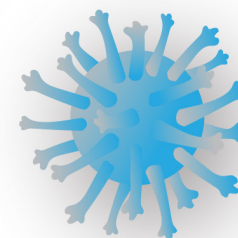
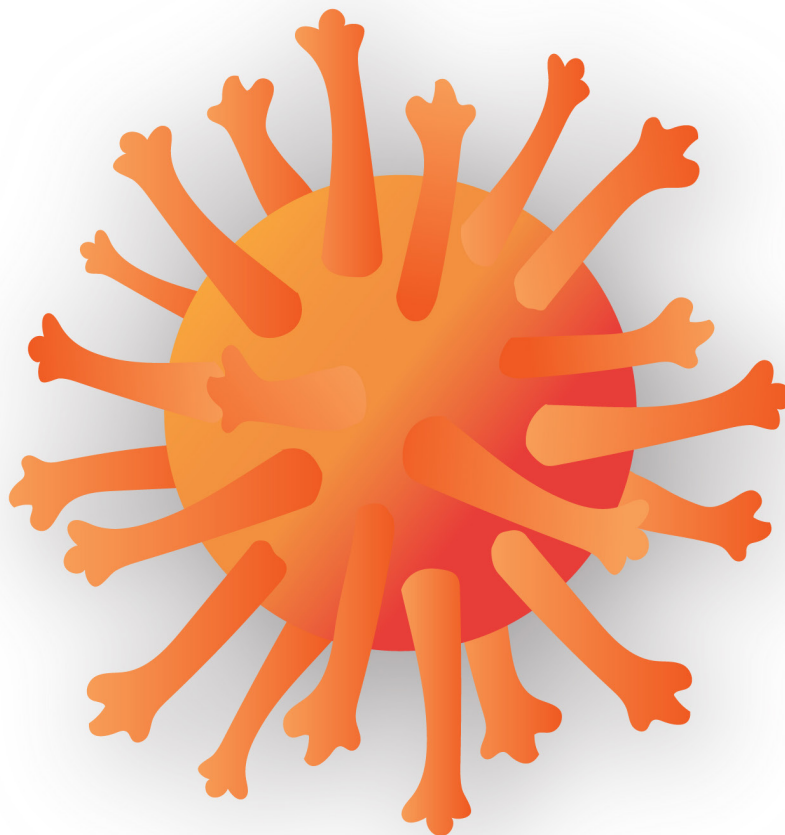
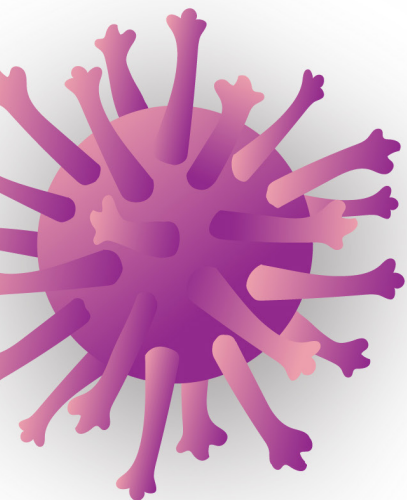
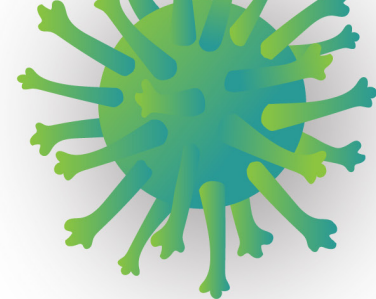


CORONAVÍRUS

dos animais e do Homem



EVOLUÇÃO E PATOGENIA DO VÍRUS E PREVENÇÃO DE DOENÇA

Coordenação da edição: Margarida Duarte e Teresa Nogueira

FICHA TÉCNICA

EDIÇÃO:

INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.
Dezembro de 2020

ISBN 978-972-579-055-7

COORDENAÇÃO DA EDIÇÃO:

Margarida Duarte (INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.; CIISA-FMV - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa);

Teresa Nogueira (INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.; cE3c - Centro de Ecologia, Evolução e Alterações Ambientais, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa)

AUTORES:

Margarida Duarte (INIAV I.P., CIISA-FMV); Teresa Nogueira (INIAV I.P., cE3c-FCUL); Ana Botelho, Sandra Cavaco (INIAV I.P.); Ana Duarte (FMV, ULisboa, CIISA-FMV); Patrícia T. Santos (DGAV); Rita de Sousa (INSA, I. P.); Sara Portela (NHS, Harrogate and District NHS Foundation Trust, UK)

DESIGN GRÁFICO E ILUSTRAÇÕES:

Celina Botelho

PREFÁCIO

Este livro é fantástico! Porque está bem escrito, é cientificamente rigoroso, bem organizado e com grafismo elegante. Mas o que mais me impressiona é esta visão integrada da patogénese e ecologia do coronavírus que este grupo de veterinários, biólogos e médicos captam tão bem: entender as doenças infecciosas nas várias espécies animais e sua relação dinâmica com os seres humanos.

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, pois precisam de um hospedeiro para se replicar e disseminar. Por isso têm evoluído em paralelo com todas as outras formas de vida desde a sua origem, e quando surgem num novo hospedeiro não o fazem por geração espontânea, mas sim porque ultrapassaram a barreira da espécie à qual estavam limitados. Foi exatamente o que aconteceu com a atual pandemia por SARS-CoV-2. O vírus ultrapassou a barreira de uma espécie animal, provavelmente uma espécie de morcego ainda não identificada, e ganhou a capacidade de infectar o Homem.

E agora voltou a saltar esta barreira, dos humanos para os visons. E nos visons, por comparação com o que acontece nos humanos, o SARS-CoV-2 é mais virulento. Mas o percurso não fica por aqui, porque a partir dos visons ocorreu novamente infeção de humanos. E não sabemos ainda se os visons vão passar o vírus para outros animais. Esta sucessão de acontecimentos não é senão a natureza a seguir seu curso, tudo está direta ou indiretamente relacionado e constitui uma das maiores lições desta pandemia: o ser humano tem que respeitar a natureza.

Voltando a este livro e viajando no tempo, consigo imaginar-me, ainda estudante, empolgado com a sua leitura, numa escola secundária ou numa universidade, da mesma forma como me empolguei hoje, já um cientista feito e académico amoldado. Este é um livro para todas as idades, para os fascinados pelo tema das doenças infecciosas. Será recomendado por professores e académicos que certamente o farão com tanto entusiasmo quanto eu faço agora.

Pedro Simas

AGRADECIMENTOS

Por perceberem a pertinência e por acreditarem connosco neste projeto, um muito obrigado a estas entidades pelo financiamento da edição do presente livro, sem o qual não teria sido viável a sua realização:

Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva



Ingreme Post Production, Lda.



PREÂMBULO

O coronavírus Humano mais recentemente descoberto - Severe Acute Respiratory Syndrome (Síndrome Respiratória Aguda Severa) – Coronavirus – 2 (SARS-CoV-2) é, seguramente, o coronavírus mais conhecido de todos, por ser considerado um invasor de sucesso. Identificado pela primeira vez em finais de 2019, originou a presente pandemia de doença por coronavírus de 2019 (COVID-19), ao disseminar-se por todo o Planeta em poucos meses. Tal como alguns membros da mesma família de vírus a que pertence, o SARS-CoV-2 pode infetar diferentes tipos de células humanas sendo, no entanto, os epitélios dos pulmões e da laringe os alvos principais causando, por isso, preferencialmente infeções respiratórias. A mortalidade associada à COVID-19 e os impactos na saúde, na educação, na economia e no bem-estar individual e social, decorrentes das medidas de controlo da pandemia impostas, nomeadamente o confinamento obrigatório, preocupam atualmente o mundo inteiro que procura ainda adaptar-se a esta nova forma de vida e de convivência com um novo vírus até aqui desconhecido. Porém, o Homem e as diferentes espécies animais há muito que convivem com outros coronavírus, porventura desconhecidos da maioria das pessoas, alguns bastante inofensivos, outros também potencialmente letais.

Este livro pretende reunir e divulgar informação sobre a origem, evolução e patogenia dos coronavírus dos animais e do Homem, de uma forma simples e acessível, que ajude a esclarecer dúvidas e receios, e a perceber as razões subjacentes às ações de prevenção da transmissão destes agentes. O texto base do manuscrito é acompanhado por dois tipos de informação para consulta facultativa; informação mais aprofundada sobre alguns dos conceitos mencionados (saber+) e de um conjunto de perguntas & respostas, proporcionando ao leitor a oportunidade de ver esclarecidas dúvidas práticas relacionadas com o conteúdo de cada secção. Para a elaboração deste livro, contámos com a colaboração de técnicos, investigadores e académicos das áreas da microbiologia, epidemiologia, saúde animal e saúde pública.

Durante a produção e edição deste livro foi também produzido um jogo de tabuleiro e cartas (Beat Corona), onde são explorados alguns dos conceitos mencionados neste livro, e comportamentos relacionados com a vida em sociedade e as suas implicações na transmissão de doenças provocadas por coronavírus, entre as quais a COVID-19. Este jogo poderá ser usado como recurso pedagógico em contexto de sala de aula, ou como mera atividade de lazer e aprendizagem.

PÚBLICO ALVO

Este livro pode ser usado como material de apoio nos seguintes níveis de ensino:

Básico

Ciências Naturais do 6º ano, no domínio “Agressões do meio e integridade do organismo”: Distinguir microrganismos patogénicos e microrganismos úteis ao ser humano, partindo de exemplos familiares aos alunos; relacionar a existência de mecanismos de barreira naturais no corpo humano com a necessidade de implementar medidas de higiene que contribuam para a prevenção de doenças infecciosas.

Ciências Naturais do 9º ano, no domínio “Viver melhor na Terra”: Caracterizar as principais doenças provocadas pela ação de agentes patogénicos mais frequentes; Interpretar informação sobre os determinantes do nível de saúde individual e comunitária, analisando a sua importância na qualidade de vida de uma população; Explicar o modo como as “culturas de risco” podem condicionar as medidas de capacitação das pessoas, pondo em causa a promoção da saúde; Analisar criticamente estratégias de atuação na promoção da saúde individual, familiar e comunitária, partindo de questões enquadradas em problemáticas locais, regionais ou nacionais; Discutir o contributo da ciência e da tecnologia na evolução do conhecimento genético e das suas aplicações na sociedade e interpretar informação relativa a estruturas celulares portadoras de material genético.

Secundário

Biologia e Geologia do 10º ano no domínio “Evolução Biológica”: Explicar situações que envolvam processos de evolução divergente/ convergente; explicar a diversidade biológica com base em modelos e teorias aceites pela comunidade científica.

Biologia e Geologia do 11º ano no domínio “Crescimento, renovação e diferenciação celular”: Relacionar a expressão da informação genética com as características das proteínas e o metabolismo das células; interpretar situações relacionadas com mutações génicas, com base em conhecimentos de expressão genética.

Biologia do 12º ano no domínio “Imunidade e controlo de doenças”: Explicar processos imunitários (defesa específica/ não específica; imunidade humoral/ celular, ativa/ passiva).

Ensino Profissional

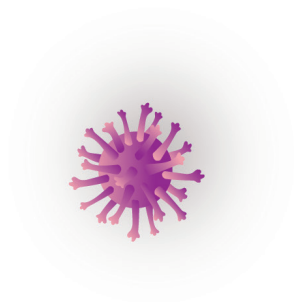
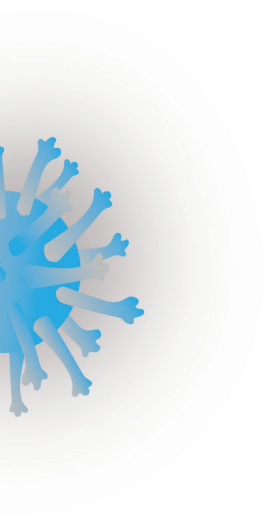
Serviços de Saúde; Ciências Dentárias; Serviços de Apoio a Crianças e Jovens; Trabalho Social e Orientação.

Ensino Superior

Medicina, Medicina Veterinária, Biologia, Odontologia, Enfermagem, Biologia, Fisioterapia, Zootecnia, Educação, Ciências Biomédicas, Farmácia, etc

ÍNDICE

1.	OS CORONAVÍRUS	7
1.1.	A DESCOBERTA DOS CORONAVÍRUS	07
1.2.	PORQUE SE DENOMINARAM CORONAVÍRUS? A MORFOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS CORONAVÍRUS	07
1.3.	COMO SÃO CONSTITUÍDOS OS CORONAVÍRUS	09
1.4.	ONDE E COMO SE MULTIPLICAM OS CORONAVÍRUS	11
2.	A INFEÇÃO POR CORONAVÍRUS	14
2.1.	EVOLUÇÃO DOS CORONAVÍRUS	14
2.2.	A CAPACIDADE DE ALGUNS CORONAVÍRUS CONSEGUIREM INFETAR NOVAS ESPÉCIES - SALTO DE BARREIRA DE ESPÉCIE	17
2.3.	DOENÇAS DOS ANIMAIS E DO HOMEM ASSOCIADAS A CORONAVÍRUS	19
2.4.	OS CORONAVÍRUS E A ABORDAGEM DE UMA SÓ SAÚDE	26
2.5.	OS SINTOMAS E SINAIS CLÍNICOS DE INFEÇÃO POR SARS-COV-2	26
2.6.	IMPACTO DA COVID-19 NA SAÚDE PÚBLICA	28
3.	DIAGNÓSTICO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO DAS DOENÇAS POR CORONAVÍRUS (OU DAS CORONAVIROSES)	31
3.1.	DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS CORONAVÍRUS	32
3.2.	TESTES SEROLÓGICOS PARA CORONAVÍRUS	33
3.3.	MEDIDAS DE PREVENÇÃO DE DOENÇAS CAUSADAS POR CORONAVÍRUS	36
4.	OS CORONAVÍRUS NO MUNDO	41
5.	E AGORA?	42
6.	GLOSSÁRIO	45
7.	REFERÊNCIAS	47



1. OS CORONAVÍRUS

1.1. A DESCOBERTA DOS CORONAVÍRUS

Com base em estudos recentes de evolução molecular, estima-se que o ancestral comum a todos os coronavírus atuais tenha surgido há cerca de 293 milhões de anos¹. No entanto, o primeiro caso clínico de infeção por coronavírus foi reportado por médicos veterinários no início do século XX, referente a um gato com febre e uma enorme distensão abdominal que só muito mais tarde se percebeu ser causada por um coronavírus felino. A associação entre determinadas doenças enzoóticas (doenças que se mantêm com alguma frequência ao longo do tempo numa população animal de uma região geográfica) e os coronavírus, só foi estabelecida nos anos 30 do século passado, com a identificação de uma infeção respiratória em galinhas, denominada bronquite aviária².

Assim, os coronavírus começaram por ser associados a infeções enzoóticas, limitadas apenas aos seus hospedeiros animais naturais (ex. gastroenterite transmissível em suínos ou a peritonite infecciosa em gatos). Os coronavírus que infetam apenas espécies animais circulam nas respetivas populações domésticas ou selvagens, transmitindo-se de animais infetados a animais suscetíveis. Muitos destes coronavírus não constituem ameaça para o Homem. Com efeito, apesar de os coronavírus coexistirem com os animais e com o Homem desde sempre, apenas nos anos 30 do século passado foram associados às constipações e diarreias ligeiras que afetam anualmente milhares de pessoas e que circulam continuamente na população mundial. Trinta anos mais tarde foram reconhecidos e caracterizados por microscopia eletrónica^{3, 4}.

1.2. PORQUE SE DENOMINARAM CORONAVÍRUS? A MORFOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS CORONAVÍRUS

Só em 1965 é que o desenvolvimento e utilização de técnicas de microscopia eletrónica permitiu, pela primeira vez, observar a sua estrutura e, assim, classificar cientificamente os coronavírus. As imagens revelaram que possuem uma morfologia muito característica, fazendo lembrar uma coroa (coroa=corona) razão pela qual passaram a ser denominados comumente por coronavírus. As espículas (*spikes*, em inglês) que lhe conferem este aspeto inconfundível, são formadas por proteínas virais designadas por proteína S (de *spikes*) que, como veremos mais à frente, têm um papel essencial no reconhecimento e ligação do vírus às células do hospedeiro (animal ou Homem). A dimensão dos diferentes coronavírus varia entre 80-220 nm (nanómetros), estando estes entre os maiores vírus com invólucro conhecidos. São, no entanto, cerca de mil vezes mais pequenos do que a espessura de um fio de cabelo.

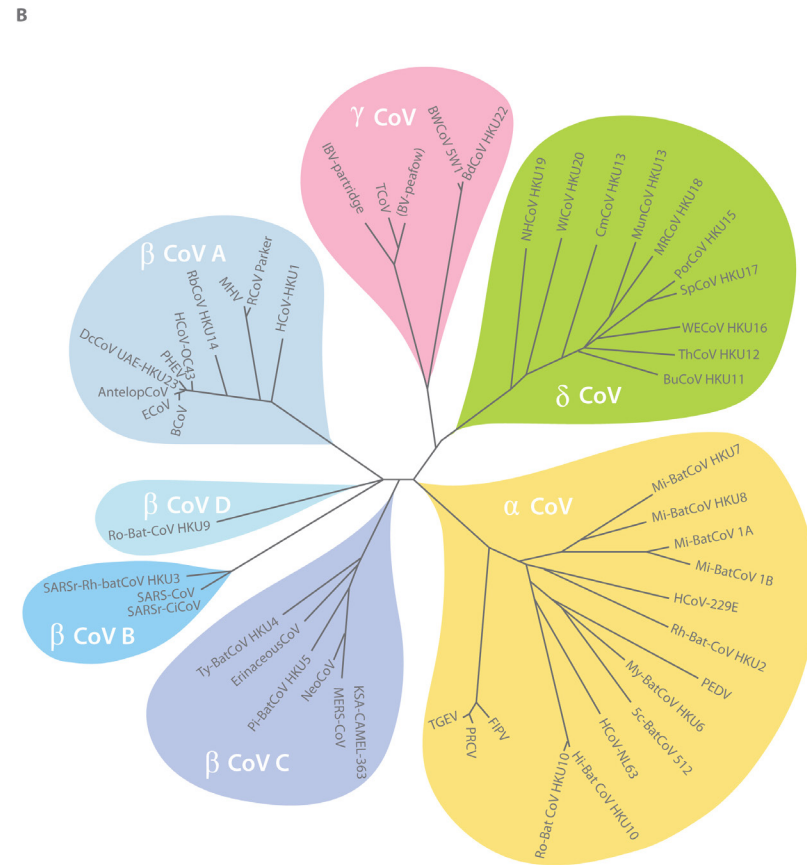
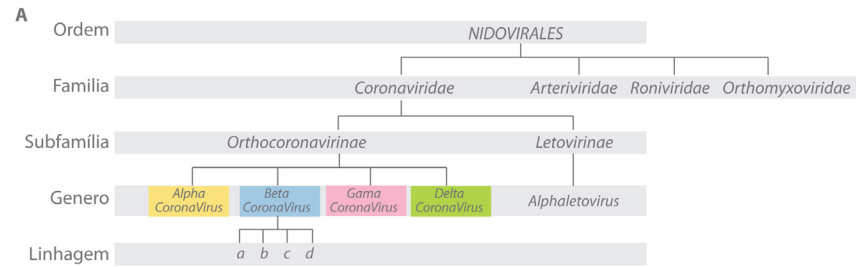


Fig. 1 - Classificação filogenética dos Coronavírus (árvore filogenética baseada nas sequências parciais do gene da RNA polimerase RNA dependente (RpRd) de 50 coronavírus. Adaptado de Fenner and White's Medical Virology. 2012 Elsevier Inc. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X>)



A família *Coronaviridae* (pertencente à ordem *Nidovirales*, subordem *Cornidovirineae*) é uma das cerca de 170 famílias de vírus atualmente reconhecidas pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus (Edição 2019) e inclui, para além da subfamília *Orthocoronavirinae* acima referida, a subfamília *Letovirinae*¹. Esta inclui apenas o género *Alphaletovirus*.



O material genético dos coronavírus é constituído por ácido ribonucleico (RNA), não segmentado (i.e., constituído por apenas uma molécula de RNA por partícula viral). O RNA viral é de cadeia simples e polaridade positiva, o que significa que é, por si só, potencialmente infeccioso. O RNA possui, na sua extremidade 5', uma estrutura *cap* e na extremidade 3' uma cauda poli A, que lhe conferem estabilidade e prolongam o tempo de vida.

Os coronavírus possuem um dos maiores genomas de RNA viral conhecidos, com 27.000 a 32.000 nucleótidos de comprimento. Este genoma tem o triplo da dimensão do genoma do vírus da síndrome da imunodeficiência humana adquirida (SIDA) e da hepatite C, e o dobro do genoma do vírus da gripe.

As proteínas S e HE, pela sua exposição no exterior da partícula viral, são os principais alvos do sistema imunitário das espécies hospedeiras. Com efeito, estas proteínas são imunogénicas, ou seja, induzem uma resposta imune por parte do hospedeiro, sendo a proteína S o antigénio dominante e o principal indutor da produção de anticorpos neutralizantes (que inativam o vírus).



Como se vêem e medem os vírus?

A maioria dos vírus, tal como os coronavírus, visualizam-se apenas ao microscópio eletrónico cujo poder de ampliação é de 10.000.000x. Os vírus medem-se em nanómetros (nm), sendo 1 nm igual a 0,00000001 metro (m). O SARS-CoV-2 tem cerca de 100 nm de diâmetro (0,0000001 m).

De acordo com as regras da Taxonomia (área científica que hierarquiza, organiza e classifica os organismos vivos) foi criada, assim, a família *Coronaviridae*, incluída na já existente ordem *Nidovirales*⁵. A família *Coronaviridae*, por sua vez, inclui as subfamílias *Letovirinae* e *Orthocoronavirinae* e, esta última, os géneros *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gamacoronavirus*, identificados por critérios genéticos e antigénicos, e dos quais apenas sete infetam os humanos. A Figura 1 ilustra as relações filogenéticas entre os alfacoronavírus, betacoronavírus, gamacoronavírus e deltacoronavírus.



O que é o RNA e o DNA?

Todos os seres vivos possuem material genético onde está armazenada a informação que os caracteriza. A totalidade desta informação no caso das bactérias e dos vírus, ou de parte dela, no caso dos organismos de reprodução sexuada, é passada para a descendência. Ao contrário dos animais e plantas, cujo material genético é constituído por uma macromolécula de cadeia dupla de ácido desoxirribonucleico (*double stranded* DNA ou dsDNA), os vírus podem possuir também como material genético o ácido ribonucleico (RNA). Existe uma enorme variedade de genomas virais, alguns constituídos por DNA de cadeia dupla (dsDNA) ou simples (*single stranded* ou ssDNA), linear ou circular, e outros por RNA, de cadeia dupla (dsRNA) ou simples (ssRNA), e de genoma único ou segmentado.

1.3. COMO SÃO CONSTITUÍDOS OS CORONAVÍRUS?

Os vírus são essencialmente constituídos por material genético (ácido nucleico que pode ser DNA (ácido desoxirribonucleico ou ADN em português), ou RNA (ácido ribonucleico ou ARN em português), que contém toda a informação para formar novos vírus, envolvido por um escudo protetor de natureza proteica, altamente resistente, designado por cápside. No caso dos coronavírus, o material genético (o genoma viral) é constituído por RNA de cadeia simples (*single stranded* RNA, ssRNA).

O ácido nucleico e a cápside formam a nucleocápside. Os vírus, considerados vírus nus, possuem apenas estes dois componentes, pelo que podem manter-se intactos (infecciosos) no meio ambiente por longos períodos de tempo, dada a resistência da cápside às agressões. No entanto, tal não acontece com os vírus, entre os quais os coronavírus, uma vez que possuem uma estrutura adicional ex-

terior, designada por invólucro e constituída essencialmente por lípidos (em oposição aos vírus nus), mais frágil aos fatores ambientais externos. O invólucro exterior tem origem na célula hospedeira onde os vírus se replicaram (Figura 2).

Na superfície do invólucro encontram-se incorporadas várias proteínas virais que, no caso dos coronavírus, compreendem as proteínas S, projetadas à superfície, e as proteínas M (de matriz) e E (de *envelope*, invólucro em português), envolvidas nas diferentes etapas do ciclo replicativo dos vírus, nomeadamente na montagem dos viriões (partículas virais livres), na formação do invólucro e na patogénese viral ⁶.

Alguns coronavírus, como por exemplo o HCoV-HKU19 e o HCoV-OC43 de que falaremos mais à frente, possuem ainda uma proteína HE (Hemaglutinina Esterase) que não está presente no SARS-CoV-2, agente da COVID-19. A proteína S, e caso esteja presente, a proteína HE, são essenciais na ligação do vírus à célula alvo hospedeira (Figura 3), uma etapa imprescindível para que ocorra infeção. Devido à fragilidade do invólucro viral, quando este é danificado pela ação de detergentes ou de soluções alcoólicas que dissolvem as gorduras, os coronavírus deixam de ser reconhecidos pelos recetores das células alvo e de se fundir com a membrana celular pelo que o processo da infeção não é iniciado.

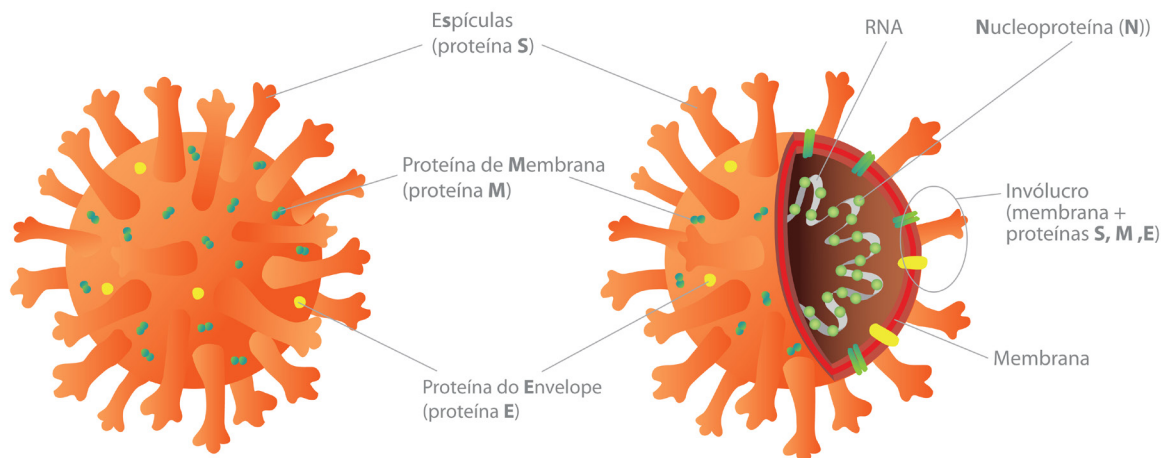


Fig. 2 - Representação esquemática de um Coronavírus



Uma vez no interior da célula, o genoma viral é replicado e os genes virais são expressos (transcritos e traduzidos) com recurso à maquinaria da célula viva, para que se iniciem os processos biológicos necessários à produção da progenia viral. No caso dos coronavírus, a síntese dos novos viriões (ou partículas virais) dá-se no interior do sistema membranar da célula – o retículo endoplasmático e o aparelho de Golgi – sendo de seguida encaaminhados para o exterior da célula (Figura 2).



O RNA viral do coronavírus é de cadeia simples e polaridade positiva (i.e., codificante). Por isso, se através de processos físicos ou químicos artificiais (designados por transfeção), o ácido nucleico viral for colocado no interior de uma célula suscetível, inicia-se um ciclo replicativo com produção de vírus infecciosos.



As proteínas S agrupam-se em trimeros, formando uma estrutura que lembra uma tulipa, estando a base do caule inserida no invólucro, e a flor projetada para o exterior. Recentemente foi descoberta a existência de 3 zonas de articulação ao longo do trimero (pé, joelho e anca) que conferem uma grande flexibilidade à proteína S, favorecendo o reconhecimento do recetor celular

Esta fragilidade dos coronavírus, e dos vírus com invólucro em geral, pode ser aproveitada para os destruir e inativar, prevenindo e impedindo as infecções através do uso regular de soluções à base de álcool a 70% como antisséptico da pele e desinfetante de superfícies inertes, como veremos adiante.

1.4. ONDE E COMO SE MULTIPLICAM OS CORONAVÍRUS?

Como qualquer outro vírus, os coronavírus são parasitas intracelulares obrigatórios, mantendo-se em associação com os seus hospedeiros e dos quais dependem do ponto de vista bioquímico e energético para se replicarem. Ao entrarem numa célula alvo do hospedeiro suscetível, recrutam a maquinaria celular para produzir novas partículas virais que são libertadas para o exterior e que são capazes, por sua vez, de infectar outras células ainda sãs, iniciando assim um novo ciclo replicativo. De um modo geral, o hospedeiro não retira nenhuma vantagem desta infecção, podendo até ser prejudicado quando se desenvolve doença infecciosa. O desenrolar da infecção e o aparecimento de sintomas e sinais de doença, mais ou menos evidentes, dependem de vários outros fatores, nomeadamente da capacidade de resposta do hospedeiro à invasão. A continuidade dos vírus, o que implica a sua replicação, dependem, contudo, também da sobrevivência do hospedeiro. Assim, o potencial de transmissão dos coronavírus está quase sempre associado a baixa virulência viral, ou seja, ao facto de não serem muito letais e de causarem infecções ligeiras ou inaparentes (sem sintomas ou assintomáticas) como é o caso das vulgares constipações. A baixa virulência é, em si mesma, uma vantagem adaptativa dos coronavírus: o parasita “não sacrifica” o seu hospedeiro promovendo assim a sua replicação e propagação em grande escala. Contudo, o novo coronavírus SARS-CoV-2, “acabado de chegar” ao hospedeiro Homem revelou-se mais agressivo do que outros coronavírus conhecidos, provavelmente por ainda não estar adaptado a este novo hospedeiro. O mesmo ocorreu com o SARS-CoV e com o MERS-CoV que referiremos adiante.

O ciclo de vida do vírus, ou ciclo de replicação viral, inicia-se quando o coronavírus, através das suas proteínas S e HE (se presentes, como no caso de alguns betacoronavírus, mas não no SARS-CoV-2), é reconhecido por recetores específicos presentes à superfície da célula hospedeira (Figura 3). O vírus SARS-CoV-2, por exemplo, utiliza um recetor celular compatível, designado por ACE-2, existente na superfície das células dos pulmões, vasos sanguíneos, coração e rins humanos, e que pode ser considerado metaforicamente como a “fechadura” de porta, que é reconhecida pela “chave” - a proteína S do vírus. Como na realidade não existe uma “porta” para o vírus entrar, depois de se ligar ao recetor, o vírus empurra a membrana exterior da célula para dentro, que progressivamente o envolve e circunda, “engolindo-o” para uma vesícula (endocitose). No seu interior, o invólucro viral e a nucleocápside são dissociados, libertando-se o material genético - RNA viral - diretamente no interior da célula. O RNA viral vai servir então de molde em dois diferentes processos bioquímicos para a síntese dos componentes dos novos vírus descendentes: a síntese de novas proteínas virais e a síntese de novas moléculas de RNA⁷. Estes dois processos são denominados de transcrição/tradução das proteínas virais e replicação do RNA viral, respetivamente.

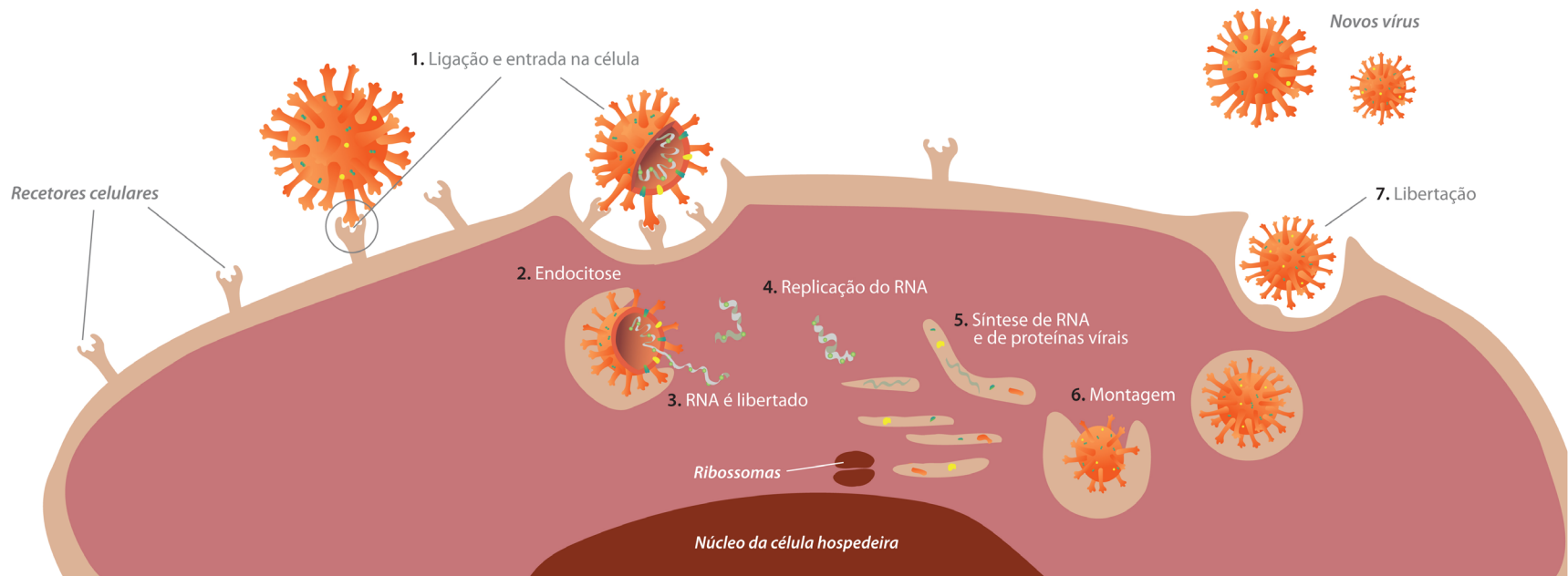


Fig. 3 - Fases do ciclo replicativo dos coronavírus: 1-Ligação do vírus ao recetor da célula. 2-Endocitose. 3-Digestão das proteínas virais e libertação do RNA viral. 4-Replicação do RNA. 5- Síntese de proteínas virais. 6- Montagem dos viriões. 7-Saída do vírus por exocitose.

Para a síntese das proteínas são utilizados os ribossomas da célula, pequenas estruturas subcelulares que os vírus não possuem, onde ocorre a síntese de peptidos a partir da informação contida no genoma viral.

A replicação do material genético viral é uma das primeiras tarefas a ser executada pelas recém-sintetizadas proteínas virais – as RNA polimerases RNA dependentes (RdRP) –, capazes de promover a síntese de RNA a partir de um molde de RNA viral, produzindo muitas cópias. A síntese de moléculas de RNA a partir de um molde de RNA é um processo exclusivo de alguns vírus, pois não segue a lógica do Dogma Central da Biologia Molecular que diz que o fluxo de informação genética segue do DNA para o RNA, e deste para as proteínas.

As proteínas virais que vão formar a cápside (proteínas estruturais) envolvem a nova molécula de RNA viral formando a nucleocápside da nova partícula viral (*core*). A montagem e maturação das partículas virais dá-se no interior do sistema de membranas no interior da célula e que irão constituir o invólucro viral e onde as proteínas transmembranares virais (S e HE) são ancoradas.

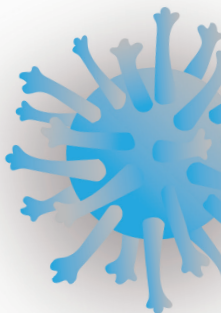
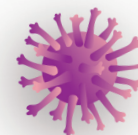
As partículas virais são de seguida transportadas para a superfície da célula dentro das vesículas e expelidas para o exterior (por um processo de

exocitose), produzindo-se um número muito elevado de novos vírus com involucro. Devido a esta dependência do sistema celular, os vírus são referidos como “parasitas intracelulares obrigatórios” no sentido ecológico do termo, pois mobilizam a célula que infetam, transformando-a numa verdadeira fábrica de produção em massa de novos vírus, interrompendo os processos inerentes ao normal funcionamento da célula. Um só vírus pode demorar apenas 10 horas a infetar uma célula, produzindo milhares de novas partículas virais em apenas 24h. Daí a expressão “tornar-se viral”, usada comumente para referir algo, ideia ou costume, que se alastra e espalha rapidamente por todo o lado.



Quantas partículas virais se produzem numa célula?

Estima-se que, à semelhança de outros coronavírus como o do vírus da hepatite que infecta os ratos (MHV), o “burst size” (o número médio de partículas de vírus recentemente sintetizadas libertadas de uma única célula infectada), seja da ordem das 10.000 partículas de vírus por célula infetada¹.



2. A INFEÇÃO POR CORONAVÍRUS

2.1. A CAPACIDADE DE EVOLUÇÃO DOS CORONAVÍRUS

Como já vimos, a infecção pela maioria dos coronavírus depende do seu reconhecimento específico pelos recetores das células alvo de uma determinada espécie hospedeira (animal ou Homem) (Figura 4). Os coronavírus são por isso considerados específicos para o seu hospedeiro.



Que células são infetadas pelos coronavírus?

Os diferentes coronavírus têm capacidade de infetar diferentes células, geralmente células do trato respiratório ou digestivo. No caso da COVID-19, o SARS-CoV-2 infecta células que possuam recetores para a enzima ACE-2 compatíveis com a proteína S viral, nomeadamente células dos epitélios intestinal e respiratório, células dos endotélios dos vasos e coração e células do rim e testículos. O recetor ACE-2 está presente na membrana plasmática de todas estas células, e no pulmão a sua concentração aumenta com a idade contribuindo para que, de modo geral, a evolução da doença seja mais grave nas pessoas idosas.

O que determina o tropismo celular e o espectro de hospedeiro?

A variação no tropismo celular e na gama de hospedeiros que o vírus consegue infetar é atribuída principalmente às características da proteína S, da qual depende a adesão à célula hospedeira.

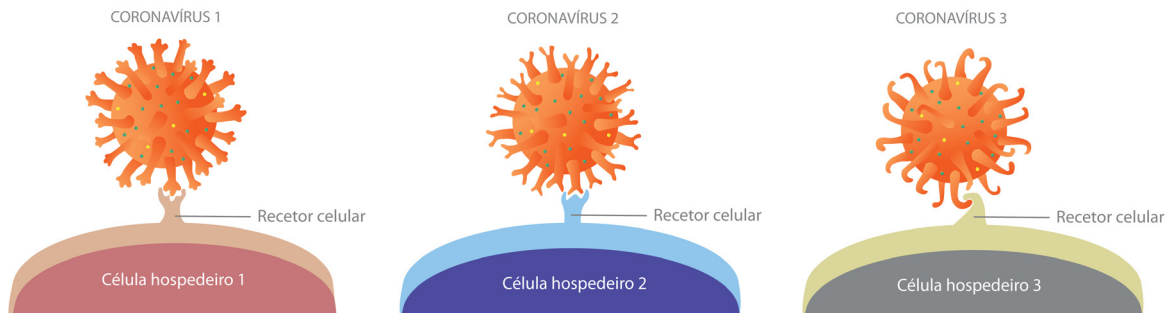


Fig. 4 - Especificidade da ligação entre proteína S de um Coronavírus e o receptor da célula hospedeira



A proteína enzimática ACE2 (do inglês *angiotensin-converting enzyme 2*), é homóloga da ACE que é responsável pela regulação da pressão arterial através do Sistema Renina-Angiotensina. Para além das células epiteliais dos pulmões, intestinos, rins, e vasos sanguíneos, a ACE2 existe também à superfície das células dos ductos seminíferos dos testículos podendo danificar o tecido testicular dos pacientes e comprometer a fertilidade. O SARS-CoV-2 utiliza este recetor celular para infetar as células. Porém, outros coronavírus utilizam recetores diferentes, como é o caso do MERS-CoV que utiliza o DPP4 (dipeptidilpeptidase 4). Outros coronavírus (HCoV-229E, TGEV, PEDV, CCoV) utilizam o APN (aminopeptidase N) como recetor para a sua entrada nas células do hospedeiro. A ligação da proteína S ao receptor é conduzida por interações electrostáticas.



A enzima RNA polimerase RNA-dependente (RdRP) viral é responsável pela síntese de novas moléculas de RNA e, contrariamente à enzima homóloga das células animais e vegetais (DNA polimerase), é menos fiel a fazer cópias do genoma viral, pois não possui uma capacidade de revisão e correção de erros de incorporação dos nucleótidos complementares à molécula molde eficaz, permitindo o aparecimento de mutações genéticas numa taxa muito elevada. A baixa taxa de correção de erros dos coronavírus é o resultado de um longo processo evolutivo que favorece a diversificação do genoma viral, essencial para a sua adaptação e evolução. Uma vez que se trata de um vírus com um longo genoma, a acumulação de erros leva a um aumento da diversidade das proteínas por ele codificadas, e consequentemente, a uma evolução acelerada.

Durante a síntese de uma nova molécula de RNA a partir de uma molécula molde, pode haver dissociação do complexo RNA-RNA, seguida de reassociação à molécula molde homóloga do genoma do outro coronavírus, prosseguindo a sua síntese e gerando assim uma molécula recombinante caso estejam simultaneamente presentes na célula, dois coronavírus diferentes.



Qual a taxa de mutação e de evolução do SARS-COV-2?

A taxa de evolução estimada para o SARS-CoV-2 é de 0,001 nucleótido por ano, e a taxa de mutação de 0,000001 nucleótido, por ciclo replicativo/ ciclo de replicação viral.

Porque emergem periodicamente novos coronavírus e o que favorece estes aparecimentos?

Os coronavírus, tal outros vírus, evoluem rapidamente, um processo inevitável e não controlável pelo Homem. A proximidade do homem com espécies animais cujos habitats naturais são distantes, a confluência artificial de espécie animais, o consumo de espécies exóticas e a inexistência de práticas de controlo sanitário, favorecem o contacto entre animais e entre estes e o Homem, podendo resultar na emergência de novos vírus potencialmente patogénicos.

A longa cadeia de RNA dos coronavírus, aliada a uma reduzida capacidade de correção de erros na síntese de novas cadeias de RNA (mutações genéticas), contribui para a diversificação e evolução dos seus genomas ao longo do tempo. Assim, durante a replicação do RNA para produção de novos coronavírus, ocorrem frequentemente erros aleatórios (i. e., ao acaso) pelo que, entre os novos vírus gerados, alguns diferem do vírus original que lhe serviu como molde (Figura 5A). Os vírus com mutações desfavoráveis ficam em desvantagem adaptativa tendendo a desaparecer na população viral,

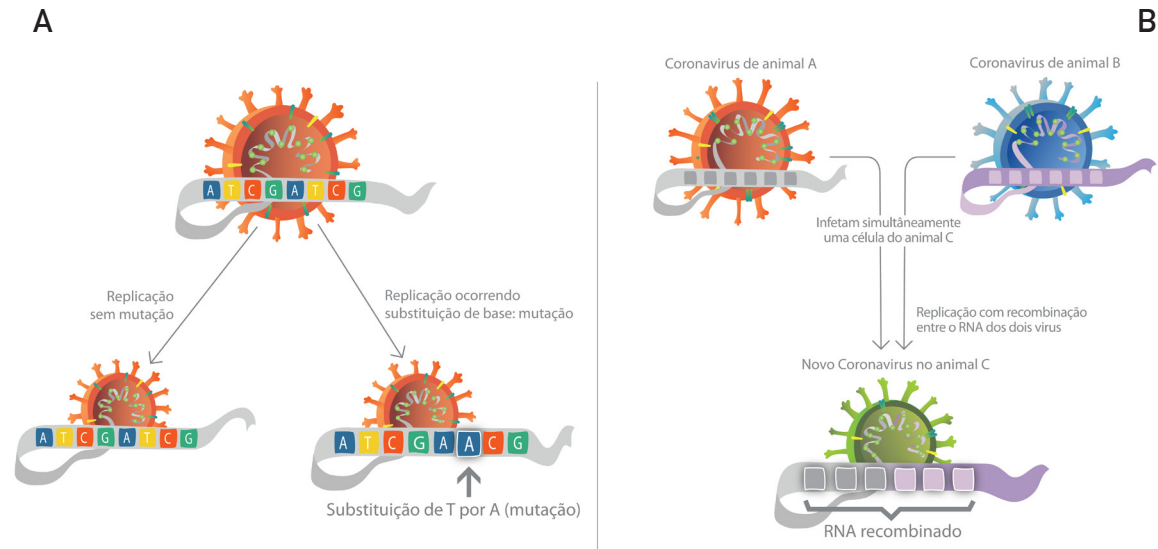


Fig. 5 - Variabilidade genética na replicação do genoma viral (A- mutação genética por substituição de uma base; B - recombinação por troca de fragmentos de RNA de dois vírus diferentes que se encontram numa mesma célula)

mas aqueles que adquirem mutações que os tornaram mais aptos, tenderão a aumentar de número e a fixar-se nas população dos seus hospedeiros, por seleção natural, perpetuando-se ao longo de gerações, promovendo e impulsionando a evolução dos coronavírus.

Por outro lado, podem também surgir coronavírus geneticamente diferentes através de um processo designado por recombinação, que ocorre quando uma célula é simultaneamente infetada por dois coronavírus diferentes e estes misturam os seus materiais genéticos. Surgem assim novas sequências de RNA viral que combinam segmentos de material genético com origem em coronavírus diferentes (Figura 5B). O processo de recombinação molecular pode conduzir à produção de novos vírus com o potencial para infetar novos hospedeiros. A aquisição desta capacidade ocorre quando as alterações estruturais da proteína S (a chave) permitem aos coronavírus adaptar-se e passar a reconhecer novos recetores (fechaduras), presentes nas células de novos hospedeiros com os quais entrem em contacto.

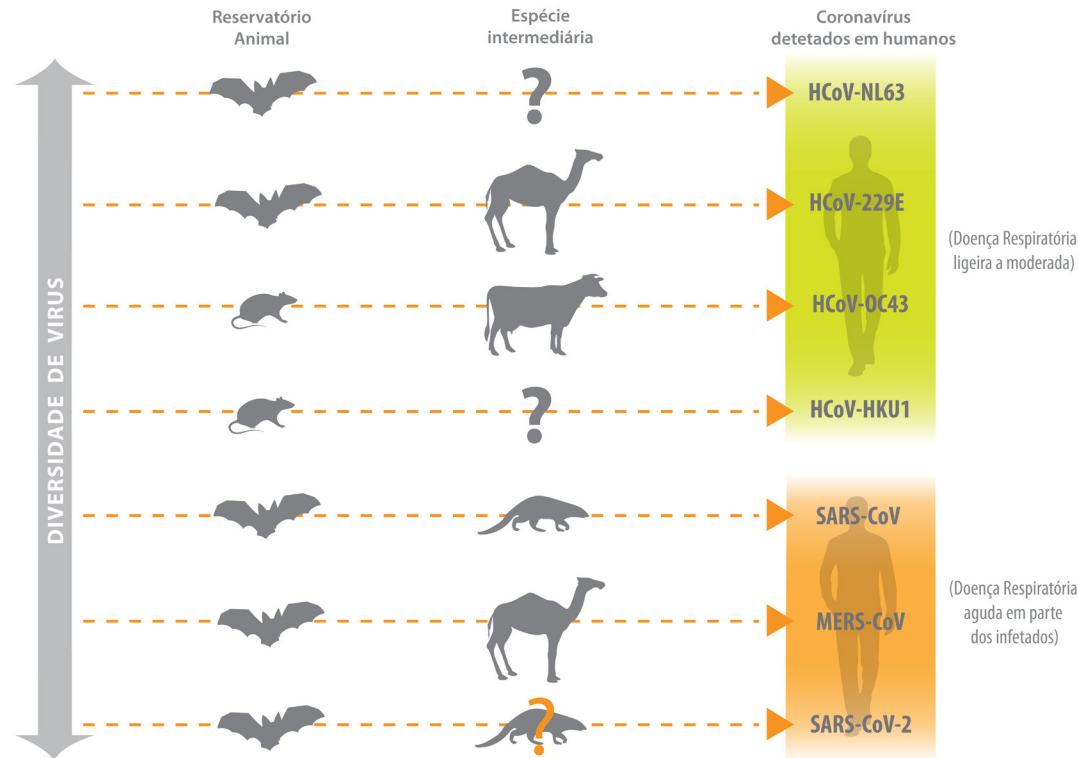


Fig. 6 - Transmissão de Coronavírus entre espécies animais e o Homem. A maioria dos coronavírus humanos tiveram origem em coronavírus de morcegos.

Quando o vírus adquire a capacidade de infectar uma espécie diferente daquela que habitualmente parasita, diz-se que ocorreu um “salto de barreira de espécie”. Em algumas espécies hospedeiras reservatório (espécies animais que albergam o vírus sem este causar doença), como os morcegos, a recombinação entre diferentes coronavírus ocorre com elevada frequência⁸ podendo eventualmente levar à gênese de uma nova versão do vírus capaz de infectar novos hospedeiros, nomeadamente o Homem.

Assim, a combinação de uma elevada frequência de mutação e de recombinação, confere aos coronavírus um elevado potencial de variabilidade genética e, conseqüentemente, de rápida evolução (Figura 5). Uma vez adquirida a capacidade de infectar espécies diferentes, o novo vírus poderá manter-se em circulação nas populações de hospedeiros suscetíveis (Figura 6) e, em função do grau de contagiosidade, da capacidade de deteção da infeção e da mobilidade populacional, chegar muito rapidamente a diferentes regiões geográficas.

2.2. A CAPACIDADE DE ALGUNS CORONAVÍRUS CONSEGUIREM INFETAR UMA NOVA ESPÉCIE - SALTO DE BARREIRA DE ESPÉCIE

Os animais têm um papel essencial na transmissão de doenças infecciosas ao Homem - as chamadas doenças zoonóticas ou zoonoses, que constituem cerca de 60% das doenças infecciosas humanas reportadas globalmente e que podem ser provocadas por bactérias, parasitas, fungos ou vírus. A emergência de um número cada vez maior de zoonoses, denuncia a existência de práticas de risco que favorecem o contacto promíscuo entre animais e o Homem. Na Natureza, o salto de barreira de espécie é um acontecimento raro, pois este requer o contato próximo, e por vezes continuado, de uma espécie animal infetada com indivíduos de uma segunda espécie também suscetível. No caso dos vírus, a passagem para o hospedeiro Homem parece necessitar muitas vezes uma terceira espécie hospedeira, designada por “espécie intermediária” na qual, possivelmente, o vírus adquire as “novas capacidades” para poder saltar a barreira de espécie. Em muitos casos, contudo, o verdadeiro elo de ligação entre um animal e o Homem nunca chega verdadeiramente a ser conhecido.

Contudo, é garantido que o aumento das interações entre o Homem e os animais selvagens eleva exponencialmente o risco de aparecimento de novas zoonoses. Essas interações decorrem da invasão humana de nichos ecológicos anteriormente inexplorados e preservados, ou da aproximação forçada entre diferentes espécies animais selvagens e/ou entre estas e o Homem, pela perda do seu habitat natural. Os cientistas calculam que possam existir cerca de 800.000 espécies desconhecidas de vírus em florestas, pântanos, grutas e outras zonas inexploradas do Mundo e que, se houver distúrbio dos ecossistemas onde se inserem em equilíbrio com os respetivos hospedeiros, têm o potencial de se disseminar e infectar o Homem. O contacto artificial de distintas espécies animais vivas, muito frequente nos mercados asiáticos, e o consumo de carne de animais exóticos, ou de animais domésticos com condição sanitária desconhecida, proporciona e promove a aproximação de espécies animais que em condições naturais nunca contactariam entre si, favorecendo os eventos de recombinação entre os diferentes vírus que as infetam e a transmissão emergente entre espécies. Dos animais comercializados nestes locais constam, frequentemente, espécies de morcegos onde são detetados coronavírus com notável diversidade genética, o que faz aumentar substancialmente o risco de a recombinação genética ser bem-sucedida na gênese de novos

vírus, potenciando a sua emergência e a possibilidade de transmissão interespécie.

O reconhecimento de coronavírus com capacidade para causar infeções graves em humanos só ocorreu em 2003, quando o surto de uma síndrome respiratória aguda severa (SARS) surgiu inicialmente na Ásia e foi atribuído ao SARS-CoV. A adaptação do vírus SARS-CoV (originário em morcegos do género *Rhinolophus*) ao homem, envolveu a passagem por uma espécie intermediária a civeta (*Paradoxurus hermaphroditus*). O mesmo aconteceu mais tarde já em 2012 com o aparecimento de outra síndrome respiratória, a Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS), desta vez causada pelo coronavírus designado MERS-CoV e que teve também origem em coronavírus de morcego (género *Pipistrellus*). Neste caso, a espécie intermediária identificada foi o dromedário (*Camelus dromedarius*). A espécie intermediária do SARS-CoV-2, agente causador da atual pandemia COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*) e detetado pela primeira vez em novembro de 2019, ainda não foi claramente identificado. Entre as várias possibilidades atualmente consideradas consta o pangolim-malaio (*Manis javanica*), um mamífero pertencente à ordem Pholidota da família dos manídeos.

De modo geral, a virulência inicial dos agentes patogénicos emergentes tende a diminuir ao longo do tempo, fruto da resposta imunológica do hospedeiro e da seleção de estirpes menos agressivas. Dada a elevada variabilidade genética dos coronavírus respiratórios, uma vantagem adaptativa que lhes permite escapar ao sistema imunitário dos hospedeiros, a imunidade adquirida pelos contactos anteriores não protege os hospedeiros de novos coronavírus, garantindo-se a disponibilidade permanente de hospedeiros suscetíveis à infeção e à perpetuação do vírus na população.

Este mecanismo constitui um exemplo de coevolução entre o vírus e o seu hospedeiro. A seleção natural favorece os vírus (parasitas) que apresentam antigénios de superfície (proteínas S e HE) diferentes, enquanto que o sistema imunitário do hospedeiro está sob pressão seletiva para a produção de uma resposta imunitária protetora específica eficaz para aquele vírus que está presente durante a infeção. A acumulação de mutações e variabilidade genética de ambas as partes “alimenta” esta corrida às armas evolutivas.



O que são espécies intermediárias?

São espécies que permitem a adaptação de um vírus de um organismo hospedeiro para outro. As espécies intermediárias são espécies onde ocorre recombinação de genomas virais de diferentes origens. Estes novos vírus são então transmitidos ao Homem, por contacto ou consumo.

Quais as fontes de infeção dos coronavírus?

A capacidade infecciosa dos coronavírus que se encontram no meio ambiente é muito reduzida devido à fragilidade das partículas virais, nomeadamente do seu invólucro exterior, constituído essencialmente por lípidos. Por esta razão as fontes de infeção são animais infetados ou humanos infetados.

Onde surgiu pela primeira vez o SARS-CoV-2?

Os primeiros casos clínicos de infeção por SARS-CoV-2 foram notificados em dezembro de 2019, em habitantes da província de Wuhan, na China. No entanto, estudos serológicos retrospectivos sugerem que o vírus já estivesse em circulação anteriormente².

**Qual a origem do SARS-CoV-2?**

A origem do SARS-CoV-2 não está ainda completamente esclarecida. Embora o vírus tenha revelado uma elevada semelhança genómica (96,3%) com um coronavírus de morcegos-de-ferradura (*Rhinolophus affinis*), presentes no sudoeste da China, este vírus (*Bat-CoV-RaTG13*) não possui o mesmo ligando (proteína do invólucro) do SARS-CoV-2. As investigações realizadas desde a emergência desta pandemia, permitiram identificar um coronavírus de pangolim-malaio (*Manis javanica*), com uma proteína muito semelhante à do SARS-CoV-2. O genoma do coronavírus de pangolim não é tão parecido com o genoma do SARS-CoV-2 (91,02%). Pensa-se assim que os pangolins possam ser uma espécie intermediária (onde terá ocorrido recombinação genética natural entre coronavírus de morcego e de pangolim) onde o coronavírus terá desenvolvido a capacidade de infetar células humanas, e que terá entrado em contacto com humanos pelo consumo. Alternativamente, pode ter ocorrido infeção de humanos por uma variante viral de coronavírus de morcego que não persistiu na natureza, inicialmente inofensiva, ocorrendo depois transmissão entre humanos e aumento progressivo da virulência do vírus.

Qual a importância dos morcegos na transmissão de SARS-CoV-2 quando comparados com outras espécies?

Os morcegos não possuem nenhuma particularidade que os torne mais propensos do que outras espécies na transmissão de agentes patogénicos ao Homem. Contudo, os roedores, a cuja ordem os morcegos pertencem, são a segunda ordem de mamíferos mais rica em espécies, tendo sido reconhecidas cerca de 1400 espécies de morcegos, todas com potencial para transmitir vírus, distribuídas por todo o mundo (exceto na Antártica), ocupando tanto áreas urbanas como naturais. Com efeito, cerca de uma em cada cinco de todas as espécies de mamíferos da Terra são morcegos, alguns sendo encontrados apenas em determinados locais, enquanto outros se distribuem por grandes áreas geográficas. Uma vez que os morcegos são mamíferos, tal como o homem, têm uma relação evolutiva mais próxima com os humanos que os torna mais propensos a serem hospedeiros de agentes zoonóticos do que os pássaros ou os répteis. Como a ordem dos roedores é das mais ricas em espécies, tendem a ter maior variedade de vírus e, consequentemente que podem chegar às pessoas. No caso do SARS-CoV-2, a diversidade e vasta distribuição geográfica dos morcegos, torna difícil a identificação do grupo de morcegos de onde o SARS-CoV-2 terá originado.

Porque emergem tantas doenças dos morcegos?

Os morcegos são hospedeiros/reservatórios, não apenas de coronavírus, mas de muitos outros vírus, com o vírus Ébola, o vírus da raiva e o vírus da febre hemorrágica de Marburg. Todos estes vírus, incluindo os coronavírus, confrontam-se com os morcegos numa corrida evolutiva, na qual os vírus evoluem continuamente para escapar do sistema imunológico dos morcegos, e os morcegos evoluem para resistir às infeções causadas pelos vírus. No caso dos coronavírus, este esforço bélico bilateral traduz-se na produção de uma panóplia de vírus distintos, aumentando assim a probabilidade de algum destes ser capaz de infetar outra espécie, nomeadamente o Homem. Os morcegos são também os únicos mamíferos capazes de voar, o que facilita a disseminação de doenças por meio das suas fezes, onde grande parte dos vírus são excretados. A tolerância dos morcegos aos vírus, excede largamente a dos outros mamíferos, sendo por isso hospedeiros-reservatório de muitos vírus. Embora os morcegos não desenvolvam infeções sintomáticas, transmitem as infeções. Pensa-se que a resistência natural dos morcegos às infeções esteja relacionada com a libertação de grande quantidade de energia durante o voo, o que eleva a temperatura corporal para 38 a 41° C, mais alta do que a temperatura da maioria dos mamíferos. Os agentes patogénicos que evoluíram nos morcegos são por isso capazes de suportar essas altas temperaturas, resistindo assim facilmente ao aumento de temperatura corporal que o nosso sistema imunológico utiliza como mecanismo para desativar os agentes patogénicos, e que designamos como febre.

2.3. DOENÇAS DOS ANIMAIS E DO HOMEM ASSOCIADAS A CORONAVÍRUS

Os coronavírus infetam primariamente aves e mamíferos, causando uma variedade de doenças graves cujo impacto económico nas explorações pecuárias de bovinos, suínos, equídeos, coelhos, galinhas, patos e perus pode ser considerável. Afetam também os animais de companhia, como cães e gatos, e várias espécies selvagens, como furões e visons, entre outros.

Os alfacoronavírus e os betacoronavírus são encontrados principalmente em mamíferos, como morcegos, roedores, civetas e humanos enquanto os gamacoronavírus e os deltacoronavírus infetam sobretudo aves, embora alguns deles possam também infetar mamíferos.

Os animais de pecuária e de companhia são hospedeiros naturais de inúmeros coronavírus. Entre eles constam os coronavírus dos cães, dos gatos, dos bovinos, dos suínos e das galinhas e perús.

Os cães são infectados por dois coronavírus distintos. Um deles, o coronavírus entérico canino (CCoV), geneticamente relacionado com o coronavírus felino (FCoV) e com um coronavírus dos suínos (TGEV), infecta anualmente animais (*Canis lupus familiaris*) em todo o mundo, originando geralmente gastroenterites ligeiras caracterizadas por diarreia, afetando principalmente cachorros com menos de 1,5 meses. Este coronavírus infecta também raposas (*Vulpes vulpes*), cães-guaxinim (*Nyctereutes procyonoides*) e gatos-bravos (*Felis silvestris silvestris*)⁸. Existem dois genótipos de CCoV (tipo I e II). O outro coronavírus canino (CRCoV), tem tropismo respiratório e, quando em associação com outros agentes virais ou bacterianos, induz uma doença infecciosa altamente contagiosa nos cães, conhecida por “tosse dos canis”⁹. Também esta doença se regista na Europa, América do Norte e Ásia. O CRCoV está intimamente relacionado com o coronavírus bovino (BCoV) e ao HCoV-OC43 humano. A utilidade da vacinação contra CCoV é controversa uma vez que a doença é geralmente ligeira e ocorre antes do período recomendado para a vacinação. Não existe vacina para CRCoV.

Os gatos são suscetíveis à infeção por vários coronavírus para além dos coronavírus felinos, nomeadamente coronavírus dos cães, coronavírus dos suínos (TGEV) e de humanos (HCoV-229E e SARS-CoV-2). O coronavírus felino (FCoV) é muito contagioso e a sua prevalência em populações com alta densidade, verificada por exemplo em gatis e abrigos de gatos, é muito elevada. Existem dois serotipos, tipo I e tipo II, este último resultante da recombinação entre o serotipo I do FCoV e o CCoV, diferindo no gene que codifica a proteína S. A grande maioria das infeções causadas pelo coronavírus felino (FCoV) nos gatos é benigna, originando formas clínicas que não são detetadas ou que causam diarreias leves, decorrentes de enterite ligeira. No entanto, cerca de 5% a 10% dos gatos infectados por FCoVs desenvolvem infeções mais graves, resultantes da mudança do tropismo viral do vírus do epitélio intestinal para os macrófagos (células diferenciadas a partir dos monócitos, uma subpopulação dos glóbulos brancos), originando por isso uma doença sistémica que pode mesmo ser fatal, caracterizada por peritonite (designada por peritonite infecciosa dos felinos, PIF). A gravidade da PIF está associada a uma resposta imunitária excessiva, uma vez que os anticorpos produzidos, em vez de serem protetores, aumentam a severidade da doença. Na base da mudança do tropismo celular do FCoV estão fatores virais, como mutações genéticas, e do hospedeiro, nomeadamente da



*A rápida evolução do genoma viral dos coronavírus pode levar a alterações estruturais e de especificidade na proteína S que permitam ao novo vírus infectar uma terceira espécie hospedeira. No caso do SARS-CoV-2, foi detetado um coronavírus no pangolim-malaio, um pequeno mamífero pertencente à ordem Pholidota que vive em zonas tropicais da Ásia, que possui uma proteína S com elevada similaridade à proteína S do SARS-CoV-2, mas cujo restante material genético tem uma semelhança menor, de apenas 90%. Por outro lado, o RNA do vírus SARS-CoV-2 apresenta 96% de semelhança com o RNA do vírus de um morcego (*Rhinolophus*) que habita grutas em Yunnan, na China. No entanto, a região da proteína S (chave) do vírus de morcego não é compatível com o recetor (fechadura) das células humanas, pelo que este vírus não tem capacidade de infectar diretamente humanos.*



O desenvolvimento da peritonite infecciosa felina (PIF) parece estar diretamente relacionado com a alteração do tropismo celular do FCoV dos enterócitos para os monócitos/macrófagos. Os monócitos infectados exibem uma afinidade particular para os endotélios venosos das diferentes serosas (omento, pleura, meninges). Embora a resposta imunitária montada nas infeções por FCoV seja preferencialmente celular, o desencadeamento de uma resposta humoral intensa favorece a disseminação viral e desencadeia um processo de hipersensibilidade do tipo III, com formação de complexos antígeno-anticorpo que se acumulam nos endotélios vasculares, provocando uma reação inflamatória exagerada e a formação de edemas (forma efusiva da PIF). O edema da cavidade abdominal é característico da PIF. No entanto, os gatos que são capazes de desenvolver uma resposta imunitária predominantemente celular, são mais resistentes ao desenvolvimento da forma efusiva do PIF. Nesta forma “seca” de PIF, os animais montam uma resposta celular parcialmente eficiente na contenção da disseminação orgânica do vírus, sendo por isso capazes de restringir a replicação viral a alguns órgãos.

sua incapacidade de montar uma resposta imunitária celular adequada. Estes dois patótipos divergem entre si no tropismo celular, definindo duas apresentações clínicas profundamente distintas e com diferentes prognósticos¹⁰. Uma vez que as vacinas indutoras de anticorpos são contraproducentes para a PIF, foi produzida uma vacina para administração nasal para estimulação das IgAs da mucosa. Esta vacina só se revelou protetora quando administrada antes do contacto com o FCoV, extremamente complicado em áreas onde a doença é endêmica.

O coronavírus bovino (BCoV) foi identificado em 1973 nos EUA, sendo responsável por três síndromes clínicas de diferente gravidade nos bovinos, traduzidas em doença digestiva (diarreia dos vitelos e disenteria de inverno) e em doença respiratória que pode estar, ou não, associada a outros agentes infecciosos bacterianos e virais. Uma vez que a infeção dos vitelos ocorre nos primeiros dias de vida, a proteção dos animais é conseguida através da vacinação das mães durante a gestação, para transferência de imunidade passiva pelo colostro, ou por vacinação intranasal dos vitelos no primeiro dia de vida com vacinas atenuadas. A elevada semelhança genómica (96%) do BCoV com o coronavírus humano HCoV-OC43, sugere um episódio remoto de transmissão zoonótica do BCoV para o Homem. Pela análise de relógio molecular destes dois vírus, estima-se que o ancestral comum mais recente tenha emergido por volta de 1890¹¹ quando se registou efetivamente uma pandemia de doença respiratória em humanos. O BCoV pode também causar diarreia em humanos e infeções respiratórias em cães.

Os suínos são hospedeiros suscetíveis de seis coronavírus diferentes que causam doença intestinal e respiratória. Destes, o vírus da gastroenterite transmissível dos suínos (TGEV), o vírus da diarreia epidémica porcina (PEDV), o vírus da síndrome da diarreia aguda dos suínos (SADSV) e o deltacoronavírus suíno (PDCoV), induzem doença digestiva em suínos de diferentes gravidades. A deteção de anticorpos contra TGEV em várias espécies de carnívoros selvagens e domésticos, incluindo cães e gatos, sugere que sejam também suscetíveis à infeção por este coronavírus. O PEDV causa diarreia aquosa, vômitos e anorexia e desidratação em leitões com menos de 2 semanas de vida. Por esta razão a vacinação é geralmente praticada nas porcas grávidas para imunização dos leitões via colostro. O coronavírus respiratório porcino (PRCoV) surgiu posteriormente ao TGEV através de deleções genéticas do vírus entérico no gene que codifica a proteína S, que resultaram na alteração do tropismo entérico do vírus para um padrão de tropismo e transmissão quase exclusivamente respiratória¹². O PRCoV apresenta também uma elevada semelhança genética com o CCoV e com o FCoV¹³. O delta coronavírus dos suínos (PDCoV), tal como o PEDV e o SADSV, são agentes de doenças emergentes. O vírus da encefalomielite hemaglutinante (PHEV) geralmente causa vômito e doença debilitante e/ou encefalite em neonatais.

Embora outras aves selvagens possam contribuir para a manutenção do vírus no ambiente, o hospedeiro natural do vírus da bronquite infecciosa (IBV, o primeiro coronavírus animal a ser identificado), é a galinha. A bronquite infecciosa é considerada uma das doenças aviárias mais preocupantes pelas implicações na mortalidade, no crescimento dos animais e no comércio nacional e internacional. Este coronavírus causa uma doença respiratória e renal, embora possa também afetar o sistema reprodutivo das galinhas. Tal como os restantes coronavírus, o IBV tem uma rápida capacidade de disseminação e de alteração genética devido a frequentes episódios de mutação e recombinação. Estão disponíveis atualmente vacinas inativadas, atenuadas e recombinantes para IBV. As inativadas, como em muitas outras doenças, induzem uma resposta imunitária medi-

ada por anticorpos fraca, requerendo múltiplas doses vacinais. As vacinas vivas modificadas contendo as estirpes mais comuns são administradas na água ou através de pulverizadores - neste caso a ingestão ocorre durante o *grooming* (escovar) das penas -, e são dados no primeiro dia de vida ou durante a primeira semana. A revacinação depende da média de vida dos animais. O coronavírus dos perus (TCoV) é geneticamente muito semelhante ao IBV embora seja considerado uma nova espécie viral¹⁴.

VÍRUS	Sigla	Grupo	Tipo de doença
VÍRUS DE ESPÉCIES DOMÉSTICAS			
Vírus da gastroenterite transmissível dos suínos	TGEV	α-CoVs	Entérica
Coronavírus respiratório dos suínos	PRCoV	α-CoVs	Respiratória
Vírus da diarreia epidémica dos suínos	PEDV	α-CoVs	Entérica
Vírus da encefalomyelite hemaglutinante dos suínos	HEV	β-CoVs	Entérica e neurológica
Coronavírus dos bovinos	BCoV	β-CoVs	Entérica e Respiratória
Coronavírus dos equinos	ECoV	β-CoVs	Entérica
Vírus da bronquite infecciosa aviária	IBV	γ-CoVs	Respiratória
Coronavírus dos perus	TCoV	γ-CoVs	Entérica
Coronavírus porcino HKU15	PorCoV HKU15	δ-CoVs	Entérica
Coronavírus canino	CCoV	δ-CoVs	Entérica
Coronavírus respiratório canino	CRCoV	β-CoVs	Respiratória
Coronavírus felino	FeCoV	α-CoVs	Entérica ou sistémica (peritonite)
VÍRUS DE ESPÉCIES SELVAGENS			
Coronavírus dos morcegos <i>Hipposideros</i> HKU10	Hi-BatCoV HKU10	α-CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> 1A	Mi-BatCoV 1A	α-CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> 1B	Mi-BatCoV 1B	α-CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> HKU	Mi-BatCoV HK	α-CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> HKU8	Mi-BatCoV HKU8	α-CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Myotis</i> HKU6	My-BatCoV HKU6	α-CoVs	Assintomática

Coronavírus dos morcegos Rhinolophus HKU2	Rh-BatCoV HKU2	α -CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos Rousettus HKU10	Ro-BatCoV HKU10	α -CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos Scotophilus 512	Sc-BatCoV 512	α -CoVs	Assintomática
Coronavírus dos morcegos Rousettus HKU9	Ro-BatCoV HKU9	β -CoV	Assintomática
Vírus da hepatite dos Murinos	MHV	β -CoVs	Hepática; entérica; renal; SNC
Coronavírus da civeta (relacionado com o SARS)	SARSr-CiCoV	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos morcegos Rhinolophus (relacionado com o SARS)	SARSr-Rh-BatCoV HKU3	β -CoVs	Assintomática
Coronavírus da palanca-negra	Antilope CoV	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos morcegos Neoromicia	NeoCoV	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do dromedário UAE-HKU23	DcCoV UAE-HKU23	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do ouriço-cacheiro	ErinaceousCoV	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do golfinho-roaz HKU22	BdCoV HKU22	γ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus da baleia-branca SW1	BWCoV SW1	γ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes Pycnonotus HKU11	BuCoV HKU11	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus da galinha-d'água HKU21	CMCoV HKU21	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes Copsychus HKU18	MRCoV HKU18	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes Lonchura HKU13	MuCoV HKU13	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus da garça-real	NH KHU19	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do pardal-montês HKU17	SpCoV HKU17	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes Turdus HKU12	ThCoV HKU12	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do olho-branco-do-japão HKU16	WECov HKU16	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus da piadeira HKU20	WiCoV HKU20	δ -CoVs	Desconhecida

VIRUS DO HOMEM			
Coronavírus humano NL63	HCoV-NL63	α -CoVs	Doença Respiratória ligeira do trato respiratório superior. Nos idosos e imunocomprometidos pode ocorrer pneumonia
Coronavírus humano 229E	HCoV-229E	α -CoVs	Doença Respiratória ligeira do trato respiratório superior. Nos idosos e imunocomprometidos pode ocorrer pneumonia
Coronavírus entérico humano 4408	HCoV-4408	β -CoVs	Doença Entérica ligeira a moderada na maior parte dos infectados
Coronavírus humano OC43	HCoV-OC43	β -CoVs	Doença Respiratória ligeira do trato respiratório superior. Nos idosos e imunocomprometidos pode ocorrer pneumonia
Coronavírus humano HKU1	HCoV-HKU1	β -CoVs	Doença Respiratória ligeira do trato respiratório superior. Nos idosos e imunocomprometidos pode ocorrer pneumonia
Vírus da Síndrome Respiratória Severa aguda	SARS-CoV	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infectados
Vírus da Síndrome Respiratória do Médio Oriente	MERS-CoV	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infectados
Vírus da Síndrome Respiratória Severa aguda 2	SARS-CoV-2	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infectados

α -CoVs-alfacoronavírus; β -CoVs-betacoronavírus; δ -CoVs-deltacoronavírus; γ -CoVs gamacoronavírus

A relação genética próxima entre coronavírus de diferentes espécies animais permite não só refazer as suas histórias evolutivas (por exemplo perceber que o BCoV evoluiu a partir de um coronavírus de murganho), como compreender a capacidade de alguns coronavírus infetarem várias espécies (exemplificada pelo TGEV), e de transporem a barreira de espécie (Figura 7).

Não obstante sejam reconhecidos inúmeros coronavírus de espécies animais domésticas e selvagens, muitas destas infeções são, no entanto, subclínicas, decorrendo sem o aparecimento de sintomas ou sinais de doença, passando por isso despercebidas. Embora aparentemente saudáveis, os animais ou pessoas assintomáticas podem excretar coronavírus sendo, desta forma, agentes ativos na propagação e disseminação da doença. A dinâmica e eficácia dos coronavírus como parasitas, permite que alguns deles possam causar infeções em mais do que uma espécie de hospedeiros.

As doenças mais frequentes no Homem causadas por coronavírus são as vulgares constipações¹⁵. Vários coronavírus circulam na população mundial causando infeções ligeiras do trato respiratório superior (HCoV-229E¹⁶, HCoV-HKU1¹⁷, HCoV-NL63 e HCoV-OC43¹⁸). Menos frequentemente, estes mesmos coronavírus podem também infetar o trato respiratório inferior causando broncopneumonias e pneumonias.

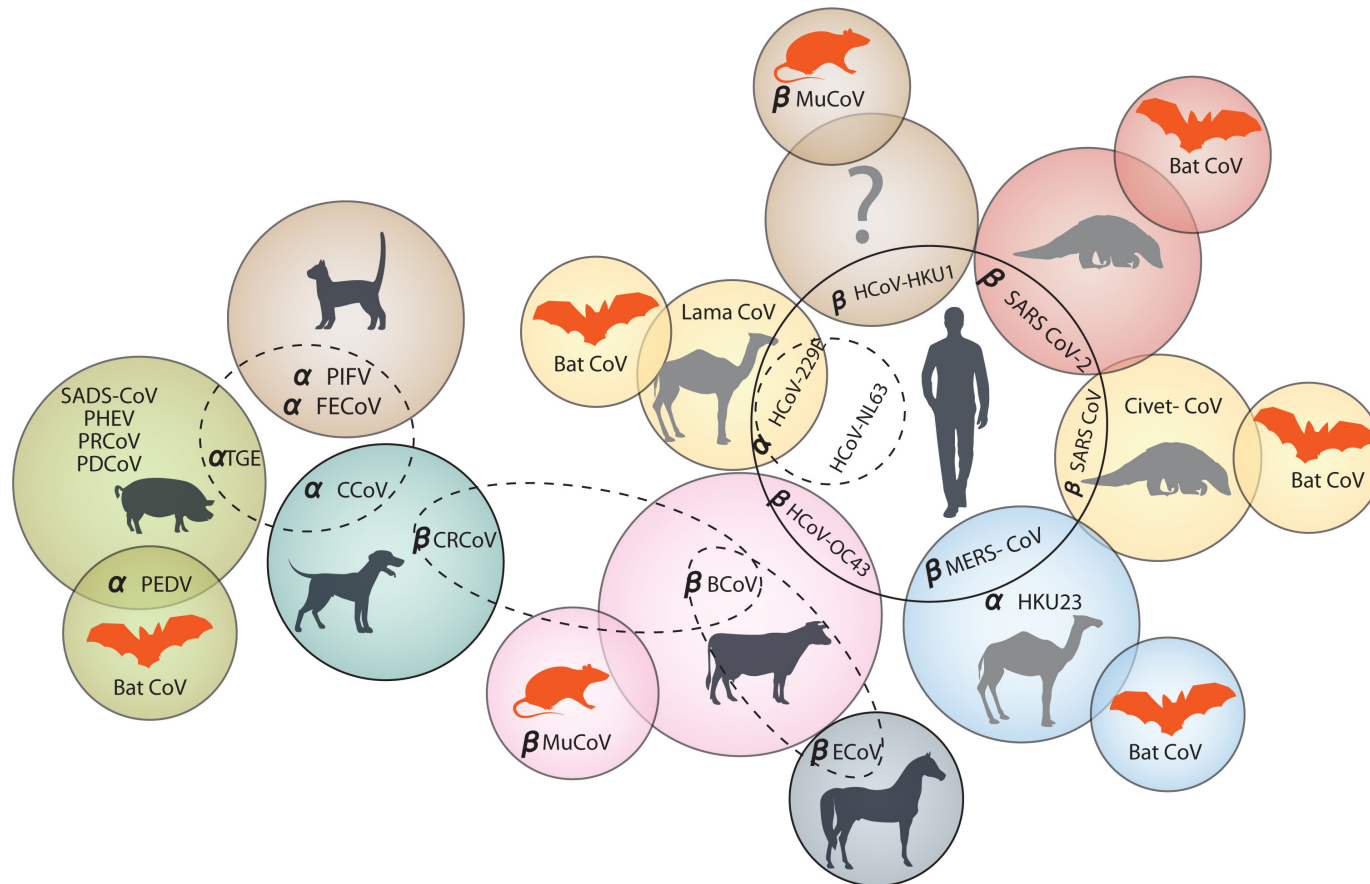


Fig.7 - Diagrama ilustrativo das cadeias de transmissão dos coronavírus de morcegos e roedores (hospedeiros reservatórios, representados a cor-de-laranja) para hospedeiros suscetíveis (representados a preto), passando ou não, por espécies intermediárias (representadas a cinzento). Os círculos tracejados agrupam coronavírus de diferentes espécies animais com relações genéticas próximas. (Adaptado do artigo "Os coronavírus dos animais e do Homem: das infecções assintomáticas às síndromes respiratórias agudas", Veterinária Atual, 7 Abril 2020)

Pelo contrário, outros coronavírus como a SARS, a MERS e a COVID-19 causam síndromes respiratórias agudas no Homem. Como vimos atrás, as doenças dos animais mais frequentemente associadas às infeções por coronavírus afetam o trato respiratório e gastrointestinal. No entanto, alguns coronavírus podem causar também doenças reprodutivas, polisserosites (inflamação das serosas), sialodacrioadenites (inflamação das glândulas salivares e lacrimais), hepatites, encefalomielites e nefrites, tanto no Homem como nos animais.

O reconhecimento de espécies animais reservatórias de coronavírus, tem crescido ativamente desde a identificação do SARS-CoV e do MERS-CoV19, com um ênfase particular para diferentes espécies de morcegos. Muito recentemente (2020) foram identificados mais seis novos coronavírus em morcegos capturados em Mianmar (sudeste asiático), embora sem qualquer relação com a SARS, a MERS ou a COVID-19.

2.4. OS CORONAVÍRUS E A ABORDAGEM DE UMA SÓ SAÚDE

O conceito de Uma só Saúde (*One Health*) reconhece a existência de uma ligação estreita entre a saúde dos animais, do Homem e do meio ambiente, e assenta na colaboração multissectorial e transdisciplinar entre profissionais de áreas de conhecimento distintas, mas complementares, relacionadas com a saúde humana, animal e ambiental, permitindo controlar e prevenir doenças infecciosas zoonóticas. A necessidade de interiorizarmos esta abordagem tem sido amplamente enfatizada no contexto da pandemia COVID-19 e dos desafios que colocou à humanidade, para fazer face ao enorme impacto que a infeção pelo SARS-CoV-2 tem tido na saúde pública, na perda de vidas, e na economia mundial. A situação, que se julga originada no mercado em Wuhan na China em finais de 2019, foi paradigmática de como as doenças zoonóticas podem facilmente emergir e propagar-se muito rapidamente. Como referido anteriormente, o contacto próximo entre o Homem e espécies animais exóticas, o confinamento destes e sua manutenção fora do habitat natural e em locais com elevadas densidades populacionais, a ausência de controlo higiossanitário dos animais de consumo e a ausência de implementação de medidas de biossegurança e de bem-estar animal, propiciam os eventos de transmissão interespecie cujas consequências podem ser potencialmente catastróficas, como estamos a experienciar desde novembro 2019. Esta é uma oportunidade real para alterar a relação do Homem com a Natureza e mitigar o risco de futuras pandemias. A avaliação do potencial de transmissão interespecie (risco zoonótico) e o desenvolvimento de modelos experimentais para as doenças virais emergentes, poderá permitir antecipar novos surtos e emergências através de programas específicos de vigilância e de monitorização que permitam uma atuação rápida em início de surto.

2.5. OS SINTOMAS E SINAIS CLÍNICOS DE INFEÇÃO POR SARS-COV-2

Este vírus pode infetar as células do trato respiratório superior e inferior, mas também outras células, justificando o desenvolvimento de diferentes quadros clínicos. A evolução clínica da COVID-19 depende de vários fatores, entre os quais a quantidade de partículas virais inaladas, i.e., a dose infecciosa a que a pessoa é exposta. Se o hospedeiro é exposto a poucas partículas virais (i.e. a uma dose infecciosa baixa), os cílios das células das fossas nasais e laringe podem eventualmente conseguir “varrê-las” e envolvê-las em muco, inativando-as e eliminando-as na forma de expectoração, man-



Na COVID-19, a infecção pulmonar pode evoluir para uma pneumonia intersticial. Nestes casos, o tecido e o espaço ao redor dos alvéolos pulmonares (designado por interstício), que inclui o epitélio alveolar, o endotélio capilar pulmonar, a membrana basal e os tecidos perivasculares e perilinfáticos) é infectado pelo SARS-CoV-2. Uma resposta imunológica desproporcionada do hospedeiro compromete a quantidade de tecido que o organismo produz para reparar os danos da infecção no pulmão, levando ao espessamento do tecido em redor dos alvéolos e comprometendo a eficácia das trocas gasosas e a sua elasticidade.



A produção desregulada de citocinas (cytokine storm) justifica que alguns doentes de COVID-19, após recuperarem francamente da doença, fiquem subitamente gravemente doentes. Esta inversão na progressão da infecção ocorre entre o 7º e o 10º dia, quando a resposta imunológica à infecção é excessiva.

tendo a infecção localizada e controlada. Nestes casos, ocorre apenas tosse e perturbação do olfato e do paladar, não havendo disseminação da infecção para o trato respiratório inferior. No entanto, se a dose infecciosa for elevada²⁰, ou se a infecção se alastrar, o vírus pode conseguir alcançar os pulmões induzindo pneumonias intersticiais graves com compromisso da função respiratória e possibilidade de falência de vários órgãos decorrente de uma infecção sistémica (infecção generalizada).

Tal como na gripe, é frequente ocorrer contágio pessoa a pessoa por SARS-CoV-2 antes do aparecimento dos sintomas. Porém, no caso da gripe esse período é mais curto, com 1 ou 2 dias. O período de incubação do SARS-CoV-2 médio é atualmente estimado em cerca de 5 a 6 dias²¹. No entanto, ainda não está completamente esclarecido quando ocorre o pico de infecciosidade durante a infecção, uma vez que a maior parte dos estudos medem cargas virais (quantidade de vírus presente nos tecidos) depois da apresentação de sintomas e estimam o pico de infecciosidade (i.e., de transmissão máxima), com modelos matemáticos. É contudo sabido que o contágio na fase pré-sintomática, quando a pessoa infetada ainda não se apercebeu de que está doente, origina uma grande fração das infecções. Esta situação é ainda agravada pelo facto de uma grande parte dos casos de infecção serem assintomáticos, sem nunca ocorrer o desenvolvimento de sintomas perceptíveis.

Para além da dose infecciosa a que o indivíduo é exposto, a capacidade de reação do sistema imunitário, diminuída com o envelhecimento e com a existência de comorbilidades, e o contacto prévio com outros agentes infecciosos que possa ter fortalecido as defesas inespecíficas do hospedeiro, explicam parcialmente porque diferentes pessoas desenvolvem sintomatologia e quadros clínicos tão distintos²² face à infecção por SARS-CoV-2 (Figura 8).

Muitos sinais e sintomas estão associados à COVID-19, incluindo febre, tosse, dificuldade respiratória (dispneia), dor de cabeça (cefaleia), dores musculares (mialgias) ou corporais, calafrios, alteração ou perda de olfato e de paladar, dor de garganta, congestão nasal, náusea ou vômito, diarreia, rouquidão e complicações neurológicas.

As crianças são geralmente mais resistentes à doença do que os adultos, desenvolvendo frequentemente infecções assintomáticas. No entanto foi identificada uma síndrome multissistémica em crianças (MIS-C) em associada ao SARS-CoV-2.

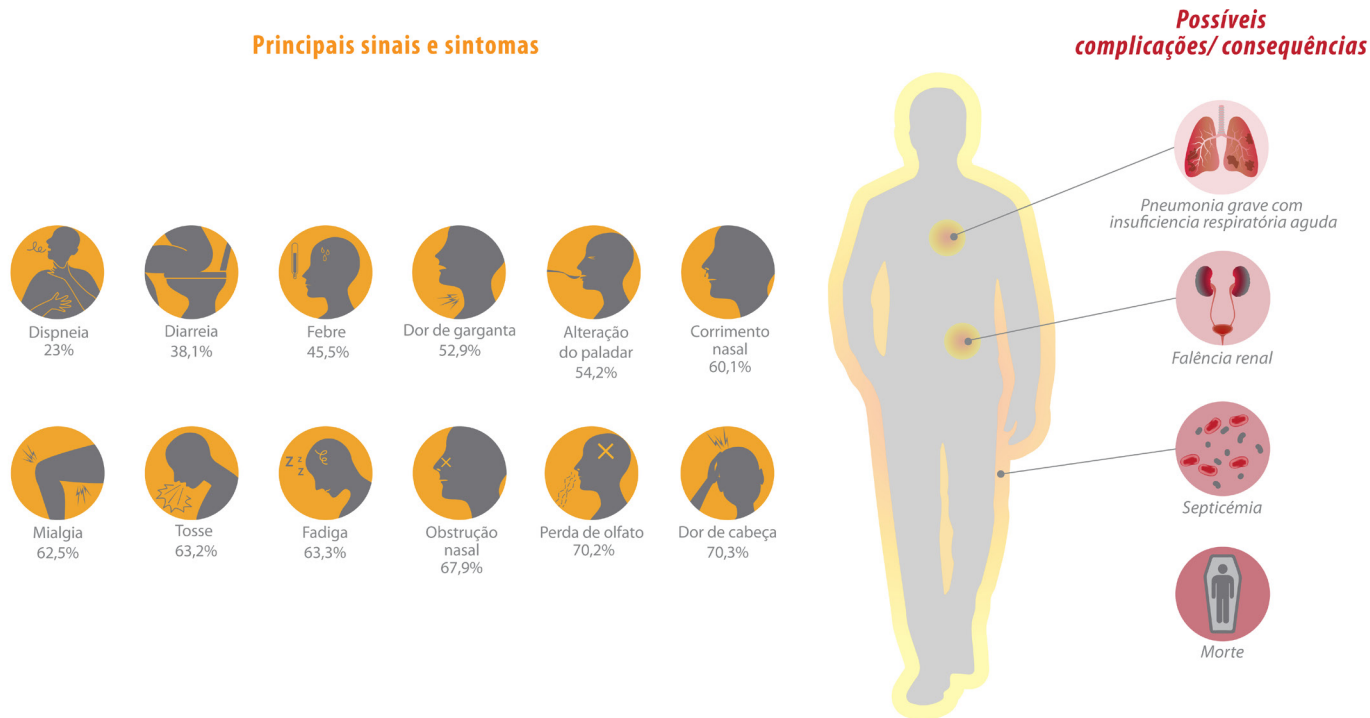


Fig. 8 - Sintomas e lesões associadas à COVID-19 em 24.410 doentes. (Adaptado de Grant et al. The Prevalence of Symptoms in 24,410 Adults Infected by the Novel Coronavirus (SARS-CoV-2; COVID-19): A Systematic Review and Meta-Analysis of 148 Studies from 9 Countries. PLOS ONE 15, n. 6 (June 23, 2020): e0234765. doi: 10.1371/journal.pone.0234765)

2.6. IMPACTO DA COVID-19 NA SAÚDE PÚBLICA

O impacto da COVID-19 é atestado pelos mais de 1,5 milhões de mortos registados mundialmente nos quase 12 meses de reconhecimento da doença (de dezembro de 2019 a dezembro de 2020) ^{23,24}. Acresce a identificação progressiva de sequelas de diversas naturezas (e.g. neurológicas, pulmonares, endócrinas) em alguns dos indivíduos que recuperaram da infeção, atualmente estimados em mais de 46 milhões. A rapidez com que o SARS-CoV-2 se alastrou a 213 países e territórios marcou a história da saúde pública, refletindo a globalização e a intensidade do trânsito internacional do século XXI.

No entanto, num passado recente, a disseminação do vírus da gripe H1N1 que emergiu em 2009 no USA, provocou, apenas durante o primeiro ano em que o vírus circulou, a morte a 151.700 a 575.400 pessoas em todo o mundo de acordo com as estimativas do CDC (*Centers for Disease Control*



Os sinais de alarme da síndrome inflamatória multissistémica (MIS-C) incluem; febre (>38°C) durante 24 horas ou mais, dor abdominal, diarreia ou vômito, dor de pescoço, erupção cutânea ou mudanças na cor da pele, vermelhidão dos olhos, cansaço, dificuldade respiratória, dor ou pressão no peito, confusão, incapacidade de ficar acordado ou de acordar, cianose dos lábios ou do rosto.



Muito recentemente, um estudo realizado no Reino Unido comparou o genoma de mais de duas mil pessoas que desenvolveram formas graves de COVID-19 com falência respiratória, com o genoma de pessoas com doença ligeira, levando à identificação de variantes genéticas associadas às formas graves de doença na população.

Estas variações genéticas foram mapeadas nos cromossomas 12, 19 e 21, afetando a expressão de genes que codificam ativadores antivirais de enzimas de restrição (OAS1, OAS2, OAS3), do gene da tirosina quinase 2 (TYK2), do gene da dipeptidil peptidase 9 (DPP9), e do gene IFNAR2 que codifica o recetor de interferão. Foi encontrada uma ligação causal entre a expressão baixa de IFNAR2, e a expressão elevada de TYK2, com o desenvolvimento de patologia pulmonar grave que põe em risco a vida dos doentes COVID-19.

Estas descobertas abrem novas possibilidades para o desenvolvimento de terapêuticas ajustadas às especificidades do genoma de cada doente, que possam modelar a forma como o sistema imunitário de cada um reage à infeção, para impedir o agravamento da doença.



Quais os sinais e sintomas mais frequentes da COVID-19?

Febre, tosse e fadiga são referidos como os sintomas mais frequentes. Contudo, existe uma variação significativa na presença destes sintomas entre indivíduos e países. Por exemplo, uma meta-análise de 148 estudos de 9 países permitiu verificar que, apesar de a febre ser o sintoma mais prevalente, descrito em 78% de todos os doentes infetados pelo COVID-19 incluídos neste estudo, apenas foi verificada em 32% dos doentes na Coreia mas registou-se em 83% dos doentes de Singapura. Enquanto que, por exemplo, Portugal identifica atualmente como sintomas de alerta para suspeita de COVID-19 a febre, a tosse e a dificuldade respiratória, o Reino Unido considera a febre, a tosse e a alteração de olfato e de paladar como os principais sinais de alerta. É também expectável que os sinais e sintomas mais frequentes se modifiquem à medida que o vírus infecta as diferentes classes etárias das populações e que estas vão desenvolvendo alguma imunidade. Esta imunidade de grupo exercerá uma pressão de seleção sobre o vírus, levando ao aparecimento de estirpes com características diferentes.

A COVID-19 afeta igualmente as diferentes faixas etárias?

As crianças parecem menos afetadas do que os adultos, desenvolvendo habitualmente quadros ligeiros e muitas vezes sem apresentação de quaisquer sintomas (quadros subclínicos). Os idosos são particularmente sensíveis, desenvolvendo com alguma frequência quadros clínicos mais graves, atribuídos ao maior número de recetores para o vírus que aumenta com o envelhecimento, à presença mais frequente de comorbilidades, e ao enfraquecimento do sistema imunitário. A taxa de mortalidade é também diretamente proporcional à idade.

No entanto foi identificada uma síndrome inflamatória multissistémica (MIS-C) em crianças infetadas por SARS-CoV2 ou que estiveram em contacto com alguém com COVID-19. Potencialmente letal, esta síndrome é caracterizada por inflamação generalizada de vários órgãos (incluindo coração, pulmões, rins, cérebro, pele, olhos ou órgãos gastrointestinais), partilhando alguns sintomas de outras doenças raras das crianças, como a doença de Kawasaki e a síndrome do choque.

Porque é que numa pessoa a doença é grave e noutra é ligeira?

Vários fatores contribuem para a severidade do quadro clínico desenvolvido. Para além da idade, a existência de patologia pulmonar como doença obstrutiva crónica, asma, ou enfisema que debilitam os pulmões favorecem a progressão da infeção, a diabetes, patologia cardiovascular, hipertensão, e obesidade e outras comorbilidades são também fatores de risco. No entanto existem outros fatores individuais, que só agora começam a ser identificados, que estarão na causa de mortalidade de pessoas jovens aparentemente saudáveis.

Qual o período de incubação (entre a infeção e o aparecimento dos sintomas) da COVID-19?

O tempo médio entre a exposição ao vírus e o desenvolvimento de sintomas é de 5 dias, mas pode prolongar-se até 14 dias embora alguns estudos tenham identificado períodos de incubação muito mais longos em algumas pessoas. Por essa razão, atualmente, o período de quarentena e de isolamento profilático é de 14 dias (tempo necessário para decorrer o período de incubação e a fase sintomática de doença).

Em que fase da infeção por SARS-CoV-2 ocorre transmissão da infeção a outras pessoas?

A transmissão ocorre mesmo antes do aparecimento dos sintomas, justificando a maioria (60%) dos contágios⁵, e continua durante o percurso da doença, na sua fase sintomática. Presença de RNA viral tem sido observada mais de 20 dias após o início de sintomas, particularmente no trato intestinal, o que pode indicar a possível transmissão mesmo depois da resolução de sintomas. Contudo, é incerto se a presença de RNA se correlaciona com infecciosidade, dadas a limitações mencionadas no ponto 22⁶.

and Prevention), e afectou, apenas nos USA, mais de 60 milhões de pessoas.

Embora se desconheça ainda o impacto que a segunda e terceira vagas de COVID_19 terão na imunização natural da população mundial, a reduzida proporção de seropositivos (2-6%) encontrada na primeira vaga de doença^{25,26} forjou fortemente as expectativas iniciais de que a imunidade de grupo pudesse ser mais rapidamente estabelecida, o que teria resultado na redução progressiva da circulação do vírus e consequentemente a sua eliminação. Aposta-se, por isso, no desenvolvimento de vacinas eficazes, capazes de controlar mais rapidamente esta pandemia.

A proteína viral S, sendo a mais imunogénica por se encontrar exposta no invólucro viral, é uma das proteínas candidatas à produção de uma vacina que consiga induzir imunidade específica para SARS-CoV-2. No entanto, devido à variação a que esta proteína está sujeita, poderá haver necessidade de serem produzidas regularmente vacinas ajustadas às diferentes variantes em circulação, tal como acontece com as vacinas contra a gripe sazonal.



Quão agressiva é a COVID-19 para a população?

Os dados sugerem que 80% das infeções por SARS-CoV-2 são assintomáticas ou leves (podendo ser tratadas em casa), 15% são infeções graves (requerendo hospitalização para administração de oxigénio), e 5% são infeções críticas (requerendo ventilação mecânica).

Como está a evoluir a imunidade de grupo contra o SARS-CoV-2 a nível mundial?

Muito lentamente, como indicam os resultados dos estudos serológicos realizados em vários países. Em Portugal, foi encontrada a presença de anticorpos em cerca de 3% dos 2302 indivíduos da amostra representativa da população num estudo realizado pelo Instituto Nacional de Saúde entre 21 maio e 8 julho de 2020; em Espanha 9,3% de 578 profissionais de saúde testados entre 28 de março a 9 de abril de 2020 foram seropositivos; 4,8% de 2766 participantes de Genebra, testados entre 6 e 9 de maio de 2020 tinham anticorpos; 3,8% de 2857 dadores de sangue, no Brasil, testados entre 14 a 27 de abril de 2020 foram seropositivos.

No entanto é importante referir que os dados disponíveis reportam a um ponto da pandemia anterior ao presente. A avaliação continuada, ou periódica, da imunidade populacional é fundamental para o conhecimento da mesma.

3. DIAGNÓSTICO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO DAS DOENÇAS POR CORONAVÍRUS (coronaviroses)

Tal como na maioria das infeções por coronavírus dos animais, caracterizadas por enterites e infeções respiratórias, todos os sintomas e sinais clínicos de doença induzidos no decurso da COVID-19, são inespecíficos exigindo por isso a confirmação do diagnóstico clínico por técnicas laboratoriais. O diagnóstico laboratorial pode fazer-se de diferentes formas, nomeadamente por métodos diretos e indiretos.

Os métodos diretos baseiam-se na deteção de algum dos componentes do vírus, como o RNA viral, através de métodos moleculares por transcrição reversa (do inglês *reverse transcription*, RT) seguida de reação em cadeia pela polimerase de DNA (PCR - *Polymerase Chain Reaction*) (Figura 9A), ou através de outras metodologias moleculares como *chips* de DNA (*microarrays*), técnicas de LAMP e CRISPR. Para a deteção de proteínas virais, podem ainda ser utilizadas as técnicas de ELISA, e imunofluorescência. Estão também disponíveis no mercado testes rápidos (Lateral-flow device) para deteção de antígeno de SARS-CoV2. Ensaio realizados em vários países mostraram que existem algumas diferenças nestes testes nomeadamente no que se refere à sua sensibilidade e especificidade. A observação direta das partículas virais por microscopia eletrónica, ou a observação do impacto que o vírus tem na morfologia normal de células suscetíveis (designado efeito citopatogénico), quando são infetadas pelo vírus presente na amostra (isolamento de vírus), são técnicas que também podem ser usadas mas que são extremamente laborosas, despendiosas e demoradas.

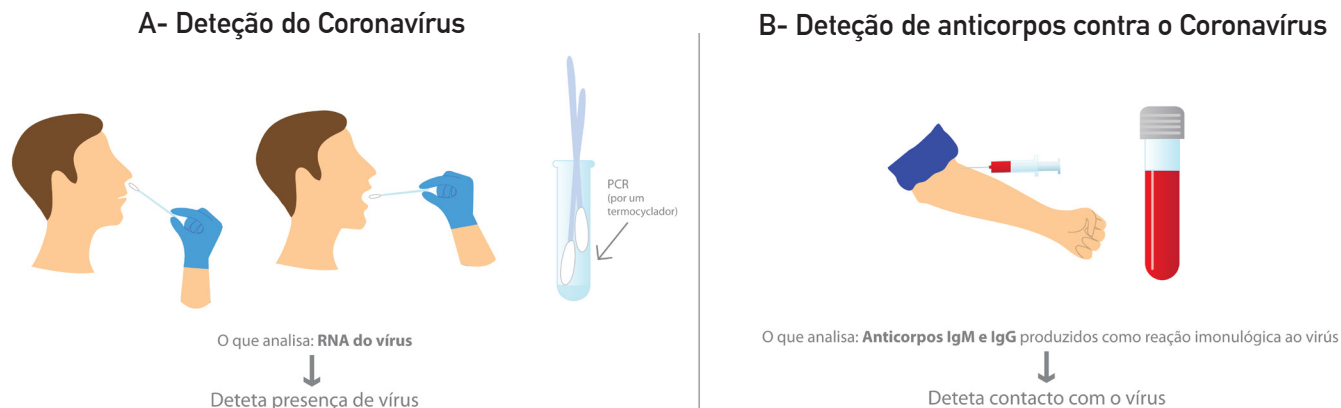


Fig. 9 A- A deteção do genoma viral é feita por RT-PCR (muitas vezes referido apenas por PCR), visto tratar-se de um vírus de RNA. A deteção de RNA viral, um dos componentes do vírus, indica que está a decorrer, ou ocorreu, infeção por SARS-CoV-2.

B- A deteção de anticorpos pode ser efetuada por métodos rápidos ou por imunoensaios (ELISA, CLIA). A deteção de anticorpos releva o contacto prévio com o vírus.

Os métodos indiretos são baseados na detecção de anticorpos que são produzidos especificamente em resposta à infecção. Este ramo da resposta imunitária é designado por imunidade humoral (Figura 9B), e não é o único envolvido na resposta à infecção por SARS-CoV-2, contracenando com a imunidade celular, cuja importância no controlo da infecção ainda não está bem esclarecida. Uma resposta imunológica excessiva está associada a casos graves de infecção por SARS-CoV-2 no Homem, e a algumas infeções dos animais, como nas formas de peritonite infecciosa em gatos, causada por FCoV.

A utilização dos testes moleculares e serológicos depende da evolução da doença e os testes serológicos não estão recomendados para o diagnóstico das infeções agudas.

3.1. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS CORONAVÍRUS

Os métodos moleculares, e em particular os baseados em RT-PCR em tempo real (RT-qPCR), são métodos extremamente específicos (i.e., detetam apenas o agente patogénico para o qual foram desenvolvidos) e sensíveis, que podem também ser facilmente automatizáveis, simplificando a análise simultânea de muitas amostras. A elevada sensibilidade dos métodos moleculares permite detetar pequenas quantidades de vírus na amostra (1 a 10 cópias de RNA viral), como acontece no início da infecção e que seriam indetetáveis por outros métodos. A amplificação no tubo da reação, de uma única molécula alvo inicialmente presente na amostra, em milhares de cópias idênticas, permite a sua detecção específica, sensível e rápida (em poucas horas).

Para a realização do teste molecular são colhidas amostras de acordo com o tropismo do vírus para os diferentes tecidos do hospedeiro. No caso das infeções por coronavírus caracterizadas por enterites (FCoV, SuCoV, CCoV, BCoV), as fezes constituem o material de eleição para o diagnóstico laboratorial. De igual modo nas formas respiratórias, tal como é o caso do PRCoV, do TCoV e do SARS-CoV-2, os exsudados das zonas posteriores das fossas nasais (nasofaringe) e da garganta (orofaringe) recolhidos com recurso a zaragatoas (uma espécie de cotonete comprido), são o material indicado para análise. Estes fluidos contêm muitas células do hospedeiro e, uma vez que a infecção ocorre pelas fossas nasais e garganta, caso o indivíduo esteja infetado, as células recolhidas conterão também partículas virais. O material genético (do hospedeiro e do vírus) presente nessas células é então extraído para ser testado por RT-qPCR. Esta extração pode ser manual ou automática.

Um resultado positivo em RT-qPCR para coronavírus, indica a presença de RNA viral de CoV-SARS-2, mas não permite distinguir entre partículas infecciosas (presentes nas infeções ativas) ou inativas (quando o vírus já foi neutralizado pelos anticorpos do hospedeiro). No entanto, uma vez que este método é quantitativo, a avaliação longitudinal das cargas virais, determinada por testes sequenciais, permitem concluir acerca da progressão da doença.



Qual a diferença entre PCR e RT-PCR?

A PCR (*Polimerase Chain Reaction*, ou reação em cadeia pela polimerase), permite a amplificação de um alvo genómico a partir de uma molécula de DNA, enquanto que a RT-PCR é efetuada a partir de uma molécula de RNA, sendo, neste último caso necessário realizar primeiro a sua conversão de RNA para DNA, através de uma transcrição reversa (RT do inglês *reverse transcription*).

O que significa um teste RT-PCR positivo a SARS-CoV-2?

Significa que a pessoa está (ou esteve recentemente infetada com SARS-CoV-2), sendo por isso potencialmente transmissora de vírus. Embora o RT-PCR detete RNA viral (e não vírus infeccioso, cuja deteção exigiria ensaios de isolamento de vírus em cultura de células de linha, muito demorados e não automatizáveis), este teste é utilizado para monitorizar a infeção por excesso.

Um teste de RT-PCR negativo é seguro?

Estima-se que até 20% dos pacientes os resultados negativos sejam falsos-negativos³. O momento da recolha da amostra (i.e., fase evolução da doença), a qualidade da recolha da amostra e a sensibilidade e especificidade do teste, são fundamentais para a obtenção de um resultado fidedigno, juntamente com uma correta avaliação clínica e epidemiológica. Os resultados negativos, mesmo com um teste altamente sensível, não podem descartar a possibilidade de infeção se a probabilidade do indivíduo estar infetado for elevada (por exibir sintomas compatíveis e tiver um histórico de exposição). Nesse caso, o teste deve ser repetido.

De igual forma, os resultados negativos, devem ser interpretados no contexto clínico, uma vez que o momento da colheita pode interferir com o sucesso da deteção.

3.2. TESTES SEROLÓGICOS PARA CORONAVÍRUS

Os testes serológicos detetam anticorpos (imunoglobulinas) específicos dirigidos contra coronavírus presentes em amostras de sangue. Existem atualmente no mercado testes ELISA para deteção de imunoglobulinas (ou anticorpos) para coronavírus de gatos, cães, suínos, bovinos e aves. No que toca ao SARS-CoV-2, foram já desenvolvidos diferentes testes baseados em metodologias diferentes (Figura 10), e continuam a surgir novos testes para fazer face à procura mundial.

Em indivíduos imunologicamente competentes, a exposição ao vírus leva à estimulação de uma resposta imunitária, da qual faz parte a produção de anticorpos específicos dirigidos para os antígenos presentes na superfície do vírus, em particular a proteína S. Os antígenos são porções das proteínas virais que estimulam a produção de anticorpos.

O primeiro tipo de imunoglobulinas (Ig) a ser produzido no primeiro contacto com a infeção são as IgMs (Figura 10), que podem perdurar por mais de 1 mês. A presença de IgMs é, indicativa de infeção recente.

As IgG contra SARS-CoV-2 surgem normalmente 6 a 15 dias depois do aparecimento da doença. Os seus níveis séricos (i.e., no sangue) atingem um

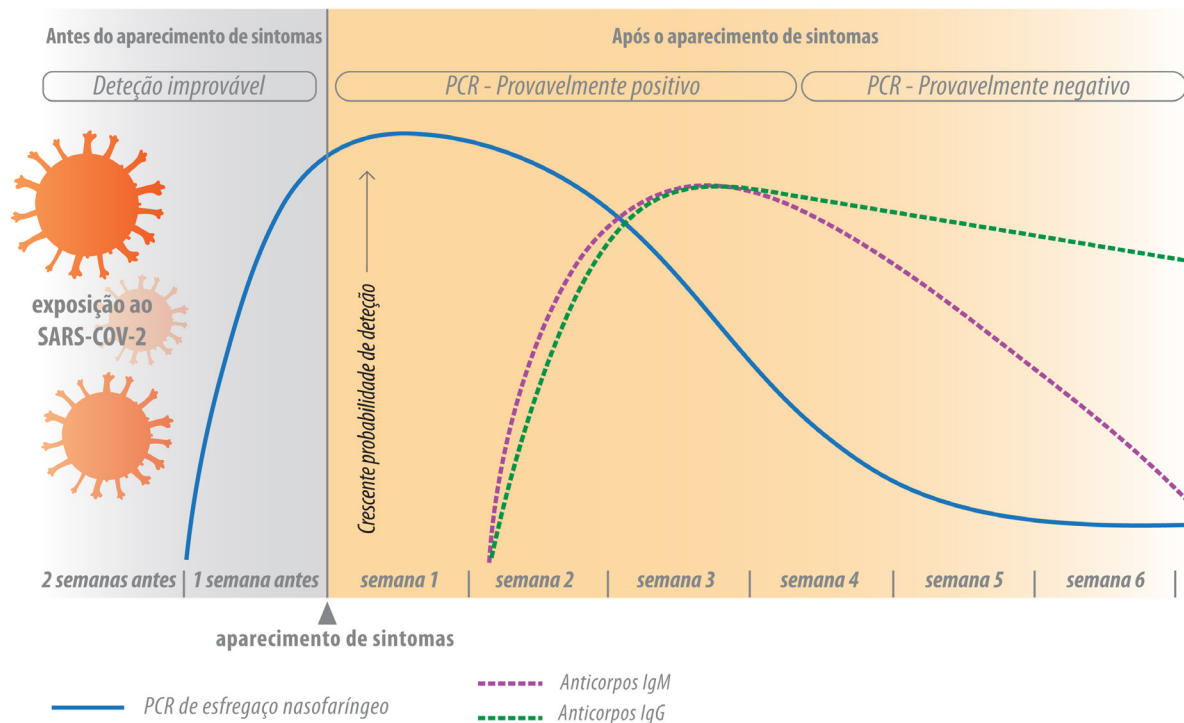


Fig. 10 - Eficácia dos métodos de diagnóstico na detecção da infecção por SARS-CoV-2 desde o contacto até ao aparecimento e progressão dos sintomas. as curvas representam a probabilidade de detecção de RNA viral (por PCR) e de anticorpos (IgM e IgG, por ELISA) ao longo do tempo. (Adaptado de Sethuraman et al.2020. Interpreting Diagnostic tests for SARS- CoV-2. Journal of American Medical association. Doi:10.1001/jama.20208259)

valor máximo cerca de 1 a 2 semanas depois da sua deteção, decrescendo depois lentamente. A produção de imunoglobulinas IgGs é geralmente detetada mais tarde e durante mais tempo nos indivíduos infetados. Sabe-se ainda de outras infeções como por exemplo no MERS que os níveis de anticorpos estão também relacionados com a gravidade da doença. Sendo que o nível de anticorpos pode ser mais baixo e desaparecer mais rapidamente em indivíduos assintomáticos. Desconhece-se ainda durante quanto tempo esta imunidade é protetora, estimando-se que possa rondar os 6 a 12 meses²⁷. No entanto, a Organização Mundial de Saúde (WHO) sublinha que não há ainda evidências claras que as pessoas recuperadas da COVID-19 fiquem imunes e protegidas contra reinfeções. Num segundo contacto com o SARS-CoV-2, os títulos de IgGs podem aumentar substancialmente.

Os anticorpos (imunoglobulinas totais, ou suas classes IgG, IgM e IgA) desenvolvidos contra os antígenos do SARS-CoV-2 podem ser detetados em sangue total, soro ou plasma por testes convencionais que incluem os ensaios imunoenzimáticos (ex. ELISA) ou os ensaios por quimioluminescência (CLIA), ou ainda por testes rápidos imunocromatográficos (Figura 11).



A resposta imunitária montada pelo sistema imunitário face à invasão por um agente patogénico, é caracterizada por uma componente humoral e uma componente celular.

A resposta humoral implica a produção de imunoglobulinas (anticorpos), de diferentes classes (IgM, IgG, IgA, IgD e IgE, que diferem no tipo de cadeia pesada encontrada na molécula), que têm como função, sinalizar, proteger e prevenir a infeção.

As diferenças nos polipeptídeos de cadeia pesada permitem que essas imunoglobulinas funcionem em diferentes tipos de respostas imunes e em estágios específicos da resposta imune. As IgMs, IgGs e IgAs são particularmente importantes no combate das infeções virais e bacterianas. As IgMs são produzidas no início da infeção sendo muito eficientes nos processos iniciais de inativação do agente infeccioso; as IgGs são produzidas após a produção de IgM, sendo as imunoglobulinas que se mantêm mais tempo, e em maior concentração, em circulação no sangue. As IgAs estão envolvidas na proteção local das mucosas do hospedeiro que constituem a porta de entrada primária de muitos agentes infecciosos, dos quais o SARS-CoV-2 é um exemplo. A imunidade celular está ligada à ativação de células específicas (linfócitos T) do sistema imunitário, com capacidade de identificar e eliminar células do hospedeiro infetadas pelo agente patogénico. As duas respostas (celular e humoral) não são indissociáveis e trabalham em conjunto para a eliminação da infeção, por vezes até duma forma exagerada, levando a uma exacerbação do processo infeccioso que pode por si só, ser extremamente nefasto para o hospedeiro. Isto ocorre na peritonite infecciosa dos gatos e na COVID-19.

A - Testes rápidos



B - Elisa Anticorpo

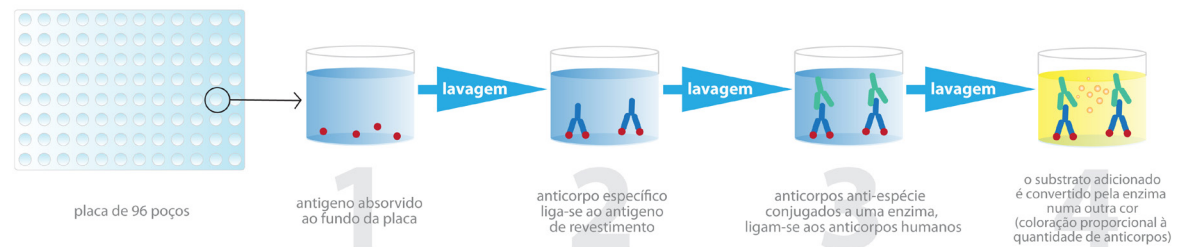


Fig. 11 - Exemplo de testes para pesquisa de anticorpos para SARS-CoV-2. A- Teste rápido que requer apenas a colheita e depósito de uma gota de sangue utilizados no dispositivo. B- ELISA, um teste imunoenzimático realizado em laboratório, requerendo equipamentos específicos (estufa, lavador de placas, espectrofotómetro).



O que significa um teste serológico positivo?

Significa que a pessoa esteve em contacto com o vírus e desenvolveu imunidade humoral (i.e., produziu anticorpos). A maioria das pessoas infetadas com SARS-CoV-2, tanto as sintomáticas como as assintomáticas, produzem anticorpos entre o dia 10 e o dia 21 após a infeção. No entanto, em alguns casos, os anticorpos levam mais tempo a serem detetados, ou não são mesmo produzidos.

Ter anticorpos significa que a pessoa está protegida contra infeções subsequentes?

A capacidade protetora conferida pelos anticorpos, depende da sua capacidade neutralizante e da sua concentração (i.e., do título que os anticorpos atingem no sangue). Há, contudo, registos de que algumas pessoas que recuperaram do COVID-19 e desenvolveram anticorpos, contraíram uma segunda infeção ao fim de alguns meses, o que faz questionar se a imunidade desenvolvida confere proteção para infeções seguintes. A elevada taxa de mutação do vírus, pode estar na origem destas reinfeções.



Quanto tempo duram os anticorpos no sangue?

A longevidade da resposta humoral ainda está sob investigação. Um estudo canadiano indica que os anticorpos IgA e IgM são rapidamente degradados, enquanto os anticorpos IgG se mantêm relativamente estáveis até 150 dias após apresentação de sintomas no sangue e na saliva⁷, sugerindo a possibilidade de reinfeções pelo mesmo vírus.

A imunidade para outros coronavírus humanos também é curta?

A imunidade conferida pela infeção é variável. Cerca de 90% e 50% dos doentes infetados com SARS-CoV demonstraram manter anticorpos IgG por dois e três anos, respetivamente⁸, mas a imunidade para MERS-CoV é mais curta. No caso da infeção pelo coronavírus sazonal HCoV-229E, a deteção de anticorpos IgA nasais foi confirmada até um ano após a infeção, embora os níveis séricos destes anticorpos não tenham aumentado⁹. Os anticorpos IgA participam na imunidade local das mucosas, sendo importantes na defesa das mucosas que são a porta de entrada do vírus.

Os testes rápidos para os quais basta recolher uma gota de sangue periférico, são mais rápidos e permitem obter o resultado em poucos minutos, mas até à data são menos sensíveis e específicos.

Os testes que utilizam a proteína S como antigénio para a deteção dos anticorpos parecem ser mais sensíveis do que aqueles que utilizam a nucleoproteína N.

Existem também no mercado testes ELISA para deteção de anticorpos para coronavírus de gatos, cães, suínos, bovinos e aves.

Uma resposta imunológica excessiva está associada a casos graves de infeção por SARS-CoV-2 no homem e a algumas infeções por dos animais, como o FCoV nos gatos (peritonite infecciosa).

3.3. MEDIDAS DE PREVENÇÃO DE DOENÇAS CAUSADAS POR CORONAVÍRUS

Como em todas as outras doenças dos animais, a vacinação (quando disponível), a prática de medidas de biossegurança (no caso da indústria) e a vigilância sanitária, constituem ferramentas eficazes na prevenção da infeção.

No caso do SARS-CoV-2, e uma vez que a vacinação ainda não teve início à data, as medidas recomendadas para reduzir a taxa de transmissão entre pessoas, incluem a lavagem frequente e desinfeção das mãos, o respeito pela etiqueta social (espirrar e tossir para a face interna do braço), o uso de máscara, o distanciamento físico e o autoisolamento sempre que ocorram febre, dores de cabeça, tosse seca ou falta de ar, ou quando houver contacto próximo com indivíduos infetados.

Uma revisão das evidências publicadas até 23 de junho de 2020 permitiu concluir que a quarentena é importante tanto na redução do número de pessoas infetadas como do número de mortes. Os resultados de vários estudos de modelação sugerem que a quarentena foi mais eficaz e custou menos quando foi implementada mais cedo.

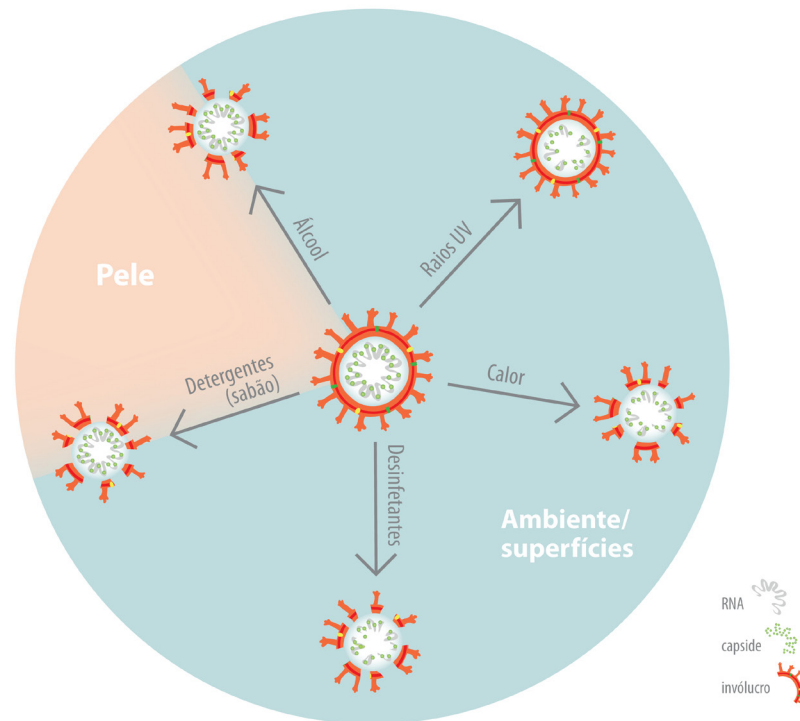


Fig. 12 - Métodos de inativação do vírus e sua respetiva eficácia. (Adaptado de Pfaender, Stephanie, Janine Brinkmann, Daniel Todt, Nina Riebesehl, Joerg Steinmann, Jochen Steinmann, Thomas Pietschmann, e Eike Steinmann. «Mechanisms of Methods for Hepatitis C Virus Inactivation». Editado por M. W. Griffiths. Applied and Environmental Microbiology 81, n. 5 (1 de Março de 2015): 1616. <https://doi.org/10.1128/AEM.03580-14>)



Como ocorre a transmissão do SARS-CoV-2?

A transmissão ocorre por disseminação de gotículas respiratórias contendo o vírus, produzidas quando uma pessoa infetada tosse, espirra ou fala. Estas gotículas podem ser inaladas ou pousar na boca, nariz ou olhos das pessoas que estão próximas, infetando-as⁵. Contudo, ao caírem sobre superfícies inertes próximas, podem também contaminá-las (fomites), embora não se saiba claramente durante quanto tempo o vírus se mantém ativo em diferentes superfícies. Dada a sua dimensão, estas gotículas sofrem a ação rápida da gravidade pelo que o seu alcance é relativamente curto (2 metros). No entanto, em condições particulares de pressão ou temperatura elevada e humidade reduzida, as gotículas podem dividir-se em partículas muito menores, designadas por “aerossóis”. Pela menor dimensão, a força de impulsão é maior do que a força da gravidade, permitindo aos aerossóis ficarem suspensos no ar durante mais tempo e percorrerem maiores distâncias. Em ambientes hospitalares onde os profissionais de saúde se podem encontrar em contacto próximo e prolongado com uma fonte geradora de aerossóis (por exemplo, ventiladores invasivos e não invasivos, ou durante as broncoscopias), o risco de transmissão e infeção é particularmente elevado.

O cumprimento de quarentena por parte indivíduos que estiveram em contato com um caso confirmado ou suspeito de COVID-19, mostrou um benefício que pode ter evitado 44% a 96% dos casos incidentes e 31% a 76% das mortes. Alguns estudos indicaram que pode haver uma redução no valor de R_t (taxa de transmissão) de 37% a 88% devido à implementação da quarentena²⁸. De igual forma, regista-se um efeito positivo da quaren-

tena em indivíduos que viajam de um país com um surto de COVID-19. O efeito da quarentena é maior quando articulado com outras medidas de prevenção e controle (Figura 13), tais como a limpeza e desinfecção frequente das superfícies com as quais se entra em contacto. A importância da lavagem e desinfecção das mãos pode ser explicada cientificamente. A ação mecânica de lavagem, é, por si só, importante na eliminação de uma quantidade substancial de vírus, facilitando a ação subsequente dos detergentes e desinfetantes, que atuam sobre a sua camada exterior. Os coronavírus necessitam do seu invólucro viral intacto para conseguirem infectar as células hospedeiras suscetíveis e iniciar o seu ciclo replicativo. Dada a natureza lipídica frágil desse invólucro, ele é facilmente destruído por detergentes que emulsionam as gorduras ou por soluções desinfetantes à base de álcool, que lhe causam danos e conduzem à desnaturação rápida e irreversível de proteínas (alteração da sua estrutura, como acontece por exemplo à proteína do ovo quando este é cozido) (Figura 12).

Tal como em outros coronavírus, o tratamento térmico e a radiação ultravioleta (UV) induzem danos irreparáveis no RNA viral comprometendo a sua replicação e função, causando também alterações estruturais nas proteínas virais. A temperatura de inativação do SARS-CoV-2 tem ainda de ser melhor elucidada, mas parece ocorrer a cerca de 60°C²⁹. Pelo contrário, o vírus pode resistir ao frio, mesmo abaixo de 0°C. Por todas estas razões, a higienização das mãos com solventes orgânicos (detergentes ou com álcool a 70%) e de todas as superfícies que possam ser tocadas com desinfetantes contendo cloro, ácido peracético e clorofórmio, são medidas eficazes para conter o contágio.

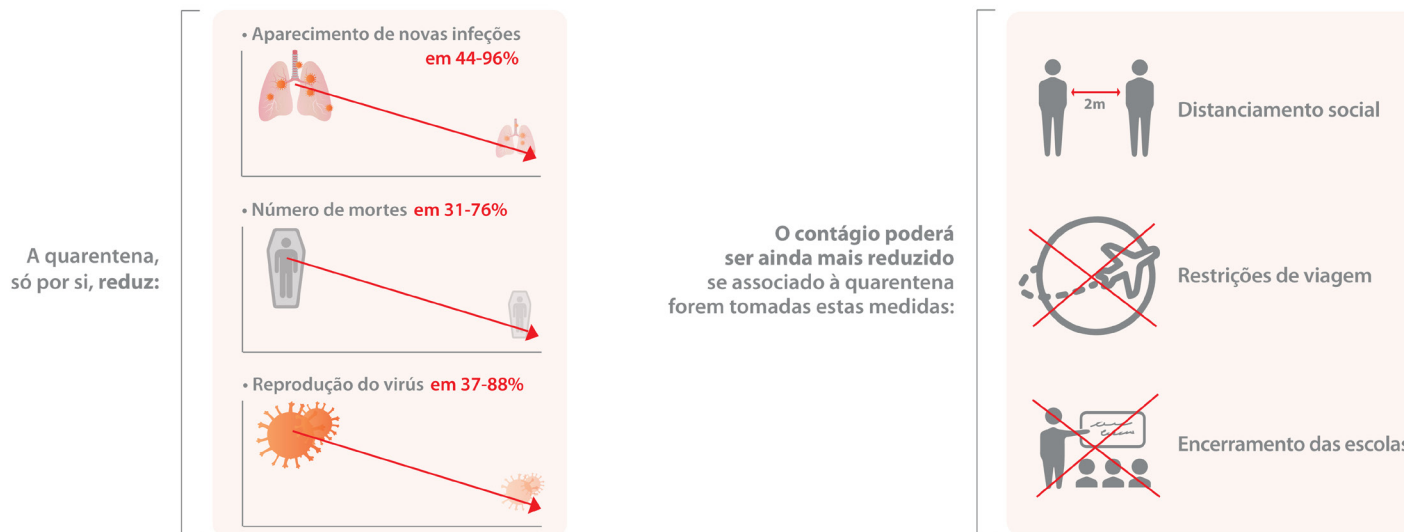


Fig. 13 - Importância da quarentena na redução da transmissão de SARS-CoV-2



Quais as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) para prevenir a propagação de COVID-19 de pessoa para pessoa?

- 1 - Limitar o contato próximo entre pessoas infetadas e outras pessoas;
- 2 - Garantir uma distância física de pelo menos 1 metro entre pessoas que não pertencem ao mesmo agregado familiar, no local de trabalho, espaços e via pública;
- 3 - Usar máscara em áreas onde o SARS-CoV-2 circula e o distanciamento não pode ser garantido; através do uso de máscara, verifica-se uma diminuição da eliminação de gotículas e aerossóis contaminados por partículas virais;
- 4 - Identificar rapidamente as pessoas infetadas promover o seu isolamento e tratamento, e colocar em isolamento, em instalações apropriadas, todos os seus contatos próximos;
- 5 - Higienizar e desinfetar as mãos com frequência (ações que reduzem a carga microbiana nas mãos e inativam diretamente o vírus), e usar máscara
- 6 - Evitar locais lotados, e aglomerados e ambientes de contato próximo e espaços confinados e fechados com pouca ventilação;
- 7 - Garantir uma boa ventilação em ambientes internos, incluindo residências e escritórios;
- 8 - Ficar em casa quando se sente doente e contactando o seu médico o mais rapidamente possível para determinar se é necessário atendimento médico;
- 9 - Em países ou áreas onde o COVID-19 esteja a circular, os profissionais de saúde devem usar máscaras médicas continuamente durante todas as atividades de rotina em áreas clínicas em instalações de saúde;
- 10 - Os profissionais de saúde também devem usar equipamentos de proteção individual e precauções adicionais ao cuidar de pacientes com COVID-19;
- 11 - Os locais de trabalho devem cumprir as medidas de proteção em vigor.

Qual a importância da desinfecção das mãos na prevenção de COVID-19?

A infecção por SARS-CoV-2 ocorre por via oro-nasal, através da inalação e ingestão de partículas virais. No entanto, a conjuntiva ocular é também uma porta de entrada para a infecção por este vírus. Mesmo usando máscara, se as nossas mãos tocarem num objeto contaminado (por exemplo uma superfície salpicada por um espirro de uma pessoa infetada, ou a mão de uma pessoa infetada que se tenha assoado), e de seguida forem levadas à boca ou aos olhos¹⁰, promovem o contacto do vírus com as mucosas, e subsequentemente a infecção.

Porque se usa sabão e álcool 70% para desinfetar as mãos?

A higienização das mãos com sabão, permite a eliminação mecânica mais eficaz da maioria dos microrganismos presentes na pele. A utilização de álcool a 70% (7 partes de álcool para 3 partes de água) assegura a inativação de um maior espectro de microrganismos, entre os quais vírus com envólucro, como é o caso do SARS-CoV-2. É importante referir que as mãos devem estar previamente bem lavadas antes de se utilizar a solução alcoólica porque um excesso de sujidade (matéria orgânica) prejudica a ação antimicrobiana dos compostos alcoólicos utilizados. O sabão e o álcool emulsionam e dissolvem, e por isso alteram, os lípidios do envelope viral, impedindo assim a ligação dos vírus aos recetores celulares, e consequentemente a infecção viral.

Porque é que o álcool a 70% é mais eficaz do que o álcool puro?

A capacidade desinfetante do álcool a 50% e 80%, diluído em água, é maior do que o álcool não diluído. O álcool desnatura as proteínas e dissolve as gorduras das bactérias, dos fungos e de alguns vírus. No entanto, quando aplicado puro desnatura rapidamente as suas camadas mais exteriores, selando-as e protegendo o seu interior, permitindo que sobrevivam. Para que o álcool possa penetrar mais profundamente nos microrganismos e ser eficaz tem de estar misturado com água que, embora em menor quantidade, lhe serve de veículo para que possa ocorrer contacto direto entre moléculas.

Porque se deve utilizar lixívia diluída na desinfecção de superfícies?

A lixívia diluída em água a (0,5% a 1%) é mais eficaz para matar os microrganismos. Para além disso, a lixívia em concentrações demasiado altas é irritante para as mucosas (olhos, nariz, boca), pele e vias aéreas. Não diluída, a lixívia decompõe-se com o calor e a luz, e reage rapidamente com outros químicos, pelo que deve ser usada na desinfecção de superfícies com muito cuidado e sempre diluída.

O uso de máscaras é efetivo na prevenção da transmissão?

A máscara é uma barreira essencial para limitar a contaminação, devendo ser articulada com outras medidas de distanciamento e etiqueta social para conter a transmissão do vírus. Usar uma máscara permite essencialmente proteger os outros, sendo por isso um gesto de respeito e de consciência social. As máscaras constituem barreiras físicas e electrostáticas bloqueando as gotículas emitidas pela boca e nariz, que podem conter coronavírus infecciosos. A máscara ajuda por isso a reduzir a propagação das partículas do coronavírus SARS-CoV-2 na atmosfera, libertadas pelas pessoas infetadas (mesmo pelas assintomáticas), limitando ou reduzindo significativamente a sua disseminação no meio ambiente¹¹. Desta forma é importante compreender que o uso de máscaras é particularmente importante na redução da carga ambiental. No entanto, a máscara também protege quem a usa, uma vez que filtra o ar que respiramos reduzindo assim a dose infecciosa, i.e. a concentração de vírus que nos pode infetar, o que, por sua vez, também reduz a gravidade da infecção. Importa sublinhar que a máscara não oferece nenhum acréscimo de proteção para o risco de transmissão indireta através das mãos.

A composição da máscara e sua adesão ao rosto são fatores muito importantes que influenciam sua eficácia. A utilização de máscaras de pano (artesaniais, laváveis) e cirúrgicas (descartáveis) reduzem significativamente a emissão de gotículas e aerossóis pelas pessoas infetadas, protegendo assim os que estão ao seu redor e con-



tribuindo para uma diminuição efetiva da carga viral no ambiente. No entanto, tanto as máscaras de pano como as máscaras cirúrgicas não fazem uma filtração efetiva de aerossóis do exterior para o interior da máscara. As máscaras ou respiradores da categoria N95 /FFP2 têm a capacidade de filtrar cerca de 95% dos aerossóis ambientais (proteção de dentro para fora e de fora para dentro) sendo aconselhadas para os profissionais de saúde que trabalhem em ambientes com elevadas cargas virais ou para pessoas que trabalhem em ambientes com elevada ocupação e fraco arejamento.

O uso de luvas é uma ferramenta importante na prevenção da transmissão?

Embora o SARS-CoV-2 não tenha capacidade de nos infectar por via transdérmica, as mãos constituem um veículo de transporte frequente de vírus para a boca, nariz e mucosas dos olhos, portas de entrada reconhecidas para a infeção viral. Ao procedermos frequentemente à higienização e desinfeção das mãos, diminuímos significativamente a probabilidade de, ao tocarmos inconscientemente na boca, no nariz ou nos olhos, nos infetarmos. Enquanto as luvas podem efetivamente manter as mãos desinfectadas no seu interior, a sua superfície exterior contamina-se, tal como as mãos nuas. O uso de luvas pode proporcionar uma falsa sensação de segurança aos seus utilizadores, que considerando as suas mãos protegidas, se esquecem que estão contaminadas.

Que outras medidas são recomendadas para quebrar a transmissão do vírus?

Só por si, o uso de máscaras não é suficiente para impedir a transmissão do vírus. O respeito pela etiqueta social, o respeito pelo distanciamento físico entre as pessoas, a lavagem e antissepsia das mãos, e a sanitização e desinfeção de superfícies e quando aplicável, do ambiente, são medidas que em conjunto, permitem reduzir efetivamente a transmissão. Quando espirramos, mesmo com máscara, devemos proteger a boca e desinfectar a mãos de seguida.

Qual a taxa de transmissão da COVID-19?

A taxa de transmissão de um vírus mede-se através do “R0” ou “número básico de reprodução” que, de forma simples, significa o número médio de pessoas que são contagiadas por cada pessoa infetada com o vírus, num cenário em que toda a gente é suscetível ao vírus, e onde não foram implementadas medidas de controlo. Em termos matemáticos, R0=1 significa que cada pessoa infetada pode infetar uma outra. Um número de R0 maior que 1 (R0>1), irá fazer com que o número de pessoas infetadas cresça exponencialmente conduzindo, dessa forma, a uma epidemia. Contudo, no decurso de uma epidemia, mais importante do que saber o R0 como medida estática, é perceber com o R0 se comporta no tempo, e como oscila em função das medidas de prevenção adotadas. Se o número for superior a 1, a epidemia está a crescer. Se o número for inferior a 1, a epidemia evolui para o fim, já que cada infetado infecta, em média, menos de uma pessoa. Esta medida do R0 no tempo é designada Rt (R0 no tempo, ou velocidade de contágio no tempo). No caso da COVID-19, a DGS procura saber como essa velocidade pode ser alterada semanalmente, uma vez que o efeito das medidas adotadas pode demorar pelo menos duas semanas para que se observe alguma mudança no valor Rt.

Como poderá a vacinação controlar a infeção?

A vacinação contra SARS-CoV-2 permitirá acelerar a construção de imunidade de grupo. As pessoas imunizadas são também infetadas mas, ao contrário das não imunizadas, desenvolvem rapidamente anticorpos específicos que permitem neutralizar o vírus e controlar e eliminar a infeção. Se uma percentagem significativa da população estiver imunizada, ocorrerá uma redução da transmissão a novas pessoas, com interrupção da cadeia de transmissão do vírus, e redução do número de vírus em circulação. A periodicidade das vacinações dependerá do período de tempo que a vacina for capaz de conferir imunidade.

Existe atualmente alguma vacina disponível?

Não. Estão atualmente em desenvolvimento em vários países (França, Reino Unido, China, Brasil, Polónia, USA, Austrália, etc), mais de 130 vacinas para COVID-19, algumas já em fase de testes clínicos (fase 3), mas nenhuma está ainda autorizada e comercializada. Em muitos países a vacinação vai iniciar-se em 2021.

Qual o tratamento da COVID-19?

Não existem ainda vacinas ou terapêuticas licenciadas para a COVID-19. O tratamento de suporte é apenas sintomático incluindo antipiréticos, analgésicos, anti-inflamatórios e se necessário, administração de oxigénio. Os antivirais (Remdesivir é atualmente o mais utilizado permitindo reduzir de 15 para 10 dias o tempo de recuperação dos pacientes com infeção pulmonar¹²) e imunomoduladores são utilizados em casos mais graves.

Qual a taxa de mortalidade associada à infeção por COVID-19?

Embora a verdadeira mortalidade por COVID-19 demore algum tempo a perceber, os dados atualmente disponíveis indicam que a taxa de mortalidade bruta (i.e., o número de mortes relatadas dividido pelo número de pessoas expostas à infeção) se situe entre 3-4%. A taxa de letalidade (i.e., o número de mortes relatadas dividido pelo número de infeções) varia muito entre países, estimando-se valores entre 0,1% e 25%¹³. No entanto há que ter em conta que a mortalidade é, em grande parte, determinada pelo acesso e qualidade dos cuidados de saúde, pela dose infecciosa a que as pessoas são expostas, e pela virulência das estirpes.

Como irá evoluir a pandemia?

O equilíbrio entre o vírus e o novo hospedeiro dependerá da capacidade de evolução do vírus e da resposta imunitária das populações, adquirida naturalmente através de infeções, ou artificialmente através de uma vacina.

4. OS CORONAVÍRUS NO MUNDO

A maioria dos coronavírus dos animais (como o FCoV, o CCoV e o TGE) e do Homem (HCoV2-229E, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 e HCoV-OC43) apresentam uma distribuição mundial.

O SARS-CoV foi o agente causal da SARS (síndrome respiratória aguda grave, pneumonia atípica), originando o primeiro surto reportado em humanos e emergiu de 2002 a 2003, afetando 8096 pessoas de 33 países e causando 774 mortes³⁰. Alguns estudos sugerem que o primeiro *cluster* de casos surgiu no 9º piso do Hotel Metropole em Hong Kong e esteve relacionado com o contágio a partir do caso zero (*index case*), um médico proveniente de Guangzhou na China, infetado com SARS-CoV. Outros hóspedes desse mesmo piso foram infetados e regressaram depois aos seus países de origem, em diferentes continentes, promovendo rapidamente a disseminação do vírus à escala mundial³¹.

O MERS-CoV foi detetado pela primeira vez num doente da Arábia Saudita (Médio Oriente) em 2012 e, até 1 Março de 2020, a Organização Mundial de Saúde confirmou cerca de 2553 casos e de 856 mortes³². Apesar deste coronavírus (MERS-CoV) se ter facilmente disseminado para outros pontos do globo como França, Alemanha, Itália, Tunísia, Reino Unido, através de pessoas que haviam viajado ou trabalhado no Oriente Médio a maior parte dos casos ocorreu e continua a surgir na Península Arábica.

A atual pandemia de COVID-19 atinge já 213 países e regiões, mais de um milhão de infetados e a sua disseminação é incomparavelmente superior à da SARS e MERS. O número de infectados até à data de 10 de dezembro atinge cerca de 68 milhões.



Qual a taxa de mortalidade associada à infeção por COVID-19?

Embora a verdadeira mortalidade por COVID-19 demore algum tempo a perceber, os dados atualmente disponíveis indicam que a taxa de mortalidade bruta (i.e., o número de mortes relatadas dividido pelo número de casos relatados) se situe entre 3-4%. A taxa de mortalidade por infeção (o número de mortes relatadas dividido pelo número de infeções) será, contudo, menor. No entanto, a mortalidade é, em grande parte, determinada pelo acesso e qualidade dos cuidados de saúde, pela dose infecciosa e pela virulência das estirpes.

Como irá evoluir a pandemia?

O equilíbrio entre o vírus e o novo hospedeiro dependerá da capacidade de evolução do vírus e da resposta imunitária das populações, adquirida naturalmente através de infeções, ou artificialmente através de uma vacina. O ponto de destino desta coevolução, é ainda desconhecido.

5. E AGORA?

Os vírus são muito particulares, desde logo pelo facto de ainda ser controverso se são, ou não, seres vivos. Embora dependam de células vivas que sejam capazes de infetar, utilizando para isso recetores existentes na superfície das células, replicam-se com uma eficiência incomparavelmente superior à das bactérias, parasitas e fungos. Com efeito, quando os cientistas pensam ter encontrado uma resposta para os desafios que os diferentes vírus vão colocando à humanidade, são de novo surpreendidos por uma nova mutação, ou pela emergência aparentemente “do nada” de um novo vírus, que questiona, ou mesmo derruba, os conceitos anteriormente estabelecidos.

Não obstante os vírus terem acompanhado o Homem na sua evolução, moldando povos e sociedades, de que são exemplos a varíola, o HIV e a gripe sazonal cujo impacto foi e é maior, nenhum outro vírus, humano, animal ou zoonótico, foi tão falado no mundo e noticiado nos meios de comunicação social internacionais como o SARS-CoV-2, o agente causal da COVID-19. A emergência deste coronavírus no final de 2019, constituiu um desafio inédito à capacidade de mobilização geral e de resposta dos serviços de saúde de todo o Mundo, para responder a um vírus desconhecido, com uma elevada capacidade de disseminação e potencialmente letal.

A colaboração internacional e interinstitucional permitiu a sequenciação rápida do genoma do SARS-CoV-2 e a partilha desta informação, o que foi imprescindível ao desenvolvimento rápido de testes de diagnóstico e de vacinas baseadas em RNA ou DNA. A partilha internacional de dados sanitários e epidemiológicos possibilita o acompanhamento em tempo real do número de novos casos, de óbitos e de testes realizados na grande maioria dos países afetados, abrindo-se e fechando-se fronteiras e impondo-se quarentenas e isolamentos profiláticos, por forma a reduzir as taxas de transmissão e o alastramento da doença.

Também, sem precedentes, se verifica a atualização constante da informação disponibilizada ao público, facilitada pela versatilidade e abrangência dos meios tecnológicos atuais, e a implementação de ações de sensibilização às populações, instruindo e lembrando as práticas e comportamentos adequados para proteção individual, da família e dos outros, e como proceder em caso de desenvolvimento de sintomas compatíveis com COVID-19 ou de contacto com alguém infetado.

Um ano após as primeiras mortes pela COVID-19, não há ainda um tratamento antiviral específico recomendado, e nenhuma vacina está atualmente disponível. Assim, o tratamento dos doentes é essencialmente sintomático, por recurso a antipiréticos e analgésicos. Em casos mais graves os cuidados médicos focam-se no tratamento das complicações de COVID-19, incluindo pneumonia severa, Síndrome Respiratória Aguda Severa (*acute respirator distress syndrome*), e sepsia. Quando há comprometimento da função respiratória, a oxigenoterapia constitui a primeira linha de atuação.



O remdesivir é um precursor do nucleotídeo de adenosina que é metabolizado em trifosfato de nucleosídeo farmacologicamente ativo uma vez no interior das células. O trifosfato de remdesivir atua como um análogo do trifosfato de adenosina e compete com este pela incorporação na cadeia de RNA sintetizada pela RpRd viral, resultando na terminação prematura da cadeia durante a replicação do RNA viral. Embora os Coronavírus tenham um processo de correção de erros durante a síntese de RNA capaz de detetar e remover outros análogos de nucleosídeos, tornando-os assim resistentes a outros medicamentos, o Remdesivir parece escapar dessa atividade.



Mais de 180 vacinas contra SARS-CoV2 estão atualmente a ser produzidas com base em plataformas tecnológicas diferentes (<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate>). Estas incluem vacinas atenuadas, vacinas inativadas, vacinas constituídas por proteínas virais recombinantes, vacinas que usam vírus como vectores, vacinas de RNA e vacinas de DNA. Algumas destas vacinas já estão licenciadas.

A ventilação mecânica não invasiva e invasiva podem ser necessárias nos casos de insuficiência respiratória mais grave. Apenas nestes casos, os anti-inflamatórios corticosteroides parecem conferir benefício, reduzindo a taxa de mortalidade em 35%³³. Os benefícios da utilização de alguns agentes antivirais (como o remdesivir³⁴, o lopinavir/ritonavir, e o arbidol) e de drogas modeladoras da resposta imunológica (como a cloroquina e a hidroxicloroquina) está ainda em análise.

Embora esta pandemia tenha surpreendido o mundo, há muito que a emergência e disseminação intercontinental de um novo vírus patogénico fora prevista e alertada. A necessidade de mudanças profundas na forma como o Homem tem interagido com o Planeta é o denominador comum destes apelos. Com efeito, a invasão permanente e insidiosa dos ecossistemas selvagens, a destruição de habitats de espécies selvagens, a progressiva proximidade com espécies exóticas anteriormente isoladas, resultará inevitavelmente na emergência de novos agentes patogénicos no futuro, fruto do contato excessivamente próximo entre o Homem e espécies selvagens reservatórios daqueles agentes. A captura de espécies ameaçadas, o consumo de espécies exóticas, a alteração das cadeias alimentares fruto da redução de muitas espécies selvagens autóctones, ou da invasão de espécies exóticas por introduções indevidas, facilitam os saltos de barreira de espécie, enquanto a movimentação frenética internacional e intercontinental do Homem e de produtos no mundo potencia a rápida disseminação dos agentes patogénicos emergentes, conduzindo a epidemias e a novas pandemias.

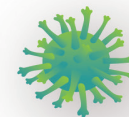
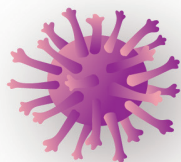
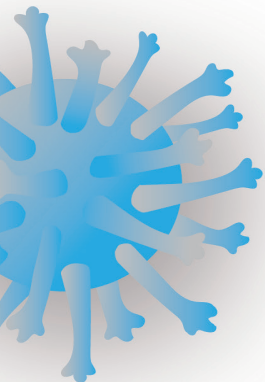
As incertezas percecionadas sobre origem e evolução³⁵ da COVID-19 nos próximos anos e sobre a disponibilização de vacinas eficazes, mas seguras, são ainda muitas, quase um ano após o reporte do suposto primeiro caso, em novembro 2019 na China. No entanto, é animador constatar que os recém-infetados com SARS-CoV-2 têm agora maior probabilidade de sobreviver à infeção do que os que foram infetados no início de 2020. Durante este período, muitas dúvidas foram esclarecidas a nível do tratamento hospitalar e de prevenção da infeção. Por isso, é essencial continuar a tomar as precauções indicadas pela OMS que se baseiam em conhecimentos científicos comprovados e que, no essencial, consistem nas medidas já anteriormente referidas, com ênfase para o uso de máscara para evitar exalar e inalar partículas com vírus, na lavagem frequente das mãos utilizando sabão ou solução alcoólica, no distanciamento físico entre as pessoas e no isolamento dos infetados. Naturalmente que estas medidas reduzem também a transmissão de todos os agentes infecciosos respiratórios como por exemplo os coronavírus respiratórios atrás mencionados e o vírus influenza, causador da gripe.

Ter acesso a informação atual de forma simples é essencial para que possamos compreender e assim adequar de forma consciente os nossos comportamentos, com vista à redução das cadeias de transmissão e à proteção dos mais vulneráveis.



O SARS-CoV-2 pode ter sido criado em laboratório?

A ideia de que o coronavírus foi criado num laboratório da China, do qual teria ocorrido uma fuga para o exterior devido a falta de condições de biossegurança do laboratório ou a negligência, surgiu como uma teoria da conspiração que desestabilizou a opinião pública. A grande maioria dos cientistas concorda que este vírus evoluiu naturalmente e se transformou numa espécie intermediária, ou em humanos, a partir de uma espécie animal original, provavelmente um morcego. As evidências de que o SARS-CoV-2 tem origem animal zoonótica e não artificial, são fornecidas pela análise do material genético que demonstra que a “espinha dorsal” do genoma do SARS-CoV-2 corresponde a um novo vírus, e não a de um coronavírus já reconhecido, que teria sido utilizado como base genética da construção laboratorial. Para além disso, não existem elementos genéticos obviamente inseridos ou removidos, o que seria altamente provável se o SARS-CoV-2 tivesse sido manipulado geneticamente. As evidências genéticas são também corroboradas pela história evolutiva do vírus e pela compreensão da ecologia dos morcegos em questão. Com efeito, o genoma do SARS-CoV-2 é muito semelhante ao de outros coronavírus de morcego, bem como ao dos pangolins, partilhando entre si a mesma organização genómica, e mostrando, nas suas diferenças, os padrões naturais típicos de evolução dos coronavírus.



6. GLOSSÁRIO

ACE2 - Proteína existente na superfície de muitas células humanas que permite manter a pressão sanguínea controlada. Alguns coronavírus reconhecem-na e usam-na como recetores para infectar as células humanas

Ácido nucleico - Molécula que armazena informação genética e que se encontra envolvida em diferentes etapas da expressão génica. É constituída por nucleótidos e pode ser de dois tipos: DNA ou RNA

Agente patogénico - Microrganismo capaz de causar doença

Anticorpo - Uma molécula produzida pelos linfócitos B do sistema imunitário que reconhece, adere e neutraliza outras moléculas, designadas antigénios, estranhas para o organismo e que o ameaçam.

Antigénio - Molécula (geralmente proteínas ou polissacarídeos) estranha ao organismo que, uma vez reconhecida pelas células do sistema imunitário do hospedeiro desencadeiam uma série de mecanismos de defesa, entre os quais o desenvolvimento de anticorpos

Antiviral - Medicamento usado para tratar infeções virais

COVID-19 - Doença por Coronavírus de 2019 (do inglês *Corona virus disease 2019*)

CITOQUINAS - proteínas extracelulares, secretadas por células que afetam o comportamento das células vizinhas, condicionando a sua replicação, a secreção de moléculas de sinalização incluindo receptores, ou conduzindo mesmo a célula à morte.

Crescimento exponencial - diz-se quando um valor aumenta com uma taxa proporcional ao seu tamanho atual, i.e. à medida que o valor aumenta, a taxa de crescimento também aumenta. Quando relacionado com uma doença, significa que quanto mais indivíduos infetados existirem nas fases iniciais de um surto de doença, mais indivíduos se irão infetar e mais os casos irão aumentar.

CRISPR - *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*

Doença enzoótica ou enzootia - Doença dos animais que está presente numa determinada região com uma prevalência (nº de casos) baixa e estável; o mesmo que doença endémica nos seres humanos

Doença endémica ou endemia - Doença que afeta o Homem que está presente numa determinada região com uma prevalência (nº de casos) baixa e estável; o mesmo que doença enzoótica nos animais

Doença Pandémica ou pandemia - Segundo a Organização Mundial de Saúde é “uma epidemia que ocorre em todo o mundo, ou numa área muito ampla, cruzando fronteiras internacionais e geralmente afetando um grande número de pessoas”; nos animais fala-se de doença panzoótica ou panzootia

Doença epidémica ou epidemia - Doença que rapidamente se dissemina, até atingir um grande número de pessoas num determinado território e que se extingue após um período ou se torna endémica; nos animais fala-se de doença epizoótica ou epizootia

Doenças zoonóticas - Doenças que afetam tanto o homem como os animais

Dose infecciosa – Número de microrganismos capazes de desencadear uma infecção

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic acid*) que contém os genes de todas as células e formas de vida, com exceção de alguns vírus. A, T, G, C

Involúcro viral - camada exterior presente em alguns vírus, constituída por uma membrana fosfolipídica, semelhante à membrana plasmática, alterada pela adição de proteínas virais transmembranares

ELISA - Ensaio imunoenzimático

Evolução - Alterações graduais que vão ocorrendo em populações ao longo das gerações

Enzima - Proteína cuja função é a de catalizar uma reação química

Genes - Regiões que DNA que codificam para proteínas

Genoma - Conjunto de genes que constituem o material genético de um organismo vivo

Infeção subclínica – infeção sem sintomas

LAMP - *Loop-Mediated Isothermal Amplification*, (técnica de deteção de ácidos nucleicos baseada na amplificação do DNA a baixa temperatura)

Microarray - Chip de DNA

Mutação - Alteração na sequência nucleotídica do DNA ou RNA que pode envolver a substituição de nucleótidos, a inserção de nucleótidos ou a sua remoção (deleção)

PCR - Reação de polimerização e cadeia. Permite sintetizar múltiplas cópias de uma região do genoma

Patogénico - Que causa lesão ou doença

Polimerase - Enzima que sintetiza moléculas (polímeros) de ácidos nucleicos

Proteína - Moléculas essenciais para todos os sistemas vivos. Têm inúmeras funções como formar estruturas (proteínas estruturais), controlar reações químicas (catalisadores ou enzimas), enviar e receber mensagens. São basicamente formadas por longas cadeias, como um rosário, de moléculas mais simples - aminoácidos-, que depois se dobram em estruturas secundárias e terciárias, tridimensionais, mais complexas. Existem 20 aminoácidos principais e a sua sequência numa proteína é codificada pelos genes.

Proteína transmembranar - Proteína integral da membrana que a atravessa de um lado ao outro

Recombinação - Alteração da sequência do DNA ou RNA por troca de segmentos entre moléculas

RdRp - RNA polimerase dependente de RNA, i.e. uma enzima viral que promove a síntese de uma cadeia de RNA usando como molde uma cadeia de RNA.

Ribossoma - Organelo celular existente em todas as células vivas que traduz as instruções contidas nos genes em proteínas.

Reservatório - Espécie animal, suscetível à infeção, onde o vírus replica sem causar doença clínica. O hospedeiro reservatório funciona como fonte de vírus para a infeção de outros hospedeiros.

RNA - Ácido Ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

Taxonomia - Disciplina que se ocupa da organização e classificação dos organismos vivos

Virulência - capacidade de invasão e colonização de novos nichos, nomeadamente infeção de um hospedeiro. Grau de patogenicidade de um microrganismo.

7. REFERÊNCIAS

1. Wertheim JO, Chu DKW, Peiris JSM, Pond SLK, Poon LLM. A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *J Virol*. 2013;87(12):7039-7045. doi:10.1128/JVI.03273-12
2. Tyrrell DAJ, Bynoe ML. Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. *Br Med J*. 1965;1(5448):1467-1470. Accessed October 1, 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2166670/> doi: 10.1136/bmj.1.5448.1467
3. Tyrrell DA, Almeida JD. Direct electron-microscopy of organ culture for the detection and characterization of viruses. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1967;22(3):417-425. doi:10.1007/BF01242962
4. Almeida J, Berry D, Cunningham C, et al. Virology: Coronaviruses. *Nature*. 1968;220(5168):650-650. doi:10.1038/220650b0
5. Tyrrell DAJ, Almeida JD, Cunningham CH, et al. Coronaviridae. *Intervirol*. 1975;5(1-2):76-82. doi:10.1159/000149883
6. Spaan W, Cavanagh D, Horzinek MC. Coronaviruses: structure and genome expression. *J Gen Virol*. 1988;69 (Pt 12):2939-2952. doi:10.1099/0022-1317-69-12-2939
7. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
8. Banner LR, Mc Lai M. Random nature of coronavirus RNA recombination in the absence of selection pressure. *Virology*. 1991;185(1):441-445. doi:10.1016/0042-6822(91)90795-D
9. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. *Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition*. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
10. Kipar A, Meli ML. Feline Infectious Peritonitis. *Vet Pathol*. 2014;51(2):22 <https://doi.org/10.1177/0300985814522077>
11. Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, et al. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J Virol*. 2005;79(3):1595-1604. doi:10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005
12. Saif LJ, Sestak K. Transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire D, Taylor DJ, editors. *Diseases of swine*. 9. Ames, IA: Blackwell Publishing Company; 2006. pp. 489–516.
13. Decaro N, Mari V, Campolo M, et al. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *J Virol*. 2009;83(3):1532-1537. doi:10.1128/JVI.01937-08
14. Guy JS. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. *Avian Pathol*. 2000;29(3):207-212. doi:10.1080/03079450050045459
15. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2010;48(8):2940-2947. doi:10.1128/JCM.00636-10
16. Pene F, Merlat A, Vabret A, et al. Coronavirus 229E-Related Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clin Infect Dis*. 2003;37(7):929-932. doi:10.1086/377612
17. Woo PCY, Lau SKP, Chu C, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *J Virol*. 2005;79(2):884-895. doi:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005
18. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2003;36(8):985-989. doi:10.1086/374222
19. Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *J Virol*. 2012;86(7):3995-4008. doi:10.1128/JVI.06540-11

20. Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. Published online April 21, 2020:m1443. doi:10.1136/bmj.m1443
21. Cevik, Muge, Krutika Kuppalli, Jason Kindrachuk, e Malik Peiris. «Virology, Transmission, and Pathogenesis of SARS-CoV-2». *BMJ* 371. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3862>.
22. Coronavirus Dashboard. Accessed October 1, 2020. <https://ncov2019.live/#%20africa>
23. Mortality Risk of COVID-19 - Statistics and Research. Our World in Data. Accessed October 1, 2020. <https://ourworldindata.org/mortality-risk-covid>
24. Arora RK, Joseph A, Van Wyk J, et al. SeroTracker: a global SARS-CoV-2 seroprevalence dashboard. *Lancet Infect Dis*. Published online August 4, 2020. doi:10.1016/S1473-3099(20)30631-9
25. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
26. GeurtsvanKessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nat Commun*. 2020;11(1):3436. doi:10.1038/s41467-020-17317-y
27. Abraham JP, Plourde BD, Cheng L. Using heat to kill SARS-CoV-2. *Rev Med Virol*. Published online July 2, 2020. doi:10.1002/rmv.2115
28. Nussbaumer-Streit, Barbara, Verena Mayr, Andreea Iulia Dobrescu, Andrea Chapman, Emma Persad, Irma Klerings, Gernot Wagner, et al. «Quarantine Alone or in Combination with Other Public Health Measures to Control COVID-19: A Rapid Review». *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 9 (2020). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013574.pub2>.
29. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology*. 2019;16(1):69. doi:10.1186/s12985-019-1182-0
30. WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a serial killer. WHO. Accessed October 1, 2020. https://www.who.int/csr/don/2003_07_04/en/
31. WHO | Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia. WHO. Accessed October 1, 2020. <http://www.who.int/csr/don/05-may-2020-mers-saudi-arabia/en/>
32. recovery_dexamethasone_statement_160620_v2final.pdf. Accessed October 12, 2020. https://www.recoverytrial.net/files/recovery_dexamethasone_statement_160620_v2final.pdf
33. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med*. 2020;0(0):null. doi:10.1056/NEJMoa2007764
34. Mechanistic insight on the remdesivir binding to RNA-Dependent RNA polymerase (RdRp) of SARS-cov-2. Arba M, Wahyudi ST, Brunt DJ, Paradis N, Wu C. *Comput Biol Med*. 2020 Nov 27;129:104156. doi: 10.1016/j.combiomed.2020.104156.
35. DOI: 10.1016/j.mjafi.2020.04.008. Anand, K. B., S. Karade, S. Sen, e R. M. Gupta. SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. *Medical Journal Armed Forces India* 76, n. 2 (April 1. 2020): 136–41. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2020.04.008>.

Referências

1. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *eLife*. 2020;9:e57309. doi:10.7554/eLife.57309
2. van Dorp L, Acman M, Richard D, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. 2020;83:104351. doi:10.1016/j.meegid.2020.104351
3. Ferrari D, Sabetta E, Ceriotti D, et al. Routine blood analysis greatly reduces the false-negative rate of RT-PCR testing for Covid-19. *Acta Bio Medica Atenei Parm*. 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
4. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*. 2020;172(9):577-582. doi:10.7326/M20-0504
5. Li H, Wang Y, Ji M, et al. Transmission Routes Analysis of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Case Report. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8. doi:10.3389/fcell.2020.00618

6. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health*. 2020;25(3):210-215. doi:10.1016/j.idh.2020.05.002
7. Isho B, Abe KT, Zuo M, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020;5(52). doi:10.1126/sciimmunol.abe5511
8. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
9. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell D a. J. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. 1990;105(2):435-446. doi:10.1017/S0950268800048019
10. Lu C, Liu X, Jia Z. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. *The Lancet*. 2020;395(10224):e39. doi:10.1016/S0140-6736(20)30313-5
11. Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, et al. Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. Imperiale MJ, ed. *mSphere*. 2020;5(5):e00637-20, /msphere/5/5/mSphere637-20.atom. doi:10.1128/mSphere.00637-20
12. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med*. 2020;0(0):null. doi:10.1056/NEJMoa2007764
13. Estimating mortality from COVID-19. Accessed November 4, 2020. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>

Referências

1. de Groot R, Baker S, Baric R, et al. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Family Coronaviridae. Published online 2012.
2. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
3. Kipar, A., and M. L. Meli. "Feline Infectious Peritonitis: Still an Enigma?" *Veterinary pathology* 51, no. 2 (2014): 505-26. <https://doi.org/10.1177/0300985814522077>
4. Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, et al. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J Virol*. 2005;79(3):1595-1604. doi:10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005
5. Saif L, Sestak K. Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus. *Dis Swine*. Published online January 1, 2006:489-516.
6. Decaro N, Mari V, Campolo M, et al. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *J Virol*. 2009;83(3):1532-1537. doi:10.1128/JVI.01937-08
7. Guy JS. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. *Avian Pathol*. 2000;29(3):207-212. doi:10.1080/03079450050045459
8. Pedersen, Niels C. «An Update on Feline Infectious Peritonitis: Virology and Immunopathogenesis». *Veterinary Journal* (London, England: 1997) 201, n. 2 (Agosto de 2014): 123–32. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.017>.
9. The GenOMICC Investigators, The ISARICC Investigators, The COVID-19 Human Genetics Initiative, 23andMe Investigators, BRACOVIC Investigators, Gen-COVID Investigators, Erola Pairo-Castineira, et al. «Genetic Mechanisms of Critical Illness in Covid-19». *Nature*, 11 de Dezembro de 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03065-y>.

Bibliografia a consultar

Brooks, George F., Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Ernest Jawetz, Joseph Louis Melnick, e Edward Allen Adelberg. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22. ed., intern. ed. A Lange Medical Book. New York: McGraw-Hill, 2001.

Cyranoski, David. «Profile of a Killer: The Complex Biology Powering the Coronavirus Pandemic». *Nature* 581, n. 7806 (Maio de 2020): 22–26. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01315-7>.

Decaro, Nicola, Viviana Mari, Marco Campolo, Alessio Lorusso, Michele Camero, Gabriella Elia, Vito Martella, Paolo Cordioli, Luis Enjuanes, e Canio Buonavoglia. «Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs». *Journal of Virology* 83, n. 3 (1 de Fevereiro de 2009): 1532–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.01937-08>.

«COVID-19 - Página Inicial». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://covid19.min-saude.pt/>.

Ferreira, Wanda F. Canas, e João Carlos Sousa. *Microbiologia*. Vol. 3. Lisboa: Lidel, 2002. ISBN 972-757-136-0

Groot, RJ de, SC Baker, R Baric, L Enjuanes, AE Gorbalenya, KV Holmes, S Perlman, L Poon, e PJM Rottier. «Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Family Coronaviridae», 2012.

Guy, James S. «Turkey Coronavirus Is More Closely Related to Avian Infectious Bronchitis Virus than to Mammalian Coronaviruses: A Review». *Avian Pathology* 29, n. 3 (Junho de 2000): 207–12. <https://doi.org/10.1080/03079450050045459>.

IHMT. «O que sabemos sobre a COVID-19 e como reorganizar os sistemas de saúde», 10 de Setembro de 2020. <https://www.ihmt.unl.pt/web-seminares-serie-1-o-que-sabemos-sobre-a-covid-19/>.

Kipar, A, e M L Meli. «Feline Infectious Peritonitis». *Veterinary Pathology* 51, n. 2 (2014): 505-26.

Khailany, Rozhgar A., Muhamad Safdar, e Mehmet Ozaslan. «Genomic Characterization of a Novel SARS-CoV-2». *Gene Reports* 19 (1 de Junho de 2020): 100682. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100682>.

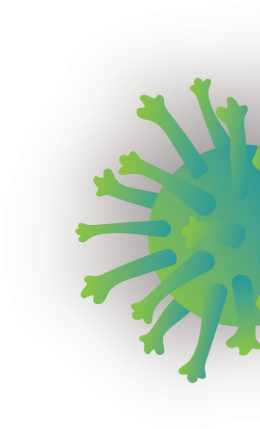
Maclachlan, N. James, e Edward J Dubovi. «Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>.

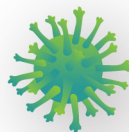
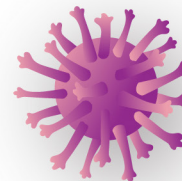
Saif, L., e Karol Sestak. «Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus». *Diseases of Swine*, 1 de Janeiro de 2006, 489–516.

Sikkema, R. S., E. A. B. A. Farag, Mazharul Islam, Muzzamil Atta, C. B. E. M. Reusken, Mohd M. Al-Hajri, e M. P. G. Koopmans. «Global status of Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: a systematic review». *Epidemiology and Infection* 147 (21 de Fevereiro de 2019). <https://doi.org/10.1017/S095026881800345X>.

Vijgen, Leen, Els Keyaerts, Elien Moës, Inge Thoelen, Elke Wollants, Philippe Lemey, Anne-Mieke Vandamme, e Marc Van Ranst. «Complete Genomic Sequence of Human Coronavirus OC43: Molecular Clock Analysis Suggests a Relatively Recent Zoonotic Coronavirus Transmission Event». *Journal of Virology* 79, n. 3 (Fevereiro de 2005): 1595–1604. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005>.

Zimmer, Carl. «The Coronavirus Unveiled». *The New York Times*, 9 de Outubro de 2020, sec. Health. <https://www.nytimes.com/interactive/2020/health/coronavirus-unveiled.html>.





EDIÇÃO:

INIÁV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

ISBN 978-972-579-055-7



AGRICULTURA



PATROCÍNIOS:

