



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SARS-COV-2: UM PROBLEMA MUNDIAL

Trabalho submetido por
Ana Raquel Catarino Alves
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SARS-COV-2: UM PROBLEMA MUNDIAL

Trabalho submetido por
Ana Raquel Catarino Alves
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Perpétua Gomes

novembro de 2021

Dedicatória

“Não há limites para aquilo que podemos conquistar, exceto os limites que colocamos no nosso próprio pensamento”

Brian Tracy

Agradecimentos

Primeiramente, agradecer a todos os professores e colegas, que fazendo parte de todo este percurso acadêmico, me proporcionaram os melhores cinco anos da minha vida e ainda a esta muy nobre academia, que se tornou uma segunda casa para mim.

À Prof. Doutora Perpétua Gomes, um enorme agradecimento por toda a ajuda ao longo da realização deste projeto, pela transmissão de tantos conhecimentos e pela constante simpatia e disponibilidade. Foi inspirador ser orientada pela professora.

Aos meus pais, Daniel e Idalécia, obrigada por todo o amor, pelo esforço feito ao longo destes anos para que nada me faltasse e por sempre me fazerem acreditar que ia correr tudo bem. O vosso apoio e motivação foram fundamentais ao longo deste, nem sempre fácil percurso. Sem vocês nada disto seria possível.

Agradecer ainda a todos os amigos, mas em especial às minhas, para sempre amigas, Patrícia Dias, Inês Marques, Maria Beatriz Martins, Mafalda Padinha e Mariana Verdial por estarem comigo nos momentos mais difíceis desta jornada, e também nos melhores e mais bonitos. Obrigada pela amizade, lealdade e todo o companheirismo ao longo destes anos, levo-vos no coração.

A toda a equipa do serviço farmacêutico do CHBM – Hospital Nossa Senhora do Rosário e das Farmácias Parreira, o meu mais sincero agradecimento já cheio de saudade. Não posso deixar de mencionar o nome de quatro farmacêuticas absolutamente inspiradoras e que me motivaram sempre a querer ser a melhor versão de mim mesma. Doutora Rute Miranda, Doutora Cláudia Milheiro, Doutora Francisca Dimas e Doutora Ana Paula Guimarães, obrigada por me ajudarem a traçar este percurso.

A todos, um enorme e sincero agradecimento.

Resumo

O SARS-CoV-2 é um Coronavírus pertencente ao género *Betacoronavirus* que surgiu em Wuhan, na China, em dezembro de 2019 e que se introduziu nos seres humanos através de uma transmissão zoonótica, propagando-se através de contactos próximos com indivíduos infetados ou objetos contaminados, rapidamente por todo o mundo, perpetuando milhões de mortes.

O SARS-CoV-2 é um vírus caracterizado por possuir um RNA de cadeia simples com polaridade positiva, que permanece em constante evolução e que é composto principalmente por quatro proteínas estruturais (S, M, E e N) que estão envolvidas no processo de entrada do vírus nas células do hospedeiro e na consequente replicação viral, que acontece inicialmente através da ligação da proteína S ao ACE2 expresso em várias células de diferentes órgãos do hospedeiro, principalmente no trato respiratório.

Este vírus é o agente etiológico da COVID-19, doença altamente infecciosa e capaz de provocar uma infeção respiratória que pode ser ligeira e assintomática ou culminar em morte, maioritariamente em idosos ou indivíduos com comorbilidades.

O diagnóstico precoce de indivíduos infetados pelo SARS-CoV-2 através de NAAT ou TRAg é essencial no controlo da transmissão viral na comunidade e uma terapêutica específica, eficaz e segura é crucial para tratar os infetados. Contudo, é ainda necessária mais investigação nesta área que tem tido resultados não consensuais na comunidade científica, não existindo ainda nenhuma terapêutica específica aprovada e disponível.

Prevenir esta infeção, passa por adotar tanto medidas de reeducação, como de vacinação da população. As vacinas atualmente disponíveis no mercado basearam-se em diferentes métodos, nomeadamente, mRNA, vetores virais, vírus inativados e subunidades de proteína.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, Covid-19, Terapêutica, Vacina

Abstract

SARS-CoV-2 is a Coronavirus belonging to the *Betacoronavirus* gender that emerged in Wuhan, China, in December 2019 and was introduced into humans through zoonotic transmission, spreading through close contacts with infected individuals or contaminated objects, rapidly throughout the world, perpetuating millions of deaths.

SARS-CoV-2 is a virus characterized by having a single-stranded RNA with positive polarity, which remains in constant evolution and is mainly composed of four structural proteins (S, M, E and N) that are involved in the entry process of the virus in the host cells and in the consequent viral replication, which occurs through the binding of protein S to ACE2 expressed in several cells from different host organs, mainly in the respiratory tract.

This virus is the main cause of COVID-19, a highly infectious disease, capable of causing a respiratory infection that can be mild and asymptomatic or lead to death, mainly in the elderly or with comorbidities.

Early diagnosis of SARS-CoV-2 infected individuals through NAAT or TRAg is essential in controlling viral transmission in the community and specific, effective and safe therapy is crucial to treat those infected. However, there is still a need for more research in this area, which has non-consensual results in the scientific community, without an available and approved specific therapy yet.

Preventing this infection involves adopting both reeducation measures and population vaccination. Vaccines currently available on the market were based on different methods such as mRNA, viral vectors, inactivated virus and protein subunits.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Therapeutics, Vaccine

Índice Geral

Índice de Figuras	5
Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução	9
2. SARS-CoV-2	13
2.1 Classificação	13
2.2 Genoma e características estruturais	14
2.2.1 Diversidade genética em Portugal	17
2.3 Propriedades Físico-químicas	19
2.4 Ciclo replicativo	20
2.5 Transmissão	22
2.5.1 Período de incubação	24
2.5.2 Período infeccioso	24
2.5.3 Índice de transmissibilidade R0 e R(t)	25
3. COVID-19	27
3.1 Manifestações Clínicas	27
3.2 Fatores de Risco	28
3.3 Gravidade da Doença	29
3.4 Características Imagiológicas	30
3.5 Características Laboratoriais	31
3.6 Mecanismos de patogénese	32
3.7 Métodos de Diagnóstico	34
3.7.1 Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos	35
3.7.2 Testes Rápidos de Antígeno	36
3.7.3 Testes Serológicos	38
4. Potenciais Terapêuticas	41
5. Prevenção e Controlo	45
5.1 Medidas de Saúde Pública	45
5.2 Vacinas COVID-19	46
5.2.1 Vacinas COVID-19 Autorizadas	47
5.2.2 Vacinas COVID-19 Sob Avaliação	55
6. Síndrome Pós-COVID-19 Aguda	57
7. Conclusão	61
8. Bibliografia	63

Índice de Figuras

Figura 1. Distribuição cumulativa de casos de COVID-19 a nível mundial.....	10
Figura 2. Classificação Taxonómica do SARS-CoV-2	14
Figura 3. Organização do genoma viral	15
Figura 4. Estrutura de uma partícula de SARS-CoV-2	16
Figura 5. Frequência relativa das variantes genéticas de SARS-CoV-2 em Portugal em 2021	19
Figura 6. Ciclo replicativo de SARS-CoV-2.....	22
Figura 7. Evolução do R(t) em Portugal de 27 julho 2020 a 26 julho 2021.....	26
Figura 8. Exemplos de TC torácicas com anormalidades	31
Figura 9. Representação do mecanismo de patogénese associado à infeção por SARS-CoV-2	34
Figura 10. Variação estimada em função do tempo na deteção da infeção por SARS-CoV-2 nos diferentes testes de diagnóstico.....	39
Figura 11. Mecanismo de ação de vacinas baseadas em mRNA	50
Figura 12. Mecanismo de ação de vacinas baseadas em vetores virais de Adenovírus não replicantes.....	51
Figura 13. Prevalência dos sintomas mais comuns em doentes com PACS previamente hospitalizados em comparação com aqueles sem necessidade de hospitalização prévia	58

Lista de Abreviaturas

ACE2 – Enzima Conversora da Angiotensina 2

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CFR - Taxa de Letalidade de “*Case Fatality Ratio*”

CFS - Síndrome de Fadiga Crónica

CK – Creatina Quinase

CoV – Coronavírus

COVID-19 - Doença associada a SARS-CoV-2

DAC – Doença Arterial Coronariana

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

dsDNA – DNA de Cadeia Dupla

EMA – Agência Europeia do Medicamento

EPI - Equipamento de Proteção Individual

ERGIC - Retículo Endoplasmático Intermediário de Golgi

FDA – *Food and Drug Administration*

FDP – Produtos de Degradação da Fibrina

HE -Hemaglutinina Esterase

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

ICTV – Comité Internacional de Taxonomia Viral

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IL – Interleucina

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

MERS – Síndrome Respiratória do Médio Oriente

MERS-CoV - Síndrome Respiratória do Médio Oriente - Coronavírus

mRNA – RNA mensageiro

NAAT - Testes moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos

NIAID - Instituto Nacional de Alergias e Doenças Infeciosas

NSP – Proteína Não Estrutural

OMS - Organização Mundial de Saúde

ORF – Fase de Leitura Aberta de “*Open Reading Frame*”

PACS - Síndrome Pós-Covid-19 Aguda

PCR - Reação de Polimerização em Cadeia

PLPro – Protease do tipo Papaína

PP – Poliproteínas

R0 – Número básico de reprodução

RBD – Domínio de Ligação ao Recetor

RNA – Ácido Ribonucleico

RpRd – RNA-polimerase RNA-dependente

R(t) – Número médio de casos secundários resultantes de um caso infetado, em função do tempo

RTC – Complexo Replicase-Transcriptase

RT-PCR - Reação de Polimerização em Cadeia com Transcrição Reversa

SARS – Síndrome Respiratória Aguda Grave

SARS-CoV - Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus

SARS-CoV-2 - Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2

SDRA – Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo

SGB - Síndrome de Guillain-Barré

SNC - Sistema Nervoso Central

STC - Síndrome de Transudação Capilar

TC – Tomografia Computadorizada

TMA – *Transcription Mediated Amplification*

TMPRSS2 – Protease Transmembranar Celular Serina 2

TRAg - Teste Rápido de Antígeno

TTS – Síndrome de Trombose com Trombocitopenia

VOC – Variantes Preocupantes de “*Variant of concern*”

1. Introdução

Foi no final de dezembro de 2019 que surgiu, em Wuhan, uma cidade com cerca de 11 milhões de habitantes situada na província de Hubei, na China, um surto de pneumonia viral, provocado por um novo agente que até à data não havia ainda sido identificado em seres humanos (F. Wu et al., 2020).

Em janeiro de 2020, foi então divulgado o genoma do vírus em causa, permitindo chegar à conclusão de que seria um Coronavírus, uma vez que apresentava cerca de 80% de similaridade com o genoma do SARS-CoV, 50% com o MERS-CoV (R. Lu et al., 2020; X. Tang et al., 2020) e entre 93% a 96% de semelhanças com o BatCoV RaTG13, coronavírus que infeta os morcegos ferradura, o qual por via direta ou através de um hospedeiro intermediário se adaptou à espécie humana (Coutard et al., 2020; X. Tang et al., 2020; P. Zhou et al., 2020). No que concerne à existência de um hospedeiro intermediário, pensa-se que os pangolins estejam envolvidos na emergência deste novo vírus em humanos, apresentando uma elevada semelhança a nível genético quando comparado com o SARS-CoV-2 (Xiao et al., 2020). Embora este processo ainda não esteja totalmente esclarecido, a identificação deste vírus em morcegos e pangolins supõem que a introdução de SARS-CoV-2 em seres humanos terá ocorrido por transmissão zoonótica (Lam et al., 2020).

A Organização Mundial de Saúde, denominou este novo vírus como Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), sendo o causador da doença COVID-19 (Y. X. Bai et al., 2020).

A maioria dos primeiros casos suspeitos foram associados ao mercado local de frutos do mar de Huanan, na China, que é conhecido pela venda de aves, morcegos, cobras e outros animais selvagens vivos (C. Hoffmann & Kamps, 2020).

No entanto, apesar de o SARS-CoV-2 ter sido identificado em amostras obtidas neste mercado, o primeiro caso confirmado não tinha qualquer relação com o mesmo, sugerindo assim, que o vírus pode ter sido importado de outros lugares, não havendo ainda consistência no que diz respeito à origem exata do vírus (Huang et al., 2020).

Embora este novo vírus não tenha uma taxa de mortalidade tão elevada quanto outros Coronavírus, a sua elevada transmissibilidade fez com que este se tornasse um desafio significativo para a saúde global (Ji, Wang, Zhao, Zai, & Li, 2020).

A COVID-19 é uma doença altamente infecciosa, capaz de afetar grande parte das populações em todo o mundo (H. Chen et al., 2020). Por este motivo, foi declarada,

emergência de saúde pública global de interesse internacional, pela OMS a 30 de janeiro de 2020, uma vez que começou a espalhar-se rapidamente da província de Hubei para outras províncias da China e a partir daí, por todo o mundo (H. Chen et al., 2020), encontrando-se ativa em mais de 190 países até ao dia 12 de outubro de 2021 (Figura 1) (Johns Hopkins University, 2021).

Até à data anteriormente referida, já tinham sido confirmados 238 557 111 casos de COVID-19 e 4 862 317 mortes relatadas a nível global e espera-se que os casos continuem a aumentar de dia para dia (Johns Hopkins University, 2021). Destes casos, 1 076 358 foram detetados em Portugal e culminaram em mais de 18 mil mortes (Johns Hopkins University, 2021). Dos casos mundialmente confirmados, aproximadamente 18% dos casos foram detetados nos Estados Unidos da América, 14% na Índia, 9% no Brasil e 0,5% em Portugal (Johns Hopkins University, 2021).



Figura 1. Distribuição cumulativa de casos de COVID-19 a nível mundial (Johns Hopkins University, 2021)

É provável que o número total de casos de COVID-19 seja superior aos confirmados devido às dificuldades em identificar casos assintomáticos ou pouco sintomáticos, especialmente em países com baixo rendimento (Manuel et al., 2020).

Até à data, pensa-se que todas as idades sejam vulneráveis à doença COVID-19, sendo que nenhum país, raça, etnia ou religião tenha sido poupado à infeção por SARS-CoV-2 (Chilamakuri & Agarwal, 2021), com particular severidade e mortalidade nas populações mais velhas e em indivíduos com comorbilidades (Badal et al., 2021).

No entanto, a maioria dos casos relatados ocorreram em adultos, mais comumente do sexo masculino, na faixa etária dos 30 aos 79 anos (Gao et al., 2020). Apenas 2% dos casos ocorreram em menores de 18 anos, e destes, menos de 3% desenvolveram doença grave e os casos de fatalidade são raros, ao contrário dos mais idosos que têm uma probabilidade superior de ter a forma de doença mais grave (Badal et al., 2021; Gao et al., 2020).

Com base num estudo efetuado em 72.314 casos na China por Gao et al., 2020, a Taxa de Letalidade (CFR) de COVID-19 foi de 2,3%, sendo superior nos casos com mais de 80 anos, nos doentes críticos com COVID-19 e ainda nos doentes com comorbilidades preexistentes, como é o caso das doenças cardiovasculares, diabetes, doenças respiratórias crónicas, hipertensão e cancro. Apesar de apresentar uma CFR inferior às de SARS (9,6%) e MERS (34,4%), a COVID-19 originou um maior número de mortes totais devido ao exacerbado número de casos (Peeri et al., 2020).

2. SARS-CoV-2

2.1 Classificação

Segundo o Comité Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), os Coronavírus (CoV) são um grupo de vírus, pertencentes ao reino *Orthornavirae*, filo *Pisuviricota*, classe *Pisoniviricetes*, ordem *Nidovirales*, subordem *Cornidovirineae*, família *Coronaviridae* e subfamília *Orthocoronavirinae* (ICTV, 2021) capazes de causar infecção no ser humano, em mamíferos e em aves (Arafat, Khalil, & Khalil, 2020).

Esta subfamília divide-se em quatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus* (Figura 2) (ICTV, 2021).

Destes quatro géneros, os *Alphacoronavirus* e os *Betacoronavirus* infetam mamíferos e humanos, contrastando com os *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus* que infetam na sua maioria, pássaros e peixes, apesar de alguns também conseguirem infetar mamíferos (Woo et al., 2012).

Devido às suas semelhanças, a análise filogenética do genoma, revelou que o SARS-CoV-2 está integrado no género *Betacoronavirus*, tal como o SARS-CoV, o MERS-CoV e o SARS-CoV de morcegos, e ainda no subgénero *Sarbecovirus* (linhagem B), em conjunto com o SARS-CoV e o SARS-CoV de morcegos (Ceraolo & Giorgi, 2020; Gorbalenya et al., 2020).

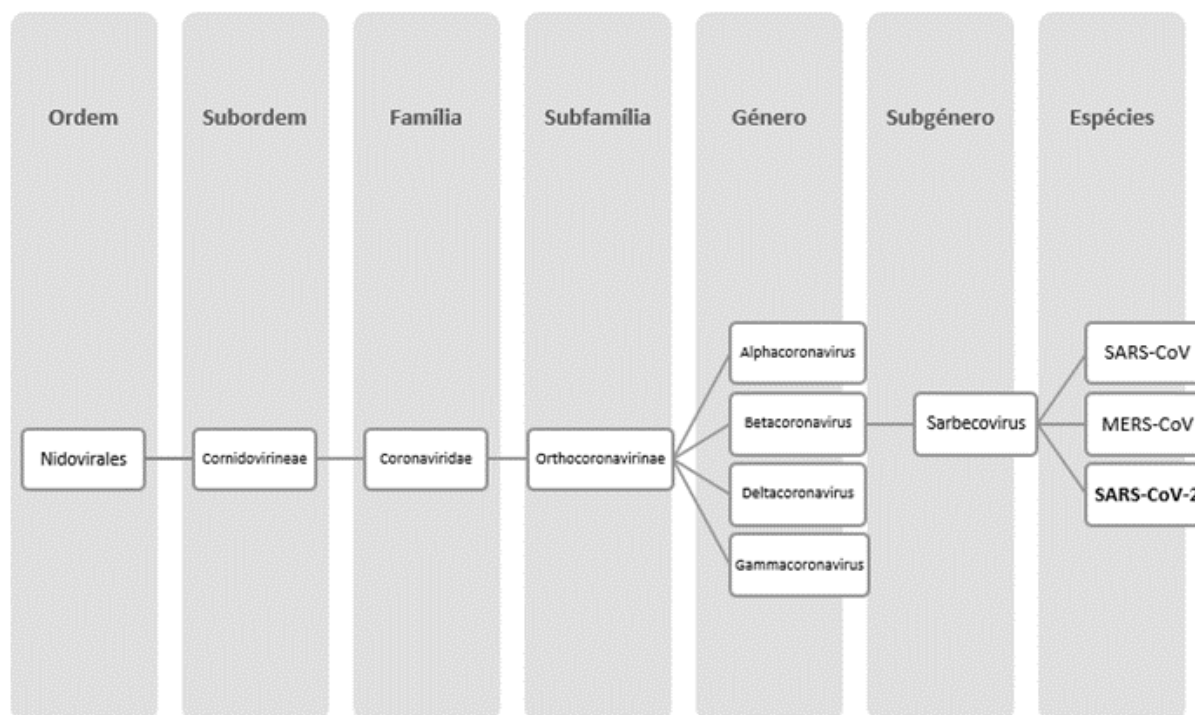


Figura 2. Classificação Taxonômica do SARS-CoV-2 (Adaptado de Arafat, Khalil, & Khalil, 2020)

2.2 Genoma e características estruturais

Investigar e compreender as propriedades genéticas e estruturais deste novo Coronavírus é um requisito extremamente necessário para que se possam desenvolver ferramentas de diagnóstico e terapêutica mais eficazes (Safiabadi Tali et al., 2021).

Os CoVs são uma família de vírus RNA de cadeia simples com polaridade positiva, com um tamanho de aproximadamente 30 kb (Dhama et al., 2020; Ortiz-Prado et al., 2020), e ao microscópio eletrônico, estes vírus têm um aspeto semelhante ao de uma coroa, devido à presença de glicoproteínas *spike*, e como tal, o SARS-CoV-2 não é exceção (Hassan, Sheikh, Jamal, Ezeh, & Akhtar, 2020).

O SARS-CoV-2 possui uma estrutura morfológica esférica, elíptica ou pleomórfica envolta por um invólucro que é constituído por uma dupla camada de fosfolípidos e por proteínas estruturais (Silva Ferreira et al., 2020), e apresenta um diâmetro entre 60 – 140 nm (Udugama et al., 2020).

As fases de leitura aberta (ORF) são organizadas numa ordem de 5'-3', apresentando proteínas não estruturais, algumas proteínas acessórias e quatro proteínas estruturais principais (Figura 3), das quais: a glicoproteína *spike* de superfície (S) que está ancorada ao invólucro, a proteína de membrana (M), que se encontra embutida no

envólucro, a glicoproteína de envólucro (E), que envolve a nucleocapsíde, a proteína da nucleocapsíde (N), que envolve o genoma do RNA, formando uma estrutura tubular enrolada (Hu, Guo, Zhou, & Shi, 2021; Park, 2020) e ainda, a proteína hemaglutinina esterase (HE), que apesar de estar presente no SARS-CoV-2, não se encontra em todos os CoVs (Figura 4) (Jin, Yang, Ji, Wu, et al., 2020).



Figura 3. Organização do genoma viral (Adaptado de Jin, Yang, Ji, Wu, et al., 2020)

Todas as proteínas anteriormente referidas encontram-se à superfície da partícula, à exceção da proteína N e do material genético que formam um complexo no seu interior (Haque, Ashwaq, Sarief, & Azad John Mohamed, 2020).

