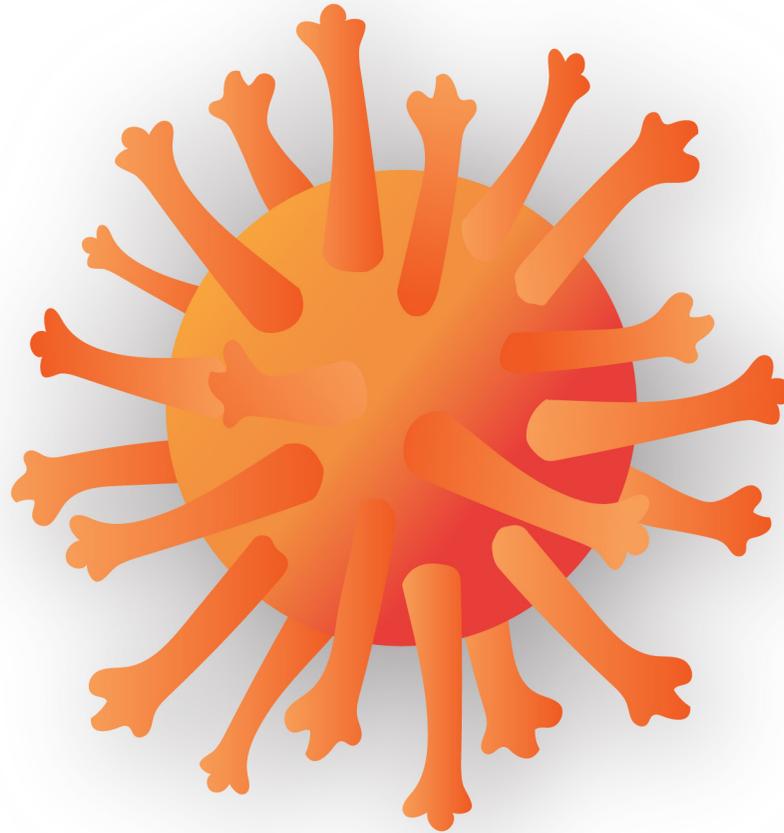
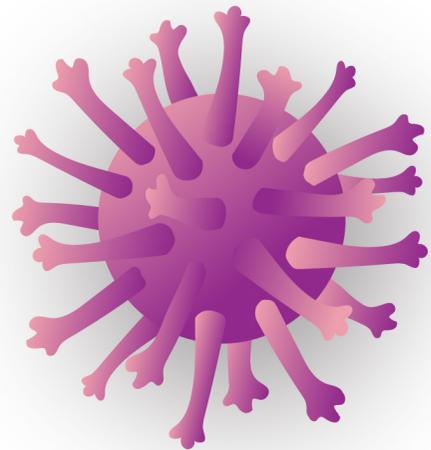


CORONAVÍRUS

dos animais e do Homem



EVOLUÇÃO E PATOGENIA DO VÍRUS E PREVENÇÃO DE DOENÇA

Coordenação da edição: Margarida Duarte e Teresa Nogueira

Aceite para publicação em 27 de setembro de 2021.



This work is shared under the Creative Commons license CC BY-NC-ND 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

FICHA TÉCNICA

2ª EDIÇÃO:

INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.
Setembro de 2021

<https://projects.iniaiv.pt/coronavirus/>

ISBN 978-972-579-058-8

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 ILUSTRAÇÃO:

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 infectar 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 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:

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, tendo 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 regionais, nacionais e internacionais; 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.

Ensino 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

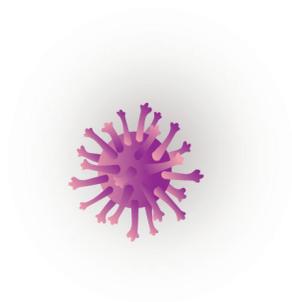
Serviços de Saúde; Ciências Dentárias; Serviços de Apoio a Crianças e Jovens; Trabalho Social e Orientação.

Ensino Superior

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

ÍNDICE

1.	OS CORONAVÍRUS	07
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.	A CAPACIDADE DE 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	27
2.5.	TRANSMISSÃO DE SARS-COV-2	27
2.6.	OS SINTOMAS E SINAIS CLÍNICOS DE INFEÇÃO POR SARS-COV-2	28
2.7.	IMPACTO DA COVID-19 NA SAÚDE PÚBLICA	31
3.	DIAGNÓSTICO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO DAS DOENÇAS POR CORONAVÍRUS (OU DAS CORONAVIROSES)	34
3.1.	DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS CORONAVÍRUS	35
3.2.	TESTES SEROLÓGICOS PARA CORONAVÍRUS	37
3.3.	MEDIDAS DE PREVENÇÃO DE DOENÇAS CAUSADAS POR CORONAVÍRUS	42
3.3.1.	ETIQUETA SOCIAL, DISTANCIAMENTO E QUARENTENA	42
3.3.2.	VACINAS	43
4.	OS CORONAVÍRUS NO MUNDO	47
5.	E AGORA?	48
6.	GLOSSÁRIO	51
7.	REFERÊNCIAS	53
8.	BIBLIOGRAFIA	57



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 dos coronavírus coexistirem com os animais e com o Homem desde sempre, apenas nos anos 60 do século passado foram associados às constipações e diarreias ligeiras que afetam anualmente milhares de pessoas e que circulam continuamente na população mundial. Nessa altura 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 permitiram, 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.

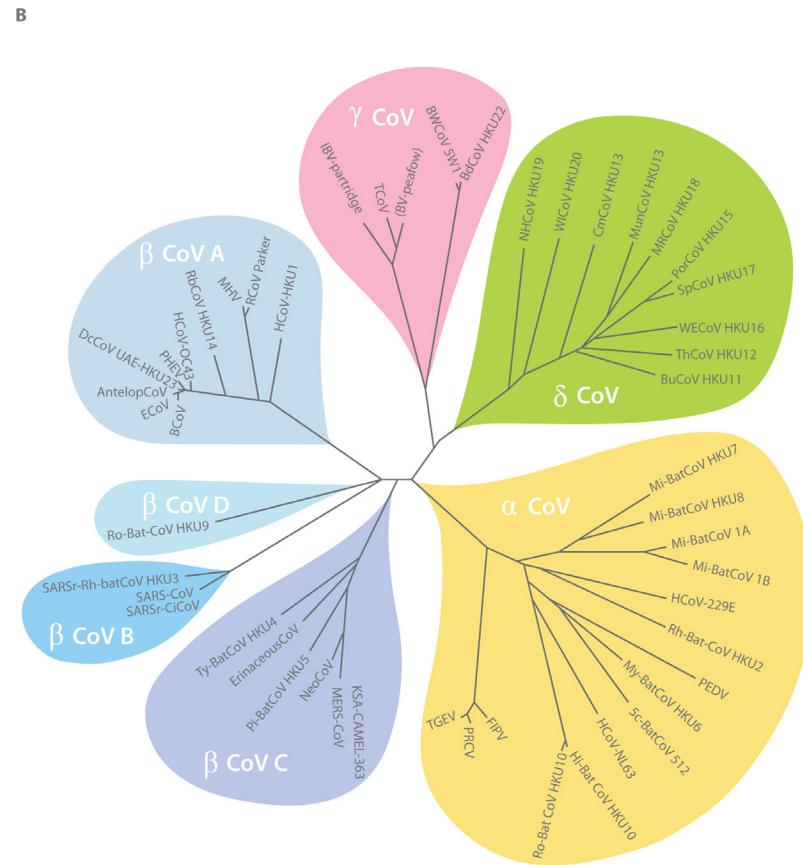
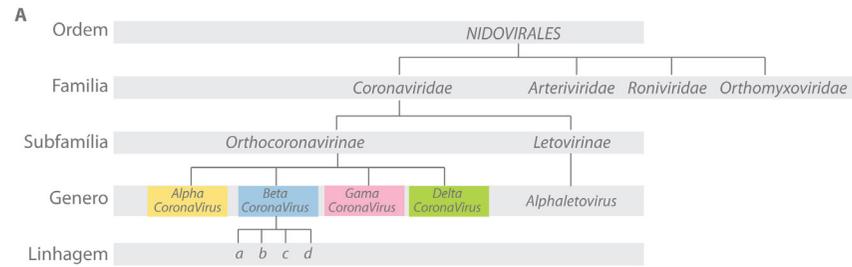


Fig. 1 - Classificação filogenética dos Coronavírus (árvore filogenética baseada nas sequências parciais do gene da RNA polimerase RNA dependente (RpRd) de 50 coronavírus. Adaptado de Fenner e White 2012⁶



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* referida no texto, 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 comprimento². 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 antígeno dominante e o principal indutor da produção de anticorpos neutralizantes (que inativam o vírus).



Como se vêm 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 0,000000001 metro (m). O SARS-CoV-2 tem cerca de 100 nm de diâmetro (0,0000001 m).

O que é o RNA e o DNA?

O ácido ribonucleico (RNA) e o ácido desoxirribonucleico (DNA) são macromoléculas que contêm instruções genéticas. 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.

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.

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 outros vírus, entre os quais os coronavírus, que possuem uma estrutura adicional exterior, 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 viral⁷.

Alguns coronavírus, como por exemplo o HCoV-HKU19 e o HCoV-OC43 de que falamos 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

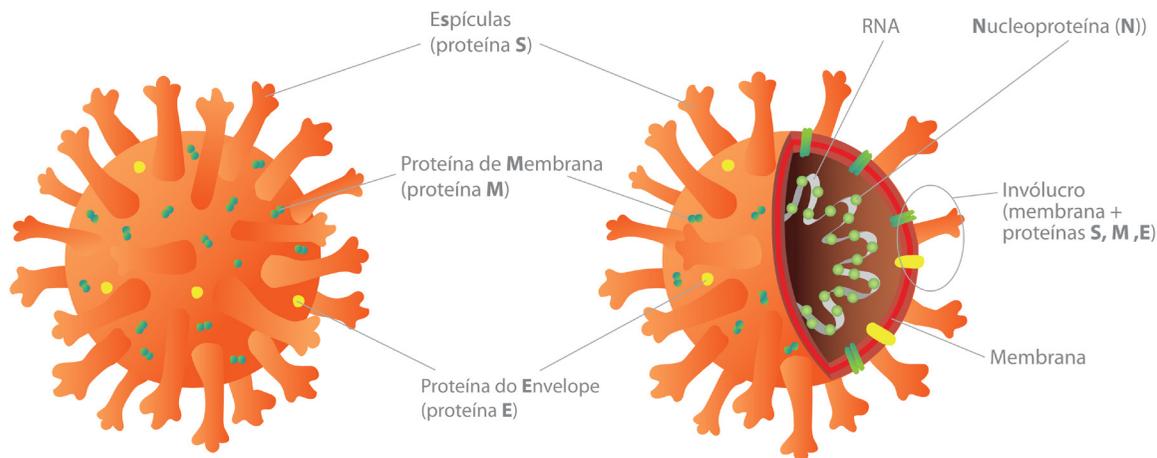


Fig. 2 - Representação esquemática de um Coronavírus



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 encaminhados para o exterior da célula (Figura 2)³.



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 infecciosos².



