la etapificación de la fisiopatología establece una clara instancia de tratamiento, este punto será desarrollado en detalle en el artículo de Manejo y Tratamiento de Covid-19.

Se han postulado varias teorías sobre la evolución favorable de CoVID-19 en niños, además del menor número de receptores ACE2, se describe que la carga viral aumenta exponencialmente con la edad y al tener una respuesta inmune innata menos evolucionada lo que disminuiría la posibilidad de hiperinflamación (15,18).

CONCLUSIONES

La infección por SARS-CoV-2 produce una infección pulmonar aguda, en la cual el individuo se mejora o fallece, terminando así relación virus-hospedero. Debe recordarse que la pandemia del 2002 se controló con medidas de contención comunitaria.

No queda tan claro si los anticuerpos IgG anti-S facilitan la replicación viral en los órganos target y la inflamación sistémica. Existen estudios que aseguran que los anticuerpos neutralizantes serían útiles en el control del virus. Otros estudios atribuyen una aparición temprana del interferón

en las formas leves y cuando se retrasa determinaría una evolución más grave de la enfermedad. No se puede dejar de lado los factores genéticos, epigenéticos y raciales involucrados, demostrados en las diferentes formas de presentación y evolución de la enfermedad a nivel mundial; sumados a su capacidad de transmisibilidad más rápida que el SARS-CoV.

Aún se necesita conocer más del mecanismo molecular y patogénico del SARS-CoV-2, virus que ha logrado desconcertar al sistema inmune, investigadores y clínicos.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Figura 1. Estructura del SARS-CoV-2. El virión tiene una nucleocápside compuesta por RNA genómico y proteína fosforilada (N), que se encuentra dentro de la bicapa fosfolipídica (M) y cubierta por glicoproteína spike (S). La proteína de membrana hemaglutinina-esterasa (HE) y la proteína envelope (E) se encuentran entre las proteínas S de la envoltura viral. (Imagen de Yuefei, Jin, Modificada y adaptada).

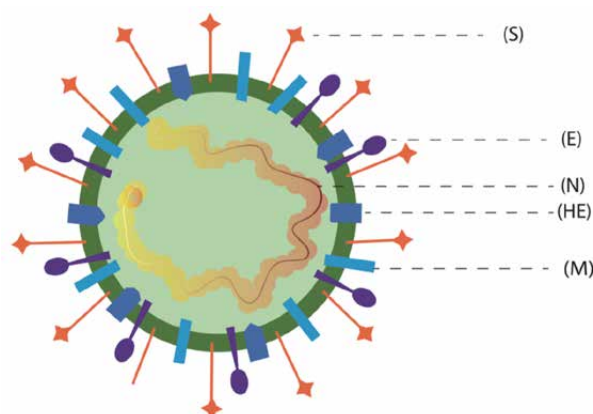


Tabla 1. Proteínas claves en el proceso de multiplicación de coronavirus y en el potencial desarrollo de antivirales (6).

Proteína blanco	Nombre	Papel	Droga
3CL pro	Principal proteasa de coronavirus	Corte de la poliproteína viral en unidades funcionales	Lopinavir
PL pro	Proteasa tipo papaína	Corte de la poliproteína viral en unidades funcionales	Lopinavir
RdRp	ARN polimerasa ARN dependiente	Replicación del genoma viral	Remdesivir, Ribavirina
Proteína S	Glicoproteína S (spike)	Ligando viral que se une al receptor ACE2	Arbidol
TEMPRSS2	Proteasa de transmembrana serina 2	Proteasa celular que favorece la adsorción	Cariostat mesylate
ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2	Receptor celular para la proteína S	Arbidol
AT2	Receptor de angiotensina AT-2	Efactor relacionado con regulación de la presión arterial	L-163491

Figura 2. Replicación del coronavirus. El virus se adsorbe con su ligando, la proteína S, al receptor ACE2 de la célula y penetra a una vesícula endosómica; su genoma de ARN+ es liberado y traducido para la formación de una poliproteína. Luego ocurren dos procesos: el ARN+ se replica formando largas hebras de ARN+ que serán los nuevos genomas virales y además forma sub-genomas de hebras ARN+. Estos últimos actuarán como mensajeros para la traducción a proteínas estructurales (N,M,E,S) en el sistema reticular y el Golgi. Finalmente los componentes se ensamblan en una vesícula endosómica y son transportados a la membrana, desde donde son liberados al exterior. (Imagen de Liu et al, modificada y adaptada).

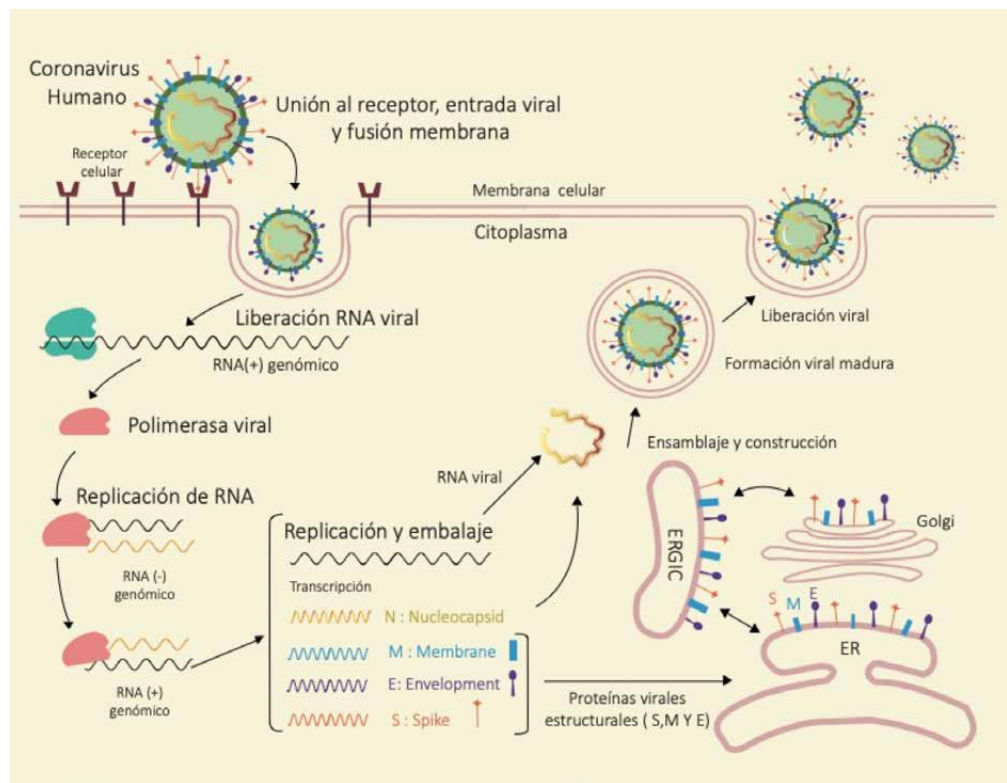


Figura 3. Clasificación de los estadios patológicos y clínicos de CoVID-19. Se muestran 3 fases progresivas de CoVID-19, con signos y síntomas asociados. PCR: proteína C reactiva; IL: interleuquina. LDH: lactato deshidrogenasa. (Imagen original de Hasan K. adaptada y modificada).

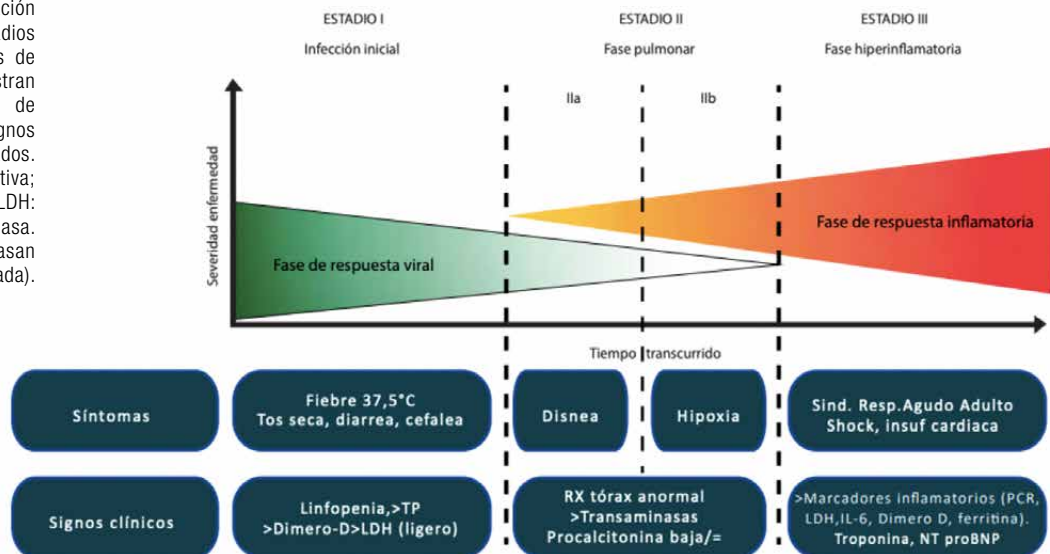
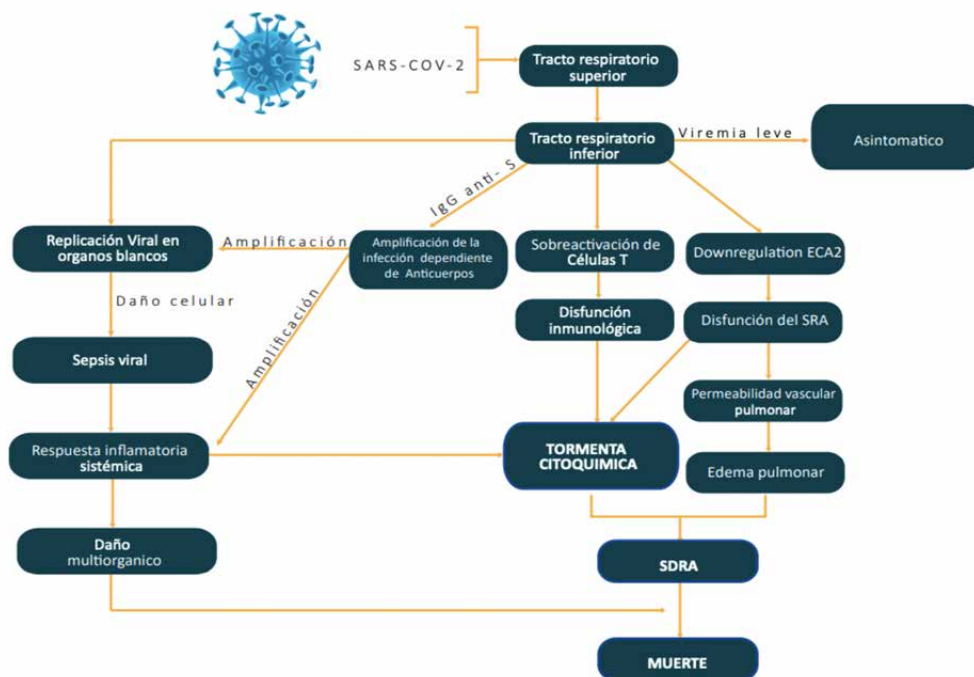


Figura 4. Patogenia postulada de infección por SARS-COV-2. SRA: sistema renina-angiotensina. SDRA: síndrome de dificultad respiratoria aguda. (Imagen de Yuefei, Jin, modificada y adaptada).



REFERENCIAS

1. LePan N. Visualizing the history of pandemics. <https://www.visualcapitalist.com/history-of-pandemics-deadliest/>
2. Avendaño L.F. Cap.12. Infecciones virales respiratorias. En: Avendaño LF, Ferrés M, Luchsinger V, Spencer E. *Virología Clínica. Mediterráneo 2ª Ed.* Santiago 2018.
3. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al., Coronavirus Investigating, and Research Team. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
4. Calvo C, et al. Recomendaciones sobre el manejo clínico de la infección por el «nuevo coronavirus» SARS-CoV2. Grupo de trabajo de la Asociación Española de Pediatría (AEP). *An Pediatr (Barc).* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2020.02.001>
5. Masters PS, Perlman S. Chapter 28. Coronaviridae. En: Knipe DM, Howley PM. *Fields Virology Wolster Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.* Philadelphia. 6th Ed. 2013 pp 825
6. Liu C, Zhou Q, Li Y et al. Research and development on therapeutic agents and Vaccines for COVID 19 and related human coronavirus diseases. *ACS.* <https://dx.doi.org/10.1021/acscentsci.0c00272>
7. Peng X, Xu X, Li Y, Cheng L, Zhou X, Ren B. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in clinical practice. *International Journal of Oral Science* 2020; 12:9. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-075-9>
8. Cortegiani, G. Ingoglia, M. Ippolito, et al., A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19, *Journal of Critical Care*, <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.03.005>
9. Li-sheng Wang, Yi-ru Wang , Da-wei Ye , Qing-quan Liu , A review of the2019 Novel Coronavirus (COVID-19) based on current evidence. *International Journal of Antimicrobial Agents* (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105948>.
10. Staging Proposal. Siddiqi, Hasan K. et al. COVID-19 Illness in Native and Immunosuppressed States: A Clinical-Therapeutic The *Journal of Heart and Lung Transplantation*, Volume 0, Issue 0
11. Jin Y, Yang H , Ji W , Wu W, Chen S, Zhang W, Duan G. *Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19.* *Viruses.* 2020 Mar 27;12(4). pii: E372. doi: 10.3390/v12040372.
12. Wan, Y, Shang, J, Graham, R, Baric, RS, and Li, F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *Journal of Virology.* 2020; <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20>
13. Fu, Y., Cheng, Y. & Wu, Y. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Viol. Sin.* (2020). <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00207-4>
14. Russell, CD, Millar, JE, and Baillie, JK. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *The Lancet.* 2020; 395: 473–475 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)

- org/10.1016/s0140-6736(20)30317-2
15. Qin, C, Zhou, L, Hu, Z et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. December 2020; <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
 16. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. Published online March 13, 2020. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994.
 17. Hin Chu, Jasper Fuk-Woo Chan, Yixin Wang, Terrence Tsz-Tai Yuen, Yue Chai, Yuxin Hou, Huiping Shuai, Dong Yang, Binjie Hu, Xiner Huang, Xi Zhang, Jian-Piao Cai, Jie Zhou, Shuofeng Yuan, Kin-Hang Kok, Kelvin Kai-Wang To, Ivy Hau-Yee Chan, Anna Jinxia Zhang, Ko-Yung Sit, Wing-Kuk Au, Kwok-Yung Yuen, Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: an ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19, *Clinical Infectious Diseases* ciaa410, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa410>
 18. Kelvin Kai-Wang To, Owen Tak-Yin Tsang, Wai-Shing Leung, Anthony Raymond Tam, Tak-Chiu Wu, David Christopher Lung, Cyril Chik-Yan Yip, Jian-Piao Cai, Jacky Man-Chun Chan, Thomas Shiu-Hong Chik, Daphne Pui-Ling Lau, Chris Yau-Chung Choi, Lin-Lei Chen et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The lancet infectious diseases*. March 23, 2020 DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)