No que diz respeito à glicoproteína *spike*, esta é uma proteína transmembranar encontrada na parte externa do vírus, formando 40 trímeros, com cerca de 9-12 nm (Haque et al., 2020; Safiabadi Tali et al., 2021; Walls et al., 2020) e é a responsável pela forma de coroa que o vírus apresenta e ainda pela fixação viral e entrada do vírus nas células do hospedeiro através da ligação com a enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), que é expressa no trato respiratório inferior (Safiabadi Tali et al., 2021). Estes 40 trímeros que compõem a glicoproteína *spike* contêm uma haste separada das cabeças globulares por três dobradiças flexíveis, facilitando a interação com os recetores da célula hospedeira (Turoňová et al., 2020).

Esta glicoproteína é depois clivada na célula alvo em duas subunidades funcionais: S1 que é responsável pelo tropismo celular, contendo o domínio de ligação ao recetor (RBD) que interage diretamente com o recetor da ACE2 na superfície da célula hospedeira e S2 que contém uma alça estrutural que medeia a fusão das membranas virais com as do hospedeiro, originando a libertação do RNA do vírus no citoplasma (Renhong et al., 2020; Walls et al., 2020).

A glicoproteína *spike*, pela sua capacidade de conferir seletividade e suscetibilidade ao hospedeiro, pode ser um alvo bastante interessante de estudo, uma vez que é o principal alvo do sistema imunológico do hospedeiro e que alguns estudos recentes relatavam a existência de uma mutação nesta proteína, a D614G, capaz de reduzir a libertação da subunidade S1 e de aumentar a infeciosidade do vírus (L. Zhang et al., 2020). No entanto,

esta variante tem sido globalmente substituída pela G614 que apresenta cargas virais mais elevadas e uma maior infeciosidade que a D614G (L. Zhang et al., 2020). Estas informações tornam crescente a necessidade de investigação ao nível da associação entre as mutações e a respetiva virulência do SARS-CoV-2 (Hu et al., 2021).

Relativamente à proteína M, esta é a mais abundante e confere uma forma definitiva ao invólucro viral, ajudando a estabilizar o complexo proteína N-RNA e atuando como organizador central do vírus (Dhama et al., 2020; Weiss & Leibowitz, 2011).

Quanto à proteína E, esta apresenta-se em pequenas quantidades e desempenha um papel na libertação do vírus durante o processo de infeção, desempenhando um papel na produção e maturação do SARS-CoV-2 (Dhama et al., 2020; Weiss & Leibowitz, 2011). No entanto, esta proteína não é necessária para a replicação viral, mas sim, para a patogénese do vírus (Sofi, Hamid, & Bhat, 2020).

A proteína N forma um complexo com o genoma do RNA, estando envolvida no ciclo de replicação viral, na resposta das células hospedeiras às infeções virais e a sua fosforilação pode levar a mudanças estruturais, que por sua vez aumentam a afinidade do RNA viral (Dhama et al., 2020). Esta, é a única proteína que se encontra inserida na nucleocapsíde (Sofi et al., 2020).

A Hemaglutinina esterase pode contribuir para a entrada e libertação do vírus nas células do hospedeiro (Weiss & Leibowitz, 2011).

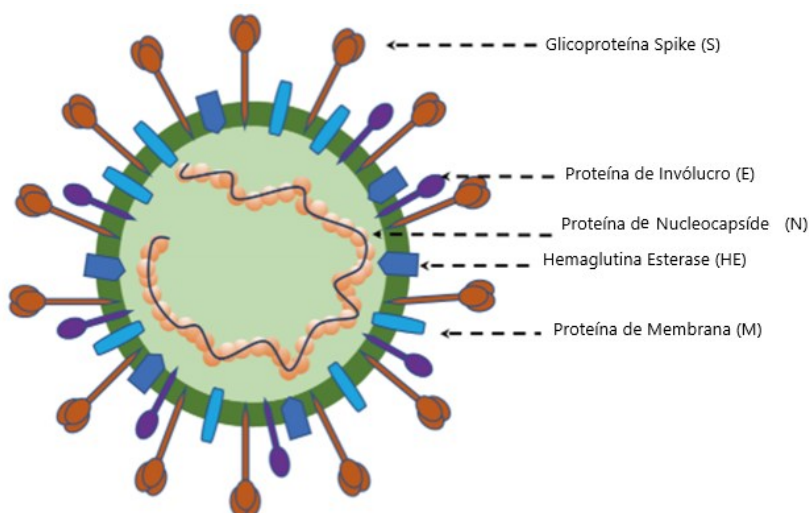


Figura 4. Estrutura de uma partícula de SARS-CoV-2 (Adaptado de Jin, Yang, Ji, Wu, et al., 2020)

A primeira fase de leitura aberta ORF1a/ORF1b, na extremidade 5' do genoma viral ocupa 71% de todo o genoma e codifica as poliproteínas (pp) pp1a e pp1ab que são clivadas proteoliticamente em 16 proteínas não estruturais (nsp), nsp1-16 (M. Y. Wang et al., 2020) que, estando envolvidas na replicação viral e na transcrição, se juntam às proteínas estruturais e a 8 proteínas acessórias que estão intercaladas entre os genes estruturais (Yang et al., 2020).

2.2.1 Diversidade genética em Portugal

Apesar das primeiras amostras obtidas em Wuhan conterem pouca diversidade genética, estudos recentes de sequenciação do genoma viral de SARS-CoV-2 demonstram que este é um vírus que permanece em constante evolução e portanto, a sequenciação do seu genoma permite a percepção da distribuição de determinadas variantes genéticas no tempo e no espaço, possibilitando a adoção de medidas de contenção da disseminação, adequadas (INSA, 2021b; Sharma, Ahmad Farouk, & Lal, 2021).

Neste sentido, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P. (INSA), coordena o estudo da variabilidade genética do SARS-CoV-2 em Portugal, com o objetivo de identificar e caracterizar as variantes genéticas a circular no país e as consequentes cadeias de transmissão, identificar marcadores genéticos com possível associação a doença grave e avaliar o impacto das medidas implementadas para contenção da transmissão viral (INSA, 2021b).

Com este objetivo, foi elaborada uma plataforma onde podem ser visualizados os resultados da sequenciação do genoma deste vírus constantemente atualizados à medida que novos genomas de SARS-CoV-2 vão sendo sequenciados (INSA, 2021b). Denotando-se segundo o relatório da situação de 20 de julho de 2021, que foram sequenciadas até à data, quase 12000 sequências do genoma deste novo vírus em Portugal (INSA, 2021e).

Entre todas as sequências do genoma estudadas, é destacável a presença de algumas variantes preocupantes (VOC) (Figura 5), como é o caso da variante Alpha (B.1.1.7) que apresenta várias mutações na glicoproteína *spike*, intercessoras de uma maior capacidade de transmissão (INSA, 2021d). Esta variante foi inicialmente identificada no Reino Unido, mas já pode ser encontrada em vários países como é o caso de Portugal, onde, em fevereiro de 2021 apresentava uma frequência relativa de cerca de 58%, valor que tem

vindo a decrescer ao longo dos meses seguintes para menos de 5% no mês de julho de 2021. (INSA, 2021d, 2021e).

No que diz respeito à variante Beta (B.1.351), associada à África do Sul, esta para além das vastas mutações na glicoproteína *spike*, apresenta também uma resistência a anticorpos neutralizantes, sendo considerada uma VOC (INSA, 2021d). No entanto, a sua circulação mantém-se baixa e sem tendência crescente, não tendo sido verificado nenhum caso a partir do dia 28 de junho de 2021 (INSA, 2021e).

Tal como a anterior, também a variante Gamma (P.1), associada ao Brasil, mais especificamente Manaus, Amazónia, é ainda pouco expressiva em Portugal (0,4%), contudo, tem a capacidade de se evadir ao sistema imunitário, para além das mutações na glicoproteína *spike*, que aumentam a capacidade de transmissão do vírus (INSA, 2021d).

A variante Delta (B.1.617.2), foi originalmente detetada na Índia e apresenta variadas mutações na glicoproteína *spike* capazes de potenciar uma maior capacidade de transmissão ou até evasão ao sistema imunitário, nomeadamente L452R, T478K e P681R (INSA, 2021c). Esta VOC (B.1617.2) foi já identificada em inúmeros países e tem apresentado uma crescente subida na frequência relativa a nível nacional, contando em novembro de 2021 com cerca de 100% de representatividade, sendo a variante mais prevalente em Portugal (INSA, 2021e, 2021a).

Devido à sua elevada complexidade e de modo a facilitar a monitorização e deteção das novas sequências da variante Delta (até à data, 10412), foram criadas diferentes sub-linhagens onde estas foram inseridas (INSA, 2021a). Denota-se que esta divisão não implica que haja diferenças funcionais a nível de transmissibilidade, severidade da doença ou na capacidade de evasão ao sistema imunitário do hospedeiro (INSA, 2021a).

Em Portugal já estão presentes 23 das 40 sub-linhagens existentes até à data, sendo as 4 de maior relevância: AY.42, AY.26, AY.4 e AY.43, que estão associadas à ocorrência de um maior número de surtos (INSA, 2021a). No que concerne à sub-linhagem AY.42, esta tem despertado uma maior preocupação na comunidade médica e científica devido à sua já elevada frequência no Reino Unido, importando referir que esta se pauta por duas mutações adicionais na glicoproteína *spike* (Y145H e A222V), enquanto a AY.1 se caracteriza por uma mutação adicional nesta mesma proteína (K417N) (INSA, 2021a).

Uma vez que as taxas de mutação que caracterizam os vírus de RNA são elevadas, é extremamente provável que muitas outras mutações surjam no genoma viral (Y. Z. Zhang & Holmes, 2020). Embora os CoVs apresentem taxas de mutação mais baixas do que as

observadas em outros vírus RNA, por deterem a capacidade de fazer revisões da atividade através da exoribonuclease 3'-5', em compensação, as elevadas taxas de replicação do vírus dentro do hospedeiro são semelhantes às observadas em outros vírus RNA (Y. Z. Zhang & Holmes, 2020).

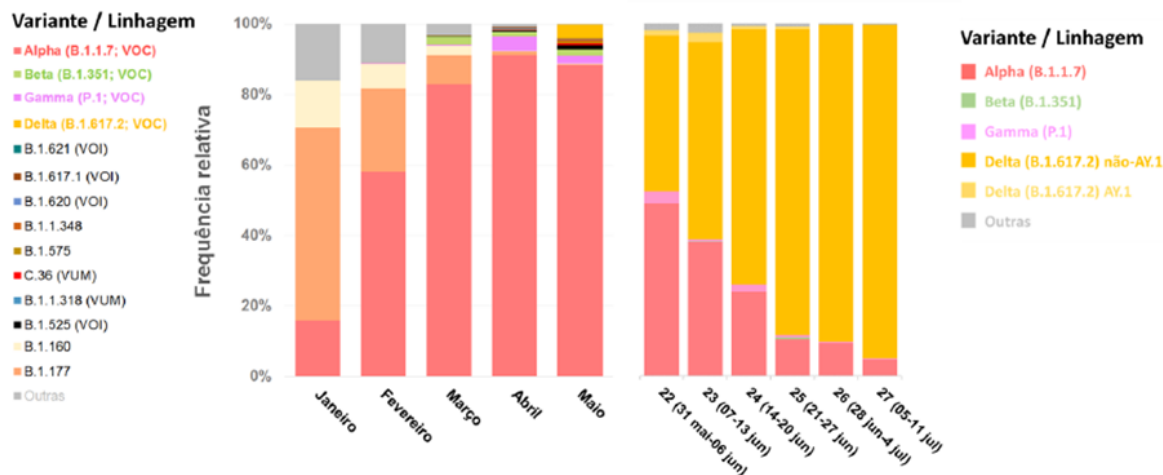


Figura 5. Frequência relativa das variantes genéticas de SARS-CoV-2 em Portugal em 2021 (Retirado de INSA, 2021d)

2.3 Propriedades Físico-químicas

A maior parte do conhecimento existente no que diz respeito às propriedades físico-químicas deste novo Coronavírus, provém da informação já existente sobre o SARS-CoV e o MERS-CoV (Jin, Yang, Ji, Chen, et al., 2020).

Estima-se que o SARS-CoV-2 seja sensível ao calor a 56°C durante 30 minutos ou à luz ultravioleta, sendo funcionalmente inativado pela utilização de solventes lipídicos como o ácido etanóico, o etanol e o éter, por desinfetantes contendo cloro, por ácido peroxiacético e clorofórmio que conseguem inativar o vírus (Duan et al., 2003; Kampf, Todt, Pfaender, & Steinmann, 2020). O composto orgânico, clorohexidina, não demonstrou efetividade na inativação do SARS-CoV-2 (Kampf et al., 2020).

Relativamente à sua estabilidade, o SARS-CoV-2 pode manter-se em superfícies durante horas a dias, se estas não forem desinfetadas com a devida frequência (Doremalen et al., 2020).

Este vírus apresentou uma viabilidade superior em plástico e aço inoxidável quando comparado com cartão e cobre, conseguindo manter-se viável em superfícies de plástico e metal até 72h após o seu contacto inicial com as mesmas e em aerossóis por um período

de até 3h (Doremalen et al., 2020). Já em superfícies de cartão, que são mais porosas, e em cobre, consegue manter-se ativo por períodos de 4 a 24 horas (Doremalen et al., 2020).

2.4 Ciclo replicativo

No que diz respeito ao processo pelo qual o SARS-CoV-2 entra na célula do hospedeiro e se replica (Figura 6), este acontece inicialmente por ligação da glicoproteína *spike* (subunidade S1) localizada no invólucro do vírus, que determina o tropismo celular, (ou seja, o tipo de células que o vírus é capaz de infectar) ao recetor da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2) localizado na membrana plasmática da célula-alvo do hospedeiro, que é expressa em vários órgãos, tais como os pulmões, coração, rins e trato gastrointestinal, mas é nas células epiteliais nasais que se exhibe a maior expressão de ACE2 de todo o trato respiratório (M. Hoffmann et al., 2020; Letko, Marzi, & Munster, 2020).

Após o processo de entrada e ligação, ocorre o processo de fusão do invólucro viral com a célula-alvo do hospedeiro, em que é necessário que a glicoproteína *spike* seja clivada por um de dois tipos de proteases celulares: a TMPRSS2 (Protease Transmembranar Celular Serina 2) ou as catepsinas B/L, presentes na membrana citoplasmática de algumas células e nos endossomas, respetivamente (M. Hoffmann et al., 2020).

Dependendo da presença ou ausência da TMPRSS2 na membrana citoplasmática da célula, a clivagem vai ocorrer por uma destas duas vias, ou seja, se ela for expressa, a entrada pode ocorrer pelas duas vias, mas se não for expressa, ela terá de ocorrer obrigatoriamente por endocitose, com a clivagem pelas catepsinas B/L (M. Hoffmann et al., 2020).

Esta clivagem vai ocorrer no limite S1/S2, originando uma mudança estrutural na subunidade S2, individualizando-a, e em S2' permitindo a ativação da proteína viral e facilitando a entrada de SARS-CoV-2 por fusão membranar ou endocitose na membrana celular (Belouzard, Chu, & Whittaker, 2009; Hartenian et al., 2020).

Após a entrada do vírus, ocorre então a sua fusão, num ambiente acidificado, que libertará para o citoplasma da célula-alvo, o genoma viral, ou seja, o seu RNA mensageiro, que estará pronto imediatamente para ser traduzido em proteína ao nível dos

ribossomas da célula hospedeira, uma vez que apresenta um RNA de cadeia simples com polaridade positiva (Maier, Bickerton, & Britton, 2015).

A tradução do RNA viral, vai ocorrer na extremidade 5', onde estão codificados os ORF1a e ORF1b que vão produzir as poliproteínas pp1a e pp1b que contém 16 nsp, que serão então clivadas por proteases do tipo papaína (PLPro) e 3CL-protease (Mpro protease), formando um complexo replicase-transcriptase (RTC), que vai gerar os RNA genómicos e subgenómicos (Dhama et al., 2020; Maier et al., 2015).

Após a descapsidação, o RNA genómico viral vai ficar livre para ser transcrito e replicado pela RNA polimerase RNA-dependente (RpRd) dando origem a novas cópias do RNA genómico e aos diferentes RNA mensageiros que serão traduzidos nas proteínas apropriadas (Ogando et al., 2019).

A duplicação do material genético do SARS-CoV-2, irá assim iniciar com a transcrição de uma cadeia de polaridade negativa para positiva no RTC, e que irá compor assim, os viriões (partículas virais infecciosas) (Alanagreh, Alzoughool, & Atoum, 2020). Após a conclusão desta etapa, vai haver a tradução das proteínas subgenómicas em proteínas estruturais (S, M, N e E), das quais as S, M e E serão transportadas diretamente para o retículo endoplasmático e de seguida para o ERGIC (Retículo Endoplasmático Intermediário de Golgi) (Alanagreh et al., 2020).

Subsequentemente, também a proteína N se juntará à nucleocapsíde viral, direcionando-se para o ERGIC, local onde a nucleocapsíde vai interagir com as restantes proteínas estruturais (S, M e E), formando viriões maduros, que após aquisição do invólucro viral, se vão acumular em vesículas que serão depois exportados para a superfície celular, onde serão libertadas por exocitose (Alanagreh et al., 2020; Maier et al., 2015).

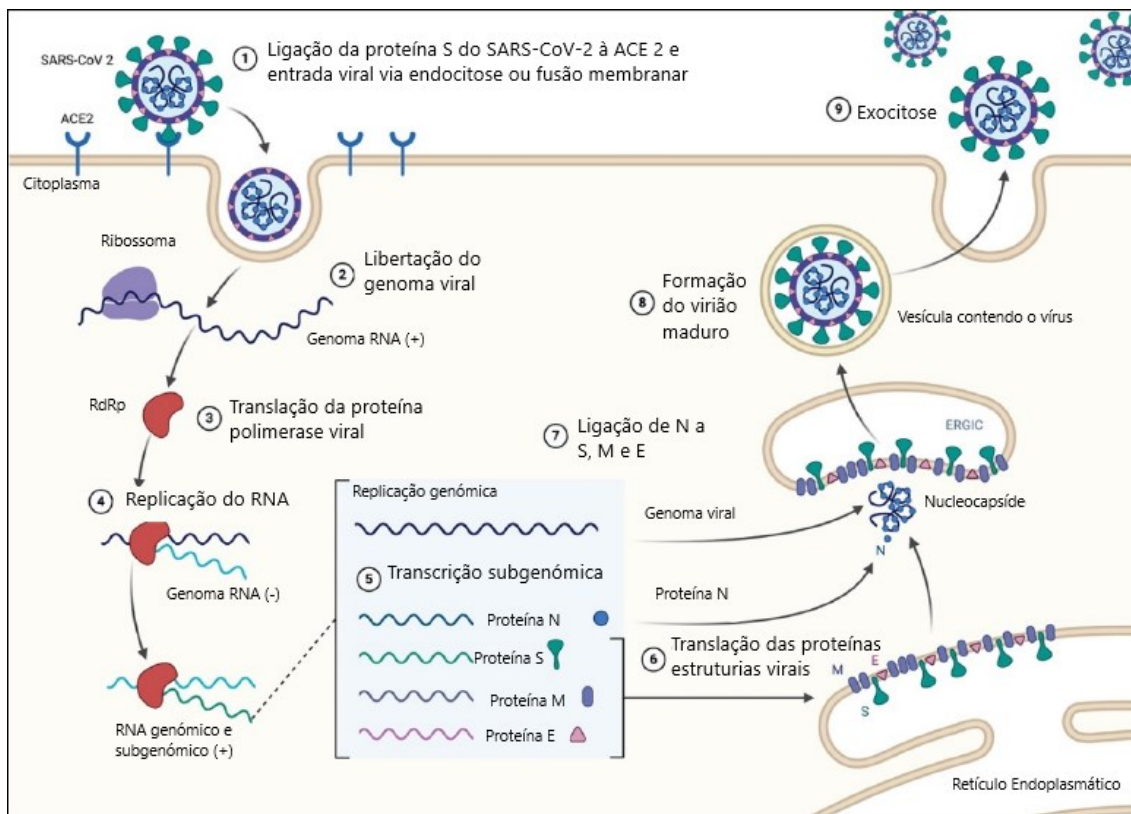


Figura 6. Ciclo replicativo de SARS-CoV-2 (Retirado de Alanagreh et al., 2020)

2.5 Transmissão

A transmissão de SARS-CoV-2 pode ocorrer de diversas formas, sendo as duas principais, a transmissão direta, através de contactos próximos interpessoais com indivíduos infetados pelo vírus a menos de 2 metros ($\approx 1,8$ m), e também a transmissão indireta, através do contacto com superfícies e objetos contaminados (Abebe, Dejenie, Shiferaw, & Malik, 2020).

A transmissão direta vai ocorrer maioritariamente através da disseminação de gotículas contendo partículas virais que são libertadas pela boca ou nariz dum indivíduo infetado quando este, fala, tosse ou espirra, atingindo os seus contactos mais próximos, diretamente na boca, nariz e mucosas dos olhos, se estes estiverem desprotegidos, o que implica uma grande probabilidade de transmissão em espaços fechados (Casella M, Rajnik M, & Cuomo A, 2021)

No que concerne à transmissão indireta, estas gotículas respiratórias libertadas pelo indivíduo infetado poderão depositar-se em objetos ou superfícies, que por sua vez, ao entrar em contacto com as mãos de outros indivíduos, poderá infetá-los, se estes por sua vez, tocarem com as mãos sem prévia higienização, nos seus olhos, nariz ou boca (Zheng,

2020). No entanto, esta não é a principal forma de propagação (Zheng, 2020). Existem evidências de que os Coronavírus conseguem permanecer infecciosos em superfícies inanimadas durante várias horas ou até mesmo dias (Kampf et al., 2020).

Acrescentando aos diferentes tipos de transmissão referidos anteriormente, verificou-se também, a presença de SARS-CoV-2 nas fezes de alguns doentes, o que sugere a existência de transmissão oral-fecal (Wölfel et al., 2020). No entanto, esta via de excreção do vírus, não parece ser muito significativa (Wölfel et al., 2020).

Quanto à infecção pelo novo Coronavírus durante a gravidez, ainda não existem informações suficientes que suportem a transmissão intrauterina ou perinatal, contudo têm sido documentados alguns casos de infecção por SARS-CoV-2 em neonatos, filhos de mães infetadas (Dashraath et al., 2020). Por outro lado, o vírus não foi detetado no leite materno e dada a baixa taxa de transmissão de vírus respiratórios através do mesmo, a OMS aconselha de qualquer modo, a que estas mães amamentem (Dashraath et al., 2020).

Adicionalmente aos meios de transmissão anteriormente referidos, este vírus encontra-se atualmente a circular cada vez mais na comunidade, sem que seja possível identificar a origem de todas as cadeias de transmissão, ou seja, os indivíduos são infetados sem perceber como ou onde contactaram com o SARS-CoV-2 (Abebe et al., 2020).

Os indivíduos assintomáticos ou pré-sintomáticos são também fontes de transmissão do vírus, apesar de os indivíduos mais sintomáticos (mais doentes), serem 3 a 18 vezes mais contagiosos que aqueles que nunca chegam a desenvolver sintomas (Abebe et al., 2020; Hassan et al., 2020; WHO, 2021h). Contudo, ficou demonstrado num estudo realizado, que as zaragatoas nasais e da garganta de doentes assintomáticos apresentavam carga viral semelhante às de doentes sintomáticos (Zheng, 2020).

A população pediátrica pode ser considerada também, uma grande fonte de transmissão, pois a forma pouco severa da doença que é observada nas crianças, em que estão presentes apenas alguns sinais e sintomas, como febre, tosse ou cefaleias, tem implicações na transmissão viral comunitária e conseqüentemente no controlo da infecção (Badal et al., 2021).

Sugere-se assim, que a causa da rápida propagação da doença possa estar nos doentes assintomáticos ou pré-sintomáticos, uma vez que a transmissão pode ocorrer dias antes do indivíduo infetado começar a manifestar sintomas (Li Ruiyun et al., 2020), tornando-se um grande desafio para o controlo preventivo (Zheng, 2020).

2.5.1 Período de incubação

Durante o período de incubação, o SARS-CoV-2 vai replicar-se e acumular-se em grandes concentrações nas células epiteliais que revestem as mucosas nasais e da garganta, facilitando assim a transmissão viral (Sungnak et al., 2020).

Estudos iniciais sugeriam que o período de incubação do SARS-CoV-2, ou seja, o tempo decorrido desde a exposição do vírus até ao aparecimento dos sintomas, compreendia entre 3 a 7 dias (Dhama et al., 2020; Zheng, 2020), com uma média de 5,1 dias (Lauer et al., 2020).

Contudo, estudos mais recentes estimaram que esse período fosse de até 14 dias, com uma média de 4 a 5 dias desde a exposição até ao aparecimento dos sintomas, como em quase todas as infeções respiratórias agudas provocadas por vírus (Guan et al., 2020; Lauer et al., 2020; Ortiz-Prado et al., 2020). Motivo pelo qual se sugere que os indivíduos expostos ao vírus permaneçam isolados durante 14 dias, para evitar a propagação do vírus (Dawson et al., 2020). No entanto, espera-se que 97,5% dos infetados por SARS-CoV-2, se apresentarem sintomas, estes iniciarão até 11,5 dias após a ocorrência da infeção (Guan et al., 2020; Lauer et al., 2020).

2.5.2 Período infeccioso

Estima-se que o período infeccioso do indivíduo se inicie aproximadamente 2 dias antes da fase sintomática da doença, que dure cerca de 9 dias após o começo dos sintomas em casos moderados, e que se prolongue mais tempo, em casos severos da doença, sendo que duas semanas após a remissão dos sintomas, alguns doentes podem ainda permanecer contagiosos (Byrne et al., 2020; Perera et al., 2020). No entanto, o mais habitual é que após a primeira semana, a maioria dos sintomas já estejam atenuados (Perera et al., 2020).

Por outro lado, o RNA viral permanece detetável em esfregaços de garganta até à segunda semana e as amostras de fezes e saliva permanecem RNA-positivo durante períodos ainda mais longos, apesar da resolução total dos sintomas (Wölfel et al., 2020).

Contudo, os estudos efetuados com o propósito de avaliar o início e duração da infeciosidade, apresentam ainda algumas incertezas e limitações, principalmente devido à dificuldade em inferir através da memória do indivíduo infetado, a data da exposição ao vírus e o momento em que os sintomas se iniciaram (Byrne et al., 2020).

2.5.3 Índice de transmissibilidade R_0 e $R(t)$

O número básico de reprodução (R_0) do SARS-CoV-2 designa o número médio de infeções que um caso pode gerar numa população não infetada e completamente suscetível (Zhao et al., 2020), sendo assim, um indicador da transmissibilidade da infeção (Liu, Gayle, Wilder-Smith, & Rocklöv, 2020).

Este número deve ser calculado numa fase inicial, ainda sem todas as medidas de contenção do SARS-CoV-2 estarem implementadas na sociedade (Nunes et al., 2021) e é modulado por diversos fatores, tais como o tempo até eliminação do vírus, a sua infeciosidade e a matriz de contacto entre os indivíduos suscetíveis e os infetados (Younes et al., 2020). O R_0 foi estimado ao período de 24 de janeiro de 2020 com base num estudo envolvendo 425 pacientes, ao que se obteve um valor de 2,2, significando isto, que um indivíduo infetado poderia infetar outros dois indivíduos (Li et al., 2020).

Contudo, um estudo de Zhao et al., 2020 demonstrou que o valor de R_0 pode variar entre 2 e 3, o número de indivíduos infetados.

No que diz respeito ao número básico de reprodução calculado em Portugal até março de 2020 com base na curva epidémica, estimou-se que este fosse de 2,02, podendo oscilar entre 1,92 e 2,1 (Nunes et al., 2021).

Numa investigação subsequente, ficou demonstrado que o R_0 pode alterar entre 4,7 a 6,6 quando não há implementação de qualquer tipo de medidas de controlo, implicando que o SARS-CoV-2 seja altamente contagioso e mais infecioso do que inicialmente estimado (Sanche et al., 2020).

$R(t)$ representa o número médio de casos secundários resultantes de um caso infetado, medido em função do tempo e ao contrário de R_0 , deve ser calculado ao longo da pandemia e, portanto, este número vai medir a transmissão ao longo do tempo, podendo aumentar ou diminuir conforme as medidas de contenção pandémica, estejam ou não, a ser efetivas (Nunes et al., 2021).

Sempre que $R(t)$ seja superior a 1 durante mais de 7 dias, significa que as medidas de saúde pública implementadas não são suficientes para impedir o aumento do número de infeções (Liu et al., 2020; Peralta-Santos et al., 2021).

Em Portugal é possível verificar estas oscilações à medida que se impõe restrições mais rígidas ou que as mesmas são aliviadas (Figura 7). Os dados referentes à primeira quinzena de julho de 2021 representam uma média do índice de transmissibilidade superior a 1 para todas as regiões portuguesas, sugerindo a necessidade de imposição de

mais medidas de saúde pública a fim de suprimir as cadeias de transmissão (Liu et al., 2020; Nunes et al., 2021; Peralta-Santos et al., 2021).

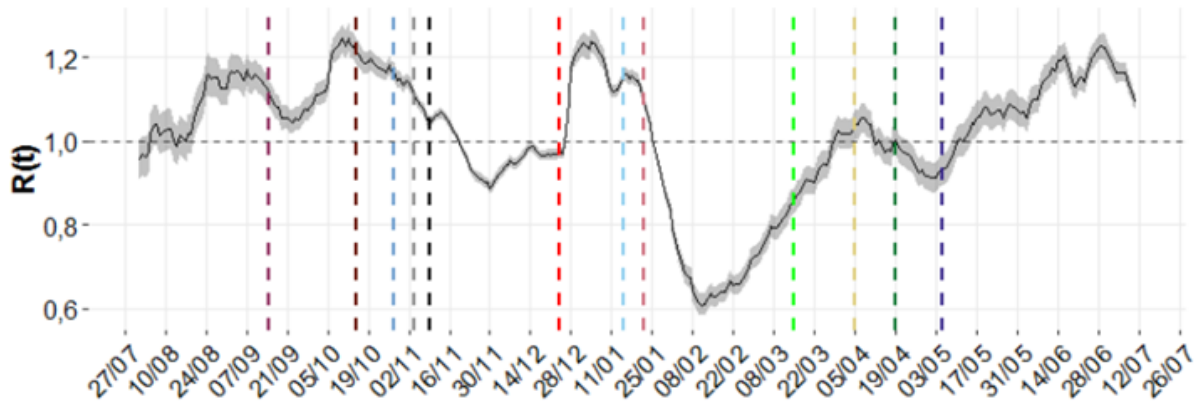


Figura 7. Evolução do $R(t)$ em Portugal de 27 julho 2020 a 26 julho 2021 (Adaptado de Nunes et al., 2021)

3. COVID-19

3.1 Manifestações Clínicas

No que concerne aos sintomas apresentados pelos indivíduos infetados por SARS-CoV-2, estes podem ir desde assintomáticos até sintomas muito severos, podendo mesmo culminar em morte (Dawson et al., 2020), variando assim, de acordo com cada indivíduo e a gravidade da sua doença (Safiabadi Tali et al., 2021).

Mais de 80% dos casos de COVID-19 são assintomáticos ou sintomáticos com sintomas leves (Abebe et al., 2020), apresentando uma infeção do trato respiratório superior leve ou moderada, com possibilidade de ter qualquer um destes sintomas: febre, tosse seca, calafrios, dispneia (dificuldade em respirar), fadiga, mialgias, cefaleias, anosmia (alterações no olfato), disgeusia (alterações no paladar), congestão nasal, dor de garganta, expetoração, hemoptise, rinorreia, náuseas, vômitos ou diarreia (Dawson et al., 2020; Safiabadi Tali et al., 2021; Tenforde, Rose, Lindsell, Shapiro, & Files, 2020).

Destes, os mais frequentes aquando da admissão hospitalar são a febre, a tosse, as dores musculares e a dispneia, que é mais comumente apresentada em indivíduos hospitalizadas em detrimento daqueles com a doença mais leve, ou seja, os não hospitalizados (Dawson et al., 2020; Tenforde et al., 2020)

Num elevado número de doentes, os sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos e diarreia) tendem a surgir ainda antes dos sintomas respiratórios e da febre e em pelo menos um terço dos infetados de um estudo, foi relatada a perda de olfato ou paladar (Giacomelli et al., 2020; L. Pan et al., 2020).

Outras apresentações clínicas que também podem ocorrer mas que são menos comuns são as manifestações cutâneas, como erupção maculopapular, lesões de despigmentação nos dedos dos pés e das mãos e ainda urticária, contudo estas manifestações podem estar associadas a outras doenças ou aos tratamentos usados para tratar o doente com COVID-19, continuando ainda a ser um grande desafio, a sua avaliação (Freeman et al., 2020; Türsen, Türsen, & Lotti, 2020).

No entanto, na sua generalidade os sinais e sintomas apresentados não são específicos desta doença, podendo ser compatíveis com outras infeções virais das vias respiratórias, havendo a necessidade da realização de testes laboratoriais que confirmem o diagnóstico (Struyf et al., 2020).

3.2 Fatores de Risco

Os fatores de risco para desenvolver a doença respiratória grave de COVID-19 ainda não são claros, no entanto, pensa-se que doentes com mais idade ou com comorbidades médicas subjacentes possam estar em maior risco de contrair pneumonia, síndrome respiratória aguda grave, insuficiência renal ou morte (Dawson et al., 2020; Hu et al., 2021).

Os adultos em diferentes idades mas que apresentem qualquer uma das condições que abaixo serão mencionadas podem ser indivíduos de risco para ter a forma mais grave da doença, com forte probabilidade de necessidade de hospitalização, tratamento intensivo e ajuda de suporte ventilatório para respirar, sendo que alguns destes doentes podem mesmo acabar por falecer (CDC, 2021h).

Apesar de as manifestações clínicas variarem de indivíduo para indivíduo, elas também diferem de acordo com a idade do mesmo, pois apesar de todas as idades serem suscetíveis à infeção por SARS-CoV-2, em geral os resultados adversos e as mortes são mais prováveis em adultos com mais idade e do sexo masculino (Khan et al., 2020; Park, 2020; Safiabadi Tali et al., 2021). A idade média de doentes infetados é de cerca de 50 anos (Hu et al., 2021), mais de 80% das mortes relacionadas a esta doença ocorrem em indivíduos com idade superior a 65 anos e mais de 95% ocorrem em pessoas acima dos 45 anos (CDC, 2021h; Z. Wu & McGoogan, 2020).

Como foi dito anteriormente, para além da idade avançada, alguns problemas de saúde podem também ser considerados fatores de risco importantes, podendo aumentar a probabilidade de se ficar gravemente doente com COVID-19, tais como:

- O cancro, que pelos seus tratamentos extremamente citotóxicos vai diminuir a imunidade do indivíduo;
- A doença renal crónica;
- Doenças pulmonares crónicas, como a DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica), a asma moderada ou grave, a doença pulmonar intersticial, a fibrose quística ou a hipertensão pulmonar;
- A demência ou outras condições neurológicas como, a alzheimer;
- A diabetes mellitus tipo 1 ou 2;
- A síndrome de down;
- Doença cardiovascular, como a insuficiência cardíaca, a DAC (doença arterial coronariana), as cardiomiopatias ou a hipertensão;

- A infecção por HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana);
- Sistema imunológico comprometido;
- Doença hepática, alcoólica ou gordurosa, cirroses ou cicatrizes no fígado;
- O excesso de peso e estados de obesidade;
- Distúrbios ao nível da hemoglobina, do tipo talassémia ou doença falciforme;
- Atuais ou ex-fumadores;
- Transplantes de órgãos sólidos ou de medula óssea;
- O AVC (Acidente Vascular Cerebral) e
- A adição de substâncias como álcool ou drogas (CDC, 2021h).

Embora a maioria dos jovens e crianças, sejam menos afetados que os adultos, desenvolvendo apenas a doença mais leve ou sendo até mesmo assintomáticos (X. Lu et al., 2020) aqueles com condições genéticas, neurológicas, metabólicas, com doença cardíaca congênita, obesidade, diabetes mellitus, asma, doença pulmonar crônica, doença falciforme ou imunossupressão têm um maior risco de desenvolver a forma mais grave da doença (CDC, 2021h; Khan et al., 2020).

Apesar de as mulheres grávidas pertencerem normalmente a um grupo de risco, no que diz respeito à probabilidade de contrair o vírus, esta não foi superior à de mulheres não grávidas e as manifestações clínicas de mulheres grávidas infetadas foram semelhantes às das outras mulheres com COVID-19 (Abebe et al., 2020; H. Chen et al., 2020).

3.3 Gravidade da Doença

A doença COVID-19 pode ser classificada em cinco categorias diferentes com base na gravidade da sua apresentação, em doença assintomática, leve, moderada, severa e crítica (Y. X. Bai et al., 2020; Y. Wang, Wang, Chen, & Qin, 2020).

A maioria dos doentes (cerca de 80%) apresenta a forma de doença mais leve ou moderada e apenas 10 a 15% evolui para o estado mais severo, com pneumonia grave, sendo que apenas cerca de 5-6% se tornam casos críticos da doença, necessitando de cuidados intensivos devido a insuficiência respiratória, choque séptico ou falência multiorgânica (Park, 2020).

A **doença leve** caracteriza-se por infecção vírica do trato respiratório superior, com tosse seca, febre baixa, congestão nasal, dor de garganta, cefaleias, mialgias e fadiga, não apresentando sintomas graves como dispneia (Cascella M et al., 2021). No entanto, isto não impede que haja uma progressão da doença leve para estados mais graves (Hassan et al., 2020).

Enquanto na **doença moderada**, os doentes apresentam tosse, alguma dispneia e taquipneia (respiração acelerada), já na **doença severa** pode observar-se sintomas de dispneia grave, taquipneia com frequência respiratória > 30 rpm, hipoxia, saturação de oxigénio (SpO_2) $< 93\%$ (valor abaixo do normal), pressão parcial de oxigénio (PaO_2) < 300 , febre ausente ou moderada e mais de 50% de infiltrados pulmonares, podendo originar pneumonia grave, síndrome de desconforto respiratório agudo (SDRA) ou sépsis (Cascella M et al., 2021; N. Chen et al., 2020).

Esta doença grave, pode culminar em **estado crítico** com características de insuficiência respiratória, RNAemia (presença do RNA de SARS-CoV-2 no sangue) que está associada com a deterioração clínica, lesão cardíaca, choque séptico ou disfunção multiorgânica (Hogan et al., 2021; Y. Wang et al., 2020).

Até aos 8 dias da doença grave pode surgir a dispneia e a progressão da doença até aparecimento dos sintomas de SDRA foi de até 9 dias, com necessidade de ventilação e tratamento em unidade de cuidados intensivos a ocorrer entre os 10,5 a 14,5 dias após o início dos sintomas (F. Zhou et al., 2020). Estima-se assim, que a mortalidade para os doentes severos ou críticos internados em unidade de cuidados intensivos seja de 39% a 72% (CDC, 2021e)

Contudo, a maioria dos doentes hospitalizados fica internado entre 10 a 14 dias, havendo normalmente uma recuperação com alta hospitalar ao fim de 2 semanas (Hu et al., 2021; Safiabadi Tali et al., 2021).

3.4 Características Imagiológicas

A pneumonia COVID-19 manifestou-se na admissão hospitalar do doente em anormalidades na tomografia computadorizada (TC) ao tórax em 86,2% de 975 tomografias realizadas num estudo (Guan et al., 2020), evoluindo rapidamente de opacidade de vidro fosco unilateral até opacidade de vidro fosco bilateral difuso (Figura 8), infiltração intersticial ou progredindo para o aparecimento de áreas subsegmentais de

consolidação irregulares em ambos os campos pulmonares em menos de 3 meses (Hassan et al., 2020; Jin, Yang, Ji, Chen, et al., 2020; H. Shi et al., 2020).

No entanto, num estudo envolvendo 121 doentes positivos para COVID-19, 20 em cada 36 doentes, 0 a 2 dias após o início dos sintomas apresentavam uma TC normal com ausência de opacidades de vidro fosco e consolidação, indicando que nem todos os doentes apresentam anormalidades no início da doença (Cai et al., 2020).

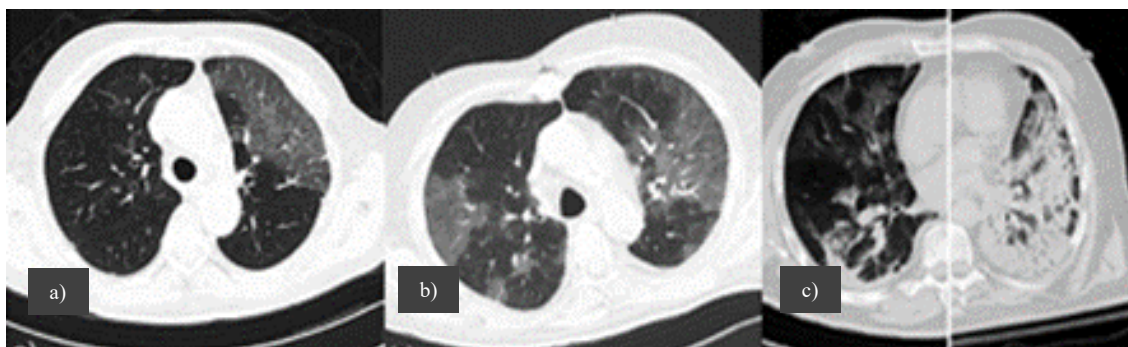


Figura 8. Exemplos de TC torácicas com anormalidades. a) Parênquima pulmonar normal nas zonas anterior e posterior do pulmão direito e opacidade de vidro fosco na zona anterior do pulmão esquerdo; b) Opacidade de vidro fosco bilateral difuso; c) Consolidações na zona pulmonar posterior do pulmão esquerdo e amplamente distribuído no painel direito (Adaptado de Rizzetto et al., 2021)

É provável que a pneumonia provocada pelo SARS-CoV-2 tenha uma distribuição periférica com envolvimento bilateral e multifocal do pulmão inferior (Xie et al., 2020).

A combinação dos achados laboratoriais e clínicos com a imagiologia do tórax pode ser uma ajuda fulcral no algoritmo de diagnóstico da COVID-19, ajudando assim a prever complicações mais severas (H. Shi et al., 2020; Xie et al., 2020).

Contudo, os achados nas tomografias computadorizadas ao tórax são inespecíficos da COVID-19, podendo ser encontrados em outro tipo de pneumonias, indicando que por si só, não são suficientes para confirmar um diagnóstico positivo (H. X. Bai et al., 2020).

3.5 Caraterísticas Laboratoriais

Para além dos sintomas anteriormente mencionados, os casos menos graves confirmados de COVID-19 podem demonstrar nos testes laboratoriais: leucopenia, linfopenia e proteína C reativa levemente elevada (Jin, Yang, Ji, Wu, et al., 2020; Park, 2020).

Nos doentes com pneumonia severa verificam-se valores elevados de leucócitos, neutrófilos, proteína C reativa, CK (creatina quinase), alanina aminotransferase, aspartato desidrogenase, lactato desidrogenase e de ferritina e ainda uma baixa contagem de

linfócitos (T CD4 e T CD8), monócitos, eosinófilos e basófilos (Guan et al., 2020; Hassan et al., 2020; Park, 2020; Qin et al., 2020).

Num estudo incluindo 138 doentes hospitalizados com pneumonia COVID-19, os resultados laboratoriais revelaram uma contagem baixa de linfócitos de $0,8 \times 10^9/L$ (linfopenia) em 97 indivíduos (70.3%), um tempo de protrombina de 13 segundos em 80 doentes (58%) e um valor elevado (261 U/L) de lactato desidrogenase (LDH) em 55 indivíduos (39.9%) (D. Wang et al., 2020).

No que diz respeito aos fatores de coagulação, estes revelaram resultados preocupantes num estudo realizado em 183 doentes com pneumonia por SARS-CoV-2 estando associados a uma mortalidade de 11,5% em que os não sobreviventes apresentaram elevados níveis de D-dímero e de produtos de degradação da fibrina (FDP), elevado tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada (N. Tang, Li, Wang, & Sun, 2020). As elevações de ferritina, contagem de neutrófilos, D-dímero, ureia e níveis de creatinina no sangue são comuns a doentes que acabam por não sobreviver (Hassan et al., 2020).

A procalcitonina elevada não é uma característica da COVID-19, encontrando-se em níveis tipicamente normais na admissão, mas podendo aumentar nos doentes com necessidade de cuidados intensivos (Hassan et al., 2020; Huang et al., 2020). Contudo, isto pode sugerir um diagnóstico alternativo, como pneumonia bacteriana (Hassan et al., 2020).

Indivíduos com doença crítica apresentam assim vários achados laboratoriais que têm sido associados a uma maior gravidade e progressão da doença ou consequente mortalidade e ainda a uma potencial desregulação imunológica devido aos elevados níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios (CDC, 2021e).

3.6 Mecanismos de patogénese

Como referido anteriormente, o SARS-CoV-2 vai ligar-se ao recetor da célula hospedeira, a ACE2, originando a replicação e libertação do vírus nas células pulmonares e originando um conjunto de sintomas que podem ser leves ou atingir as formas mais graves com necessidade de hospitalização (Cevik, Kuppalli, Kindrachuk, & Peiris, 2020; M. Hoffmann et al., 2020).

O tipo de sintomas que o doente pode experienciar é explicado pela distribuição de ACE2 nos diferentes tecidos de vários órgãos, como por exemplo no epitélio intestinal,

renal, pulmonar ou nos vasos sanguíneos, que vai originar os sintomas gastrointestinais, respiratórios, cardiovasculares, entre outros (Monteil et al., 2020).

Na maioria dos casos, existe uma resposta imunológica inicial que suprime a infecção, atraindo as células T específicas do vírus para o local da infecção, onde estas vão eliminar as células hospedeiras infetadas para que o vírus não se espalhe, limitando os sintomas e originando a cura em pouco tempo e que vai estar associada a um posterior desenvolvimento de anticorpos neutralizantes que evitam as reinfeções por SARS-CoV-2 por um determinado período (Cevik et al., 2020; Moore & June, 2020).

No entanto, quando a resposta inicial não é eficaz, ocorre uma resposta imune disfuncional em alguns doentes em que a carga viral é muito elevada ou que apresentem fatores considerados de risco, disseminando-se assim para os pulmões, onde vai originar problemas respiratórios moderados ou severos de COVID-19, que se caracterizam por um processo imunopatológico provocado por uma “tempestade de citocinas” que é uma síndrome de libertação excessiva de citocinas plasmáticas (Figura 9) (Boechat, Chora, & Delgado, 2020; Hu et al., 2021; Moore & June, 2020).

As citocinas têm um papel importante na regulação da imunidade, nos processos inflamatórios e na hematopoiese, mas a sua exacerbação e acumulação, pode originar danos, como formação de coágulos, choque séptico ou disfunção de vários órgãos, como é o caso dos pulmões (Mangalmurti & Hunter, 2020). Em vários indivíduos com a doença severa internados em unidade de cuidados intensivos, foram observados elevados níveis plasmáticos de citocinas, que são mediadores pró-inflamatórios, tais como, a IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, CXCL-10, CCL2, CCL3, TNF α e IL-6 (Boechat et al., 2020; S. Shi et al., 2020; F. Zhou et al., 2020). Este último está diretamente relacionado com o prognóstico da doença e expressão de marcadores celulares que ativam monócitos pró-inflamatórios tanto no pulmão como na circulação (Herold et al., 2020).

Esta libertação excessiva de citocinas, vai a nível dos alvéolos pulmonares, levar à lesão da interface da célula epitelial alveolar com a célula endotelial capilar, comprometendo as trocas gasosas entre o oxigénio e o dióxido de carbono, o que pode originar hipoxemia (baixa concentração de oxigénio no sangue arterial), agravada por invasão de células inflamatórias no espaço alveolar, originando a dispneia e a SDRA que se pode observar nos casos mais severos (S. Shi et al., 2020; Zabetakis, Lordan, Norton, & Tsoupras, 2020).

Como referido anteriormente, para além dos pulmões, esta “tempestade de citocinas” também provoca uma apoptose dos linfócitos (T CD4 e T CD8), que é o que

vai originar a linfopenia e pode ainda afetar outros órgãos e sistemas, como é o caso do sistema cardiovascular (vasos sanguíneos e coração), rins, cérebro, fígado e intestinos (G. Chen et al., 2020).

Os fenómenos de tromboembolismo observados em alguns doentes COVID-19 podem ser associados à “tempestade de citocinas”, à hipoxia (baixa disponibilidade de oxigénio num órgão) e à imobilização dos doentes acamados (Rosen, 2020).

Verifica-se, portanto, um envolvimento adicional da resposta imunológica e inflamatória do hospedeiro à infeção provocada pelo SARS-CoV-2, como fatores agravantes para a severidade da doença (Boechat et al., 2020).

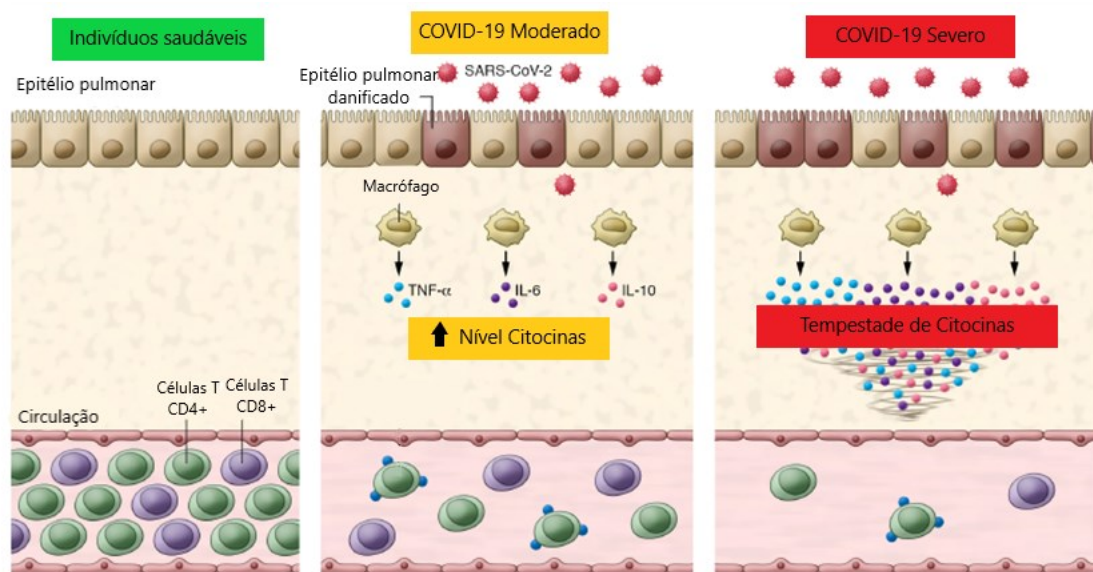


Figura 9. Representação do mecanismo de patogénese associado à infeção por SARS-CoV-2 (Adaptado de Pedersen & Ho, 2020)

Com isto, fica claro que qualquer intervenção com terapêutica antiviral terá um maior benefício numa fase inicial dos sintomas, ao passo que numa fase avançada da doença, essa intervenção já não deve ser apenas direcionada ao vírus, mas sim aos processos imunopatológicos do hospedeiro (Boechat et al., 2020).

3.7 Métodos de Diagnóstico

Diagnosticar precocemente os indivíduos com infeção por SARS-CoV-2, acompanhá-los, identificar os seus contactos próximos e isolá-los é a chave essencial para reduzir e controlar a transmissão na comunidade (Araújo, Cortes, & Félix, 2020; CDC, 2021g).

Como os sintomas variam de indivíduo para indivíduo e na sua maioria se assemelham aos sintomas de outras infecções respiratórias, é essencial que para além de um diagnóstico clínico, se tenha em consideração, outros fatores, como o histórico de viagens, mas principalmente a existência de um teste laboratorial de diagnóstico positivo, para a confirmação da presença de SARS-CoV-2 no organismo e aplicação de tratamento adequado (Araújo et al., 2020; Chhikara, Rathi, Singh, & FNU, 2020).

Assim, a Organização Mundial de Saúde considera a testagem em massa de toda a população, um elemento de extrema importância para o combate à doença, e para isso, estão disponíveis testes com características e objetivos diferentes (Babini et al., 2020).

Dependendo dos tipos de teste, estes podem diferir no tempo de interpretação de resultados, no custo associado, na praticidade da sua execução, no local onde podem ser realizados, na sensibilidade e especificidade e portanto devem ser escolhidos tendo em conta o objetivo a que se propõe e a necessidade ou não, de resultados mais céleres (CDC, 2021g).

3.7.1 Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos

Os testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) são o método de referência para a identificação do vírus no organismo do indivíduo e respetivo diagnóstico positivo de COVID-19, podendo também ser úteis como testes de triagem para reduzir a transmissão na comunidade (CDC, 2021g; SNS24, 2021). No entanto, os NAAT não são indicados para detetar contactos virais anteriores, permitem apenas identificar os indivíduos na fase recente da infeção (Babini et al., 2020).

Este tipo de teste utiliza amostras biológicas colhidas por profissionais de saúde com zaragatoa na mucosa nasal, nasofaríngea ou orofaríngea e amostras de saliva cuspidas para um tubo de colheita (Younes et al., 2020) que são depois armazenadas a 4°C, preparadas e analisadas em laboratórios com a utilização de sistemas moleculares especializados para detetar o genoma viral (Parasher, 2021). Os resultados são geralmente obtidos dentro de algumas horas (Younes et al., 2020).

Os NAAT consistem na deteção e amplificação do material genético viral (mesmo que em pequenas quantidades), que neste caso é o RNA genómico do SARS-CoV-2, sintetizando-o em DNA de cadeia dupla pela utilização de técnicas de Reação de Polimerização em Cadeia com Transcrição Reversa (RT-PCR) (Dawson et al., 2020; Parasher, 2021). Este é um método com aproximadamente 100% de sensibilidade

(capacidade de detetar infeção viral) e especificidade (quantidade de falsos positivos), sendo uma técnica que apesar de complexa é bastante fiável nos resultados que dispõe (Grant, Turner, Shin, Nastouli, & Levett, 2020).

Existem ainda outros testes moleculares de amplificação de ácidos nucleicos, além do RT-PCR, que detetam qualitativamente o RNA do SARS-CoV-2 isolado de amostras nasais, nasofaríngeas e orofaríngeas, com sensibilidade aceitável e uma precisão no diagnóstico semelhante ao anterior, como seja o caso do ensaio por TMA (*Transcription Mediated Amplification*) que para além de fácil de aplicar é totalmente automatizado (Dierks et al., 2021; Schneider, Iftner, & Ganzenmueller, 2021).

Os testes moleculares podem permanecer positivos por um longo período de tempo, o que nos indica apenas a presença do genoma viral mas não a sua viabilidade, ou seja, detetam por um período de tempo prolongado, o vírus, mesmo que este já esteja inativado, não se replicando, nem tendo a capacidade de ser transmitido a outros indivíduos, já não sendo infeccioso (Babini et al., 2020; CDC, 2021g). Assim, é possível que indivíduos já recuperados da doença continuem a ter resultados positivos neste tipo de teste, mesmo que o vírus já não esteja ativo, mas na generalidade dos casos, os doentes recuperados devem apresentar um resultado negativo (Mathuria, Yadav, & Rajkumar, 2020; Sethuraman, Jeremiah, & Ryo, 2020)

Os NAAT apresentam uma melhor sensibilidade se forem feitos entre o terceiro e o sétimo dia de infeção (Figura 10), uma vez que entre o primeiro e segundo dia o número de cópias virais pode ainda não ser suficiente para ser detetável, havendo uma maior probabilidade de obter resultados falsos negativos (testes com resultado negativo em indivíduos infetados), e a partir do oitavo dia a carga viral pode já ser indetetável se o indivíduo tiver evoluído para a cura (Oliveira, Oliveira, Sabino, & Okay, 2020; Sethuraman et al., 2020).

3.7.2 Testes Rápidos de Antígeno

Os testes rápidos de antígeno (TRAg), à semelhança dos NAAT, são testes de diagnóstico que identificam infeção atual por SARS-CoV-2 (FDA, 2021), mas através da deteção de antígenos virais, demonstrando a presença do vírus no organismo do indivíduo (Babini et al., 2020).

As amostras utilizadas para a realização destes testes são colhidas com a ajuda de uma zaragatoa através de esfregaços realizados na mucosa nasal, nasofaríngea ou orofaríngea, ou ainda, através de amostras de saliva cuspidas para um tubo de colheita (Babini et al., 2020; FDA, 2021). Posteriormente a amostra é aplicada numa placa de teste que irá ou não identificar a presença desses antigénios por imunocromatografia (Araújo et al., 2020).

A colheita e respetiva interpretação do teste pode ser realizada por um profissional de saúde equipado com equipamento de proteção individual (EPI) em meio laboratorial, clínico ou em postos de atendimento à comunidade (Babini et al., 2020). Existe também a modalidade de autoteste que deteta os antigénios virais, mas é realizado com um dispositivo de teste que pode ser usado sem assistência de profissionais de saúde e pode ser realizado em qualquer local, inclusivamente, em casa (Babini et al., 2020).

Os TRAg são testes simples e que podem ser utilizados em doentes com ou sem sintomas, que tiveram contactos próximos de alto risco ou quando por uma questão de indisponibilidade ou necessidade de maior rapidez, não se podem realizar os NAAT e devem ser realizados até 5 a 7 dias após o início da infeção para que se obtenha um resultado fidedigno, uma vez que os antigénios virais só são detetáveis até essa altura (Figura 10) (SNS24, 2021).

As vantagens deste tipo de método de diagnóstico em detrimento dos testes moleculares, passam pela rapidez na obtenção dos resultados, que ocorre geralmente entre 15 a 30 minutos após a realização do teste e no facto de serem monetariamente mais acessíveis e portanto poderem ser utilizados em programas de triagem na população para identificar casos positivos de COVID-19, evitando a transmissão na comunidade (SNS24, 2021).

Contudo, os TRAg apresentam uma sensibilidade menor que a apresentada pelos NAAT e especificidade semelhante, havendo uma maior probabilidade de resultados falsos negativos (Araújo et al., 2020; Babini et al., 2020; FDA, 2021).

Sugere-se que seja realizado um NAAT que confirme resultados negativos em indivíduos com sintomas de COVID-19 e resultados positivos em indivíduos sem qualquer tipo de sintoma (CDC, 2021g).

3.7.3 Testes Serológicos

Os testes serológicos, também denominados de testes de anticorpos, são utilizados para detetar infeção prévia, e não, diagnosticar infeção atual de COVID-19, uma vez que vão avaliar se o indivíduo apresenta os anticorpos produzidos pelo sistema imunológico em resposta ao SARS-CoV-2 (CDC, 2021j; FDA, 2021), e estes levam entre 5 a 30 dias a ser detetados após o aparecimento dos sintomas, sendo que na maioria dos casos, só são detetáveis aos 14 dias (Figura 10), justificando assim a inadequação da utilização deste método numa fase aguda da infeção (Guo et al., 2020).

Obter um resultado negativo neste tipo de teste, significa que o mesmo não detetou anticorpos contra o SARS-CoV-2, já um resultado positivo poderá significar que o indivíduo foi vacinado contra a COVID-19 ou esteve em contacto com o vírus recentemente ou previamente e tenha desenvolvido uma resposta imune adaptativa ao SARS-CoV-2 (FDA, 2021).

Este método consiste na colheita de uma amostra de sangue venoso, capilar (através de picada no dedo) ou de plasma sanguíneo que pode ser efetuada por profissionais de saúde e que vai ser utilizada para detetar a presença de imunoglobulinas IgM e IgG específicas que são produzidas em resposta imunitária à presença do SARS-CoV-2 (Araújo et al., 2020; Babini et al., 2020; FDA, 2021). Esta amostra de sangue pode ser rapidamente analisada, quando em forma de teste rápido ou por outro lado, pode ser preparada e analisada a nível laboratorial por sistemas automatizados, com diferentes metodologias, como é o caso de ELISA, Quimioluminescência ou Imunofluorescência, que podem demorar algumas horas (Babini et al., 2020; D’Cruz, Currier, & Sampson, 2020; FDA, 2021; Oliveira et al., 2020).

As imunoglobulinas da classe IgM correspondem a marcadores de infeção recente, desenvolvem-se primeiro e enquanto estiverem presentes sugerem que o indivíduo esteja numa fase aguda e replicativa da infeção, numa fase de convalescência ou já recuperados, sendo que podem ser detetadas entre a terceira e quarta semana de infeção, começando a diminuir na quinta semana, até ao seu desaparecimento à sétima semana (Babini et al., 2020; Oliveira et al., 2020).

As IgG surgem em paralelo com as IgM um pouco depois do aparecimento das IgM e são marcadores de infeção passada, estando associados à imunidade em pacientes recuperados e permanecendo por tempo ainda indeterminado e conferindo um nível de

imunidade protetora contra o SARS-CoV-2 inespecífica (Babini et al., 2020; D’Cruz et al., 2020).

Os testes serológicos em forma de testes rápidos apresentam a vantagem de ser sensíveis, baratos, práticos e muito céleres até obtenção do resultado (cerca de 15 minutos), sendo ideal para inquéritos epidemiológicos, em que há necessidade de testar em larga escala (Oliveira et al., 2020; To et al., 2020).

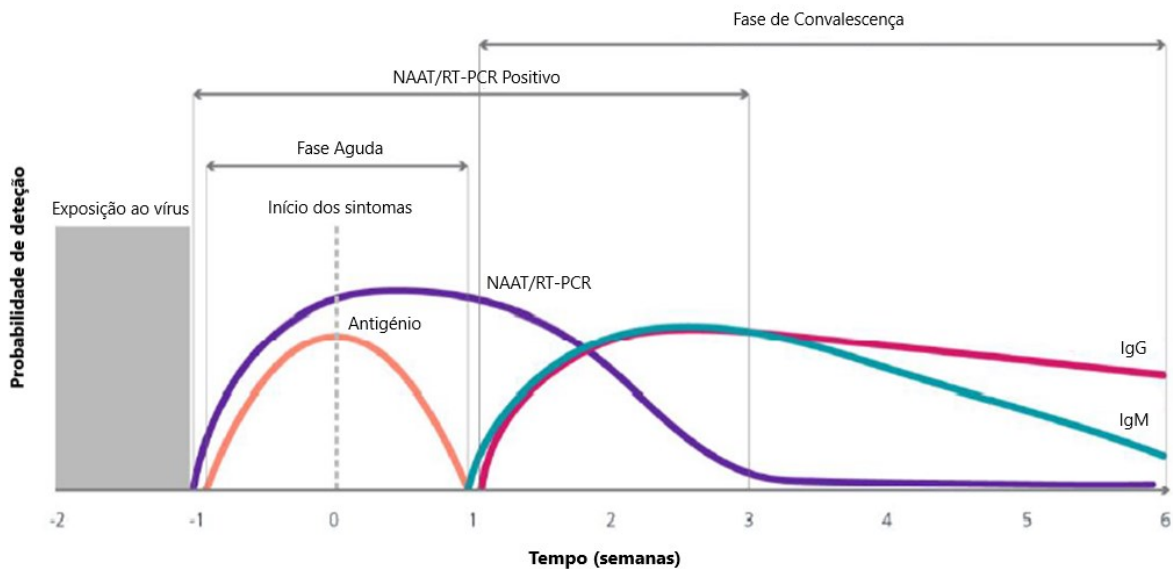


Figura 10. Variação estimada em função do tempo na detecção da infeção por SARS-CoV-2 nos diferentes testes de diagnóstico (Adaptado de Babini et al., 2020)

A principal utilidade dos testes serológicos consiste na detecção de indivíduos expostos ao SARS-CoV-2 na população e na avaliação da existência de imunidade ao SARS-CoV-2 conferida ao indivíduo nos meses subsequentes à sua infeção ou vacinação (Araújo et al., 2020; Babini et al., 2020; Bracis et al., 2021). Contudo, um resultado positivo no teste serológico pode não significar que o indivíduo esteja imune a uma possível reinfeção (CDC, 2021g).

4. Potenciais Terapêuticas

Com o surgimento de um novo Coronavírus e a consequente pandemia de COVID-19 que se instalou por todo o globo, a necessidade de uma terapêutica rápida e eficaz para o tratamento desta doença, tem originado um elevado nível de preocupação na comunidade científica, que se tem dedicado inteiramente à investigação clínica desta temática (Bugin & Woodcock, 2021).

Com o intuito de agilizar o processo de investigação e desenvolvimento de terapêuticas possivelmente eficazes e seguras contra o SARS-CoV-2, utilizou-se numa fase inicial da pandemia, uma estratégia baseada no reposicionamento de fármacos, que consistia na utilização de fármacos já aprovadas ou em fase avançada de investigação para outras indicações terapêuticas, como possível terapêutica anti Covid-19, reduzindo assim, não só os custos, como também o tempo de espera até descoberta de um novo agente terapêutico (Prats-Urbe et al., 2021; T. U. Singh et al., 2020). Um exemplo disto, é o reposicionamento de fármacos anteriormente considerados eficazes contra o MERS-CoV ou o SARS-CoV, para o SARS-CoV-2, uma vez que apresentam processos de replicação semelhantes, por pertencerem todos à família *Coronaviridae* (Sanders, Monogue, Jodlowski, & Cutrell, 2020).

Assim, têm sido efetuados inúmeros ensaios clínicos, na tentativa de avaliar a eficácia e segurança de possíveis terapêuticas a utilizar na COVID-19, tendo como abordagens, a prevenção da entrada do vírus na célula do hospedeiro e a inibição da replicação do SARS-CoV-2 dentro das células (Majumder & Minko, 2021; Sanders et al., 2020).

Remdesivir, favipiravir, ribavirina, lopinavir/ritonavir, darunavir, cloroquina, hidroxicloroquina, tocilizumab, interferões alfa e beta, azitromicina, ivermectina, terapêutica com plasma convalescente, anticorpos monoclonais e corticosteróides (como a dexametasona) têm sido algumas das terapêuticas promissoras avaliadas em ensaios clínicos para o tratamento desta doença, contudo não existe consenso na comunidade médica e científica quanto à sua eficácia, tendo sido obtidos resultados controversos e na sua maioria ineficazes (Gavriatopoulou et al., 2021; T. U. Singh et al., 2020; Tsai et al., 2021). Segundo um artigo do *New England Journal of Medicine*, nenhum destes medicamentos reduziu a mortalidade a 100%, a duração de internamento hospitalar ou a necessidade de ventilação (H. Pan et al., 2021)

Dos anteriormente mencionados, terapêuticas como a cloroquina e a hidroxicloroquina usadas na malária, que demonstravam ação antiviral contra o SARS-CoV-2, *in vitro*, não só não apresentaram benefícios a nível terapêutico contra a COVID-19, como revelaram um perfil de risco problemático, obrigando a encerrar o ensaio SOLIDARITY (Gavriatopoulou et al., 2021; H. Pan et al., 2021; B. Singh, Ryan, Kredo, Chaplin, & Fletcher, 2021; T. U. Singh et al., 2020).

Por outro lado, o tocilizumab, anticorpo monoclonal que bloqueia o recetor da IL-6 (citocina exacerbada na fase severa de COVID-19) demonstrou um benefício moderado na diminuição da mortalidade e inflamação, sem efeitos adversos relevantes em doentes hipoxêmicos com COVID-19, não obstante, mais ensaios clínicos são necessários para concluir sobre a sua segurança e eficácia no tratamento desta doença (Ghosn et al., 2021; Tarighi et al., 2021; Valdoleiros et al., 2020).

O remdesivir é um pró-fármaco antiviral análogo dos nucleótidos que desacelera a replicação do RNA viral e que foi inicialmente desenhado para atuar no vírus Ébola, contudo, recebeu uma autorização conferida pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) e pela *Food and Drug Administration* (FDA) para utilização de emergência em adultos e adolescentes com pneumonia por COVID-19 com necessidade de oxigenação de suporte, estando atualmente a ser utilizado a nível hospitalar, apesar dos dados clínicos serem limitados, com um perfil de eficácia e toxicidade *in vivo* ainda desconhecidos, demonstrando benefícios em alguns ensaios clínicos em detrimento de outros, em que não demonstrou ser eficaz, existindo a necessidade de uma reavaliação da relação risco/benefício, principalmente em determinados grupos populacionais (Fujita, 2021; Sheahan et al., 2020; Tsai et al., 2021; Valdoleiros et al., 2020).

Os corticosteróides podem ser potenciais candidatos na supressão da inflamação sistémica e a nível pulmonar, desempenhando um papel provavelmente importante na SDRA e como tal têm sido alvo de inúmeros estudos (Gavriatopoulou et al., 2021). Em doentes COVID-19 com necessidade de ventilação mecânica invasiva e suporte de oxigénio, a administração de dexametasona apresentou resultados positivos, com um aumento da sobrevivência dos doentes hospitalizados, o mesmo não se verificou para doentes sem necessidade de aporte respiratório (Tarighi et al., 2021). Já o tratamento com a metilprednisolona reduziu também nos ensaios realizados, o risco de morte em doentes com SDRA (Gavriatopoulou et al., 2021; Tarighi et al., 2021). Apesar de controversa, a administração de corticosteróides, não deve ser considerada na generalidade dos casos de

COVID-19, mas apenas em casos específicos de doentes com SDRA e ausência de infecção bacteriana (Valdoleiros et al., 2020)

Além das terapêuticas que foram reposicionadas, tem também havido espaço para a investigação de fármacos inovadores direcionadas ao SARS-CoV-2, como é o caso da Merck (MSD) e da Ridgeback Biotherapeutics que desenvolveram o molnupiravir (EIDD-1931) que é um pró-fármaco antiviral análogo do ribonucleosídeo N4-hidroxicitidina que atua pela introdução de cópias de erros durante a replicação do RNA viral, inibindo-a (EUnetHTA, 2021). O molnupiravir tem apresentado como vantagens, o seu largo espectro (Influenza, MERS-CoV e SARS-CoV), a sua ótima biodisponibilidade oral, permitindo uma administração célere no decurso da doença e mais confortável, em ambulatório via oral e mostrou eficácia contra as variantes do SARS-CoV-2 resistentes ao remdesivir (EUnetHTA, 2021; Reina, 2021).

Os dados obtidos no ensaio MOVE-OUT de fase 3, aleatorizado com dupla ocultação, controlado por placebo e que incluiu doentes COVID-19 com a forma de doença leve a moderada não hospitalizados, com pelo menos um fator de risco e com início dos sintomas 5 dias antes do início do ensaio, demonstraram uma redução no risco de hospitalização e morte de 50% nos indivíduos tratados com molnupiravir em comparação com aqueles tratados com placebo (MERCK, 2021; Reina, 2021).

Este estudo demonstrou também a eficácia na profilaxia e no tratamento da infecção ativa com redução de 96% da carga viral quando se inicia o tratamento 48h após o início da infecção, diminuição da progressão da doença e redução da transmissão interpessoal, adicionalmente aos poucos efeitos adversos que produz (MERCK, 2021; Reina, 2021).

Este antiviral é então indicado para o tratamento de doentes não hospitalizados com a forma leve ou moderada da doença e poderá vir a ser utilizado para doentes hospitalizados com doença moderada ou severa (EUnetHTA, 2021).

Contudo, são necessários mais estudos para entender com clareza se o molnupiravir poderá ou não ser um tratamento revolucionário, sendo o primeiro antiviral oral desenvolvido para o tratamento da COVID-19 (Willyard, 2021). O molnupiravir aguarda ainda o parecer da FDA e da EMA para uso emergencial (EUnetHTA, 2021; MERCK, 2021).

Para além da necessidade de um tratamento antiviral específico e eficaz, considera-se de extrema importância, a implementação de medidas de suporte a nível de hidratação e oxigenoterapia, terapêutica de prevenção de úlcera de pressão e trombótica em doentes

COVID-19 acamados por longos períodos e tratamento sintomático de dor e febre (Gavriatopoulou et al., 2021; Tsai et al., 2021; Valdoleiros et al., 2020).

5. Prevenção e Controlo

5.1 Medidas de Saúde Pública

Devido à elevada taxa de transmissão e de poder ser transmitido por diferentes vias, este novo Coronavírus torna-se mais difícil de controlar (Abebe et al., 2020).

Com o intuito de reduzir os efeitos negativos associados à COVID-19, é imperativo aplicar medidas de saúde pública e sociais que controlem a infeção, limitando a sua transmissão e propagação na sociedade, a fim de diminuir a morbidade e evitar a mortalidade (Yuki, Fujiogi, & Koutsogiannaki, 2020).

A implementação destas medidas tem como principais objetivos, evitar que os indivíduos infetados transmitam o SARS-CoV-2 e prevenir que os indivíduos não infetados entrem em contacto com o mesmo (Ortega et al., 2021). Neste âmbito, o isolamento dos casos positivos durante cerca de duas semanas e o rastreio e isolamento profilático de indivíduos que estiveram em contacto próximo com doentes COVID-19 são medidas cruciais e das mais eficazes para travar a propagação exacerbada, para além da testagem massiva da população (Chhikara et al., 2020; Ortega et al., 2021).

Adicionalmente às medidas acima referidas, é aconselhado evitar locais com grandes multidões e espaços fechados com pouca ventilação (especialmente para indivíduos imunocomprometidos) e adotar um distanciamento social de cerca de 2 metros, de indivíduos infetados, entre indivíduos que não coabitem na mesma casa ou que apresentem sintomas respiratórios (Abebe et al., 2020; CDC, 2021c; Hassan et al., 2020).

No início da pandemia, considerava-se apenas necessário o uso de máscara facial em profissionais de saúde, indivíduos infetados pelo SARS-CoV-2 e respetivos contactos próximos, contudo, o uso de máscara em espaços públicos fechados ou ambientes externos por toda a população, demonstrou reduzir o risco de transmissão de COVID-19 (Sharma et al., 2021). Num estudo realizado na cidade de Jena, na Alemanha, foi observada uma redução de 75% no número de casos registados após a introdução do uso de máscaras faciais e a taxa de crescimento diário de infeções também reduziu em 70% em comparação com o grupo controlo (Mitze, Kosfeld, Rode, & Walde, 2020). Contudo, estes valores apenas se traduzem numa redução de 14% na taxa de crescimento diário de infeções em toda a cidade de Jena, podendo representar em grandes cidades, reduções de cerca de 47% (Mitze et al., 2020).

O uso de máscaras cirúrgicas (dispositivos médicos destinados principalmente à proteção de outrem, e conseqüentemente à própria proteção através da diminuição da

transmissão de gotículas respiratórias) ou máscaras FFP2 (EPI destinado principalmente à própria proteção) quando utilizadas adequadamente, ajudam a conter a transmissão viral, uma vez que filtram os microrganismos virais, evitando a exposição direta às gotículas produzidas pelo nariz e pela boca durante a respiração, tosse ou espirros entre indivíduos, que são as principais vias de transmissão de SARS-CoV-2 (Chhikara et al., 2020; INFARMED, 2020; Ortega et al., 2021).

A lavagem regular das mãos com água e sabão ou em alternativa, a utilização de um desinfetante contendo pelo menos álcool a 60%, principalmente após o contacto com indivíduos infetados ou ambientes contaminados também é uma prática extremamente eficaz (Abebe et al., 2020; Hassan et al., 2020; Yuki et al., 2020). Um estudo demonstrou que a lavagem das mãos durante 15 segundos poderia reduzir em até 90% os microrganismos patogénicos e 30 segundos poderia originar uma eliminação de 99,9% desses microrganismos e evitar doenças respiratórias infecciosas em cerca de 16 a 21% da população (Ortega et al., 2021).

Outras medidas importantes a adotar para evitar a propagação de SARS-CoV-2, passam por evitar tocar frequentemente no rosto (com ou sem máscara), cobrir a boca e o nariz aquando de espirros ou tosse, limpar e desinfetar superfícies e objetos utilizados com frequência e arejar os espaços fechados (Abebe et al., 2020; CDC, 2021c; Chhikara et al., 2020).

Relativamente às medidas de controlo e prevenção da infeção em estabelecimentos de saúde, os profissionais desta área devem utilizar EPI, tais como: máscaras FFP2 ou FFP3 (que conferem elevado nível de filtração das partículas virais), luvas, óculos de proteção, batas e aventais, que evitem o contacto direto com o sangue, secreções e pele não intacta dos doentes (Abebe et al., 2020; Hassan et al., 2020; INFARMED, 2020).

5.2 Vacinas COVID-19

No controlo e prevenção da transmissão de SARS-CoV-2, a pesquisa e desenvolvimento em tempo útil de vacinas que sejam seguras e eficazes contra este vírus tem demonstrado ser um grande desafio.

Quanto melhor for o conhecimento da forma como o sistema imunitário do indivíduo infetado responde às formas mais severas de COVID-19, mais fácil será prever o tipo de reações adversas, facilitando a avaliação e desenvolvimento das variadas estratégias que podem ser utilizados na produção de uma vacina (Boechat et al., 2020).

Quando um indivíduo é infectado pela primeira vez com o SARS-CoV-2, o seu sistema imunitário vai ativar diferentes células, tais como os macrófagos, que atuam na fagocitose das partículas virais, libertando os seus antígenos, os linfócitos B que produzem anticorpos que vão atacar os antígenos virais e os linfócitos T, também denominados de “linfócitos de memória” que vão atuar instantaneamente se o indivíduo entrar novamente em contacto com o vírus (CDC, 2021k). O objetivo principal quando se desenvolve uma vacina é que esta produza no sistema imunitário do indivíduo, os linfócitos T e B capazes de provocar respostas imunes protetoras ao SARS-CoV-2, desenvolvendo imunidade ao fim de algumas semanas, sem que o indivíduo tenha de contrair a doença (CDC, 2021k; Dong et al., 2020).

Para além do estudo dos mecanismos imunopatológicos, foi também considerada importante a escolha do sistema de veiculação do antígeno ou ácido nucleico, a seleção de adjuvantes, estratégias de formulação adequadas e via de administração mais indicada para um aumento da imunogenicidade (Dong et al., 2020). A glicoproteína *spike* tem sido estudada como alvo principal para obter eficácia e segurança na maioria das vacinas desenvolvidas (Parasher, 2021).

Desde o início da pandemia que vários laboratórios farmacêuticos se têm dedicado ao estudo e desenvolvimento de diferentes tipos de vacinas para a COVID-19, das quais algumas ainda estão sobre avaliação clínica e as que demonstraram segurança e eficácia já foram autorizadas para administração na comunidade (Dong et al., 2020; Parasher, 2021).

5.2.1 Vacinas COVID-19 Autorizadas

Existem atualmente 4 vacinas que demonstraram ser seguras e eficazes e que estão autorizadas para administração pela EMA, são elas as vacinas Comirnaty, Spikevax, COVID-19 Vaccine Janssen e Vaxzevria, que serão detalhadamente abordadas abaixo (EMA, 2021c).

Das vacinas atualmente autorizadas, tanto a Comirnaty como a Spikevax são vacinas baseadas no RNA mensageiro (mRNA) do SARS-CoV-2 que vão produzir uma resposta imunológica diretamente contra o vírus e que têm demonstrado um elevado nível de estabilidade, segurança e rapidez na produção (D’Amico, Fontana, Cheng, & Santos, 2021). As vacinas de mRNA aparentam ter alta eficácia na síntese de anticorpos neutralizantes, na ativação de linfócitos T e contra as variantes Alpha e Beta, na

generalidade da população, incluindo mulheres grávidas, a amamentar ou em indivíduos com doença prévia de COVID-19 (Collier et al., 2021).

Este tipo de vacinas veio minimizar problemas de genotoxicidade, uma vez que não vai invadir o genoma da célula hospedeira e o facto de serem produzidas com mRNA sintético, reduz a probabilidade de contaminação biológica durante a produção (Soo, Sun, Aikins, & Moon, 2020).

Comirnaty (BNT162b2), é uma vacina de mRNA produzida pela Pfizer, Inc. e BioNTech e que demonstrou cerca de 95% de eficácia nos ensaios clínicos de fase 3, tendo sido a primeira vacina a ser aprovada para administração nos EUA pela FDA (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Polack et al., 2020). Esta vacina atua através do encapsulamento do RNA mensageiro do SARS-CoV-2 com nucleósido modificado em nanopartículas lipídicas que vai codificar e produzir temporariamente a glicoproteína *spike* integral nas células hospedeiras, ligando-se à sua superfície, com mutações que a bloqueiam na sua conformação pré-fusão, originando uma resposta imunológica de produção de anticorpos, sem o risco de adoecer com COVID-19 (Figura 11) (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Lamb, 2021).

A vacina Comirnaty é indicada para utilização a partir dos 12 anos de idade e deve ser administrada numa dose de 0,3 mL por via intramuscular após diluição em cloreto de sódio 0,9%, em duas doses (com um espaçamento de 21 a 28 dias entre cada uma) (CDC, 2021i; DGS, 2021d). Esta vacina deve ser adiada em indivíduos que apresentem doença febril ou infeção aguda e é contraindicada em indivíduos com hipersensibilidade a alguma das substâncias presentes na sua formulação ou que tenham apresentado previamente reação anafilática a uma vacina mRNA (WHO, 2021g). Não existem contraindicações à administração de Comirnaty em mulheres grávidas a partir das 21 semanas de gestação ou a amamentar, sendo que é uma vacina sem capacidade replicativa de ácido nucleico, não sendo expectável que afete negativamente a mãe ou o filho, no entanto, os estudos são ainda limitados (DGS, 2021d; Lamb, 2021).

Reações como dor, vermelhidão e inchaço no local da administração, fadiga, cefaleias, mialgias, arrepios, febre e gânglios linfáticos aumentados são bastante comuns, especialmente após a segunda dose da Comirnaty e ainda reações relacionadas com ansiedade (síncope, tonturas, palpitações, taquicardia, entre outros) de resolução rápida (DGS, 2021d; Izda, Jeffries, & Sawalha, 2021; Lamb, 2021). Podem ocorrer outras reações mais raras como miocardite e pericardite em homens mais jovens após a segunda administração da vacina, com evolução benigna (DGS, 2021d; EMA, 2021b).

Esta vacina apresenta um prazo de validade de 1 mês quando conservada a temperaturas entre 2°C a 8°C e 6 meses quando conservada entre -60°C a -90°C e uma das suas grandes limitações é a dificuldade de transporte devido à necessidade de ser armazenada a temperaturas muito baixas (DGS, 2021d; Polack et al., 2020; WHO, 2021b).

É ainda desconhecida a duração da proteção induzida pela Comirnaty, mas é possível que os indivíduos só apresentem proteção completa 7 dias após a administração da segunda dose da vacina (Lamb, 2021). Contudo, os resultados obtidos desde a implementação de Comirnaty têm sido bastante positivos, demonstrando uma redução do risco de ter doença severa de COVID-19 de cerca de 90% entre indivíduos totalmente vacinados, redução dos internamentos hospitalares e mortalidade global, durante pelo menos 6 semanas após a vacinação (Bernal et al., 2021; CDC, 2021i).

A eficácia da Comirnaty contra as variantes Alpha, Beta e Delta após a segunda dose da vacina é estimada em cerca de 93%, 75% e 88%, respetivamente (Lopez Bernal et al., 2021; WHO, 2021g).

Tal como a vacina anteriormente referida, também a **Spikevax** (mRNA-1273), anteriormente intitulada de COVID-19 Vaccine Moderna, é uma vacina de mRNA que foi desenvolvida pelo Instituto Nacional de Alergias e Doenças Infeciosas (NIAID) dos Estados Unidos da América e pela Moderna, Inc. (Izda et al., 2021). Esta vacina apresentou durante os ensaios clínicos, uma eficácia de 94,1% na prevenção da doença por COVID-19 em indivíduos totalmente vacinados, havendo uma redução na produção de anticorpos neutralizantes para as variantes Alpha, Beta, Gamma e Delta (Baden et al., 2021; Tregoning, Flight, Higham, Wang, & Pierce, 2021).

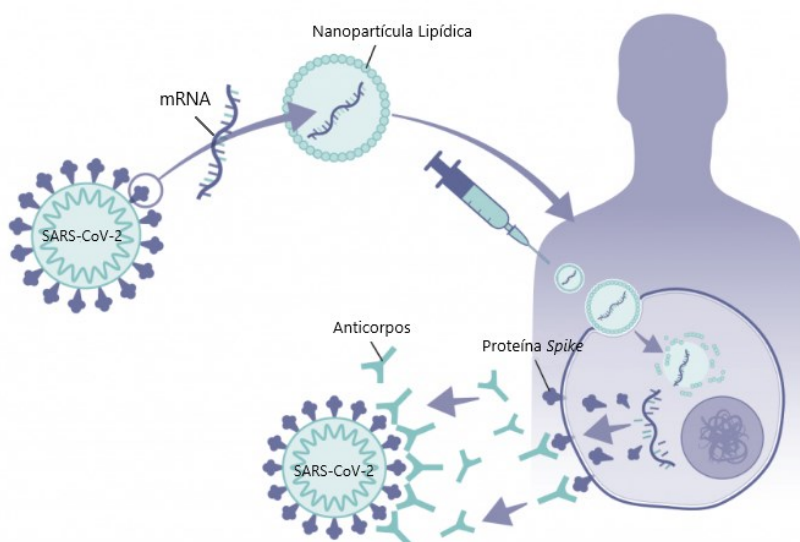


Figura 11. Mecanismo de ação de vacinas baseadas em mRNA (Adaptado de Bourgeois, 2021)

A Spikevax atua pelo encapsulamento do mRNA do SARS-CoV-2 que codifica a sequência integral da glicoproteína *spike* modificada, estabilizando-a numa conformação pré-fusão, em nanopartículas lipídicas (Rawat, Kumari, & Saha, 2021). As células e gânglios linfáticos drenantes do hospedeiro, vão ao local onde é administrada a vacina, absorver esta nanopartícula lipídica e entregar o mRNA não replicante às células hospedeiras onde ocorrerá a tradução da glicoproteína *spike* (sem qualquer interação com o genoma celular), que vai ser expressa temporariamente à superfície da célula, desencadeando resposta das células T e B do sistema imunitário, para produção de anticorpos que neutralizem o antígeno desconhecido, contribuindo para a proteção do indivíduo contra a COVID-19, sem que este tenha que contrair a doença (Chilamakuri & Agarwal, 2021).

A Spikevax é uma vacina que necessita de 2 doses de 0,5 mL administradas via intramuscular com 28 dias de intervalo para conferir proteção total e que segundo a EMA, apenas é recomendada a partir dos 18 anos de idade, havendo necessidade de mais estudos para poder ser utilizada a nível europeu a partir dos 12 anos de idade (CDC, 2021f; DGS, 2021a; Infarmed, 2021b; WHO, 2021f).

No que diz respeito às contraindicações, precauções em mulheres grávidas ou a amamentar e reações adversas (gravidade ligeira a moderada) após a administração, estas são idênticas às demonstradas para a Comirnaty (Teo, 2021).

A Spikevax apresenta um prazo de validade de 7 meses quando conservada a -25°C e -15°C e pode ser conservada entre 2°C - 8°C se for para ser utilizada no prazo máximo de 30 dias (DGS, 2021a; WHO, 2021a). Ainda se desconhece a duração da proteção

resultante da vacina, contudo os indivíduos só estarão totalmente protegidos 14 dias após a administração da segunda dose (Teo, 2021; WHO, 2021f). Esta vacina tem a desvantagem de apresentar um tempo de semi-vida e uma estabilidade baixos, no entanto, apresenta um elevado nível de proteção contra a COVID-19 e os seus benefícios parecem superar os seus riscos (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Infarmed, 2021b).

Estudos demonstram que para doentes com infeção prévia por SARS-CoV-2, uma administração única de uma vacina de mRNA parece ser protetora, induzindo um nível de anticorpos neutralizantes superior aos detetados em indivíduos que não foram previamente infetados (Saadat et al., 2021).

No que diz respeito à COVID-19 Vaccine Janssen e à Vaxzevria, estas são vacinas que utilizam um vetor viral baseado em adenovírus, que são vírus de DNA de cadeia dupla sem invólucro (dsDNA) (Figura 12) e apresentam a vantagem de obtenção de respostas imunológicas robustas e veiculação específica dos genes às células alvo (Lundstrom, 2021; Ura, Okuda, & Shimada, 2014). Este tipo de vacinas é seguro e é possível ser produzido em elevada escala, contudo pode já haver imunidade pré-existente ao adenovírus, sendo esta uma desvantagem (Ura et al., 2014).

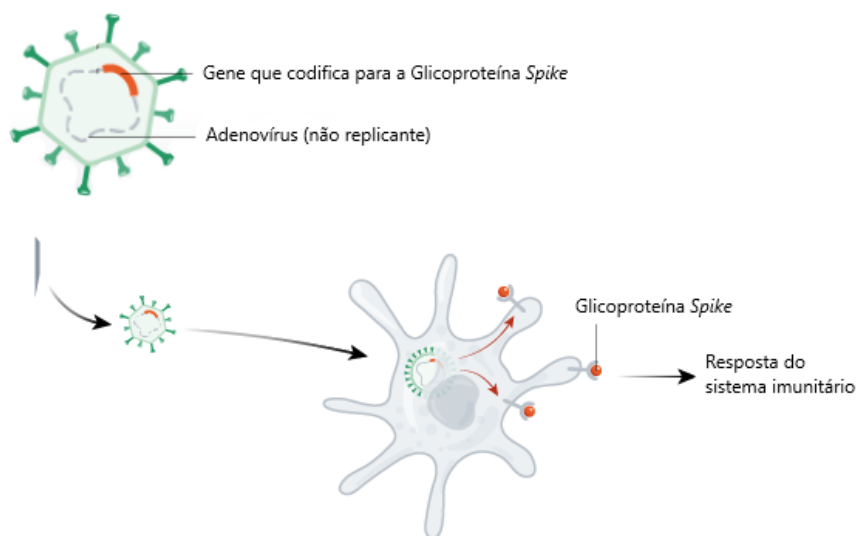


Figura 12. Mecanismo de ação de vacinas baseadas em vetores virais de Adenovírus não replicantes (Adaptado de Callaway, 2020)

COVID-19 Vaccine Janssen (JNJ-78436735) é uma vacina de vetor viral, fabricada pela Janssen Pharmaceuticals Companies of Johnson & Johnson que demonstrou uma eficácia de cerca de 67% e redução da hospitalização por COVID-19, duas semanas após a sua dose única de 0,5 mL por via intramuscular (CDC, 2021d; DGS, 2021c; Infarmed, 2021a).

O mecanismo de ação desta vacina baseia-se no uso de um vetor de adenovírus humano tipo 26 geneticamente modificado, não replicativo que vai conter no seu interior o gene que codifica a glicoproteína *spike* do SARS-CoV-2 numa conformação estabilizada, produzindo-a e expressando-a temporariamente, sendo depois reconhecida como estranha ao sistema imunitário do indivíduo e posteriormente atacada pelos anticorpos neutralizantes que serão produzidos em defesa do organismo (Infarmed, 2021a).

Esta vacina está aprovada pela EMA para administração em indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, sendo que em Portugal apenas se recomenda a sua utilização em homens a partir dos 18 anos e mulheres com idade acima dos 50 anos e é contraindicada quando há hipersensibilidade a alguma das substâncias da formulação, história de reação anafilática, Síndrome de Trombose com Trombocitopenia (TTS) e Síndrome de Transudação Capilar (STC) (DGS, 2021c; Polak FP, 2020).

Reações adversas como dor, vermelhidão e inchaço no local da administração, cefaleias, mialgias, arrepios, fadiga, febre e náuseas são algumas das mais comuns (CDC, 2021d; DGS, 2021c). Por outro lado, também se verificaram em alguns indivíduos, desmaios, sintomas de ansiedade, STC, Síndrome de Guillain-Barré (SGB) e TTS (CDC, 2021d). Os eventos trombóticos com trombocitopenia associada, foram mais comuns em mulheres com menos de 60 anos após 3 semanas da administração da vacina e alguns desses casos resultaram mesmo em fatalidade (DGS, 2021c).

Relativamente à sua administração em mulheres grávidas/amamentar, os estudos são bastante limitados, contudo, sendo uma vacina de vetor viral geneticamente modificado, não é expectável que afete negativamente o feto (DGS, 2021c). No que diz respeito à duração da proteção conferida pela COVID-19 Vaccine Janssen, ainda não existem estudos suficientes (Polak FP, 2020).

A COVID-19 Vaccine Janssen apresenta uma validade de 2 anos se armazenada entre -20°C a -15°C e 3 meses quando conservada entre 2°C a 8°C (DGS, 2021c; WHO, 2021d).

No que concerne à sua eficácia contra as diversas variantes, esta demonstrou ser 70% eficaz contra a variante Alpha, entre 57% e 72% contra a variante Beta (conforme o país onde é administrada), 68% para a variante Gamma e cerca de 60% para a variante Delta (Tregoning et al., 2021).

Vaxzevria (ChAdOx1-S), anteriormente designada de COVID-19 Vaccine AstraZeneca, é uma vacina de vetor viral, desenvolvida pela Universidade de Oxford em colaboração com a AstraZeneca, Inc. (Chilamakuri & Agarwal, 2021).

Esta vacina utiliza um vetor não recombinante, no caso, o adenovírus de chimpanzé não replicante que vai conter no seu interior, a sequência genética da proteína *spike* do SARS-CoV-2, que vai depois ser expressa localmente na conformação pré-fusão, ativando as resposta imunitárias, através dos anticorpos neutralizantes que vão atacar o SARS-CoV-2, contribuindo para a proteção contra a COVID-19 (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Infarmed, 2021c).

A vacina Vaxzevria é aconselhada para administração intramuscular em 2 doses de 0,5 mL, em que a segunda deve ser administrada 8 a 12 semanas após a primeira administração (preferencialmente 8 semanas para mais rápida proteção contra as VOC) em indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, contudo, em Portugal é recomendada a sua utilização, segundo norma da Direção Geral de Saúde, a indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos (DGS, 2021b; WHO, 2021c).

Existe contra-indicação explícita à utilização da Vaxzevria em indivíduos altamente alérgicos a algum dos seus componentes ou que tenham apresentado TTS após a primeira dose e deve ser adiada a administração a indivíduos com sintomas febris ou infeção aguda (WHO, 2021c). Os estudos em mulheres grávidas ou a amamentar são ainda limitados, contudo não apresentaram possíveis efeitos adversos para o feto (DGS, 2021b; WHO, 2021c).

As principais reações adversas observadas foram: dor, calor, prurido ou nódoa negra no local da administração, cefaleias, fadiga, mialgias, mau estar, febre, artralgias e náuseas (Infarmed, 2021c). No entanto, mais raramente pode ocorrer vómitos, diarreia, falta de apetite, tonturas, sonolência, gânglios linfáticos aumentados, sintomas de ansiedade, TTS que pode ser acompanhada de hemorragias em mulheres com menos de 60 anos de idade (com possibilidade de desfecho fatal), Síndrome de Transudação Capilar e Síndrome de Guillain-Barré (SGB) (DGS, 2021b; Infarmed, 2021c; WHO, 2021e). Apesar de poder ocorrer TTS no indivíduo vacinado, o risco de ocorrer trombozes no indivíduo com COVID-19 é 6 vezes superior, demonstrando que os benefícios associados à vacinação com Vaxzevria superam os riscos (Winton Centre Cambridge, 2021).

A Vaxzevria apresenta uma validade de 6 meses quando conservada em frigorífico entre 2°C-8°C, sendo a facilidade de armazenamento e transporte, uma das suas vantagens, adicionalmente à eficácia de 60% na doença severa, 80% na redução do risco

de hospitalização e 85% na redução da mortalidade que demonstrou (Bernal et al., 2021; Chilamakuri & Agarwal, 2021; Infarmed, 2021c; WHO, 2021c). Contudo a sua principal desvantagem é o facto de alguns indivíduos já terem anticorpos pré-existentes contra o adenovírus do chimpanzé (Chilamakuri & Agarwal, 2021).

Ainda não se sabe ao certo a duração da proteção conferida por esta vacina, mas pensa-se que a proteção total do indivíduo só seja atingida 15 dias após a administração da segunda dose, com uma eficácia de cerca de 74,5% contra a variante Alpha, 10% contra a variante Beta e 67% contra a variante Delta, sendo a sua eficácia desconhecida para a variante Gamma (CDC, 2021b; Lopez Bernal et al., 2021; Tregoning et al., 2021).

A necessidade de uma terceira administração das vacinas de mRNA (dose adicional) tem sido associada a uma baixa resposta do sistema imunológico após a segunda dose, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, incluindo aqueles submetidos a transplante de órgãos sólidos (ecdc, 2021; Kamar et al., 2021).

Por outro lado, pode haver a necessidade de uma dose de reforço em indivíduos que após vacinação bem sucedida, tiveram diminuição da proteção, havendo necessidade de a restaurar, o que apoia a futura necessidade de uma imunização sazonal anual (ecdc, 2021). A necessidade de uma dose de reforço em determinados grupos específicos é avaliada pela eficácia da vacina contra as formas mais severas da COVID-19 (ecdc, 2021).

Contudo, o facto de as vacinas reduzirem substancialmente a hospitalização por COVID-19, a forma mais severa da doença e a morte, sugere-se que não haja urgência para a administração de uma dose de reforço na população em geral, ao contrário das doses adicionais em indivíduos imunocomprometidos ou idosos residentes em instituições de cuidados continuados que devem ser consideradas com emergência (ecdc, 2021).

Com este intuito, a Comirnaty e a Spikevax estão a ser avaliadas pela FDA e pelo CDC nos EUA, e pela EMA nos países da União Europeia de modo a determinar a segurança e eficácia de uma dose de reforço ou dose adicional destas vacinas (CDC, 2021a; EMA, 2021a). O Comité de Medicamentos Humanos da EMA, sugere a administração de doses de reforço, pelo menos 6 meses após a administração da segunda dose de uma vacina para indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos com o intuito de aumentar a produção de anticorpos e consequente imunidade nestes indivíduos (EMA, 2021a).

A cargo dos organismos de saúde pública de cada país da Europa fica a organização estratégica da campanha de vacinação de reforço tendo em consideração as necessidades de cada país (EMA, 2021a)

5.2.2 Vacinas COVID-19 Sob Avaliação

Sob avaliação do Comité de Medicamentos para Uso Humano (CHMP) da Agência Europeia do Medicamento estão as seguintes vacinas (EMA, 2021d):

A **COVID-19 Vaccine (Vero Cell) Inactivated**, desenvolvida pela Sinovac Life Sciences Co., Ltd na China é uma vacina que utiliza o SARS-CoV-2 inativado quimicamente e que deve ser administrada via intramuscular a maiores de 18 anos, em 2 doses com 14 dias de intervalo e que demonstrou nos ensaios clínicos de fase 3, uma eficácia entre 50,7% e 91% (consoante os países onde foram realizados os estudos) (Tregoning et al., 2021). É uma vacina que apresenta uma eficácia entre 50% a 90% contra a estirpe original e 51% contra a variante Gamma, tendo sido inicialmente introduzida em outubro de 2020 na China e conseqüentemente na Rússia, para vacinação de grupos sujeitos a maior risco, tais como os profissionais de saúde, tendo produzido anticorpos neutralizantes 14 dias após a vacinação completa (Callaway, 2020; Chilamakuri & Agarwal, 2021; Parasher, 2021; Tregoning et al., 2021).

A **NVX-CoV2373**, desenvolvida pela Novavax CZ AS, é uma vacina baseada em subunidades de proteína, que usa uma tecnologia de nanopartículas recombinantes revestidas com uma matriz adjuvante e glicoproteínas *spike* do SARS-CoV-2 que vão bloquear a ligação da glicoproteína *spike* ao recetor ACE2, evitando o desenrolar do processo de infeção viral e desenvolvendo elevados níveis de anticorpos neutralizantes no hospedeiro, induzindo uma resposta imunológica robusta e segura na maioria da população (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Heath et al., 2021). Esta, é uma vacina que deve ser administrada via intramuscular em 2 doses, com 21 dias de intervalo a indivíduos com idade superior a 18 anos e que apresentou uma eficácia de 89% na proteção contra a infeção por SARS-CoV2 nos ensaios clínicos de fase 3 (Heath et al., 2021; Tregoning et al., 2021). No que diz respeito à eficácia da NVX-CoV2373 contra as variantes Alpha e Beta, sugere-se que seja de 86% e 60%, respetivamente (Tregoning et al., 2021).

A **Sputnik V (Gam-COVID-Vac)**, produzida pela Russia's Gamaleya National Centre of Epidemiology and Microbiology, é uma vacina de vetor viral geneticamente modificada usada para reduzir a patogenicidade e capacidade de replicação do SARS-

CoV-2 composta por duas doses intramusculares dadas a indivíduos com mais de 18 anos, em que a primeira administração vai utilizar como vetor o adenovírus 26 e a segunda administração, 21 dias depois, vai ter como vetor o adenovírus 5 não replicante (Chilamakuri & Agarwal, 2021; Tregoning et al., 2021). O uso de adenovírus pode ser uma desvantagem devido à possibilidade de existência de imunidade pré existente a este vírus (Chilamakuri & Agarwal, 2021). Esta foi a primeira vacina COVID-19 a ser registada mundialmente e está atualmente aprovada em 70 países, estando ainda em ensaios clínicos de fase 3 em muitos outros países (Chilamakuri & Agarwal, 2021; The Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology, 2021). Apresentou uma eficácia entre 92% a 97,6% para a estirpe original, e produz anticorpos neutralizantes contra as outras variantes em circulação (Alpha, Beta, Gamma e Delta) (The Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology, 2021; Tregoning et al., 2021).

A **Vidprevtyn**, desenvolvida pela Sanofi Pasteur em colaboração com a GlaxoSmithKline é uma vacina baseada numa tecnologia de proteínas de baculavírus recombinantes associadas a um adjuvante e apresenta-se em ensaios clínicos de fase 3 desde julho de 2021 efetuados em indivíduos de idade igual ou superior a 18 anos em múltiplos países (Vizient, 2021). Os ensaios clínicos de fase 2 previamente efetuados, demonstraram uma forte resposta do sistema imunitário dos indivíduos adultos saudáveis após a administração de duas doses de Vidprevtyn com 21 dias de intervalo, atingindo entre 95% a 100% de eficácia (SANOFI, 2021).

6. Síndrome Pós-COVID-19 Aguda

Apesar de todos os esforços estarem maioritariamente dedicados ao combate à infecção aguda provocada pelo SARS-CoV-2, evidências demonstram que a COVID-19 pode trazer consequências a longo prazo e que inexplicavelmente, indivíduos jovens, saudáveis e que tiveram apenas a forma mais leve da doença, continuam a apresentar sintomas após vários meses, confirmando a existência de um “*Long-COVID*” (Daugherty et al., 2021; Maltezou, Pavli, & Tsakris, 2021; Vink & Vink-Niese, 2020).

Assim, alguns doentes apresentaram após a infecção aguda por SARS-CoV-2, uma Síndrome Pós-Covid-19 Aguda (PACS), em que os sintomas desta doença persistiam entre 3 a 4 semanas ou mais, após o seu início, afetando as suas atividades diárias e diminuindo a sua qualidade de vida (Dixit, Churchill, Nsair, & Hsu, 2021; Maltezou et al., 2021; Pavli, Theodoridou, & Maltezou, 2021). A PACS pode afetar qualquer género, raça ou idade, mas é mais prevalente em doentes com comorbilidades (hipertensão, diabetes mellitus, obesidade, doença cardiovascular ou pulmonar), entre os 40 e os 60 anos de idade, em mulheres e em indivíduos que tiveram a forma mais severa de COVID-19 com necessidade de hospitalização (até cerca de 80%), comparativamente a doentes que não necessitaram de hospitalização (10 a 35%) (Figura 13) (Daugherty et al., 2021; Dixit et al., 2021; Maltezou et al., 2021; Pavli et al., 2021). Em doentes que estiveram hospitalizados, estes sintomas pós-COVID-19 podem durar até 8 ou mais semanas (Pavli et al., 2021).

Ainda são necessários mais estudos para melhor compreender a fisiopatologia associada a esta síndrome, contudo, sugere-se que seja provocada por lesões nos tecidos de alguns órgãos (pulmões, cérebro e coração), associadas a inflamação residual devido à persistência do SARS-CoV-2, ventilações e hospitalizações prolongadas, isolamento social e a uma desregulação do sistema imunitário que podem provocar sintomas como tosse, fadiga, dispneia, pouca tolerância a exercício físico, artralgia, mialgia, disgeusia, anosmia ou hiposmia, problemas cardíacos (taquicardia e dor no peito), gastrointestinais (diarreia e vômitos), cognitivos ou mentais (confusão mental, ansiedade, depressão, agressividade, irritabilidade, obsessões, compulsividade, dificuldade de concentração, Distúrbio de Stress Pós-Traumático e Síndrome de Guillain-Barré) (Pavli et al., 2021; Yong, 2021).

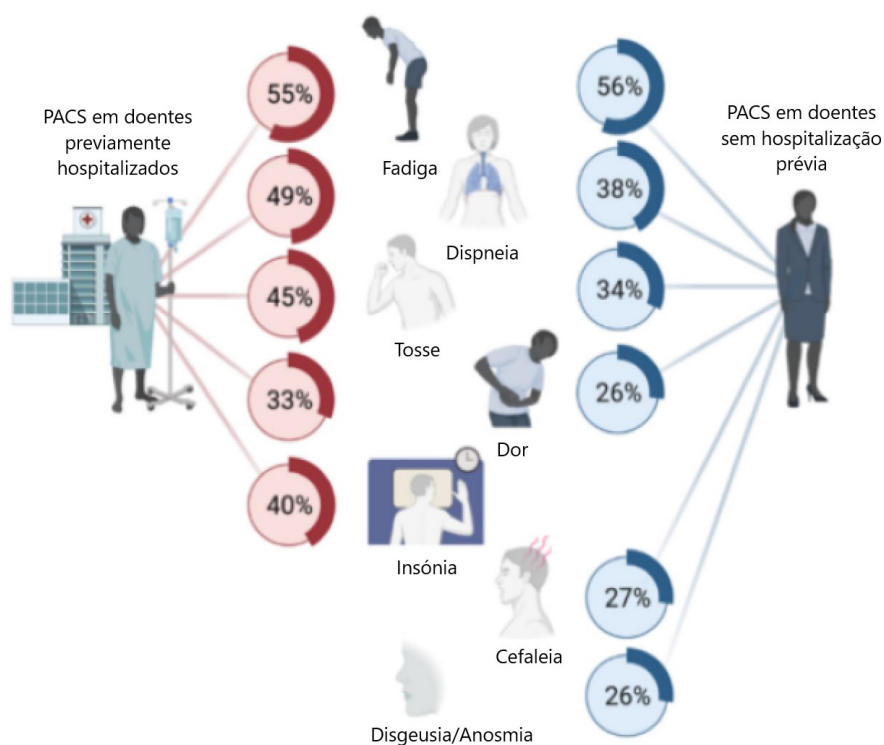


Figura 13. Prevalência dos sintomas mais comuns em doentes com PACS previamente hospitalizados em comparação com aqueles sem necessidade de hospitalização prévia (Adaptado de Jimeno-Almazán et al., 2021)

Uma das sequelas que a COVID-19 pode provocar a longo prazo é a Encefalomielite Miálgica, mais conhecida por Síndrome de Fadiga Crónica (CFS), que se caracteriza por um cansaço persistente, dores musculares em todo o corpo, sintomas depressivos e um sono não reparador, a ocorrer em até 72% dos indivíduos (Pavli et al., 2021; Wostyn, 2021). Apesar de a fisiopatologia da CFS não ser ainda totalmente compreendida, sugere-se que possa estar associada a “danos neuronais olfativos, que reduzem o fluxo de líquido cefalorraquidiano pela placa cribiforme, originando uma congestão do sistema linfático” (Wostyn, 2021). Este distúrbio na drenagem linfática, vai originar a produção de citocinas pró-inflamatórias no Sistema Nervoso Central (SNC) capazes de causar os sintomas pós-virais, pois atravessam a Barreira Hematoencefálica (BHE) no hipotálamo originando a longo prazo distúrbios do sono, deficiência cognitiva e CFS (Mardani, 2020). A obstrução desta via parece ser também o motivo pelo qual alguns doentes COVID-19 apresentam anosmia (Mardani, 2020). Este problema pode provavelmente ser resolvido através de drenagens do líquido cefalorraquidiano que ao restaurar o seu fluxo, vão evitar a sua acumulação tóxica no cérebro (Wostyn, 2021).

Atualmente o tratamento sugerido para doentes com PACS é a reabilitação, em que são feitos exercícios diários de respiração e aeróbica com grau de dificuldade crescente

durante cerca de 4 a 6 semanas até à melhoria do cansaço e dispneia, em concomitância com apoio psicológico e comportamental (Yong, 2021).

A maioria dos doentes com PACS apresenta geralmente um bom prognóstico, sem grandes complicações ou fatalidades (Pavli et al., 2021).

Apesar de o desenvolvimento de vacinas eficazes ajudar a reduzir o número de infeções agudas por SARS-CoV-2, estima-se que cerca de 5 milhões de indivíduos no planeta continuem a apresentar sintomas persistentes alguns meses após a COVID-19, devendo ser dedicada à PACS, mais atenção e mais estudos pela comunidade médica e científica de forma a serem criadas *guidelines* de diagnóstico e tratamento para estes doentes (Dixit et al., 2021; Pavli et al., 2021; Yong, 2021).

7. Conclusão

Foi no final de 2019 que ficou conhecido o novo Coronavírus, intitulado de SARS-CoV-2, que se tornou uma emergência de saúde pública de extrema relevância para a comunidade científica, ao provocar milhões de infecções e mortes por todo o globo, com o desenvolvimento da doença respiratória COVID-19.

Compreender e desenvolver mais conhecimentos relativamente às características estruturais e genéticas do SARS-CoV-2 é uma ferramenta essencial não só para o aperfeiçoamento de métodos de diagnóstico, como para a pesquisa e desenvolvimento de terapêuticas e vacinas, eficazes e seguras. Se o diagnóstico for feito numa fase precoce da doença, a intervenção terapêutica será mais benéfica do que numa fase mais avançada e a transmissão na comunidade será mais rapidamente contida, sugerindo assim a importância de procedimentos para identificação imediata de indivíduos infetados.

Os esforços da comunidade científica encontram-se maioritariamente voltados para a investigação e desenvolvimento de uma terapêutica antiviral específica e eficaz, uma vez que os resultados obtidos com os fármacos reposicionados, não foram consensuais e, portanto, ainda não existe nenhum fármaco aprovado e disponível que seja eficaz contra este vírus. A terapêutica oral de molnupiravir parece ser a esperança para a resolução deste problema, contudo, mais estudos serão necessários para avaliar o risco/benefício da sua introdução clínica.

A implementação de medidas de saúde pública e a vacinação em massa da população são a chave para a prevenção e controlo da disseminação deste vírus que pela sua elevada taxa de mutação e por ser transmitido por diversas vias, se torna tão difícil de prever e conter. Apesar das vacinas já implementadas, o estudo da forma como o SARS-CoV-2 interage com o sistema imunitário do indivíduo infetado continua a ser uma ferramenta necessária para a investigação de estratégias mais eficientes no desenvolvimento de vacinas, uma vez que este Coronavírus apresenta variantes resistentes às vacinas já desenvolvidas.

Futuramente, é imperativo continuar a apostar no estudo dos sintomas persistentes da COVID-19 em indivíduos com infeção prévia por SARS-CoV-2, com a intenção de criar protocolos de diagnóstico e tratamento para estes indivíduos.

8. Bibliografia

- Abebe, E. C., Dejenie, T. A., Shiferaw, M. Y., & Malik, T. (2020). The newly emerged COVID-19 disease: A systemic review. *Virology Journal*, *17*, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01363-5>
- Alanagreh, L., Alzoughool, F., & Atoum, M. (2020). The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens*, *9*(5). <https://doi.org/10.3390/pathogens9050331>
- Arafat, O., Khalil, K., & Khalil, S. (2020). SARS-CoV-2: taxonomia, origem e constituição, *99*(5).
- Araújo, C., Cortes, C., & Félix, M. (2020). Viver Em Tempo De Covid-19, 1–45. Retrieved from <https://ordemdosmedicos.pt/wp-content/uploads/2017/09/Manual-COVID19-4Dez2020.pdf>
- Babini, G., Bendelac, H., Droege, M., Estrada, A., Gay-Andrieu, F., Jungwirth, R., ... Prats, J. T. (2020). What types of diagnostic tests exist to detect COVID-19?, 11.
- Badal, S., Thapa Bajgain, K., Badal, S., Thapa, R., Bajgain, B. B., & Santana, M. J. (2021). Prevalence, clinical characteristics, and outcomes of pediatric COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Virology*, *135*(August 2020), 104715. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104715>
- Baden, L. R., El Sahly, H. M., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., ... Zaks, T. (2021). Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, *384*(5), 403–416. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2035389>
- Bai, H. X., Hsieh, B., Xiong, Z., Halsey, K., Choi, J. W., Tran, T. M. L., ... Liao, W. H. (2020). Performance of Radiologists in Differentiating COVID-19 from Non-COVID-19 Viral Pneumonia at Chest CT. *Radiology*, *296*(2), E46–E54. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200823>
- Bai, Y. X., Xu, Y. H., Wang, X., Sun, C., Guo, Y., Qiu, S., & Ma, K. W. (2020). Advances in SARS-CoV-2: A systematic review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *24*(17), 9208–9215. https://doi.org/10.26355/eurrev_202009_22873
- Belouzard, S., Chu, V. C., & Whittaker, G. R. (2009). Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(14), 5871–

5876. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809524106>
- Bernal, J. L., Andrews, N., Gower, C., Robertson, C., Stowe, J., Tessier, E., ... Ramsay, M. (2021). Effectiveness of the Pfizer-BioNTech and Oxford-AstraZeneca vaccines on covid-19 related symptoms, hospital admissions, and mortality in older adults in England: Test negative case-control study. *The BMJ*, 373. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1088>
- Boechat, J. L., Chora, I., & Delgado, L. (2020). Imunologia da Doença por Coronavírus-19 (COVID-19): Uma Perspetiva Para o Clínico, nos Primeiros 4 Meses da Emergência do SARS-CoV-2. *Medicina Interna*. <https://doi.org/10.24950/RSPMI/COVID19/FMUP/S/2020>
- Bourgeois, B. (2021). How were mRNA vaccines developed for COVID-19? Retrieved November 2, 2021, from <https://healthfeedback.org/how-were-mrna-vaccines-developed-for-covid-19/>
- Bracis, C., Burns, E., Moore, M., Swan, D., Reeves, D. B., Schiffer, J. T., & Dimitrov, D. (2021). Widespread testing, case isolation and contact tracing may allow safe school reopening with continued moderate physical distancing: A modeling analysis of King County, WA data. *Infectious Disease Modelling*, 6, 24–35. <https://doi.org/10.1016/J.IDM.2020.11.003>
- Bugin, K., & Woodcock, J. (2021). Trends in COVID-19 therapeutic clinical trials. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 20(4), 254–255. <https://doi.org/10.1038/d41573-021-00037-3>
- Byrne, A. W., McEvoy, D., Collins, A. B., Hunt, K., Casey, M., Barber, A., ... More, S. J. (2020). Inferred duration of infectious period of SARS-CoV-2: Rapid scoping review and analysis of available evidence for asymptomatic and symptomatic COVID-19 cases. *BMJ*, 10(8), 1–16. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-039856>
- Cai, W., Yang, J., Fan, G., Xu, L., Zhang, B., & Liu, R. (2020). Chest CT findings of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 30(1), S53–S55. <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2020.Supp1.S53>
- Callaway, E. (2020). The Race for Coronavirus Vaccines. *Nature*, 580. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.05.005>
- Cascella M, Rajnik M, & Cuomo A. (2021). Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls Publishing*, 1–15.
- CDC. (2021a). COVID-19 Vaccine Booster Shots. Retrieved November 3, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/booster-shot.html>

- CDC. (2021b). Different COVID-19 Vaccines. Retrieved November 3, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines.html>
- CDC. (2021c). How to Protect Yourself & Others. Retrieved November 4, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/prevention.html>
- CDC. (2021d). Johnson & Johnson's Janssen COVID-19 Vaccine Overview and Safety. Retrieved November 3, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/janssen.html>
- CDC. (2021e). Management of Patients with Confirmed 2019-nCoV. Retrieved November 6, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html>
- CDC. (2021f). Moderna COVID-19 Vaccine Overview and Safety . Retrieved November 2, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/Moderna.html>
- CDC. (2021g). Overview of Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19) . Retrieved November 6, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>
- CDC. (2021h). People with Certain Medical Conditions. Retrieved November 6, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/people-with-medical-conditions.html>
- CDC. (2021i). Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine Overview and Safety. Retrieved November 1, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/Pfizer-BioNTech.html>
- CDC. (2021j). Testing for COVID-19. Retrieved November 5, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/testing/index.html>
- CDC. (2021k). Understanding How COVID-19 Vaccines Work. Retrieved November 4, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/how-they-work.html>
- Ceraolo, C., & Giorgi, F. M. (2020). Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *Journal of Medical Virology*, 92(5), 522–528. <https://doi.org/10.1002/jmv.25700>
- Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J., & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *The BMJ*, 371, 1–6. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3862>
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., ... Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019.

- Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620–2629.
<https://doi.org/10.1172/JCI137244>
- Chen, H., Guo, J., Wang, C., Luo, F., Yu, X., Zhang, W., ... Zhang, Y. (2020). Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *The Lancet*, 395(10226), 809–815. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30360-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30360-3)
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., ... Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, 395(10223), 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
- Chhikara, B. S., Rathi, B., Singh, J., & FNU, P. (2020). Coronavirus SARS-CoV-2 disease COVID-19: Infection, prevention and clinical advances of the prospective chemical drug therapeutics. *Chemical Biology Letters*, 7(1), 63–72. Retrieved from <http://thesciencein.org/journal/index.php/cbl/article/view/103>
- Chilamakuri, R., & Agarwal, S. (2021). Covid-19: Characteristics and therapeutics. *Cells*, 10(2), 1–29. <https://doi.org/10.3390/cells10020206>
- Collier, A. R. Y., McMahan, K., Yu, J., Tostanoski, L. H., Aguayo, R., Ansel, J., ... Barouch, D. H. (2021). Immunogenicity of COVID-19 mRNA Vaccines in Pregnant and Lactating Women. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 325(23), 2370–2380. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.7563>
- Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N. G., & Decroly, E. (2020). The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Research*, 176, 104742. <https://doi.org/10.1016/J.ANTIVIRAL.2020.104742>
- D'Amico, C., Fontana, F., Cheng, R., & Santos, H. A. (2021). Development of vaccine formulations: past, present, and future. *Drug Delivery and Translational Research*, 11(2), 353–372. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00924-7>
- D'Cruz, R. J., Currier, A. W., & Sampson, V. B. (2020). Laboratory Testing Methods for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00468>
- Dashraath, P., Wong, J., Lim, M., Lim, L., Li, S., Biswas, A., ... Su, L. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *American Journal of Obstetrics Gynecology*, 222(6), 521–531.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.03.021>
- Daugherty, S. E., Guo, Y., Heath, K., Dasmariñas, M. C., Jubilo, K. G., Samranvedhya, J., ... Cohen, K. (2021). Risk of clinical sequelae after the acute phase of SARS-CoV-2 infection: Retrospective cohort study. *The BMJ*, 373. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1098>
- Dawson, J., Akel, M., Fonsart, J., Pong, S., Sávio, E., Soderlund, L.-A., ... Rongsheng, Z. (2020). COVID-19: Informações clínicas e orientações de tratamento. *Fip*.
- DGS. (2021a). Norma n.º001/2021 de 14/01/2021 sobre a campanha de vacinação contra a COVID-19 - Vacina Spikevax, 1–21.
- DGS. (2021b). Norma n.º003/2021 de 08/02/2021 sobre a campanha de vacinação contra a COVID-19 - Vacina Vaxzevria, 1–24.
- DGS. (2021c). Norma n.º004/2021 de 30/04/2021 sobre a campanha de vacinação contra a COVID-19 - COVID-19 Vaccine Janssen, 1–24.
- DGS. (2021d). Norma n.º021/2020 de 23/12/2020 sobre a campanha de vacinação contra a COVID-19 - Vacina COMIRNATY.
- Dhama, K., Khan, S., Sircar, S., Bhat, S., Malik, Y. S., Singh, K. P., ... Rodriguez-Morales, A. J. (2020). Coronavirus Disease 2019 - COVID-19. *American Society for Microbiology*, 33(4), 1–48. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7405836/pdf/CMR.00028-20.pdf>
- Dierks, S., Bader, O., Schwanbeck, J., Groß, U., Weig, M. S., Mese, K., ... Zautner, A. E. (2021). Diagnosing SARS-CoV-2 with Antigen Testing, Transcription-Mediated Amplification and Real-Time PCR. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2404), 1–11. <https://doi.org/10.3390/jcm10112404>
- Dixit, N. M., Churchill, A., Nsair, A., & Hsu, J. J. (2021). Post-Acute COVID-19 Syndrome and the cardiovascular system: What is known? *American Heart Journal Plus: Cardiology Research and Practice* 5, 100025, 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ahjo.2021.100025>
- Dong, Y., Dai, T., Wei, Y., Zhang, L., Zheng, M., & Zhou, F. (2020). A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00352-y>
- Doremalen, N. van, Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., ... Munster, V. J. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *Nejm*, 0–2.
- Duan, S. M., Zhao, X. S., Wen, R. F., Huang, J. J., Pi, G. H., Zhang, S. X., ... Dong, X.

- P. (2003). Stability of SARS Coronavirus in Human Specimens and Environment and Its Sensitivity to Heating and UV Irradiation. *Biomedical and Environmental Sciences*.
- ecdc. (2021). Interim public health considerations for the provision of additional COVID-19 vaccine doses. *European Centre for Disease Prevention and Control*, 12–18. Retrieved from <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-public-health-considerations-additional-vaccine-doses>
- EMA. (2021a). Comirnaty and Spikevax: EMA recommendations on extra doses and boosters. Retrieved November 3, 2021, from <https://www.ema.europa.eu/en/news/comirnaty-spikevax-ema-recommendations-extra-doses-boosters>
- EMA. (2021b). Comirnaty and Spikevax: possible link to very rare cases of myocarditis and pericarditis. Retrieved August 22, 2021, from <https://www.ema.europa.eu/en/news/comirnaty-spikevax-possible-link-very-rare-cases-myocarditis-pericarditis>
- EMA. (2021c). COVID-19 vaccines: authorised . Retrieved November 1, 2021, from <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-authorized#authorized-covid-19-vaccines-section>
- EMA. (2021d). COVID-19 vaccines: under evaluation. Retrieved November 1, 2021, from <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-under-evaluation#covid-19-vaccines-under-rolling-review-section>
- EUnetHTA. (2021). Molnupiravir for the treatment of COVID-19. *Rolling Collaborative Review*, 6–11.
- FDA. (2021). Coronavirus Disease 2019 Testing Basics. Retrieved November 5, 2021, from <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/coronavirus-disease-2019-testing-basics>
- Freeman, E. E., McMahon, D. E., Lipoff, J. B., Rosenbach, M., Kovarik, C., Desai, S. R., ... Fox, L. P. (2020). The spectrum of COVID-19–associated dermatologic manifestations: An international registry of 716 patients from 31 countries. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 83(4), 1118–1129. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.06.1016>
- Fujita, Y. (2021). Remdesivir for COVID-19. *Proceedings for Annual Meeting of The*

- Japanese Pharmacological Society*, 94(0), 1-S07-2.
https://doi.org/10.1254/jpssuppl.94.0_1-S07-2
- Gao, Q., Hu, Y., Dai, Z., Xiao, F., Wang, J., & Wu, J. (2020). The Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) in Jingmen, China. *SSRN Electronic Journal*, 2(8), 113–122.
<https://doi.org/10.2139/ssrn.3548755>
- Gavriatopoulou, M., Ntanasis-Stathopoulos, I., Korompoki, E., Fotiou, D., Migkou, M., Tzanninis, I. G., ... Dimopoulos, M. A. (2021). Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clinical and Experimental Medicine*, 21(2), 167–179.
<https://doi.org/10.1007/s10238-020-00671-y>
- Ghosn, L., Chaimani, A., Evrenoglou, T., Davidson, M., Graña, C., Schmucker, C., ... I Boutron. (2021). Interleukin-6 blocking agents for treating COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Library*, 1–67.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD013881>. www.cochranelibrary.com
- Giacomelli, A., Pezzati, L., Conti, F., Bernacchia, D., Siano, M., Oreni, L., ... Galli, M. (2020). Self-reported olfactory and taste disorders in patients with Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 infection: A cross-sectional study. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 889–890. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa321>
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., ... Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Grant, P. R., Turner, M. A., Shin, G. Y., Nastouli, E., & Levett, L. J. (2020). Extraction-free Covid-19 (Sars-CoV-2) diagnosis by RT-PCR to increase capacity for national testing programmes during a pandemic. *BioRxiv*, 19, 2–7.
<https://doi.org/10.1101/2020.04.06.028316>
- Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., ... Zhong, N. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708–1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
- Guo, L., Ren, L., Yang, S., Xiao, M., Chang, D., Yang, F., ... Wang, J. (2020). Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 778–785. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa310>
- Haque, S. K. M., Ashwaq, O., Sarief, A., & Azad John Mohamed, A. K. (2020). A comprehensive review about SARS-CoV-2. *Future Virology*, 15(9), 625–648.

- <https://doi.org/10.2217/fvl-2020-0124>
- Hartenian, E., Nandakumar, D., Lari, A., Ly, M., Tucker, J. M., & Glaunsinger, B. A. (2020). The molecular virology of coronaviruses. *Journal of Biological Chemistry*, 295(37), 12910–12934. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.013930>
- Hassan, S. A., Sheikh, F. N., Jamal, S., Ezeh, J. K., & Akhtar, A. (2020). Coronavirus (COVID-19): A Review of Clinical Features, Diagnosis, and Treatment. *Cureus*, 12(3), 1–7. <https://doi.org/10.7759/cureus.7355>
- Heath, P. T., Galiza, E. P., Baxter, D. N., Boffito, M., Browne, D., Burns, F., ... Toback, S. (2021). Safety and Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 385(13), 1172–1183. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2107659>
- Herold, T., Jurinovic, V., Arnreich, C., Hellmuth, J. C., Bergwelt-Baildon, M. von, Klein, M., & Weinberger, T. (2020). Level of IL-6 predicts respiratory failure in hospitalized symptomatic COVID-19 patients, 1–7. <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.20047381>
- Hoffmann, C., & Kamps, B. S. (2020). COVID Reference, (1), 13.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., ... Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hogan, C. A., Stevens, B. A., Sahoo, M. K., Huang, C. H., Garamani, N., Gombar, S., ... Pinsky, B. A. (2021). High Frequency of SARS-CoV-2 RNAemia and Association With Severe Disease. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(9), e291–e295. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1054>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Huang, C., Wang, Y., Xingwang Li, Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395, 497–506.
- ICTV. (2021). Virus Taxonomy. Retrieved March 4, 2021, from <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- Infarmed. (2021a). COVID-19 Vaccine Janssen. Retrieved November 3, 2021, from <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-covid-19-vaccine->

janssen

- Infarmed. (2021b). Perguntas frequentes: Spikevax. Retrieved November 2, 2021, from <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/spikevax>
- Infarmed. (2021c). Vaxzevria. Retrieved August 21, 2021, from <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/vaxzevria>
- INFARMED. (2020). Máscaras Cirúrgicas - Dispositivos Médicos (DMs) versus Aparelhos de Proteção Respiratória Filtrantes – Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), 1–4.
- INSA. (2021a). Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal - Relatório de situação 02 de novembro de 2021. Retrieved from https://insaflu.insa.pt/covid19/relatorios/INSA_SARS_CoV_2_DIVERSIDADE_GENETICA_relatorio_situacao_2021-11-02.pdf
- INSA. (2021b). Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal, accessed 30 June 2021, 2, 17–20. Retrieved from <https://insaflu.insa.pt/covid19/>
- INSA. (2021c). Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal - Relatório 31 de maio de 2021. Retrieved from https://insaflu.insa.pt/covid19/relatorios/INSA_SARS_CoV_2_DIVERSIDADE_GENETICA_relatorio_situacao_2021-05-31.pdf
- INSA. (2021d). Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal - Relatório de situação - 3 de março de 2021. Retrieved from https://insaflu.insa.pt/covid19/relatorios/INSA_SARS_CoV_2_DIVERSIDADE_GENETICA_relatorio_situacao_2021-03-03.pdf
- INSA. (2021e). Diversidade genética do novo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) em Portugal - Relatório de situação 20 de julho de 2021. Retrieved from https://insaflu.insa.pt/covid19/relatorios/INSA_SARS_CoV_2_DIVERSIDADE_GENETICA_relatorio_situacao_2021-07-20.pdf
- Izda, V., Jeffries, M. A., & Sawalha, A. H. (2021). COVID-19: A review of therapeutic strategies and vaccine candidates. *Clinical Immunology*, 222(108634), 1–12.
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., & Li, X. (2020). Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 433–440. <https://doi.org/10.1002/jmv.25682>
- Jimeno-Almazán, A., Pallarés, J. G., Buendía-Romero, Á., Martínez-Cava, A., Franco-López, F., Sánchez-Alcaraz Martínez, B. J., ... Courel-Ibáñez, J. (2021). Post-covid-

- 19 syndrome and the potential benefits of exercise. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10). <https://doi.org/10.3390/ijerph18105329>
- Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Chen, S., Zhang, W., & Duan, G. (2020). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Novel Research in Microbiology Journal*, 4(5), 955–967. <https://doi.org/10.21608/nrmj.2020.118446>
- Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W., & Duan, G. (2020). Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*, 1–17. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7232198/pdf/viruses-12-00372.pdf>
- Johns Hopkins University. (2021). Coronavirus COVID-19 (2019-nCoV) Dashboard. Retrieved October 12, 2021, from <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>
- Kamar, N., Abravanel, F., Marion, O., Couat, C., Izopet, J., & Del Bello, A. (2021). Three Doses of an mRNA Covid-19 Vaccine in Solid-Organ Transplant Recipients. *New England Journal of Medicine*, 385(7), 661–662. <https://doi.org/10.1056/nejmc2108861>
- Kampf, G., Todt, D., Pfaender, S., & Steinmann, E. (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection*, 104(3), 246–251. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>
- Khan, A., Althunayyan, S., Alsofayan, Y., Alotaibi, R., Mubarak, A., Arafat, M., ... Jokhdar, H. (2020). Risk factors associated with worse outcomes in COVID-19: A retrospective study in Saudi Arabia. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 26(11), 1371–1380. <https://doi.org/10.26719/emhj.20.130>
- Lam, T. T. Y., Jia, N., Zhang, Y. W., Shum, M. H. H., Jiang, J. F., Zhu, H. C., ... Cao, W. C. (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 583(7815), 282–285. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- Lamb, Y. N. (2021). BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval. *Drugs*, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01480-7>
- Lauer, S. A., Grantz, K. H., Bi, Q., Jones, F. K., Zheng, Q., Meredith, H. R., ... Lessler, J. (2020). The incubation period of coronavirus disease 2019 (CoVID-19) from publicly reported confirmed cases: Estimation and application. *Annals of Internal*

- Medicine*, 172(9), 577–582. <https://doi.org/10.7326/M20-0504>
- Letko, M., Marzi, A., & Munster, V. (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*, 5(4), 562–569. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0688-y>
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001316>
- Li Ruiyun, Pei Sen, Chen Bin, Song Yimeng, Zhang Tao, Yang Wan, & Shaman Jeffrey. (2020). Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV2). *Science*, 3221, 1–9. Retrieved from <http://science.sciencemag.org/>
- Liu, Y., Gayle, A. A., Wilder-Smith, A., & Rocklöv, J. (2020). The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine*, 27(2), 1–4. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa021>
- Lopez Bernal, J., Andrews, N., Gower, C., Gallagher, E., Simmons, R., Thelwall, S., ... Ramsay, M. (2021). Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. *New England Journal of Medicine*, 385(7), 585–594. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2108891>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Lu, X., Zhang, L., Du, H., Zhang, J., Li, Y. Y., Qu, J., ... Wong, G. W. K. (2020). SARS-CoV-2 Infection in Children. *The New England Journal of Medicine*, 382(17). Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32293753>
- Lundstrom, K. (2021). Viral vectors for COVID-19 vaccine development. *Viruses*, 13(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/v13020317>
- Maier, H. J., Bickerton, E., & Britton, P. (2015). Coronaviruses: Methods and protocols. *Coronaviruses: Methods and Protocols*, 1282(1), 1–282. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7>
- Majumder, J., & Minko, T. (2021). Recent Developments on Therapeutic and Diagnostic Approaches for COVID-19. *AAPS Journal*, 23(14), 1–22. <https://doi.org/10.1208/s12248-020-00532-2>

- Maltezou, H. C., Pavli, A., & Tsakris, A. (2021). Post-COVID syndrome: An insight on its pathogenesis. *Vaccines*, 9(5), 1–12. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050497>
- Mangalmurti, N., & Hunter, C. A. (2020). Cytokine Storms: Understanding COVID-19. *CellPress*, 19–25. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.06.017>
- Manuel, B., Richard, K., Sarah, T., H, H. H., F, W. A., & A, N. R. (2020). Estimating the Case Fatality Rate – a Word of Caution. *Swiss Med Wkly*, 150(w20203), 1–3.
- Mardani, M. (2020). Post COVID syndrome. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 15(2), 1–2. <https://doi.org/10.5812/archcid.108819>
- Mathuria, J. P., Yadav, R., & Rajkumar. (2020). Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *Journal of Infection and Public Health*, 13(7), 901–905. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.005>
- MERCK. (2021). Merck and Ridgeback ' s Investigational Oral Antiviral Molnupiravir Reduced the Risk of Hospitalization or Death by Approximately 50 Percent Compared to Placebo for Patients with Mild or Moderate COVID-19 in Positive Interim Analysis of Phase 3 Study, 1–6. Retrieved from <https://www.merck.com/news/merck-and-ridgebacks-investigational-oral-antiviral-molnupiravir-reduced-the-risk-of-hospitalization-or-death-by-approximately-50-percent-compared-to-placebo-for-patients-with-mild-or-moderat/>
- Mitze, T., Kosfeld, R., Rode, J., & Walde, K. (2020). Face masks considerably reduce COVID-19 cases in Germany. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(51). <https://doi.org/10.1073/pnas.2015954117>
- Monteil, V., Kwon, H., Prado, P., Hagelkrüys, A., Wimmer, R. A., Stahl, M., ... Penninger, J. M. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*, 181(4), 905–913.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.004>
- Moore, J. B., & June, C. H. (2020). Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368(6490), 473–474. <https://doi.org/10.1126/science.abb8925>
- Nunes, B., Caetano, C., Antunes, L., Silva, S., Machado, A., Rodrigues, A., ... Santos, A. P. (2021). Evolução do número de casos de COVID-19 em Portugal - relatório de nowcasting Dia 16-07-2021. *Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*. Retrieved from <https://www.insa.min-saude.pt/category/areas-de-atuacao/epidemiologia/covid-19-curva-epidemica-e-parametros-de-transmissibilidade/>
- Ogando, N. S., Ferron, F., Decroly, E., Canard, B., Posthuma, C. C., & Snijder, E. J.

- (2019). The Curious Case of the Nidovirus Exoribonuclease: Its Role in RNA Synthesis and Replication Fidelity. *Frontiers in Microbiology*, 10(1813), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01813>
- Oliveira, B. A., Oliveira, L. C., Sabino, E. C., & Okay, T. S. (2020). SARS-CoV-2 and the COVID-19 disease: A mini review on diagnostic methods. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 62, 1–8. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062044>
- Ortega, M. A., Fraile-Martínez, O., García-Montero, C., García-Gallego, S., Sánchez-Trujillo, L., Torres-Carranza, D., ... de la Torre, B. (2021). An integrative look at SARS-CoV-2 (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 47(2), 415–434. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4828>
- Ortiz-Prado, E., Simbaña-Rivera, K., Gómez- Barreno, L., Rubio-Neira, M., Guaman, L. P., Kyriakidis, N. C., ... López-Cortés, A. (2020). Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 98(1). <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115094>
- Pan, H., Peto, R., Henao-Restrepo, A.-M., Preziosi, M.-P., Yamoorthy, V. S.-, Karim, Q. A., ... Swaminathan, S. (2021). Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. *New England Journal of Medicine*, 384(6), 497–511. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2023184>
- Pan, L., Mu, M., Yang, P., Sun, Y., Wang, R., Yan, J., ... Tu, L. (2020). Clinical characteristics of COVID-19 patients with digestive symptoms in Hubei, China: A descriptive, cross-sectional, multicenter study. *American Journal of Gastroenterology*, 115(5), 766–773. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000620>
- Parasher, A. (2021). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal*, 97(1147), 312–320. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577>
- Park, S. E. (2020). Epidemiology , virology , and clinical features of severe acute respiratory syndrome -coronavirus-2 (SARS-CoV-2 ; Coronavirus Disease-19), 63(4), 119–124. <https://doi.org/https://doi.org/10.3345/cep.2020.00493>
- Pavli, A., Theodoridou, M., & Maltezou, H. C. (2021). Post-COVID Syndrome: Incidence, Clinical Spectrum, and Challenges for Primary Healthcare Professionals.

- Archives of Medical Research*, 52(6), 575–581.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.03.010>
- Pedersen, S. F., & Ho, Y. C. (2020). SARS-CoV-2: A storm is raging. *Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2202–2205. <https://doi.org/10.1172/JCI137647>
- Peeri, N. C., Shrestha, N., Rahman, M. S., Zaki, R., Tan, Z., Bibi, S., ... Haque, U. (2020). The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned? *International Journal of Epidemiology*, 49(3), 717–726. <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa033>
- Peralta-Santos, A., Nunes, B., Gomes, B. M., Nunes, C., Antunes, C., Gouveia, J., ... Felgueiras, Ó. (2021). Linhas vermelhas. Epidemia de Infecção por SARS-COV-2/COVID-19, 1–36. Retrieved from <https://www.sns.gov.pt/wp-content/uploads/2021/03/Linhas-Vermelhas.pdf>
- Perera, R. A. P. M., Tso, E., Tsang, O. T. Y., Tsang, D. N. C., Fung, K., Leung, Y. W. Y., ... Peiris, M. (2020). SARS-CoV-2 virus culture from the upper respiratory tract: Correlation with viral load, subgenomic viral RNA and duration of illness, 1–11. <https://doi.org/10.1101/2020.07.08.20148783>
- Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine*, 383(27). <https://doi.org/10.1056/nejmoa2034577>
- Polak FP, T. S. (2020). COVID-19 Vaccine Janssen . [Htps://Www.Mscbs.Gob.Es/Profesionales/SaludPublica/PrevPromocion/Vacunaciones/Covid19/Docs/Guia_Tecnica_Janssen.Pdf](https://www.mscbs.gob.es/Profesionales/SaludPublica/PrevPromocion/Vacunaciones/Covid19/Docs/Guia_Tecnica_Janssen.Pdf), 31(0), 1–10. Retrieved from https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/covid19/docs/Guia_Tecnica_Janssen.pdf
- Prats-Urbe, A., Sena, A. G., Lai, L. Y. H., Ahmed, W. U. R., Alghoul, H., Alser, O., ... Prieto-Alhambra, D. (2021). Use of repurposed and adjuvant drugs in hospital patients with covid-19: Multinational network cohort study. *The BMJ*, 373, 1–12. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1038>
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., ... Tian, D. S. (2020). Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 762–768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
- Rawat, K., Kumari, P., & Saha, L. (2021). COVID-19 vaccine: A recent update in pipeline

- vaccines, their design and development strategies. *European Journal of Pharmacology*, 892(173751), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173751>
- Reina, J. (2021). Plitidepsin, an inhibitor of the cell elongation factor eEF1a, and molnupiravir an analogue of the ribonucleoside cytidine, two new chemical compounds with intense activity against SARS-CoV-2. *Revista Española de Quimioterapia*, 0–5. <https://doi.org/10.37201/req/042.2021>
- Renhong, Y., Yuanyuan, Z., Yaning, L., Lu, X., Yingying, G., & Qiang, Z. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444–1448.
- Rizzetto, F., Perillo, N., Artioli, D., Travaglini, F., Cuccia, A., Zannoni, S., ... Vanzulli, A. (2021). Correlation between lung ultrasound and chest CT patterns with estimation of pulmonary burden in COVID-19 patients. *European Journal of Radiology*, 138(109650), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2021.109650>
- Rosen, R. J. (2020). Thrombotic complications in critically ill patients with COVID 19. *Thrombosis Research*, 191, 145–147. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.032>
- Saadat, S., Tehrani, Z. R., Logue, J., Newman, M., Frieman, M. B., Harris, A. D., & Sajadi, M. M. (2021). Binding and Neutralization Antibody Titers After a Single Vaccine Dose in Health Care Workers Previously Infected With SARS-CoV-2. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 325(14). <https://doi.org/10.1001/jama.2021.3341>
- Safiabadi Tali, S. H., LeBlanc, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpour, B., ... Jahanshahi-Anbuhi, S. (2021). Tools and techniques for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), 1–63. <https://doi.org/10.1128/CMR.00228-20>
- Sanche, S., Lin, Y. T., Xu, C., Romero-Severson, E., Hengartner, N. W., & Ke, R. (2020). The Novel Coronavirus, 2019-nCoV, is Highly Contagious and More Infectious Than Initially Estimated, 1–9. <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.20021154>
- Sanders, J. M., Monogue, M. L., Jodlowski, T. Z., & Cutrell, J. B. (2020). Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(18), 1824–1836. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6019>
- SANOFI. (2021). Sanofi and GSK COVID-19 vaccine candidate demonstrates strong

- immune responses across all adult age groups in phase 2 trial. Retrieved from <https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2021/2021-05-17-07-30-00-2230312>
- Schneider, M., Iftner, T., & Ganzenmueller, T. (2021). Evaluation of the analytical performance and specificity of a SARS-CoV-2 transcription-mediated amplification assay. *Journal of Virological Methods*, 294, 2–3. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114182>
- Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., & Ryo, A. (2020). Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(22), 2249–2251. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
- Sharma, A., Ahmad Farouk, I., & Lal, S. K. (2021). Covid-19: A review on the novel coronavirus disease evolution, transmission, detection, control and prevention. *Viruses*, 13(2), 1–25. <https://doi.org/10.3390/v13020202>
- Sheahan, T. P., Sims, A. C., Leist, S. R., Schäfer, A., Won, J., Brown, A. J., ... Baric, R. S. (2020). Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13940-6>
- Shi, H., Han, X., Jiang, N., Cao, Y., Alwalid, O., Gu, J., ... Zheng, C. (2020). Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(4), 425–434. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30086-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30086-4)
- Shi, S., Qin, M., Shen, B., Cai, Y., Liu, T., Yang, F., ... Huang, C. (2020). Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiology*, 5(7), 802–810. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.0950>
- Silva Ferreira, E. M., Gomes de Souza, B., Paiva Silva, P. W., Lopes Miranda, W., Sanzio Pimenta, R., & Fonseca Moreira Silva, J. (2020). Sars-Cov-2 - Aspectos Relacionados a Biologia, Propagação E Transmissão Da Doença Emergente Covid-19. *Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins*, 7(3), 9–17. <https://doi.org/10.20873/uftsuple2020-8859>
- Singh, B., Ryan, H., Kredo, T., Chaplin, M., & Fletcher, T. (2021). Chloroquine or hydroxychloroquine for prevention and treatment of COVID-19. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(2). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013587.pub2>

- Singh, T. U., Parida, S., Lingaraju, M. C., Kesavan, M., Kumar, D., & Singh, R. K. (2020). Drug repurposing approach to fight COVID-19. *Pharmacological Reports*, 72(6), 1479–1508. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00155-6>
- SNS24. (2021). Teste COVID-19. Retrieved November 6, 2021, from <https://www.sns24.gov.pt/guia/teste-covid-19/>
- Sofi, M. S., Hamid, A., & Bhat, S. U. (2020). SARS-CoV-2: A critical review of its history, pathogenesis, transmission, diagnosis and treatment. *Biosafety and Health*, 2(4), 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.11.002>
- Soo, K., Sun, X., Aikins, M. E., & Moon, J. J. (2020). Non-viral COVID-19 vaccine delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 169, 137–151. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.12.008>
- Struyf, T., Deeks, J., Dinnes, J., Takwoingi, Y., Davenport, C., Leeftang, M., ... A, V. den B. (2020). Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease. *Cochrane Library*, 1–81. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013665.www.cochranelibrary.com>
- Sungnak, W., Huang, N., Bécavin, C., Berg, M., Queen, R., Litvinukova, M., ... Figueiredo, F. (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature Medicine*, 26(5), 681–687. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0868-6>
- Tang, N., Li, D., Wang, X., & Sun, Z. (2020). Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(4), 844–847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
- Tang, X., Wu, C., Li, X., Song, Y., Yao, X., Wu, X., ... Lu, J. (2020). On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*, 7(6), 1012–1023. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>
- Tarighi, P., Eftekhari, S., Chizari, M., Sabernavaei, M., Jafari, D., & Mirzabeigi, P. (2021). A review of potencial suggested drugs for coronavirus disease (COVID-19) treatment, 895(173890), 1–21. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173890>
- Tenforde, M. W., Rose, E. B., Lindsell, C. J., Shapiro, N. I., & Files, D. C. (2020). Characteristics of Adult Outpatients and Inpatients with COVID-19. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(26), 841–846. Retrieved from 10.15585/mmwr.mm6926e3

- Teo, S. P. (2021). Review of COVID-19 mRNA Vaccines: BNT162b2 and mRNA-1273. *Journal of Pharmacy Practice*, 1–5. <https://doi.org/10.1177/08971900211009650>
- The Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology. (2021). About Sputnik V. Retrieved November 1, 2021, from <https://sputnikvaccine.com/about-vaccine/>
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Leung, W. S., Tam, A. R., Wu, T. C., Lung, D. C., ... Yuen, K. Y. (2020). Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(5), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)
- Tregoning, J. S., Flight, K. E., Higham, S. L., Wang, Z., & Pierce, B. F. (2021). Progress of the COVID-19 vaccine effort: viruses, vaccines and variants versus efficacy, effectiveness and escape. *Nature Reviews Immunology*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00592-1>
- Tsai, S. C., Lu, C. C., Bau, D. T., Chiu, Y. J., Yen, Y. T., Hsu, Y. M., ... Yang, J. S. (2021). Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 47(1), 3–22. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4794>
- Turoňová, B., Sikora, M., Schürmann, C., Hagen, W. J. H., Welsch, S., Blanc, F. E. C., ... Beck, M. (2020). In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science*, 370(6513), 203–208. <https://doi.org/10.1126/science.abd5223>
- Türsen, Ü., Türsen, B., & Lotti, T. (2020). Cutaneous side-effects of the potential COVID-19 drugs. *Dermatologic Therapy*, 33(4), 1–6. <https://doi.org/10.1111/dth.13476>
- Udugama, B., Kadhiresan, P., Kozłowski, H. N., Malekjahani, A., Osborne, M., Li, V. Y. C., ... Chan, W. C. W. (2020). Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS NANO*, 14(4), 3822–3835. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624>
- Ura, T., Okuda, K., & Shimada, M. (2014). Developments in viral vector-based vaccines. *Vaccines*, 2(3), 624–641. <https://doi.org/10.3390/vaccines2030624>
- Valdoleiros, S. R., Gonçalves, I. C., Silva, C., Furtado, I., Trêpa, M. B., Cipriano, A., ... Abreu, M. A. (2020). COVID-19 l Manual Clínico, 1–45.
- Vink, M., & Vink-Niese, A. (2020). Could cognitive behavioural therapy be an effective treatment for long covid and post covid-19 fatigue syndrome? Lessons from the cure

- study for q-fever fatigue syndrome. *Healthcare (Switzerland)*, 8(4), 1–17.
<https://doi.org/10.3390/healthcare8040552>
- Vizient. (2021). COVID-19 vaccine development tracker. Retrieved from
https://www.vizientinc.com/-/media/documents/sitecorepublishingdocuments/public/vizient_covid_19_vaccine_tracker.pdf
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., ... Peng, Z. (2020). Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(11), 1061–1069. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>
- Wang, M. Y., Zhao, R., Gao, L. J., Gao, X. F., Wang, D. P., & Cao, J. M. (2020). SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.587269>
- Wang, Y., Wang, Y., Chen, Y., & Qin, Q. (2020). Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 568–576. <https://doi.org/10.1002/jmv.25748>
- Weiss, S. R., & Leibowitz, J. L. (2011). *Coronavirus pathogenesis. Advances in Virus Research* (Vol. 81). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2>
- WHO. (2021a). Background document on the mRNA-1273 vaccine (Moderna) against COVID-19. *World Health Organization*, 1–41.
- WHO. (2021b). Background document on the mRNA vaccine BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) against COVID-19. *World Health Organization*, 2, 1–44.
- WHO. (2021c). COVID-19 Vaccine ChAdOx1-S [recombinant]. *COVID-19 Vaccine Explainer*, 1–7. Retrieved from <https://www.who.int/publications/m/item/chadox1-s-recombinant-covid-19-vaccine>
- WHO. (2021d). Interim recommendations for the use of the Janssen Ad26.COV2.S (COVID-19) vaccines. *World Health Organization*, 1–9.
- WHO. (2021e). Interim recommendations for use of the ChAdOx1-S [recombinant] vaccine against COVID-19. *World Health Organization*, (Interim guidance).

- Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/interim-recommendations-for-use-of-the-moderna-mrna-1273-vaccine-against-covid-19>
- WHO. (2021f). Interim recommendations for use of the Moderna mRNA-1273 vaccine against COVID-19. *World Health Organization*. Retrieved from WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/BNT162b2/2021.1
- WHO. (2021g). Interim recommendations for use of the Pfizer – BioNTech COVID-19 vaccine. *World Health Organization*, 1–7. Retrieved from WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/BNT162b2/2021.1
- Willyard, C. (2021). How antiviral pill molnupiravir shot ahead in the COVID drug hunt. *Nature*. Retrieved from <https://www.nature.com/articles/d41586-021-02783-1>
- Winton Centre Cambridge. (2021). Communicating the potencial benefits and harms of the AstraZeneca COVID-19 vaccine. Retrieved September 10, 2021, from <https://wintoncentre.maths.cam.ac.uk/news/communicating-potential-benefits-and-harms-astra-zeneca-covid-19-vaccine/>
- Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., ... Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, *581*(7809), 465–469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Lam, C. S. F., Lau, C. C. Y., Tsang, A. K. L., Lau, J. H. N., ... Yuen, K.-Y. (2012). 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 Deltacoronavi. *Journal of Virology*, *86*(7), 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
- Wostyn, P. (2021). COVID-19 and chronic fatigue syndrome: Is the worst yet to come? *Medical Hypotheses*, *146*(110469), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110469>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., ... Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, *579*(7798), 265–269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *323*(13), 1239–1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>

- Xiao, K., Zhai, J., Feng, Y., Zhou, N., Zhang, X., Zou, J. J., ... Shen, Y. (2020). Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*, *583*(7815), 286–289. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2313-x>
- Xie, X., Zhong, Z., Zhao, W., Zheng, C., Wang, F., & Liu, J. (2020). Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology*, *296*(2), E41–E45. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200343>
- Yang, Y., Xiao, Z., Ye, K., He, X., Sun, B., Qin, Z., ... Zhao, W. (2020). SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. *Virology Journal*, *17*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01369-z>
- Yong, S. J. (2021). Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infectious Diseases*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/23744235.2021.1924397>
- Younes, N., Al-Sadeq, D. W., Al-Jighefee, H., Younes, S., Al-Jamal, O., Daas, H. I., ... Nasrallah, G. K. (2020). Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel. *Viruses*, *12*(6), 582.
- Yuki, K., Fujiogi, M., & Koutsogiannaki, S. (2020). COVID-19 pathophysiology: A review. *Clinical Immunology*, *215*, 1–2. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108427>
- Zabetakis, I., Lordan, R., Norton, C., & Tsoupras, A. (2020). Covid-19: The inflammation link and the role of nutrition in potential mitigation. *Nutrients*, *12*(5), 1–28. <https://doi.org/10.3390/nu12051466>
- Zhang, L., Jackson, C. B., Mou, H., Ojha, A., Rangarajan, E. S., Izzard, T., ... Choe, H. (2020). The D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces S1 shedding and increases infectivity. *BioRxiv*, 1–18. <https://doi.org/10.1101/2020.06.12.148726>
- Zhang, Y. Z., & Holmes, E. C. (2020). A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, *181*(2), 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.035>
- Zhao, S., Lin, Q., Ran, J., Musa, S. S., Yang, G., Wang, W., ... Wang, M. H. (2020). Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *International Journal of Infectious Diseases*, *92*, 214–217. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>
- Zheng, J. (2020). SARS-CoV-2 : an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat,

16(10), 1678–1685. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45053>

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., ... Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 395(10229), 1054–1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)

Zhou, P., Yang, X. Lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>