As proteínas S agrupam-se em trímeros, formando uma estrutura que lembra uma tulipa, estando a base do caule inserida no invólucro, e as pétalas projetadas para o exterior. Recentemente foi descoberta a existência de 3 zonas de articulação ao longo do trímero (pé, joelho e anca) que conferem uma enorme flexibilidade à proteína S, favorecendo o reconhecimento do recetor celular⁴.

alcoólicas que dissolvem as gorduras, os coronavírus deixam de ser reconhecidos pelos recetores das células alvo e de se fundirem com a membrana celular pelo que o processo da infeção não é iniciado. Esta fragilidade dos coronavírus, e dos vírus com invólucro em geral, pode ser aproveitada para os destruir e inativar, prevenindo e impedindo as infeções através do uso regular de soluções à base de álcool a 70% como antisséptico da pele e desinfetantes 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 infeção, podendo até ser prejudicado quando se desenvolve doença infecciosa. O desenrolar da infeção 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, depende 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 infeções 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 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus*) e com o MERS-CoV (*middle East respiratory syndrome coronavirus*) 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 para a síntese dos componentes dos novos vírus descendentes em dois diferentes processos bioquímicos: a síntese de

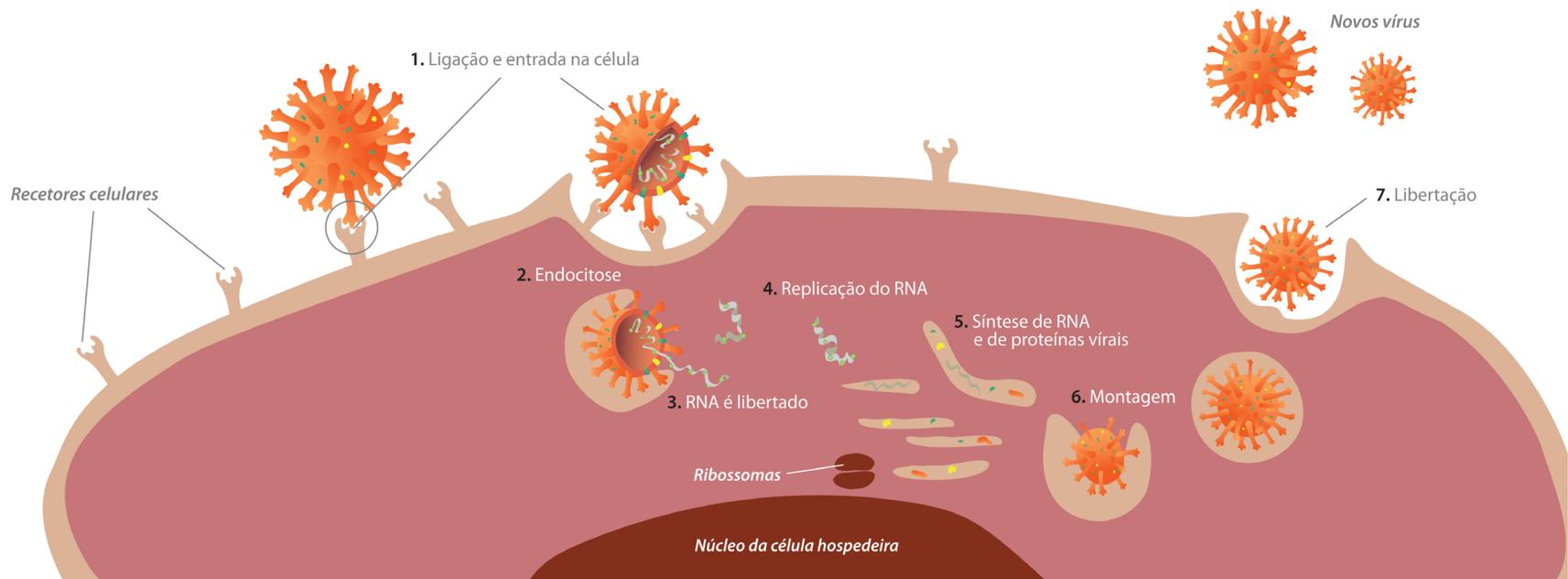


Fig. 3 - Fases do ciclo replicativo dos coronavírus: 1- Ligação do vírus ao recetor da célula; 2- Endocitose; 3- Dissociação das proteínas virais da cápside das proteínas virais e libertação do RNA viral; 4- Replicação do RNA; 5- Síntese de proteínas virais; 6- Montagem dos víriões; 7- Saída do vírus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

novas proteínas virais e a síntese de novas moléculas de RNA⁸. Estes dois processos são denominados de transcrição/tradução das proteínas virais e replicação do RNA viral, respetivamente.

Para a síntese das proteínas são utilizados os ribossomas da célula, pequenas estruturas subcelulares que os vírus não possuem, onde ocorre a síntese de péptidos 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, 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 invólucro. 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 viriões, interrompendo os processos inerentes ao normal funcionamento celular. 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 infeta os ratos (MHV), o “burst size” (o número médio de partículas de vírus recentemente sintetizadas libertadas de uma única célula infetada), 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 reconhecimento específico dos receptores das células alvo de uma determinada espécie hospedeira (animal ou Homem) (Figura 4). Os coronavírus são por isso considerados específicos para o seu hospedeiro.

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

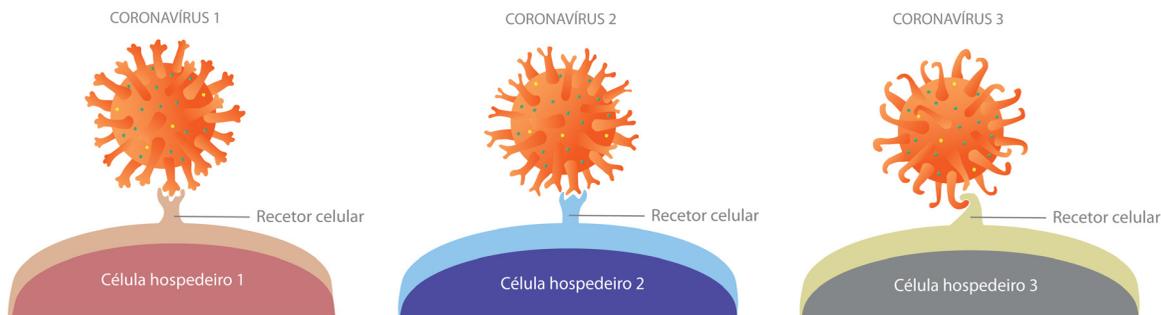


Fig. 4 - Especificidade da ligação entre proteína S de um Coronavírus e o receptor da célula hospedeira



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 receptor celular para infectar as células. Porém, outros coronavírus utilizam receptores 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 receptor para a sua entrada nas células do hospedeiro⁵. 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^{6,7}.

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 recombinante⁸ caso estejam simultaneamente presentes na célula, dois coronavírus diferentes.



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 infeta 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. 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.

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 como outros vírus, evoluem rapidamente, num processo inevitável e não controlável pelo Homem. A proximidade do homem com espécies animais cujos habitats naturais são distantes, a confluência artificial de espécies animais, o consumo de espécies exóticas e a insuficiência 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.

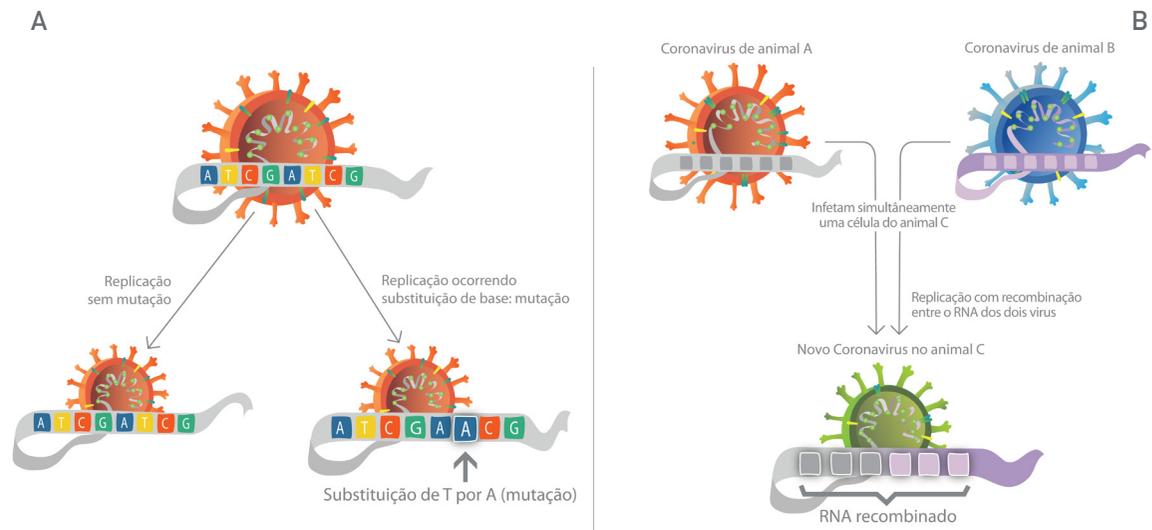


Fig. 5 - Variabilidade genética na replicação do genoma viral (A - mutação genética por substituição de uma base; B - recombinação por troca de fragmentos de RNA de dois vírus diferentes que se encontram numa mesma célula)

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.

Quando o vírus adquire a capacidade de infetar 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

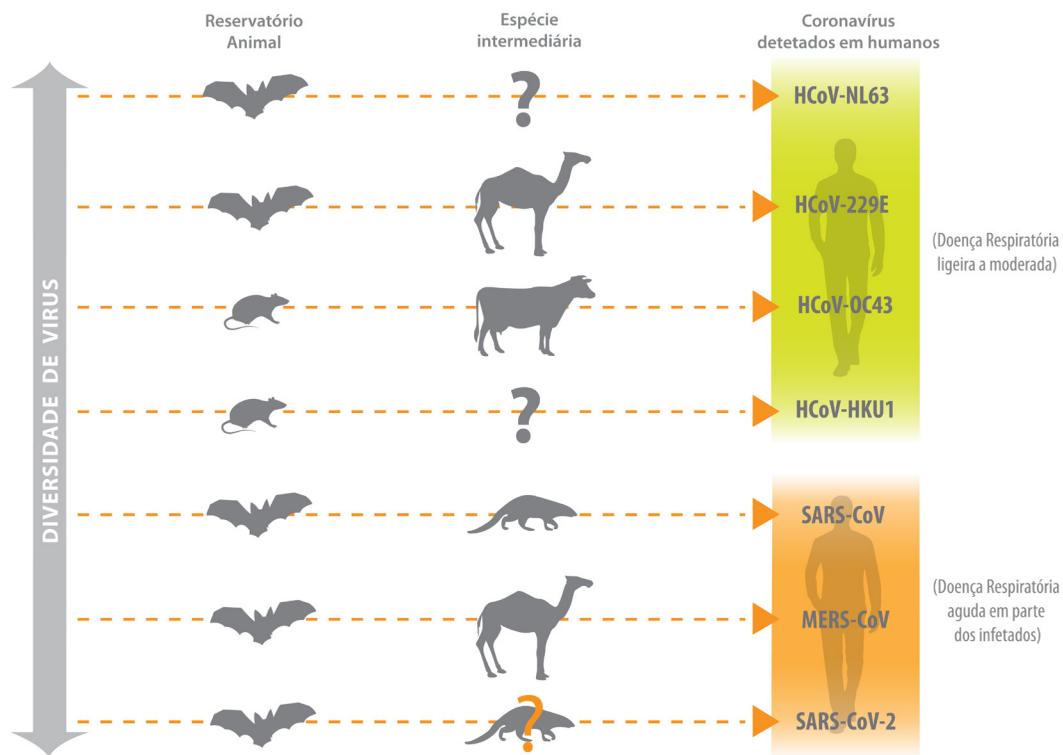


Fig. 6 - Transmissão de Coronavírus entre espécies animais e o Homem. A maioria dos coronavírus humanos tiveram origem em coronavírus de morcegos.

os morcegos, a recombinação entre diferentes coronavírus ocorre com elevada frequência⁹ 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 próximo entre animais e o Homem. Na Natureza, o salto de barreira de espécie é um acontecimento raro, pois este requer o contacto 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 de 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, muito frequente nos mercados com animais vivos (*wet markets*) 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 morcegos¹⁰ onde são detetados

coronavírus com notável diversidade genética, o que faz aumentar substancialmente o risco de a recombinação genética ser bem sucedida na génese 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 tendo sido atribuída 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) detetado pela primeira vez em novembro de 2019, ainda não foi claramente identificada. Entre as várias possibilidades atualmente consideradas consta o pangolim-malaio (*Manis javanica*), um mamífero pertencente à ordem Pholidota da família dos manídeos¹¹.

De um 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 dessa forma a disponibilidade permanente de hospedeiros suscetíveis à infeção e a 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 e 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 geralmente através de contactos diretos com animais infetados ou humanos infetados.



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

Os primeiros casos clínicos de infecção 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 genômica (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 S 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) e onde o coronavírus terá desenvolvido a capacidade de infectar células humanas, tendo entrado em contacto com humanos pelo consumo. Alternativamente, pode ter ocorrido infecção 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 relacionada com o seu comportamento natural que os torne mais propensos do que outras espécies animais na transmissão de agentes patogênicos ao Homem. Contudo, a seguir à ordem Rodentia, à qual os roedores pertencem, a ordem Chiroptera, que inclui os morcegos, é a 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 o que os torna mais propensos a serem hospedeiros de agentes zoonóticos do que as aves ou os répteis. Como a ordem dos quirópteros é das mais ricas em espécies, tendem a ter maior variedade de vírus que conseqüentemente, 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 infecções 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 infectar 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, por 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 infecções sintomáticas, transmitem as infecções. Pensa-se que a resistência natural dos morcegos às infecções esteja relacionada com a libertação de grande quantidade de energia durante o voo, o que eleva a temperatura corporal de 38°C para 41°C, mais alta do que a temperatura da maioria dos mamíferos. Os agentes patogênicos 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 patogênicos, 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, gatos e furões, e várias espécies selvagens, como toirões, martas 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 furões, dos bovinos, dos suínos e das galinhas e perus.

Os cães são infetados 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), infeta anualmente cães (*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 infeta também raposas (*Vulpes vulpes*), cães-guaxinim (*Nyctereutes procyonoides*) e gatos-bravos (*Felis silvestris silvestris*)⁹. Existem dois genótipos de CCoV (tipo I e II). O CCoV-II surgiu por diferentes episódios de recombinação entre coronavirus ainda não identificados e o vírus da gastroenterite transmissível dos suínos (TGEV)¹². A taxonomia da variante atual de CCoV-II distingue o CCoV-IIa e o CCoV-IIb em função da participação genética do TGEV no genoma do vírus. O CCoV-IIa é também designado com CCoV pantrópico, devido à capacidade de induzir uma doença sistémica nos cães, não restrita ao trato gastro intestinal.

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 do canil”¹³. Também esta doença se regista na Europa, América do Norte e Ásia. O CRCoV está intimamente relacionado com o coronavírus bovino (BCoV) e com o 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 o 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



*A rápida evolução do genoma viral dos coronavírus pode levar a alterações estruturais e de especificidade na proteína S que permitam ao novo vírus infetar 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, embora o restante material genético tenha 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* sp.) 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 infetar diretamente humanos⁹.*



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 infetados 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 antigénio-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^{10,11}.

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 infetados 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 e 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 sua incapacidade de montar uma resposta imunitária celular adequada. Estes dois patotipos divergem entre si no tropismo celular, definindo duas apresentações clínicas profundamente distintas e com diferentes prognósticos¹⁴. 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, limitando a resposta imunitária ao trato respiratório e gastrointestinal superior. Esta vacina só se revelou protetora quando administrada antes do contacto com o FCoV, o que é extremamente complicado de avaliar em áreas onde a doença é endémica.

O coronavírus dos visons (MCoV-1) e o coronavírus dos furões (FRCoV) são geneticamente relacionados. O MCoV-1 é responsável pela gastroenterite catarral dos visons que afeta os animais mais jovens, causando elevada morbidade, mas baixa mortalidade. O FRCoV é o agente etiológico da enterite epizootica catarral, exibindo tal como o FeCoV dois biótipos: i) o coronavírus entérico dos furões (FRECV), associado a uma doença diarreica contagiosa e ii) o coronavírus sistémico dos furões (FRSCV) responsável por uma doença sistémica dos furões similar à PIF dos gatos.

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. O BCoV constitui um exemplo paradigmático da capacidade dos coronavírus infetarem diferentes hospedeiros. Pela análise de relógio molecular destes dois vírus, estima-se que o ancestral comum mais recente tenha emergido por volta de 1890¹⁵ quando se registou efetivamente uma pandemia de doença respiratória em humanos.

O BCoV não é apenas relacionado com o HCoV-OC43, que provoca doença digestiva e respiratória no Homem, mas também com o PHEV (*Porcine haemagglutinating encephalomyelitis vírus*), com o coronavírus dos cavalos (ECoV) e com o coronavírus respiratório dos cães (CRCoV).

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 possam ser suscetíveis à infeção por este coronavírus. O PEDV causa diarreia aquosa, vómitos, anorexia e desidratação em leitões com menos de 2 semanas de vida. Por esta razão a vacinação é geralmente praticada nas porcas gestantes 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 respiratório¹⁶. O PRCoV apresenta também uma elevada semelhança genética com o CCoV e com o FCoV¹⁷. 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 vómito 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 mediada 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 escovar das penas (*grooming*), e são dadas 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 viral¹⁸.

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). Isto deve-se à dinâmica e eficácia de interação dos coronavírus como os hospedeiros.

VÍRUS	Sigla	Grupo	Tipo de doença
VÍRUS DE ESPÉCIES DOMÉSTICAS			
Vírus da gastroenterite transmissível dos suínos	TGEV	α -CoV	Entérica
Coronavírus respiratório dos suínos	PRCoV	α -CoV	Respiratória
Vírus da diarreia epidémica dos suínos	PEDV	α -CoV	Entérica
Vírus da encefalomielite hemaglutinante dos suínos	HEV	β -CoV	Entérica e neurológica
Coronavírus dos bovinos	BCoV	β -CoV	Entérica e respiratória
Coronavírus dos equinos	ECoV	β -CoV	Entérica
Vírus da bronquite infecciosa aviária	IBV	γ -CoV	Respiratória
Coronavírus dos perus	TCoV	γ -CoV	Entérica
Coronavírus porcino HKU15	PorCoV HKU15	δ -CoV	Entérica
Coronavírus canino	CCoV	α -CoV	Entérica
Coronavírus respiratório canino	CRCoV	β -CoV	Respiratória
Coronavírus felino	FeCoV	α -CoV	Entérica ou sistémica (peritonite)
Coronavírus do furão*	FRCoV	α -CoV	Entérica
VÍRUS DE ESPÉCIES SELVAGENS			
Coronavírus dos morcegos <i>Hipposideros</i> HKU10	Hi-BatCoV HKU10	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> 1A	Mi-BatCoV 1A	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> 1B	Mi-BatCoV 1B	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> HKU	Mi-BatCoV HK	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Miniopterus</i> HKU8	Mi-BatCoV HKU8	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Myotis</i> HKU6	My-BatCoV HKU6	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Rhinolophus</i> HKU2	Rh-BatCoV HKU2	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Rousettus</i> HKU10	Ro-BatCoV HKU10	α -CoV	Assintomática
Coronavírus dos morcegos <i>Scotophilus</i> 512	Sc-BatCoV 512	α -CoV	Assintomática

Coronavírus dos morcegos <i>Rousettus</i> 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 <i>Rhinolophus</i> (relacionado com o SARS)	SARSr-Rh-BatCoV HKU3	β -CoVs	Assintomática
Coronavírus da palanca-negra	CoV dos Antílopes	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos morcegos <i>Neoromicia</i>	NeoCoV	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do dromedário UAE-HKU23	DcCoV UAE-HKU23	β -CoVs	Desconhecida
Coronavírus do vison 1	MCoV-1	α -CoVs	Entérica
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 <i>Pycnonotus</i> HKU11	BuCoV HKU11	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus da galinha-d'água HKU21	CMCoV HKU21	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes <i>Copsychus</i> HKU18	MRCoV HKU18	δ -CoVs	Desconhecida
Coronavírus dos passeriformes <i>Lonchura</i> 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 <i>Turdus</i> 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
VÍRUS 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 humano 4408	HCoV-4408	β -CoVs	Doença Entérica ligeira a moderada na maior parte dos infetados
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-1	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infetados
Vírus da Síndrome Respiratória do Médio Oriente	MERS-CoV	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infetados
Vírus da Síndrome Respiratória Severa aguda 2 (ou COVID-19)	SARS-CoV-2	β -CoVs	Doença Respiratória aguda em parte dos infetados

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

*Considerada uma espécie doméstica

O reconhecimento de espécies animais reservatórias de coronavírus, tem crescido ativamente desde a identificação do SARS-CoV e do MERS-CoV¹⁹, com atenção particular para diferentes espécies de morcegos. Muito recentemente, em 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.

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 constipações²⁰. Vários coronavírus circulam na população mundial causando infeções ligeiras do trato respiratório superior (HCoV-229E²¹, HCoV-HKU1²², HCoV-NL63 e HCoV-OC43²³). Menos frequentemente, estes mesmos coronavírus podem também infetar o trato respiratório inferior causando broncopneumonias e pneumonias.

Pelo contrário, outros coronavírus como o SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 e MERS-CoV causam síndromes respiratórias agudas no Homem.

Como mencionado anteriormente, as doenças dos animais mais frequentemente associadas às infecções por coronavírus afetam o trato respiratório e gastrointestinal. No entanto, alguns coronavírus podem causar também doenças reprodutivas, polisserosites (inflamação das serosas), sialodacriloadenites (inflamação das glândulas salivares e lacrimais), hepatites, encefalomiелites e nefrites, tanto no Homem como nos animais.

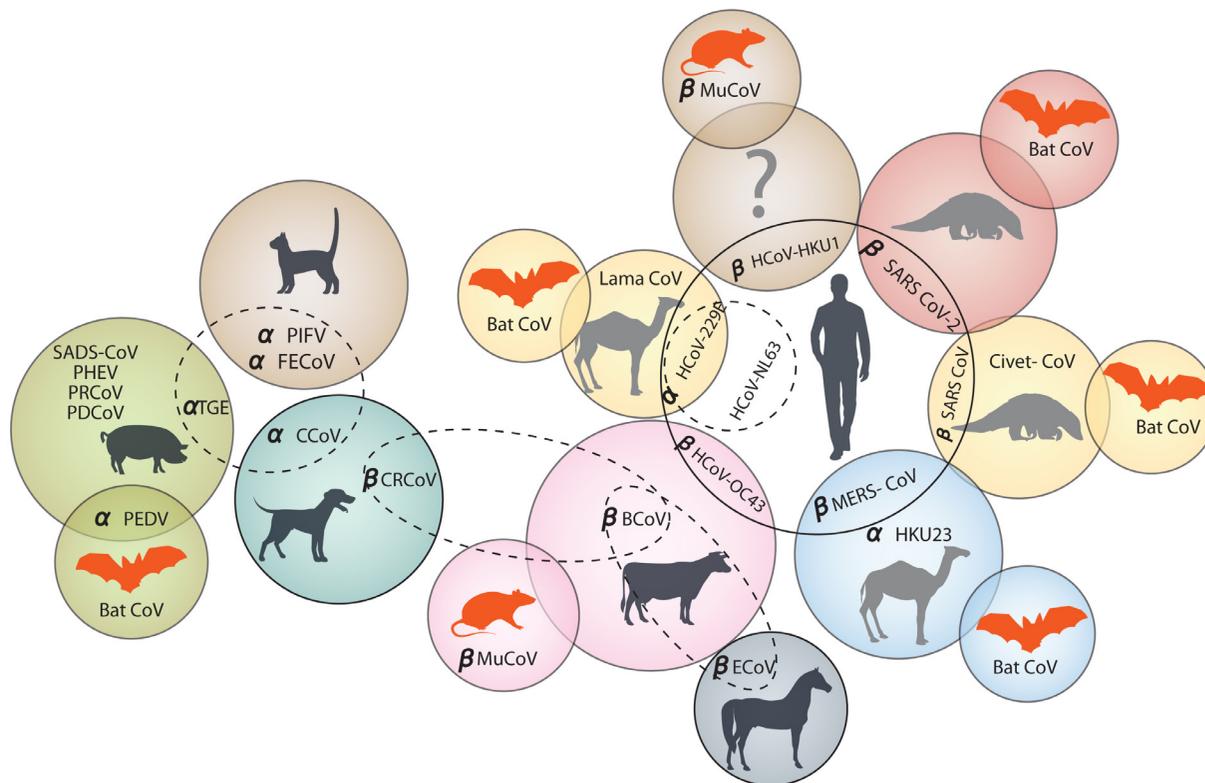


Fig.7 - Diagrama ilustrativo das cadeias de transmissão dos coronavírus de morcegos e roedores (hospedeiros reservatórios, representados a cor-de-laranja) para hospedeiros suscetíveis (representados a preto), passando ou não, por espécies intermediárias (representadas a cinzento). Os círculos tracejados agrupam coronavírus de diferentes espécies animais com relações genéticas próximas (Adaptado de Duarte et al. 2020 ²⁴).



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 infetado 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 elasticidade¹².



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 recuperação favorável da infecção ocorre entre o 7º e o 10º dia, quando a resposta imunológica à infecção é excessiva^{13,14}.

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 multisectorial 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 infecção 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, propicia 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 preditivos da emergência de doenças virais, juntamente com a implementação de programas específicos de vigilância e de monitorização, poderão permitir antecipar a emergência de novas epidemias, implementar prontamente medidas preventivas e acionar planos de contingência.

2.5. TRANSMISSÃO DE SARS-CoV-2

A transmissão do SARS-CoV-2 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-as²⁵. 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.

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, de 1 ou 2 dias. O período de incubação do SARS-CoV-2 médio é atualmente estimado em cerca de 5 a 6 dias²⁶. No entanto, ainda não está completamente esclarecido quando ocorre o pico de infecciosidade durante a infeção, 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 infeções. Esta situação é ainda agravada pelo facto de uma grande parte dos casos de infeção serem assintomáticos, sem nunca ocorrer o desenvolvimento de sintomas perceptíveis.

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

O SARS-CoV-2 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, mantendo a infeção localizada e controlada. Nestes casos, ocorre apenas tosse e perturbação do olfato e do paladar, não havendo disseminação da infeção para o trato respiratório inferior. No entanto, se a dose infecciosa for elevada²⁷, ou se a infeção 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 infeção sistémica (infeção generalizada).

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 distintos²⁸ face à infeção por SARS-CoV-2 (Figura 8).



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 rosto¹⁵.



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 receptor 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 doença¹².



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. 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^{3,4} para que se observe alguma mudança no valor Rt.

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. Esta variação é espelhada no conjunto dos sintomas de COVID-19 considerados “principais”, pelos diferentes países. 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 infeta 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)⁵ em crianças infetadas por SARS-CoV-2 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 choque⁶.

Porque é que numas pessoas a doença é grave e noutras 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. Existem outros fatores individuais que têm vindo a ser identificados, como variações nos genes ACE2, TMPRSS2, HLA, CD147, MIF, IFNG, IL6, que parecem ser responsáveis pela mortalidade de jovens aparentemente saudáveis e pela resistência notória à doença por alguns idosos⁷.

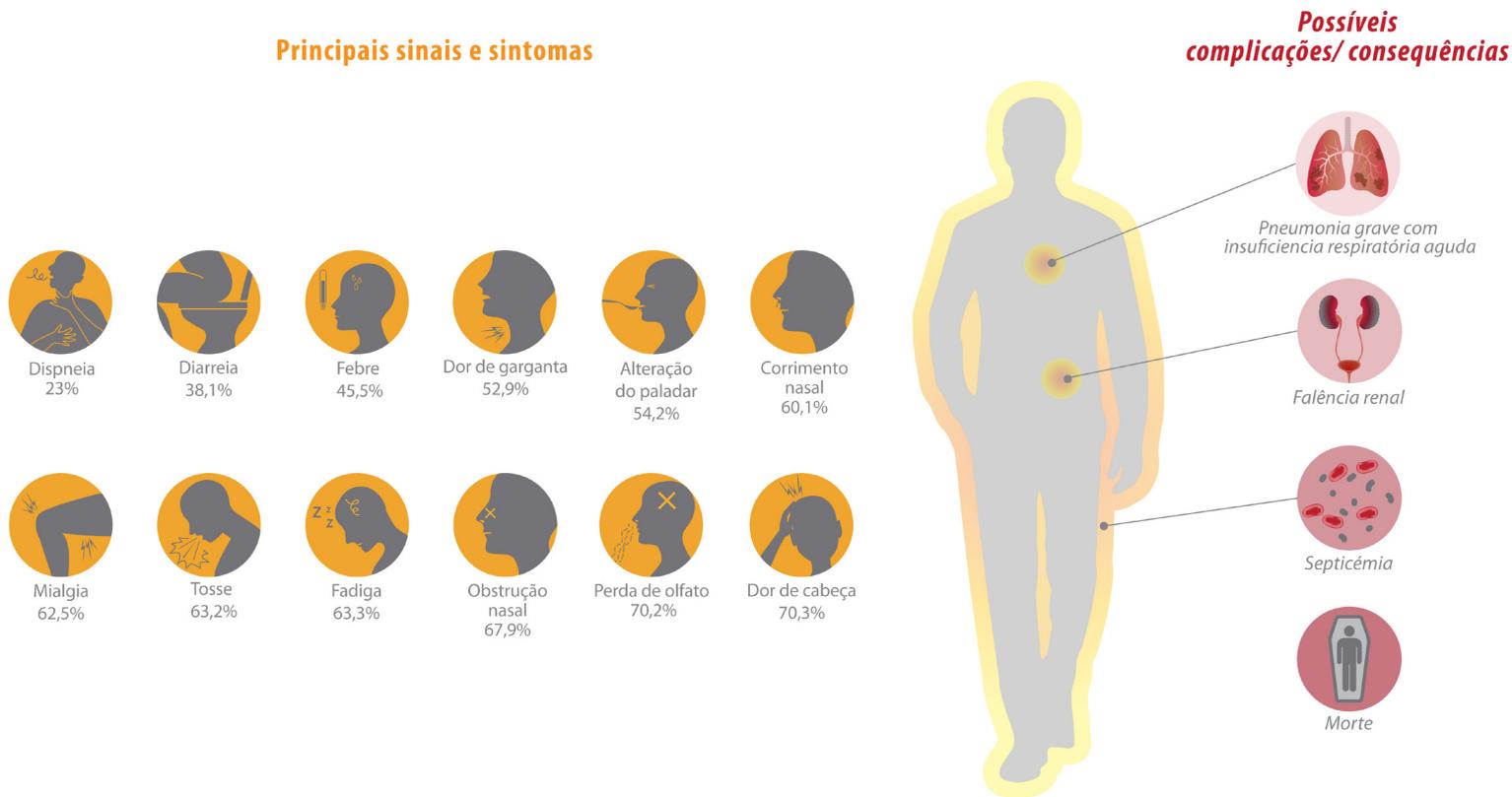


Fig. 8 - Sintomas e lesões associadas à COVID-19 em 24.410 doentes. (Adaptado de Grant et al., 2020³⁰).



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 a 14 dias⁸. 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). No entanto alguns estudos descreveram períodos de incubação muito mais longos em algumas pessoas.

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 contágios⁹, 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 infecciosidade¹⁰, dadas a limitações mencionadas no ponto 2.5.

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.

Uma resposta imunológica excessiva está associada a casos graves de SARS-CoV-2. A tempestade de citocinas desencadeada pela infeção induz inflamação grave que pode levar à síndrome de dificuldade respiratória aguda, coagulação e disfunção de múltiplos órgãos. Também tem sido associada a respostas fibróticas, resultando em danos pulmonares de longo prazo.

As crianças são geralmente mais resistentes à doença do que os adultos, desenvolvendo frequentemente infeções assintomáticas. No entanto foi identificada uma síndrome multissistémica em crianças (MIS-C) associada ao SARS-CoV-2²⁹.

2.7. IMPACTO DA COVID-19 NA SAÚDE PÚBLICA

O impacto da COVID-19 é atestado pelos mais de quase 4 milhões de mortos registados mundialmente nos 19 meses de reconhecimento da doença^{31,32} (de dezembro de 2019 a junho de 2021). 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 107 milhões. A rapidez com que o SARS-CoV-2 se alastrou a 213 países e territórios, reflete a globalização e a intensidade do trânsito internacional do século XXI.

No entanto, num passado recente, têm ocorrido outras epidemias de que é exemplo a disseminação do vírus da gripe H1N1 que emergiu em 2009 no México, e 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 and Prevention*), e afetou, 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^{33,34} 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 conseqüentemente a sua eliminação. Dada a baixa proporção de pessoas seropositivas após a primeira vaga, o desconhecimento da duração da imunidade adquirida e o número muito elevado de vítimas que teriam resultado da infeção em massa, os esforços agora estão concentrados nos programas de vacinação para controlar a epidemia.

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 sujeita³⁵, poderá

haver necessidade de serem produzidas regularmente vacinas ajustadas às diferentes variantes em circulação, tal como acontece com as vacinas contra a gripe sazonal.

Na verdade, desde a sua emergência no final de 2019, um número crescente de variantes do SARS-CoV-2 foi identificado no mundo. Algumas substituíram as variantes iniciais muito rapidamente, demonstrando sua clara vantagem no que toca à taxa de transmissão. Essas novas variantes também contribuíram para a gravidade da pandemia de COVID-19 porque, ao se espalharem mais facilmente, causam mais infecções e, potencialmente, mais mortes. Ainda não está claro se essas variantes estão associadas a doença mais grave.

A variante Alfa (B.1.1.7.), anteriormente designada variante Kent, foi detectada pela primeira vez no Reino Unido no final de 2020, contém um elevado número de mutações muitas das quais estão localizadas no gene que codifica a proteína S. Esta variante é substancialmente mais infecciosa do que outras variantes (com uma taxa de transmissibilidade 50% superior^{30,31}) provavelmente devido a uma mutação designada N501Y (o que significa que o aminoácido N (Asparagina) na posição 501 da proteína S foi substituído por um Y (Tirosina)). A substituição deste aminoácido aumenta a afinidade da ligação do vírus ao receptor humano ACE2. Ao ligar-se mais facilmente, o número de partículas virais necessárias para infectar uma nova pessoa é muito menor. Outras mutações incluem a deleção H69/V70³⁶, a deleção 144Y e as substituições de aminoácidos N501Y, A570D, D614G e P681H. Embora inicialmente a variante não estivesse associada a sintomas mais graves de COVID-19, dados recentes consideraram a possibilidade de que a infecção com a variante Alfa possa estar associada a um risco aumentado de morte em comparação com outras variantes^{37,38}. A variante Alfa espalhou-se rapidamente por todo o Reino Unido, onde surgiu, e em meados de fevereiro de 2021 já havia sido detetada em 70 países.

A variante Beta (B.1.351), anteriormente designada por variante da África do Sul, foi detetada pela primeira vez no município de Nelson Mandela Bay, em outubro de 2020, emergindo independentemente da variante Alfa. Desde então, foi encontrada em mais de 30 países. Da mesma forma que a variante do Reino Unido, a variante Delta substituiu rapidamente outras variantes do SARS-CoV-2 na África do Sul. Esta variante compartilha algumas mutações com a variante Alfa³⁹, nomeadamente a mutação N501Y na proteína S, mas também adquiriu as mutações E484K e K417N, que podem interferir com a afinidade da ligação de anticorpos à partícula viral, podem reduzir a ligação de anticorpos ao vírus. A evidência preliminar sugere que a vacina Moderna mRNA-1273 pode ser menos eficaz contra esta variante⁴⁰. Não há nenhuma evidência, entretanto, de que a variante sul-africana seja mais mortal do que as estirpes originais.

A variante Gama (B.1.671.2 ou P1), anteriormente designada variante Brasileira foi detetada pela primeira vez no Japão num grupo de viajantes brasileiros em janeiro de 2021. Esta variante tem 17 mutações únicas, incluindo três no domínio de ligação ao receptor da proteína S (N501Y, E484K e K417N)^{41,42}. Tornou-se rapidamente prevalente no estado brasileiro do Amazonas. Há evidências que sugerem que algumas das mutações na variante Gama podem afetar a capacidade dos anticorpos (de infecção natural ou vacinação) de reconhecerem e neutralizarem o vírus⁴³, mas estudos adicionais são necessários.

A variante Delta (B.1.617.2), também conhecida como variante Indiana, foi primeiro detetada no estado de Maharashtra, na Índia, em outubro de

2020. Desde então, essa variante disseminou-se amplamente pela Índia e pelo mundo, tendo sido detectada em mais de 96 países. Como as variantes Alfa, Beta e Gama, a variante Delta é considerada uma variante de preocupação (VOC) para a OMS. A variante Delta possui múltiplas mutações associadas à melhoria da capacidade do vírus se ligar às células humanas e à evasão a algumas respostas imunológicas. Mais recentemente, surgiu uma mutação dessa variante, chamada “delta plus”, que tem preocupado a comunidade científica. Esta variante transmite-se de forma extremamente eficaz, alastrando-se a mais de 100 países por todo o mundo, constituindo uma preocupação pela sua capacidade extraordinária de transmissão e pela associação a formas de doença mais grave.

Várias outras variantes foram detectadas, como as variantes Kappa (da Índia) e Eta (do Reino Unido), entre outras. Prevê-se que o SARS-CoV-2 continue a evoluir rapidamente, por meio da seleção natural de variantes que escapam da resposta imune induzida pelo contato com variantes e vacinas anteriores.



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 surgem as variantes do SARS-CoV-2?

Algumas mutações podem prejudicar a capacidade replicativa e/ou infecciosa pelo que, as variantes virais com este tipo de mutações prejudiciais são eliminadas rapidamente da população viral. Ocasionalmente, no entanto, ocorrem mutações vantajosas, que conferem à nova variante uma melhor capacidade de replicação, transmissão e evasão do sistema inunitário do hospedeiro. Essas variantes sofrem seleção positiva e, portanto, tornam-se dominantes sobre as outras variantes.

O que têm em comum as variantes do SARS-CoV-2 do Reino Unido, da África do Sul e do Brasil?

Partilham uma mutação que leva à substituição do aminoácido D (ácido aspartico) por um G (glicina) na posição 614 na proteína S (D614G). Esta mutação confere às variantes a capacidade de se espalharem mais rapidamente do que os vírus anteriormente predominantes¹¹, por aumentar a estabilidade de ligação ao receptor ACE2 humano, favorecendo a replicação em culturas primárias de células epiteliais brônquicas e nasais humanas e aumentando substancialmente a replicação e transmissibilidade em modelos de infeção por SARS-CoV-2 de hamster e furão.

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, neste caso através de métodos moleculares de 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 (*Loop-mediated isothermal amplification*) e CRISPR (*Clustered regularly interspaced short palindromic repeats*).

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-CoV-2. Ensaios realizados em vários países mostraram que existem algumas

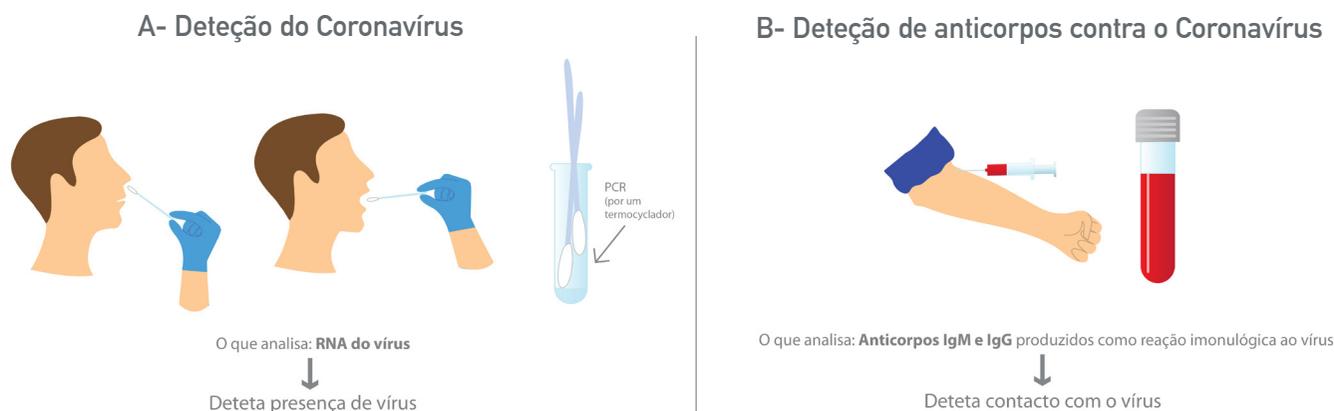


Fig. 9 A - A deteção do genoma viral é feita por RT-PCR convencional ou em tempo real (muitas vezes referido apenas por PCR), visto tratar-se de um vírus de RNA. A deteção de RNA viral, um dos componentes do vírus, indica que está a decorrer, ou ocorreu, infeção por SARS-CoV-2. B - A deteção de anticorpos pode ser efetuada por métodos rápidos ou por imunoensaios (ELISA, CLIA). A deteção de anticorpos revela o contacto prévio com o vírus.



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 da 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 numa forma exagerada, levando a uma exacerbação do processo infeccioso que pode por si só, ser extremamente nefasto para o hospedeiro¹⁶. Isto ocorre na peritonite infecciosa dos gatos e na COVID-19.

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. Contudo, estas técnicas são extremamente laboriosas, dispendiosas e demoradas, e requerem laboratórios especializados (com níveis de biossegurança BSL-3).

Os métodos indiretos são baseados na deteção de anticorpos que são produzidos especificamente em resposta à infeção. Este ramo da resposta imunitária é designado por imunidade humoral (Figura 9B).

A utilização dos testes moleculares e/ou serológicos depende da fase de evolução da doença e da condição de vacinação. Por exemplo, 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 infeção e que seriam indetetáveis por outros métodos. A amplificação no



Quais são as implicações da emergência de uma nova variante no sucesso da vacinação?

Os fabricantes de vacinas estão a avaliar a eficácia de suas vacinas contra as novas variantes do SARS-CoV-2. As vacinas atualmente licenciadas e aprovadas parecem oferecer proteção relativamente boa contra a variante do Reino Unido. No entanto, a proteção das vacinas Novavax, Johnson & Johnson e Oxford /AstraZeneca contra a variante da África do Sul é reduzida^{12,13}.

Qual a importância de monitorizar a emergência de novas variantes?

A sua deteção e a sequenciação integral do genoma das variantes do SARS-CoV-2, que continuarão a emergir no futuro, são fundamentais para monitorizar o seu impacto, avaliar a sua disseminação, atualizar as técnicas de diagnóstico, ajustar vacinas e desenvolver drogas antivirais eficazes.

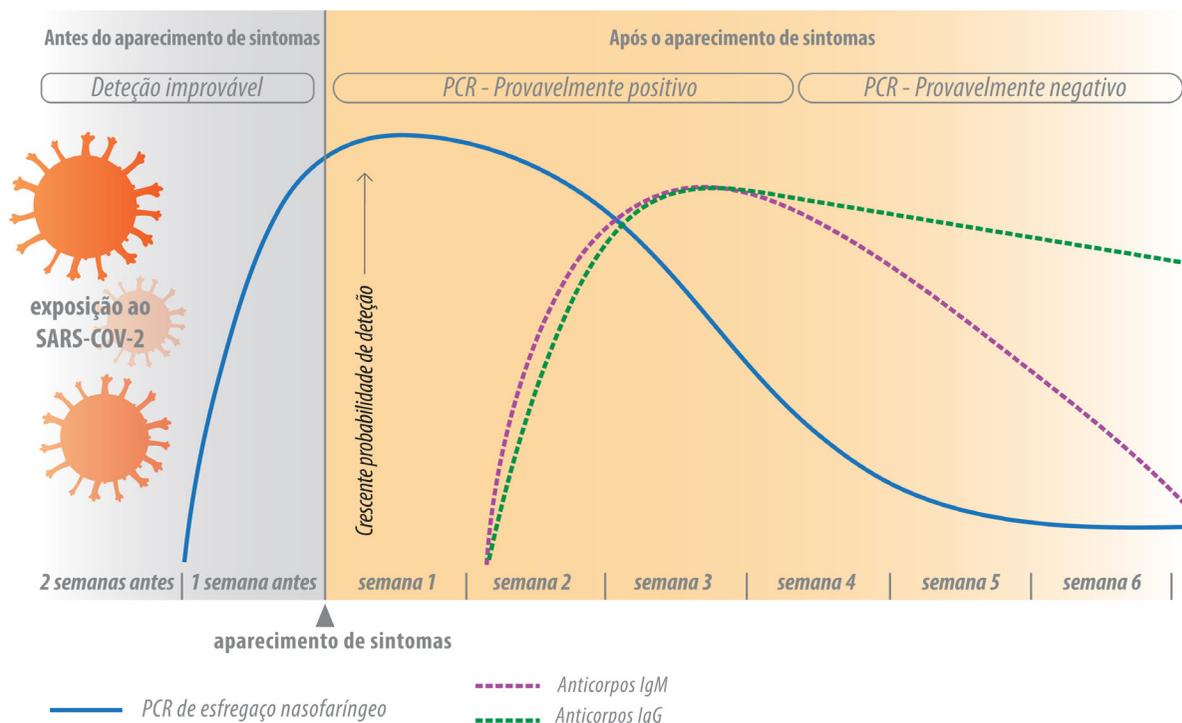


Fig. 10 - Eficácia dos métodos de diagnóstico na deteção da infeção por SARS-CoV-2 desde o contacto até ao aparecimento e progressão dos sintomas. As curvas representam a probabilidade de deteção de RNA viral (por PCR) e de anticorpos (IgM e IgG, por ELISA) ao longo do tempo. (Adaptado de Sethuraman et al., 2020⁴⁴)



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 detetada 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. A avaliação continuada, ou periódica, da imunidade populacional é fundamental para o conhecimento da mesma. No entanto, ainda não está claro quanto tempo essa imunidade dura e se ela será eficaz contra novas variantes do vírus.

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 ultimo caso necessário realizar primeiro a sua conversão para DNA, através de um processo designado por transcrição reversa (RT do inglês reverse transcription).

tubo da reação, de uma única molécula alvo inicialmente presente na amostra, em milhares de cópias idênticas, permite a sua deteção específica, sensível e rápida em poucas horas.

Para a realização do teste molecular são colhidas amostras biológicas 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 infeção 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.

No caso da COVID-19, um resultado positivo em RT-qPCR para coronavírus, indica a presença de RNA viral, 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.

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 distintas (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 antigénios presentes na superfície do vírus, em particular a proteína S. Os antigénios 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.

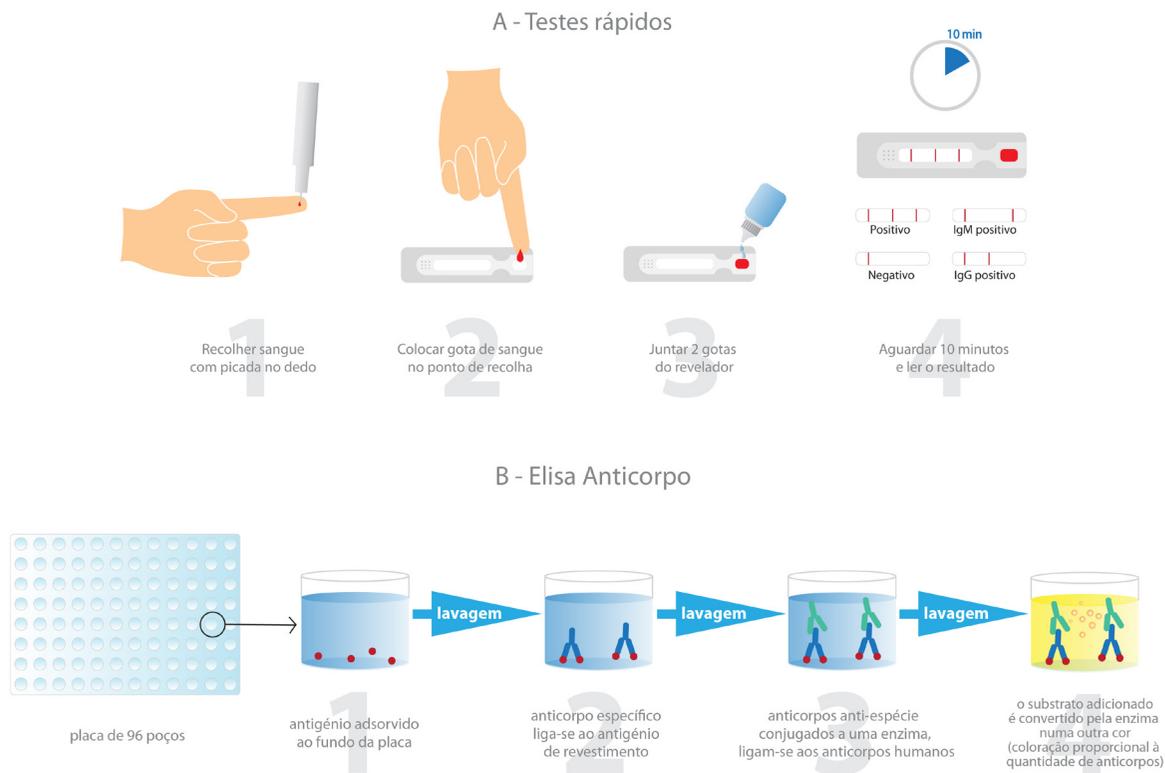


Fig. 11 - Exemplo de testes para pesquisa de anticorpos para SARS-CoV-2. A - Teste rápido que requer apenas a colheita e depósito de uma gota de sangue utilizado no dispositivo. B - ELISA, um teste imunoenzimático realizado em laboratório, requerendo equipamentos específicos (estufa, lavador de placas,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



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. O teste de RT-PCR deteta RNA viral que pode representar vírus infeccioso (cuja detecção exigiria ensaios de isolamento de vírus em cultura de células de linha, muito demorados e não automatizáveis) ou componentes virais já inativos. Embora o teste não permita esta distinção, sendo um teste quantitativo os seus valores podem ser indicativos destas situações.

Um teste de RT-PCR negativo é seguro?

Estima-se que até 20% dos pacientes com resultados negativos sejam falsos-negativos¹⁴. O momento da recolha da amostra (i.e., fase de 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 individuo estar infetado for elevada (por exibir sintomas compatíveis e tiver um histórico de exposição). Nesse caso, o teste deve ser repetido.



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, produz anticorpos entre o dia 10 e o dia 21 após a infeção. No entanto, em alguns casos, os anticorpos são detetados mais tardiamente, ou não são mesmo detetados.

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 da COVID-19, desenvolveram anticorpos e contraíram uma segunda infeção ao fim de alguns meses¹⁵, 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 saliva¹⁶, sugerindo a possibilidade de reinfeções pelo mesmo vírus após aquele período.

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, respetivamente¹⁷, 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 aumentado depois da infeção¹⁸. Os anticorpos IgA participam na imunidade local das mucosas, sendo importantes na defesa das mucosas que são a porta de entrada do vírus¹⁸.

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 2 metros entre pessoas que não pertencem ao mesmo agregado familiar, no local de trabalho, espaços públicos;
- 3 - Usar máscara quando o distanciamento não pode ser garantido;
- 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);
- 6 - Evitar locais lotados e fechados com pouca ventilação;
- 7 - Garantir uma boa ventilação em espaços interiores, incluindo residências e escritórios;
- 8 - Ficar em casa quando se sente doente, contactando o seu médico o mais rapidamente possível para determinar se é necessário atendimento médico;
- 9 - Em países ou áreas onde o SARS-CoV-2 esteja a circular, os profissionais de saúde devem usar máscaras cirúrgicas continuamente durante todas as atividades de rotina em áreas clínicas nas 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 infeção 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 infeção por este vírus. Mesmo usando máscara, se as nossas mãos tocarem num objeto contaminado, e de seguida forem levadas aos olhos¹⁹, promovem o contacto do vírus com as mucosas, e subseqüentemente a infeção.

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 invólucro, 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 infeção viral.



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

A capacidade desinfetante do álcool a 50% - 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 desinfeção de superfícies?

A lixívia diluída em água (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 desinfeção 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)²⁰, limitando ou reduzindo significativamente a sua disseminação no meio ambiente. 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 infeção. 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 (artesanais, laváveis) e cirúrgicas (descartáveis) reduzem significativamente a emissão de gotículas e aerossóis pelas pessoas infetadas, protegendo assim os que estão ao seu redor e contribuindo 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 infetar 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 desinfetadas 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 antisepsia 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 desinfetar a mãos de seguida.

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 valor máximo cerca de 1 a 2 semanas depois da sua deteção, decrescendo depois lentamente. A produção de 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, podendo 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 meses³⁹. 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 as suas classes IgG, IgM e IgA) desenvolvidos contra os antigénios 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).

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

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

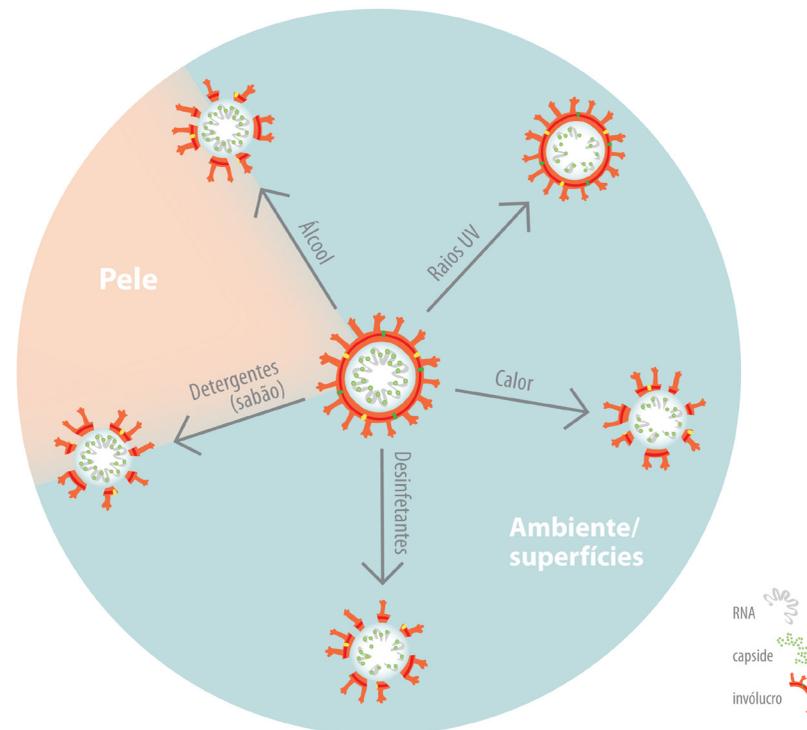


Fig. 12 - Métodos de inativação do vírus e sua respetiva eficácia. (Adaptado de Pfaender et al. 2015⁶³)

3.3. MEDIDAS DE PREVENÇÃO DE DOENÇAS CAUSADAS POR CORONAVÍRUS

Como em todas as outras doenças dos animais, a prática de medidas de biossegurança, de vigilância sanitária a vacinação, constituem ferramentas eficazes na prevenção da infecção.

3.3.1. Etiqueta social, distanciamento e quarentena

No caso do SARS-CoV-2, as medidas recomendadas para reduzir a taxa de transmissão entre pessoas, incluem a lavagem frequente e desinfecção 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 sintomas ou sinais sugestivos de doença, ou quando houver contacto próximo com indivíduos infectados.

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 infectadas como do número de mortes⁴⁵. Os resultados de vários estudos de modelação sugerem que a quarentena foi mais eficaz e custou menos quando foi implementada mais cedo. O cumprimento de quarentena por parte indivíduos que estiveram em contacto 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 mortes⁴⁶.

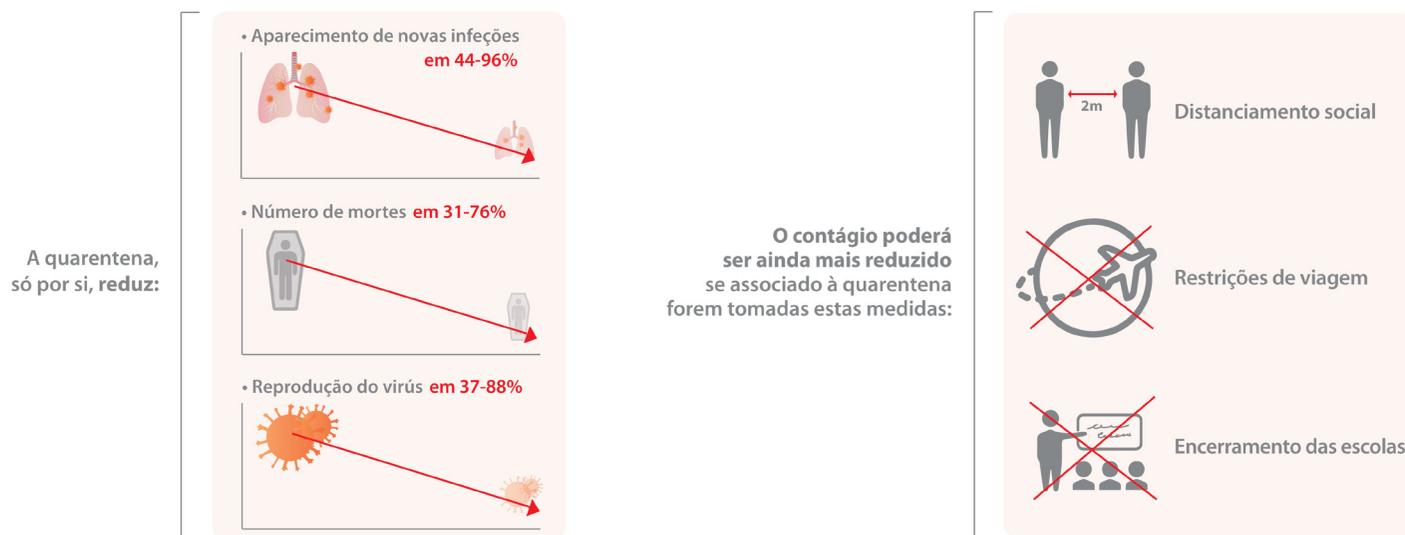


Fig. 13 - Importância da quarentena na redução da transmissão de SARS-CoV-2

Alguns estudos indicaram que pode haver uma redução no valor de R_t (um indicador que define o grau de transmissão da infecção) de 37% a 88% devido à implementação da quarentena⁴⁷. De igual forma, regista-se um efeito positivo da quarentena 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) aplicados a objetos inanimados e a superfícies 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°C⁴⁶. 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.

Os esforços para conter pandemias através da aplicação de medidas de biossegurança têm-se revelado insuficientes pela dificuldade da sua aplicação e/ou cumprimento. O retorno à normalidade econômica, social e profissional depende por isso do sucesso da vacinação para prevenir doenças graves e limitar a propagação do vírus. O desenvolvimento de imunidade adquirida por vacinação reduz o risco de contrair a doença e de sofrer as suas consequências clínicas e sequelas. Esta imunidade, não só ajuda a pessoa vacinada a melhor lutar contra o vírus após a exposição, como também protege os que estão ao seu redor, uma vez que os vacinados, ao serem infectados têm menor probabilidade de excretar o vírus e portanto, de o transmitir a terceiros. A vacinação é, assim, particularmente importante para proteger pessoas com risco acrescido de doenças graves causadas por SARS-CoV-2, como profissionais de saúde, idosos e pessoas com condições médicas subjacentes.

3.3.2 Vacinas

Mais de 180 vacinas contra o SARS-CoV-2 foram e estão a ser desenvolvidas em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) mantém um documento de trabalho que inclui a maioria das vacinas em desenvolvimento⁴⁸. As abordagens de desenvolvimento utilizadas para as vacinas SARS-CoV-2 podem ser divididas em 'tradicionais', que incluem vacinas com vírus vivo ou inativado, "vacinas de proteína recombinante", "vacinas de vetores virais", "vacinas de DNA" e "vacinas de RNA".

As vacinas inativadas são produzidas pela multiplicação do SARS-CoV-2 em linhas celulares em laboratórios de nível de Biossegurança 3 (BSL-3), seguida da inativação química do vírus, por exemplo com betapropiolactona^{49,50}, um composto orgânico desnaturante. Uma vez que o vírus está integralmente presente na vacina, a resposta imunológica é desenvolvida contra todas as proteínas estruturais (não apenas a proteína S, mas também a proteína M, a N e E). Essas vacinas são geralmente administradas por via intramuscular e podem conter adjuvantes como o hidróxido de alumínio. Exemplos de vacinas inativadas para COVID-19 são as vacinas BBIBP-CorV (Sinopharm), CoronaVac (SinoVac) e Covaxin (Bharat Biotech).

As vacinas vivas atenuadas usam uma versão viva, mas enfraquecida do vírus, que apenas se multiplica de forma muito limitada, causando infecção sem doença evidente. No entanto, esta infecção pelo vírus vacinal induz uma resposta imune semelhante à que ocorreria na infecção natural. A atenuação pode ser obtida pela adaptação do vírus em condições desfavoráveis ou através de modificações genéticas^{48,51}. Essas vacinas podem ser administradas por via intranasal, induzindo respostas imunológicas da mucosa que podem proteger o trato respiratório superior, a principal via natural de entrada do SARS-CoV-2. À medida que o vírus se replica na pessoa vacinada, são induzidas fortes respostas humorais e celulares, dirigidas tanto contra as proteínas virais estruturais como não estruturais (que só estão presentes enquanto o vírus se multiplica). A preocupação com a segurança da vacina é uma das desvantagens desse tipo de vacina⁵².

As vacinas com proteínas recombinantes são criadas a partir de proteínas virais produzidas por processos biotecnológicos. Estas vacinas incluem principalmente a proteína S, ou parte desta, nomeadamente o domínio de ligação ao recetor do vírus, ou ainda um conjunto de proteínas estruturais virais que espontaneamente se ligam entre si, formando uma partícula com estrutura semelhante ao vírus natural (*Virus Like Particle*, VLP). As VLPs, por não conterem material genético, não se multiplicam. As proteínas recombinantes podem ser expressas em diferentes sistemas, incluindo células de mamíferos, leveduras, células de plantas ou de insetos⁵²⁻⁵⁴. Tal como as vacinas inativadas, as vacinas recombinantes são injetadas por via intramuscular e não induzem por isso uma imunidade robusta ao nível das mucosas. A vacina NVX-CoV2373 (VLP, Novavax) é uma vacina COVID-19 de proteína recombinante.

As vacinas de vetores virais consistem em versões modificadas de um vírus diferente (o vetor), para expressarem antígenos de um outro vírus, contra o qual se pretende imunizar. Como os vírus vetores são capazes de infectar as células alvo, entregam esses antígenos (a proteína S, no caso do SARS-CoV-2⁴⁸) dentro das células muito eficientemente, induzindo uma resposta imunitária forte. A maioria dessas vacinas é administrada por via intramuscular.

Estas vacinas podem ser de dois tipos; não-replicativas e replicativas. Nas primeiras, o vetor viral, geralmente um adenovírus (AdV), é incapaz de se replicar e causar a doença⁵⁵. A inativação do vetor viral impede a sua multiplicação, conferindo a vantagem de tornar estas vacinas mais seguras, mesmo quando administradas a pessoas imunocomprometidas. Nestas vacinas, a quantidade de antígeno a ser administrado pode ser padronizada tal como com nas vacinas inativadas ou nas vacinas recombinantes. Exemplos destas vacinas contra a COVID-19 são a Johnson & Johnson, a Oxford-AstraZeneca e a Sputnik V.

O segundo tipo compreende as vacinas que utilizam vetores virais atenuados e têm capacidade replicativa. Como o vetor é capaz de se multiplicar até certo ponto na pessoa vacinada, desenvolve-se uma imunidade mais robusta em comparação com a imunidade induzida por vacinas de vetores inativados, recombinantes ou vetor viral - não replicativas. Algumas dessas vacinas também podem ser administradas diretamente nas mucosas, podendo desencadear respostas imunológicas locais robustas. Atualmente estão a ser utilizados como vetores virais o vírus da influenza⁴⁸, o vírus da raiva⁴⁸, o vírus da estomatite vesicular (VSV)⁵⁹, o vírus da vaccinia e o vírus da doença de Newcastle (NDV)^{60, 61}. Estas vacinas podem ser produzidas com tecnologias semelhantes às utilizadas na produção das vacinas de gripe⁵⁸. A possibilidade de existir imunidade contra o vetor⁵⁶, que pode neutralizar a vacina, é uma das desvantagens deste tipo de vacina, que pode ser evitada usando vírus animais⁵⁷ como vetor.

As vacinas de DNA são baseadas no DNA de plasmídeo que pode ser produzido em larga escala em bactérias. Uma das grandes vantagens dessa tecnologia é o elevado grau de estabilidade do DNA plasmídico. Apesar da possibilidade de incluir sequências genéticas que aumentam a expressão da proteína antigénica (proteína S), estas vacinas de DNA devem ser administradas através de dispositivos tecnológicos especiais que as tornam mais eficientes.

As vacinas de RNA são as vacinas mais recentes, consistindo numa porção do RNA viral, geralmente administrado por meio de nanopartículas lipídicas (LNPs), que o protegem. No caso do SARS-CoV-2, em vez da própria proteína S, a vacina veicula a informação genética que codifica o antígeno (a proteína S), na forma de mRNA (com certas modificações) ou de RNA autorreplicativo, e.g., com capacidade de se replicar. A proteína S é então produzida dentro das células após a vacinação. Por meio dessa tecnologia, a vacina pode ser totalmente produzida *in vitro*, facilitando grandemente o processo. No entanto, o armazenamento em baixas temperaturas (-80°C) é necessário, levantando alguns problemas no armazenamento e envio destas vacinas. Além disso, estas vacinas são administradas por injeção, sendo improvável que induzam uma imunidade eficaz ao nível das mucosas respiratórias⁶². Exemplos dessas vacinas são a BNT162b2 da Pfizer BioNTech e o mRNA-1273 da Moderna.

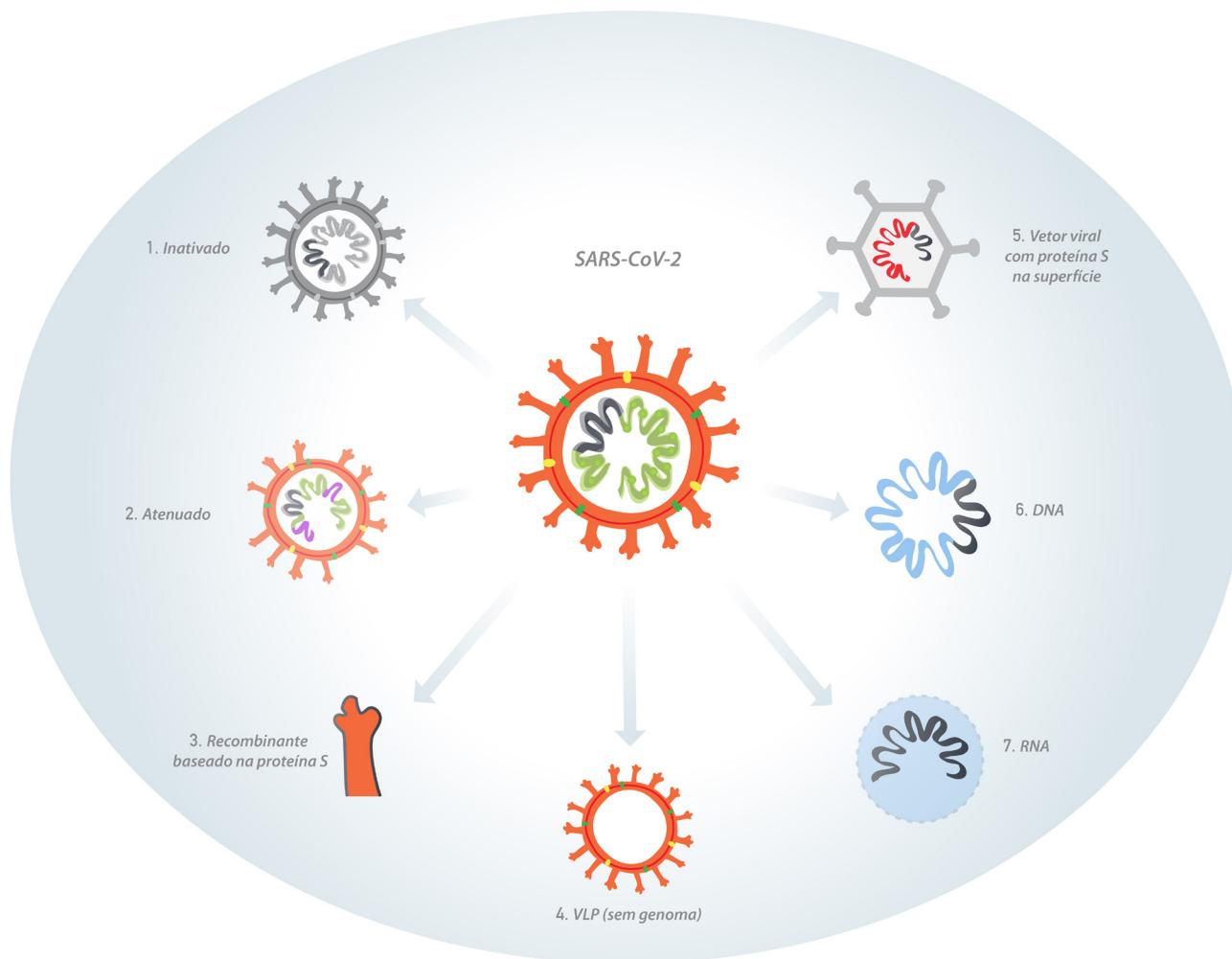


Fig. 14 - Representação esquemática das vacinas SARS-CoV-2 atuais. No centro da figura está representada uma partícula de SARS-CoV-2 e, em seu redor, os tipos de vacinas mais frequentes, preparadas a partir do SARS-CoV-2 ou dos seus componentes. 1- vacinas inativadas; 2- vacinas vivas atenuadas; 3- vacinas de proteínas recombinantes baseadas na proteína S; 4 - vacinas de partículas semelhantes a vírus; 5 - vacinas de vetor incompetente para replicação/competente para replicação/inativado que exibem a proteína S na sua superfície; 6 - vacinas de DNA; 7 - vacinas de RNA. (Adaptado de Krammer et al, 2020⁷³)

4. OS CORONAVÍRUS NO MUNDO

A maioria dos coronavírus dos animais (como o FCoV, o CCoV e o TGE) e do Homem (HCoV-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), originando o primeiro surto reportado em humanos e tendo emergido entre 2002 a 2003, afetando 8096 pessoas de 33 países e causando 774 mortes⁶⁴. Alguns estudos sugerem que os primeiros casos apareceram na Província de Guangdong onde o vírus circulou durante cerca de 2 meses, antes de se verificar um surto evidente na cidade de Guangzhou⁶⁵. A transmissão internacional ocorreu mais tarde a partir do 9º piso do Hotel Metrópole em Hong Kong, através do contacto com um médico infetado com SARS-CoV. Outros hóspedes desse mesmo piso foram infetados e regressaram depois aos seus países de origem, em diferentes continentes, promovendo a disseminação rápida do vírus à escala mundial^{66,67}.

O MERS-CoV foi detetado pela primeira vez num doente da Arábia Saudita (Médio Oriente) em 2012 e, até 1 de Março de 2020, a Organização Mundial de Saúde confirmou cerca de 2553 casos e 856 mortes⁶⁸. Apesar deste coronavírus (MERS-CoV) se ter facilmente disseminado para outros pontos do globo como França, Alemanha, Itália, Tunísia e Reino Unido, através de pessoas que tinham viajado ou trabalhado no Médio Oriente 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, a sua disseminação é incomparavelmente superior à da SARS e MERS. O número de infetados até 30 de junho de 2021 atingiu mais de 107 milhões.



Como poderá a vacinação controlar a infeção?

A vacinação contra SARS-CoV-2 mostrou reduzir significativamente a severidade da doença. 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 para o qual a vacina for capaz de conferir imunidade.

Qual o tratamento da COVID-19?

Não existem ainda 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 dias²⁰ o tempo de recuperação dos pacientes com infeção pulmonar¹⁸) e imunomoduladores são utilizados em casos mais graves.

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 inesperada 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 a disseminação 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.

Mais de um ano após as primeiras mortes pela COVID-19, não há ainda um tratamento antiviral específico recomendado. 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 respiratory distress syndrome*) e sepsia. Quando há comprometimento da função respiratória, a oxigenoterapia constitui a primeira linha de atuação.

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%⁶⁹. Os benefícios da utilização de alguns agentes antivirais (como o remdesivir⁷⁰, o lopinavir/ritonavir e o arbidol) e de drogas modeladoras da resposta imunológica (como a cloroquina e a hidroxicloroquina) está ainda em análise.

Estão a ser obtidos resultados promissores na procura de novos alvos para o desenho de fármacos. Um novo estudo em Portugal revelou que a ribonuclease viral nsp14 é um alvo promissor para a descoberta de novos inibidores de fármacos que interferem na replicação dos coronavírus e melhoram o prognóstico dos casos graves da doença⁷¹.

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 interage com o Planeta. Com efeito, a invasão permanente e insidiosa dos ecossistemas, a destruição de habitats de espécies selvagens, resulta inevitavelmente na emergência de novos agentes patogénicos, fruto do contato excessivamente próximo entre o Homem e espécies selvagens reservatórios daqueles agentes, facilitando os saltos de barreira de espécie. Estes comportamentos associados às viagens e ao comércio internacional, aumentam e aceleram a disseminação de patogénicos emergentes, conduzindo a epidemias e pandemias.

As incertezas sobre a origem e a evolução da COVID-19 nos próximos anos são ainda muitas⁷², muito depois da identificação do paciente 0, 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 ao 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.



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

Embora a verdadeira mortalidade por COVID-19 demore algum tempo a ser avaliada, 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 infecção) se situe entre 3-4%. A taxa de letalidade (o número total de mortes de residentes numa área geográfica específica (país, estado, condado, etc.) dividido pela população total para a mesma área geográfica (por um período de tempo especificado, geralmente um ano civil) e multiplicado por 100,000) varia muito entre países, estimando-se valores entre 0,1% e 25%²¹. 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 da vacinação.

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 provavelmente a partir de morcegos, tendo adquirido a capacidade de infetar humanos, após uma passagem por uma espécie animal intermediária, ainda não identificada. Esta corrente é suportada pela história evolutiva do vírus e pela compreensão da ecologia dos morcegos²². 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 divergências genéticas, os padrões naturais típicos de evolução dos coronavírus²³.

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.



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 atividade¹⁷.

6. GLOSSÁRIO

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

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

Antiviral - Medicamento usado para tratar infeções virais

COVID-19 - Doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, identificado em 2019 como o agente causal da COVID-19 (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 recetores, ou conduzindo mesmo à morte da célula

Crescimento exponencial - termo utilizado 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 endémica ou endemia - Doença que afeta o Homem que está presente numa determinada região com uma prevalência (nº de casos) baixa e estável; nos animais fala-se de doença enzoótica ou enzootia.

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 intercontinentais 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 epizootica ou epizootia

Doenças zoonóticas - Doenças que se transmitem dos animais ao Homem

Dose infecciosa – Número de microrganismos capazes de desencadear uma infeção

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*; ADN em português) que contém os genes de todas as células e formas de vida, com exceção de alguns vírus, e é formado por unidades repetidas chamadas nucleotídeos (A, T, G, C).

Envólucro 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 do DNA que codificam proteínas

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

Infeção subclínica – infecção sem sintomas

LAMP - *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (técnica de detecção 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 em cadeia. Permite a amplificação exponencial de 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 dobras 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 infecção, 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*; ARN em português)

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 (texto principal)

1. Wertheim JO, Chu DKW, Peiris JSM, Pond SLK, Poon LLM. A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *Journal of Virology*. 2013;87(12):7039-7045. doi:10.1128/JVI.03273-12
2. An Apparently New Respiratory Disease of Baby Chicks. Published 1931. Accessed April 15, 2021. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19312200297>
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. *Intervirology*. 1975;5(1-2):76-82. doi:10.1159/000149883
6. Burrell CJ, Howard CR, Murphy FA. Coronaviruses. In: Fenner and White's Medical Virology. Elsevier; 2017:437-446. doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X
7. 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
8. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
9. 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
10. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
11. Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020;583(7815):282-285. doi:10.1038/s41586-020-2169-0
12. Decaro N, Lorusso A. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Veterinary Microbiology*. 2020;244:108693. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108693
13. 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>
14. Kipar A, Meli ML. Feline Infectious Peritonitis. *Veterinary Pathology*. 2014;51(2):22.
15. 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
16. Saif L, Sestak K. Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus. *Diseases of Swine*. Published online January 1, 2006:489-516.
17. Decaro N, Mari V, Campolo M, et al. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *Journal of Virology*. 2009;83(3):1532-1537. doi:10.1128/JVI.01937-08
18. Guy JS. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. *Avian Pathology*. 2000;29(3):207-212. doi:10.1080/03079450050045459
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. *Journal of Virology*. 2012;86(7):3995-4008. doi:10.1128/JVI.06540-11
20. 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
21. Pene F, Merlat A, Vabret A, et al. Coronavirus 229E-Related Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;37(7):929-932. doi:10.1086/377612
22. 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
23. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis*. 2003;36(8):985-989. doi:10.1086/374222
24. Os coronavirus dos animais e do Homem: das infeções assintomáticas às síndromes respiratórias agudas. *Veterinária Atual*. Published April 7, 2020. Accessed April 2, 2021. <https://www.veterinaria-atual.pt/destaques/os-coronavirus-dos-animais-e-do-homem-das-infecoes-assintomaticas-as-sindromes-respiratorias-agudas/>
25. 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 Parmensis*. 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
26. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*. 2020;371. doi:10.1136/bmj.m3862
27. 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
28. Coronavirus Dashboard. Accessed October 1, 2020. <https://ncov2019.live/#%20africa>
29. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic | NEJM. Accessed April 3, 2021. <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMe2023158>
30. Grant MC, Geoghegan L, Arbyn M, 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. *Hirst JA, ed. PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234765. doi:10.1371/journal.pone.0234765
31. Mortality Risk of COVID-19 - Statistics and Research. Our World in Data. Accessed October 1, 2020. <https://ourworldindata.org/mortality-risk-covid>
32. Arora RK, Joseph A, Van Wyk J, et al. SeroTracker: a global SARS-CoV-2 seroprevalence dashboard. *The Lancet Infectious Diseases*. Published online August 4, 2020. doi:10.1016/S1473-3099(20)30631-9
33. 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>
34. GeurtsvanKessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nature Communications*. 2020;11(1):3436. doi:10.1038/s41467-020-17317-y
35. McCarthy KR, Rennick LJ, Nambulli S, et al. Recurrent Deletions in the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Drive Antibody Escape. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.11.19.389916
36. Kemp SA, Meng B, Ferriera IA, et al. Recurrent Emergence and Transmission of a SARS-CoV-2 Spike Deletion H69/V70. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.12.14.422555

37. NERVTAG Note on B.1.1.7 Severity. Alliance for Pandemic Preparedness. Accessed March 30, 2021. <https://depts.washington.edu/pandemicalliance/2021/01/25/nervtag-note-on-b-1-1-7-severity/>
38. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: Variant of Concern 202012/01. :19.
39. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv. Published online December 22, 2020:2020.12.21.20248640. doi:10.1101/2020.12.21.20248640
40. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed March 30, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
41. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 12, 2021. Accessed March 30, 2021. <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586>
42. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020 - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 10, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/spike-e484k-mutation-in-the-first-sars-cov-2-reinfection-case-confirmed-in-brazil-2020/584>
43. SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 18, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/sars-cov-2-reinfection-by-the-new-variant-of-concern-voc-p-1-in-amazonas-brazil/596>
44. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests For SARS-CoV-2. JAMA. 2020;323(22):2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259
45. Nussbaumer-Streit B, Mayr V, Dobrescu AI, et al. Quarantine alone or in combination with other public health measures to control COVID-19: a rapid review. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2020;(9). doi:10.1002/14651858.CD013574.pub2
46. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virology Journal. 2019;16(1):69. doi:10.1186/s12985-019-1182-0
47. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed April 2, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
48. Draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines. Accessed April 2, 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
49. Wang H, Zhang Y, Huang B, et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. Cell. 2020;182(3):713-721.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.06.008
50. Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. Science. 2020;369(6499):77-81. doi:10.1126/science.abc1932
51. Talon J, Salvatore M, O'Neill RE, et al. Influenza A and B viruses expressing altered NS1 proteins: A vaccine approach. PNAS. 2000;97(8):4309-4314. doi:10.1073/pnas.070525997
52. Broadbent AJ, Santos CP, Anafu A, Wimmer E, Subbarao K. Evaluation of the attenuation, immunogenicity, and efficacy of a live virus vaccine generated by codon-pair bias de-optimization of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus, in ferrets. Vaccine. 2016;34(4):563-570. doi:10.1016/j.vaccine.2015.11.054
53. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmaier S, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. Nature Medicine. 2020;26(7):1033-1036. doi:10.1038/s41591-020-0913-5
54. Chen W-H, Tao X, Agrawal A, et al. Yeast-Expressed SARS-CoV Recombinant Receptor-Binding Domain (RBD219-N1) Formulated with Aluminum Hydroxide Induces Protective Immunity and Reduces Immune Enhancement. bioRxiv. Published online July 5, 2020. doi:10.1101/2020.05.15.098079
55. Zhu F-C, Li Y-H, Guan X-H, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. The Lancet. 2020;395(10240):1845-1854. doi:10.1016/S0140-6736(20)31208-3
56. Zhu F-C, Guan X-H, Li Y-H, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. The Lancet. 2020;396(10249):479-488. doi:10.1016/S0140-6736(20)31605-6
57. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. The Lancet. 2020;396(10249):467-478. doi:10.1016/S0140-6736(20)31604-4
58. Sun W, McCroskery S, Liu W-C, et al. A Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing a Membrane-Anchored Spike as a Cost-Effective Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine. Vaccines (Basel). 2020;8(4). doi:10.3390/vaccines8040771
59. Case JB, Rothlauf PW, Chen RE, et al. Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus Vaccine Vector Protects against SARS-CoV-2-Mediated Pathogenesis in Mice. Cell Host Microbe. 2020;28(3):465-474.e4. doi:10.1016/j.chom.2020.07.018
60. Sun W, Leist SR, McCroskery S, et al. Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing the Spike Protein of SARS-CoV-2 as Vaccine Candidate. Microbiology; 2020. doi:10.1101/2020.07.26.221861
61. Rohaim MA, Munir M. A Scalable Topical Vectored Vaccine Candidate against SARS-CoV-2. Vaccines. 2020;8(3):472. doi:10.3390/vaccines8030472
62. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. Molecular Therapy. 2018;26(2):446-455. doi:10.1016/j.ymthe.2017.11.017
63. Pfaender S, Brinkmann J, Todt D, et al. Mechanisms of Methods for Hepatitis C Virus Inactivation. Griffiths MW, ed. Appl Environ Microbiol. 2015;81(5):1616. doi:10.1128/AEM.03580-14
64. WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a serial killer. WHO. Accessed April 2, 2021. https://www.who.int/csr/don/2003_07_04/en/
65. Xu R-H, He J-F, Evans MR, et al. Epidemiologic Clues to SARS Origin in China. Emerg Infect Dis. 2004;10(6):1030-1037. doi:10.3201/eid1006.030852
66. RECOVERY Trial. Accessed April 2, 2021. https://www.recoverytrial.net/%20les/recovery_dexamethasone_statement_160620_v2%20nal.pdf
67. Threats I of M (U) S on M, Knobler S, Mahmoud A, et al. OVERVIEW OF THE SARS EPIDEMIC. National Academies Press (US); 2004. Accessed April 6, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92478/>
68. 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/>
69. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. New England Journal of Medicine. 2020;0(0):null. doi:10.1056/NEJMoa2007764
70. Arba M, Wahyudi ST, Brunt DJ, Paradis N, Wu C. Mechanistic insight on the remdesivir binding to RNA-Dependent RNA polymerase (RdRp) of SARS-cov-2. Computers in Biology and Medicine. 2021;129:104156. doi:10.1016/j.combiomed.2020.104156
71. Saramago M, Bárria C, Costa VG, et al. New targets for drug design: Importance of nsp14/nsp10 complex formation for the 3'-5' exoribonucleolytic activity on SARS-CoV-2. FEBS J. Published online March 11, 2021. doi:10.1111/febs.15815
72. Anand KB, Karade S, Sen S, Gupta RM. SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. Medical Journal Armed Forces India. 2020;76(2):136-141. doi:10.1016/j.mjafi.2020.04.008
73. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature. 2020; 586:516–527. doi:10.1038/s41586-020-2798-3

Referências



1. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife*. Apr 2 2020;9doi: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*. Sep 2020;83:104351. doi:10.1016/j.meegid.2020.104351
3. Wang LP, Wang J, Zhao HY, et al. Modelling and assessing the effects of medical resources on transmission of novel coronavirus (COVID-19) in Wuhan, China. *Math Biosci Eng*. Mar 30 2020;17(4):2936-2949. doi:10.3934/mbe.2020165
4. Adam D. THE LIMITS OF R. What the reproduction number can and can't tell us about managing COVID-19. Feature. *Nature*. 16th July 2020 2020;583:346-348.
5. Levin M. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic. *New England Journal of Medicine*. 2020/07/23 2020;383(4):393-395. doi:10.1056/NEJMe2023158
6. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
7. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Crooke SN, Poland GA, Kennedy RB. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. *Immunol Rev*. Jul 2020;296(1):205-219. doi:10.1111/imr.12897
8. 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*. May 5 2020;172(9):577-582. doi:10.7326/m20-0504
9. 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;8:618-618. doi:10.3389/fcell.2020.00618
10. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health*. Aug 2020;25(3):210-215. doi:10.1016/j.idh.2020.05.002
11. Sallam M, Mahafzah A. Molecular Analysis of SARS-CoV-2 Genetic Lineages in Jordan: Tracking the Introduction and Spread of COVID-19 UK Variant of Concern at a Country Level. *Pathogens*. Mar 5 2021;10(3)doi:10.3390/pathogens10030302
12. Mahase E. Covid-19: Novavax vaccine efficacy is 86% against UK variant and 60% against South African variant. *Bmj*. Feb 1 2021;372:n296. doi:10.1136/bmj.n296
13. Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021:S0092-8674(21)00226-9. doi:10.1016/j.cell.2021.02.037
14. 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 Biomed*. Sep 7 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
15. 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*. Oct 8 2020;5(52)doi:10.1126/sciimmunol.abe5511
16. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12th, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
17. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. Oct 1990;105(2):435-46. doi:10.1017/s0950268800048019
18. Lu CW, Liu XF, Jia ZF. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. *Lancet*. Feb 22 2020;395(10224):e39. doi:10.1016/s0140-6736(20)30313-5
19. Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, et al. Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *mSphere*. Oct 21 2020;5(5)doi:10.1128/mSphere.00637-20
20. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med*. Nov 5 2020;383(19):1813-1826. doi:10.1056/NEJMoa2007764
21. Estimating mortality from COVID-19. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>

22. Wacharapluesadee S, Tan CW, Maneeorn P, et al. Author Correction: Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nat Commun.* Feb 25 2021;12(1):1430. doi:10.1038/s41467-021-21768-2

23. Nakagawa S, Miyazawa T. Genome evolution of SARS-CoV-2 and its virological characteristics. *Inflamm Regen.* Aug 10 2020;40(1):17. doi:10.1186/s41232-020-00126-7

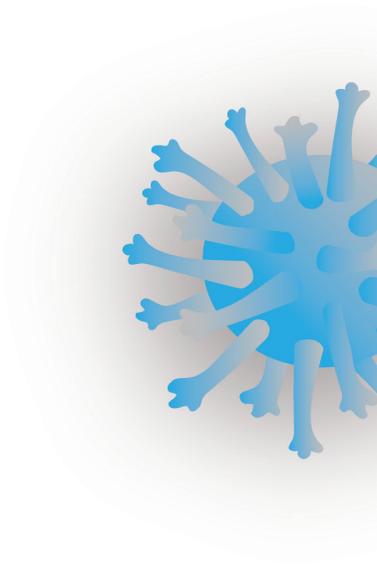
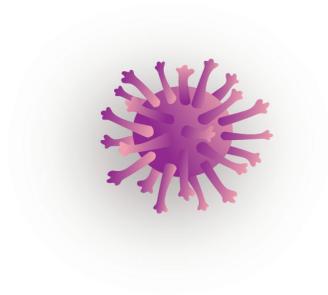
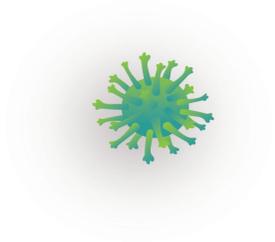
Referências

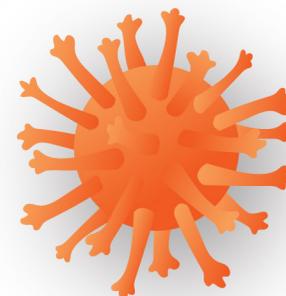
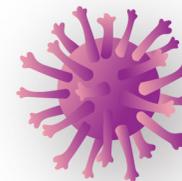


1. Family - Coronaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. *Virus Taxonomy*. Elsevier; 2012:806-828.
2. Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. Viruses with Single-Stranded, Positive-Sense RNA Genomes. In: Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H, eds. *Molecular Virology*. Springer Berlin Heidelberg; 2013:185-349.
3. Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ, Rottier PJ. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *Journal of Virology*. 1994;68(10):6523.
4. Turoňová B, Sikora M, Schürmann C, et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science*. Oct 9 2020;370(6513):203-208. doi:10.1126/science.abd5223
5. Millet JK, Jaimes JA, Whittaker GR. Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors. *FEMS Microbiol Rev.* Oct 28 2020;doi:10.1093/femsre/fuaa057
6. Posthuma CC, Te Velthuis AJW, Snijder EJ. Nidovirus RNA polymerases: Complex enzymes handling exceptional RNA genomes. *Virus Res.* Apr 15 2017;234:58-73. doi:10.1016/j.virusres.2017.01.023
7. Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Advances in virus research*. 2016;96:59-126. doi:10.1016/bs.aivir.2016.08.008
8. Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in virus research*. 1997;48:1-100. doi:10.1016/s0065-3527(08)60286-9
9. Liu Z, Xiao X, Wei X, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol.* Jun 2020;92(6):595-601. doi:10.1002/jmv.25726
10. Kipar A, Meli ML. Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Veterinary pathology*. 2014;51(2):505-526. doi:10.1177/0300985814522077
11. Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet J.* Aug 2014;201(2):123-32. doi:10.1016/j.tvjl.2014.04.017
12. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature*. Mar 2021;591(7848):92-98. doi:10.1038/s41586-020-03065-y
13. Chen LYC, Quach TTT. COVID-19 cytokine storm syndrome: a threshold concept. *The Lancet Microbe*. 2021/02/01/ 2021;2(2):e49-e50. doi:https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30223-8
14. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest.* May 1 2020;130(5):2202-2205. doi:10.1172/jci137647
15. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
16. Tomar N, De RK. A brief outline of the immune system. *Methods Mol Biol.* 2014;1184:3-12. doi:10.1007/978-1-4939-1115-8_1
17. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med.* Nov 5 2020;383(19):1813-1826. doi:10.1056/NEJMoa2007764

8. BIBLIOGRAFIA

- 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. «Pro le 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>.





2ª EDIÇÃO:

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

ISBN 978-972-579-058-8



AGRICULTURA



PATROCÍNIOS:

