

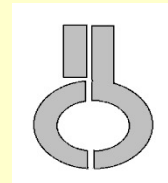
CORONAVIRUS

Integrado de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP)

para Farmácia – 0420136

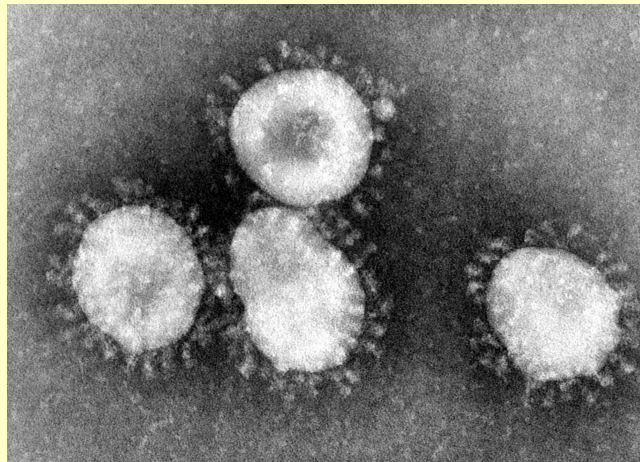
Prof. Armando Ventura

**As figuras desta apresentação que têm direitos
autorais, são aqui utilizadas para ensino
sem fins lucrativos.**



Os coronavírus são envelopados e possuem genoma RNA fita simples de polaridade positiva variando de 26 a 32 kb, e estão entre os vírus com maiores genomas de RNA.

Inicialmente foram agrupados devido à característica marcante, lembrando coroa, à microscopia eletrônica.



Inicialmente os coronavírus foram caracterizados por causar doenças em mamíferos e aves.

O primeiro a ser caracterizado foi o IBV (infectious bronchitis vírus) em 1933, que afeta criações de galinhas.

Nos anos 1961 e 62 foram isolados de humanos, como causa de resfriado comum.

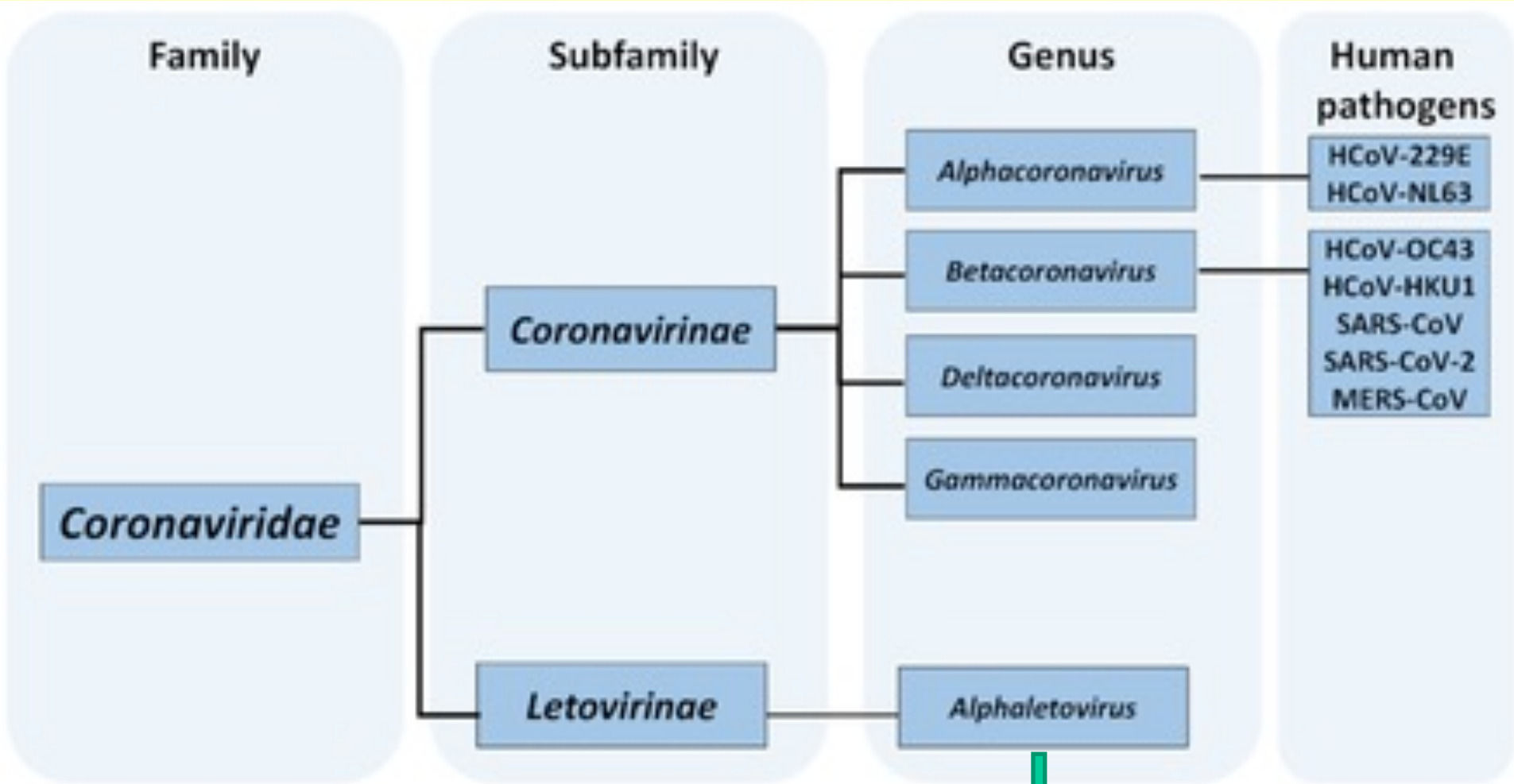
Em humanos também causam síndromes respiratórias graves.

Em aves doenças respiratórias diversas.

Em suínos e bovinos diarreia.

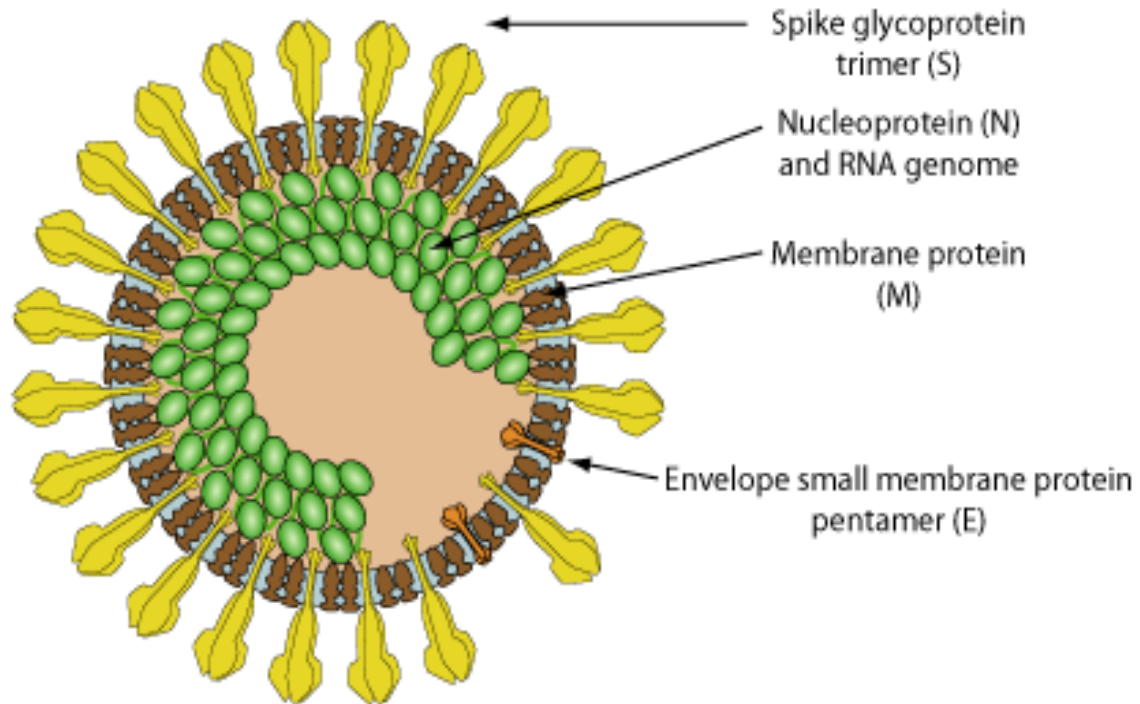
Em camundongos hepatite.

Morcegos também são infectados, até agora não há caracterização de patologias, e atuam como reservatório.



Anfibios

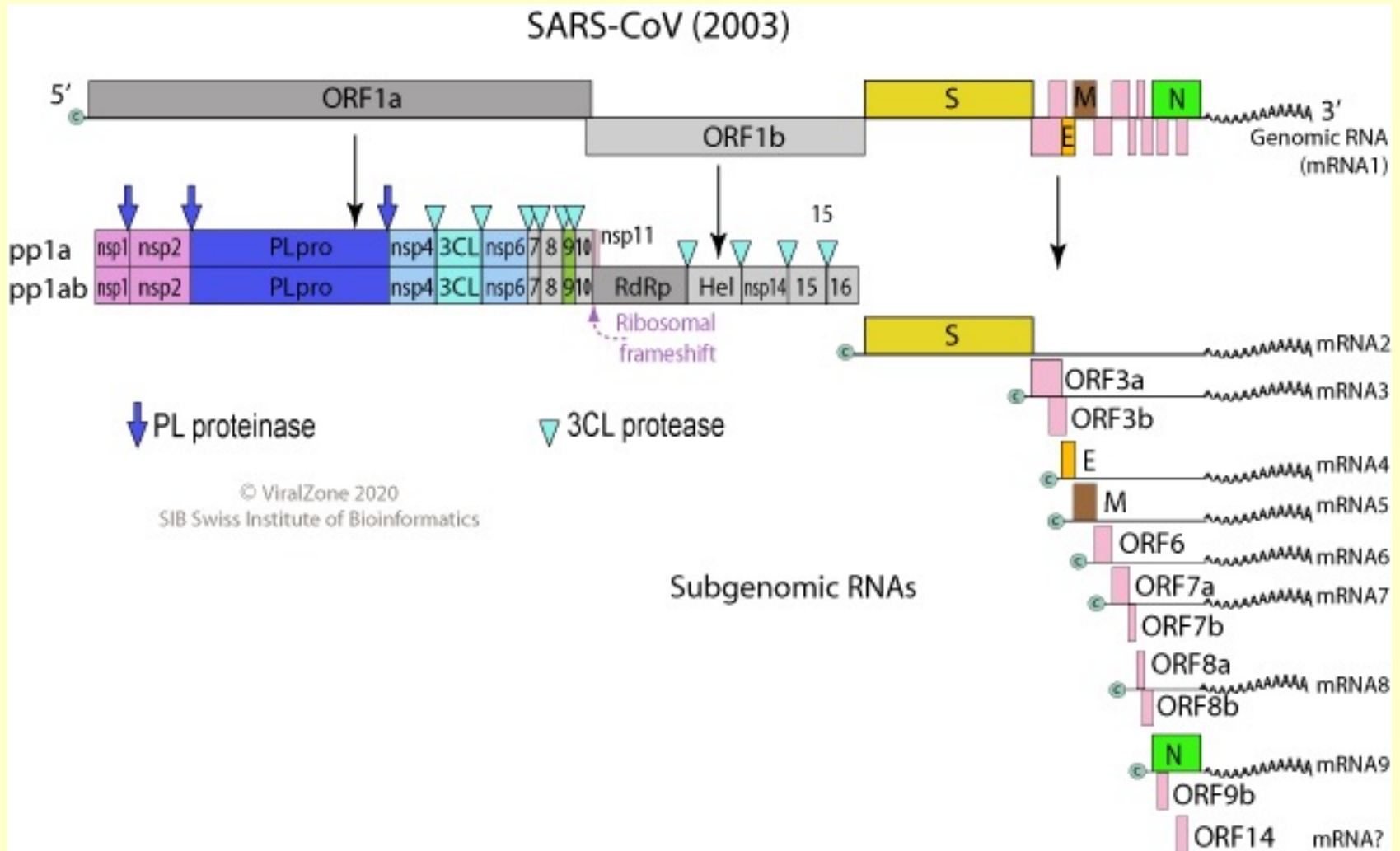
ESTRUTURA



© ViralZone 2020

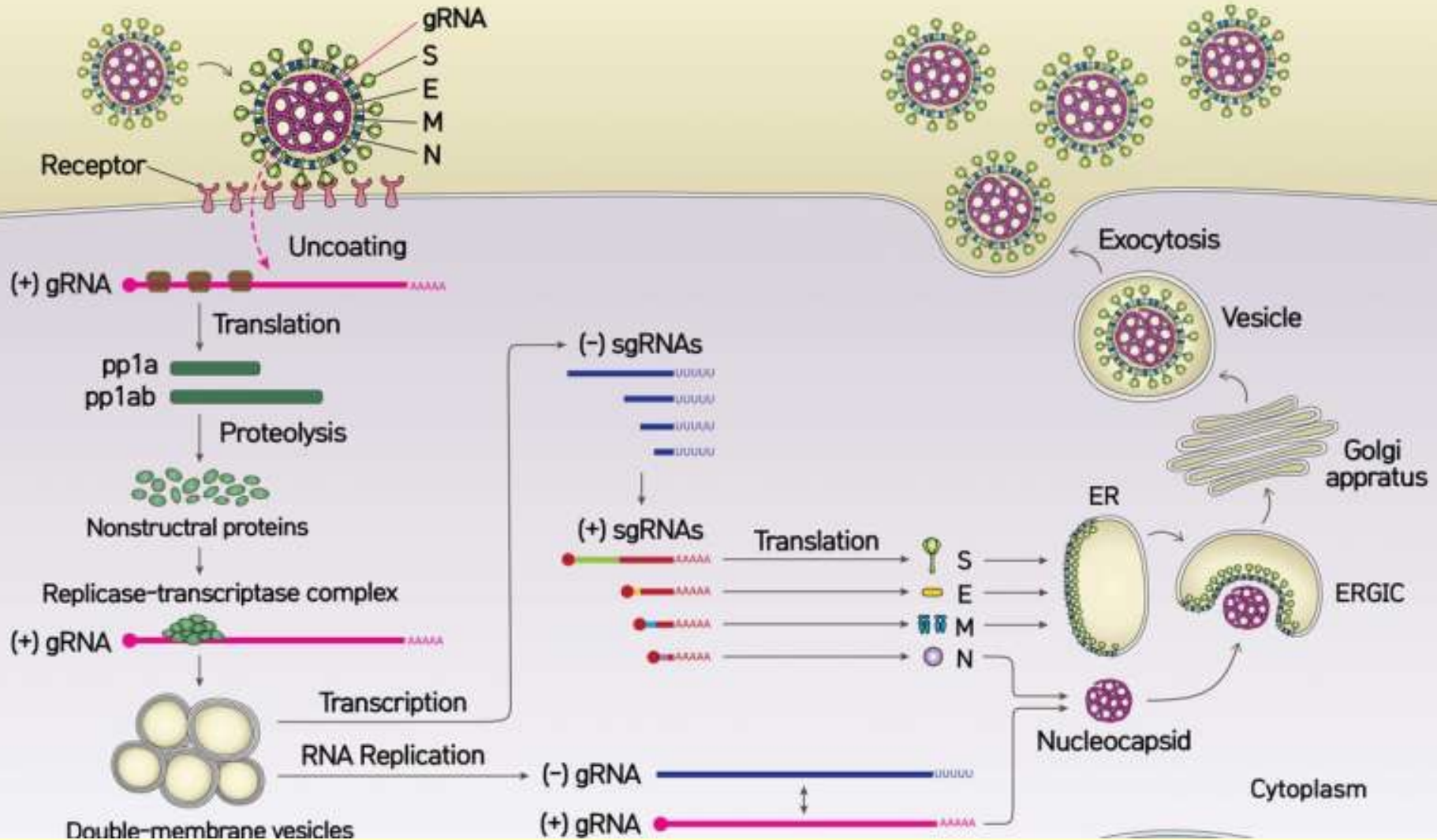
SIB Swiss Institute of Bioinformatics

GENOMA



REPLICAÇÃO

Endocitose ou fusão



PODE OCORRER CO-INFEÇÃO LEVANDO À RECOMBINAÇÃO

SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*)

2003, Guangdong China, 8.098 casos e 774 mortes
taxa de mortalidade de cerca de 9% (até 2014)

MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*)

2012, 855 casos e 333 mortes
taxa de mortalidade de cerca de 40% (até 2014)

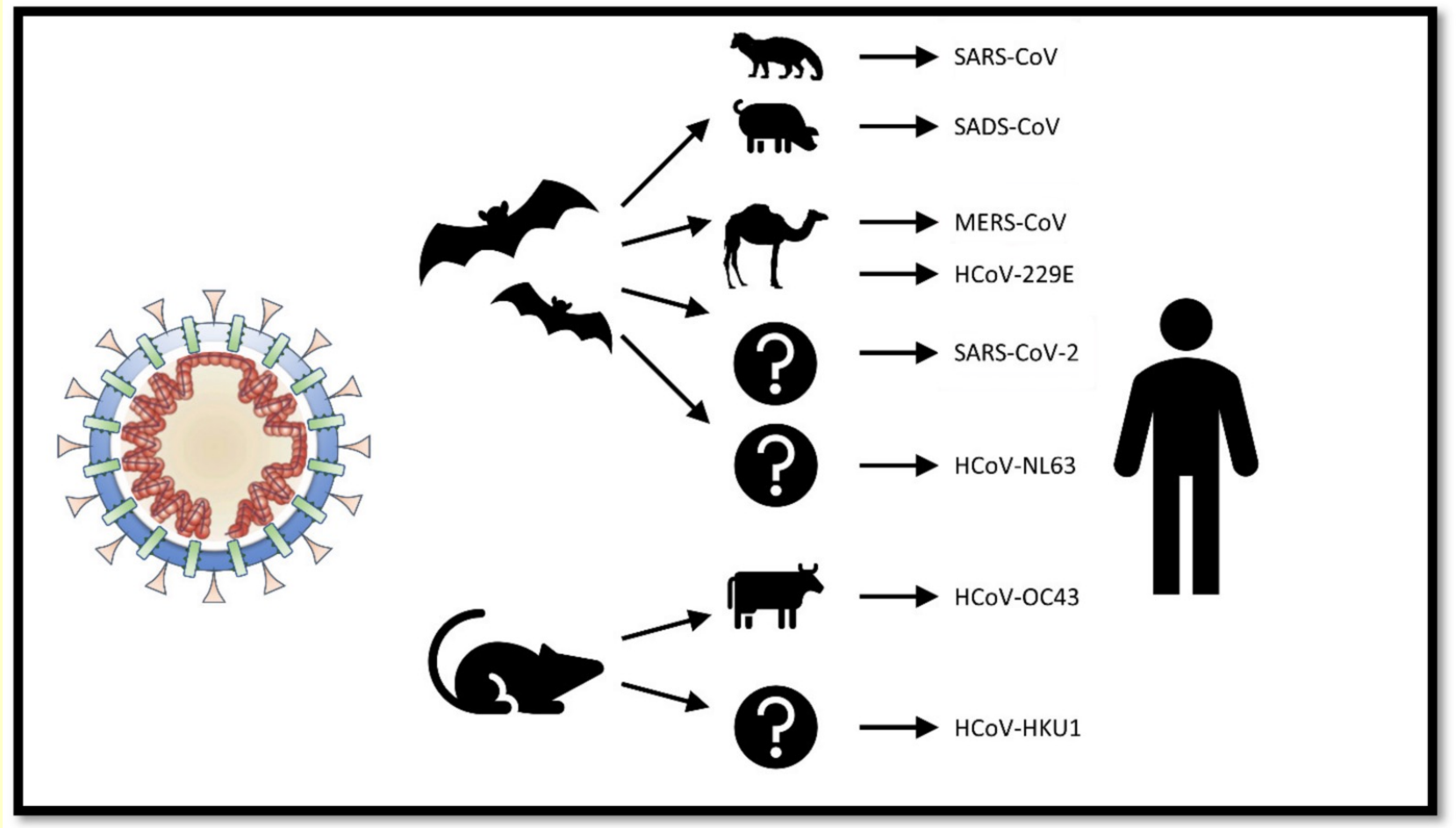
Antes desses dois surtos, acreditava-se que os
coronavírus causavam apenas infecções brandas do trato
respiratório e auto limitantes em humanos.

Em seguida surgiu a

Covid-19 provocada pelo SARS-Cov-2
Dezembro de 2019, Wuhan, Hubei, China

EVOLUÇÃO RÁPIDA

Saltos interespécies



HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1
causam sintomas leves. Resfriados sazonais.
SADS-Cov (Swine acute diarrhea syndrome coronavirus).

RECEPTORES DE DIFERENTES CORONAVÍRUS

A maioria dos α coronavirus (como HCoV-229E e TGEV) empregam aminopeptidase N (APN) como receptor.

TGEV (gastroenterite transmissível de porcos), usa aminopeptidase-N (pAPN) de porcos, verificou-se não usar a humana.

IBV (bronquite infecciosa de aves), usa ácido siálico, receptor genérico. Outras restrições impedem a quebra de barreira interespecies?

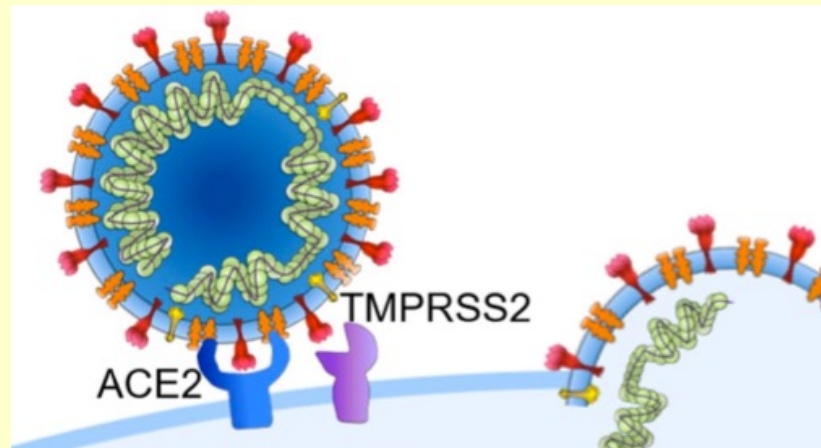
MERS-CoV liga à dipeptidil-peptidase 4 (DPP4).

HCoV-NL63, SARS-CoV, e SARS-CoV-2 utilizam enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor.

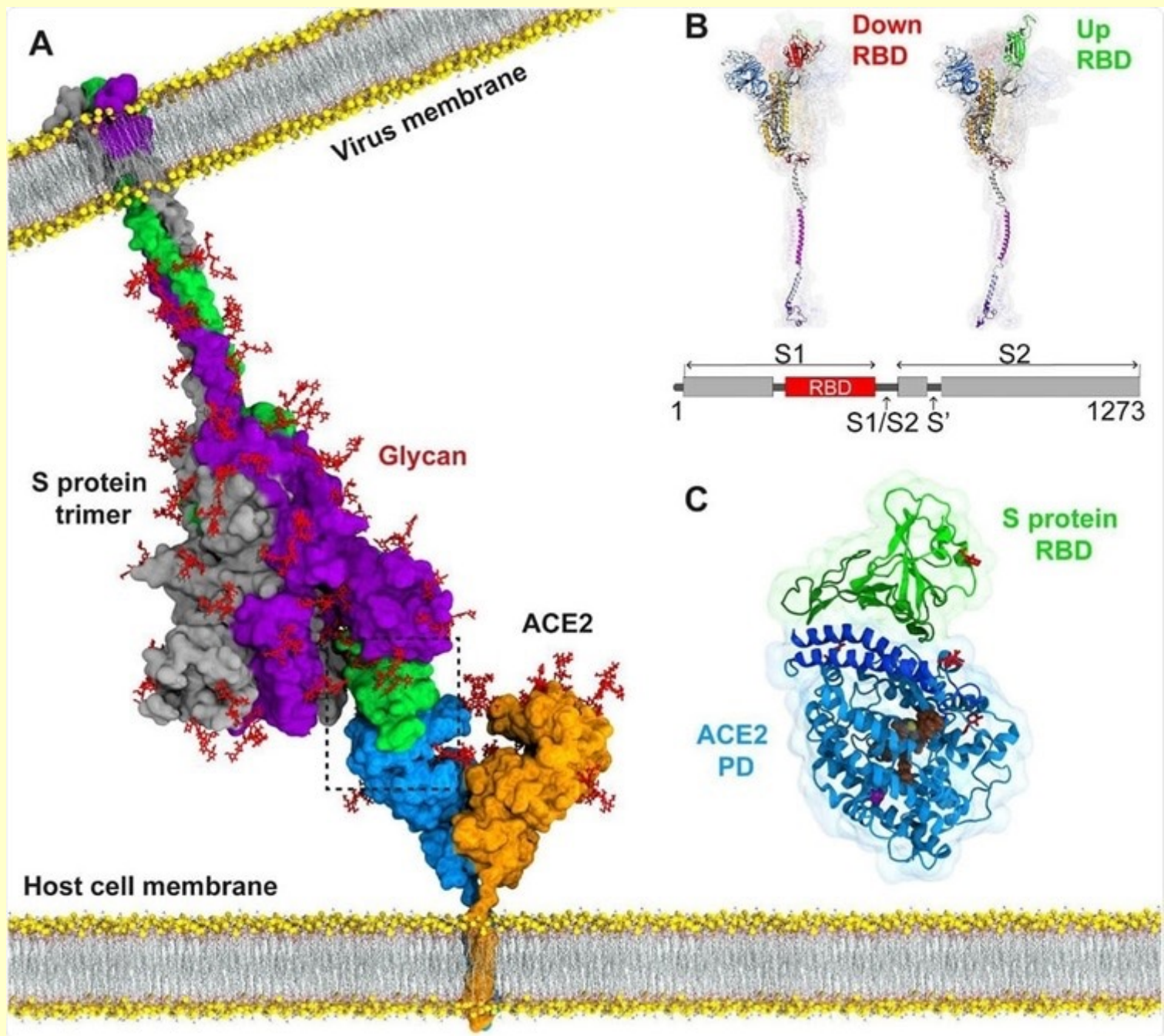
Receptores de coronavírus de morcegos são pouco caracterizados, mas há proximidade filogenética, de alguns deles com estes coronavírus humanos. Provável adaptação aos hospedeiros intermediários melhorou o “fitness”.

Enfocando um aspecto importante para os SARS-CoV:

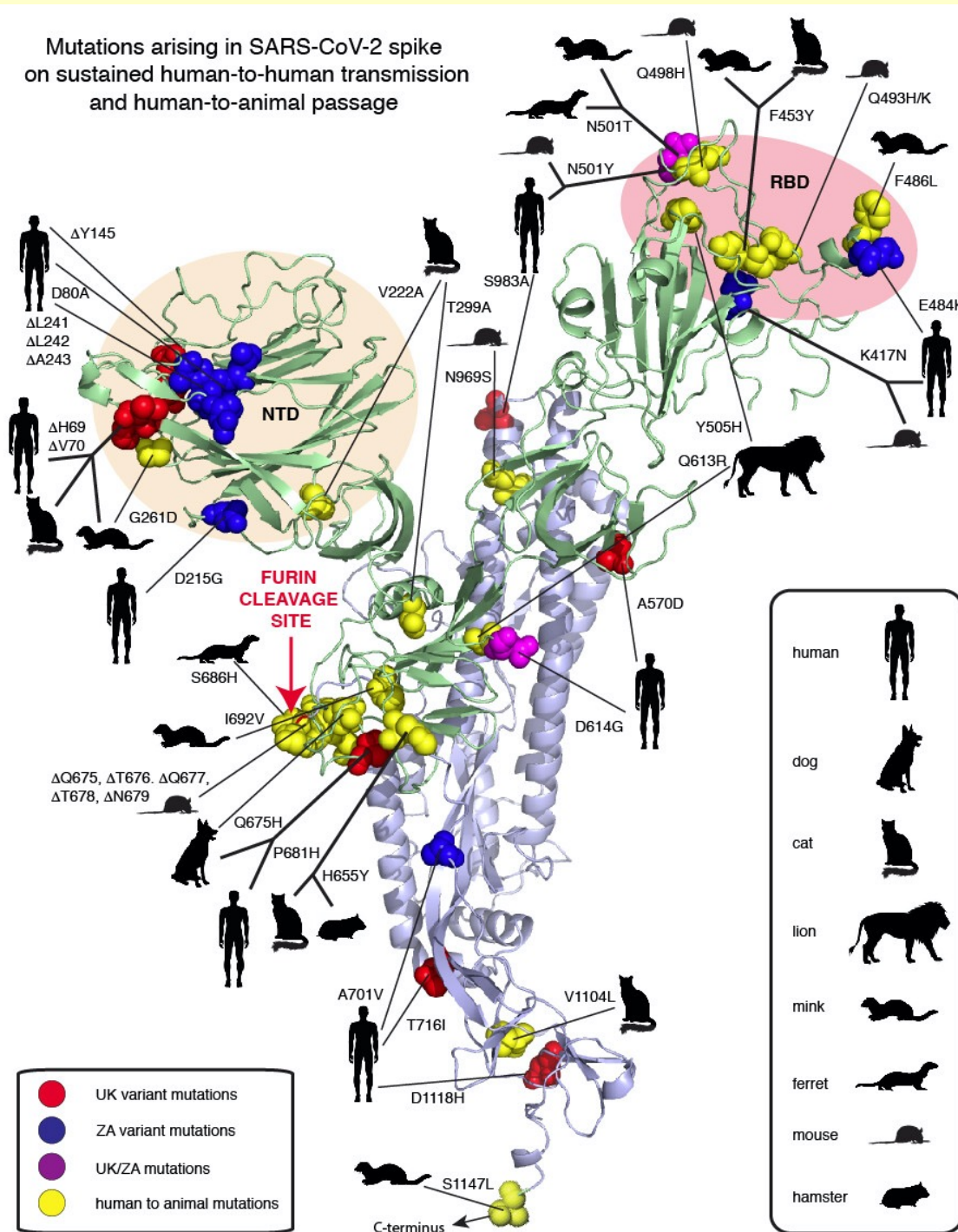
Depois da ligação ao receptor, o vírus precisa penetrar no citoplasma, o que é disparado pela clivagem proteolítica da proteína S por uma protease, TMPRSS2, ou outra protease para outros coronavírus, levando à fusão das membranas viral e celular.



Depfenhart, et al 2020



Mutations arising in SARS-CoV-2 spike on sustained human-to-human transmission and human-to-animal passage



Compilation of SARS-CoV-2 spike mutations occurring in humans and animals. Red spheres: United Kingdom (UK) variant, Blue spheres: South African (ZA) variant, Magenta: both UK/ZA variants, Yellow spheres: animals as indicated in the inset. NTD: Amino-terminal domain. RBD: Receptor binding domain. Mutations arising in SARS-CoV-2 spike on sustained human-to-human transmission and human-to-animal passage. Robert F. Garry 2021

Variante P1, mutações:
K417T, E484K, N501Y
no RBD

WHO: Home/Activities/Tracking SARS-CoV-2 variants

Currently designated Variants of Concern:

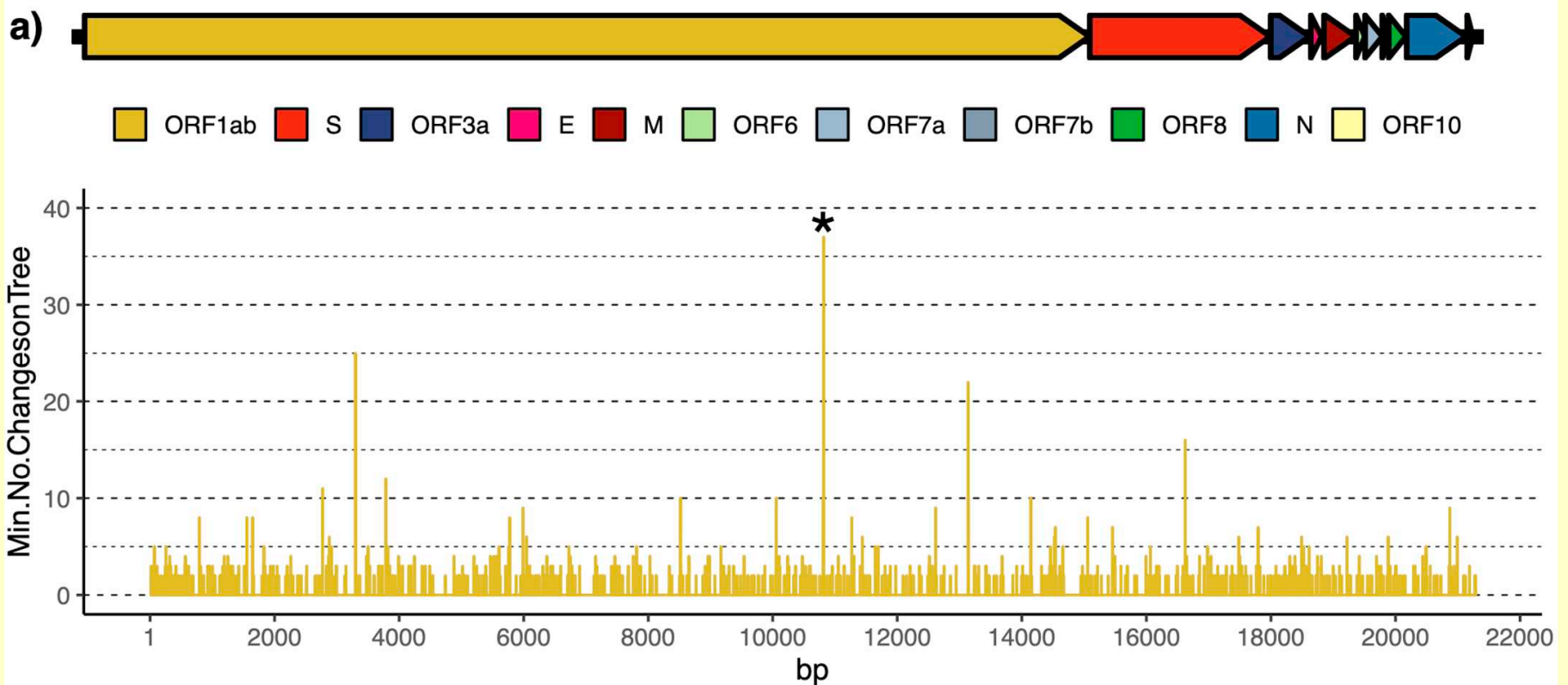
WHO label	Pango lineage*	GISAID clade	Nextstrain clade	Additional amino acid changes monitored*	Earliest documented samples	Date of designation
Alpha	B.1.1.7 #	GRY	20I (V1)	+S:484K +S:452R	United Kingdom, Sep-2020	18-Dec-2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	+S:L18F	South Africa, May-2020	18-Dec-2020
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	+S:681H	Brazil, Nov-2020	11-Jan-2021
Delta	B.1.617.2§	G/478K.V1	21A	+S:417N	India, Oct-2020	VOI: 4-Apr-2021 VOC: 11-May-2021

Currently designated Variants of Interest:

WHO label	Pango lineage*	GISAID clade	Nextstrain clade	Earliest documented samples	Date of designation
Eta	B.1.525	G/484K.V3	21D	Multiple countries, Dec-2020	17-Mar-2021
Iota	B.1.526	GH/253G.V1	21F	United States of America, Nov-2020	24-Mar-2021
Kappa	B.1.617.1	G/452R.V3	21B	India, Oct-2020	4-Apr-2021
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	21G	Peru, Dec-2020	14-Jun-2021

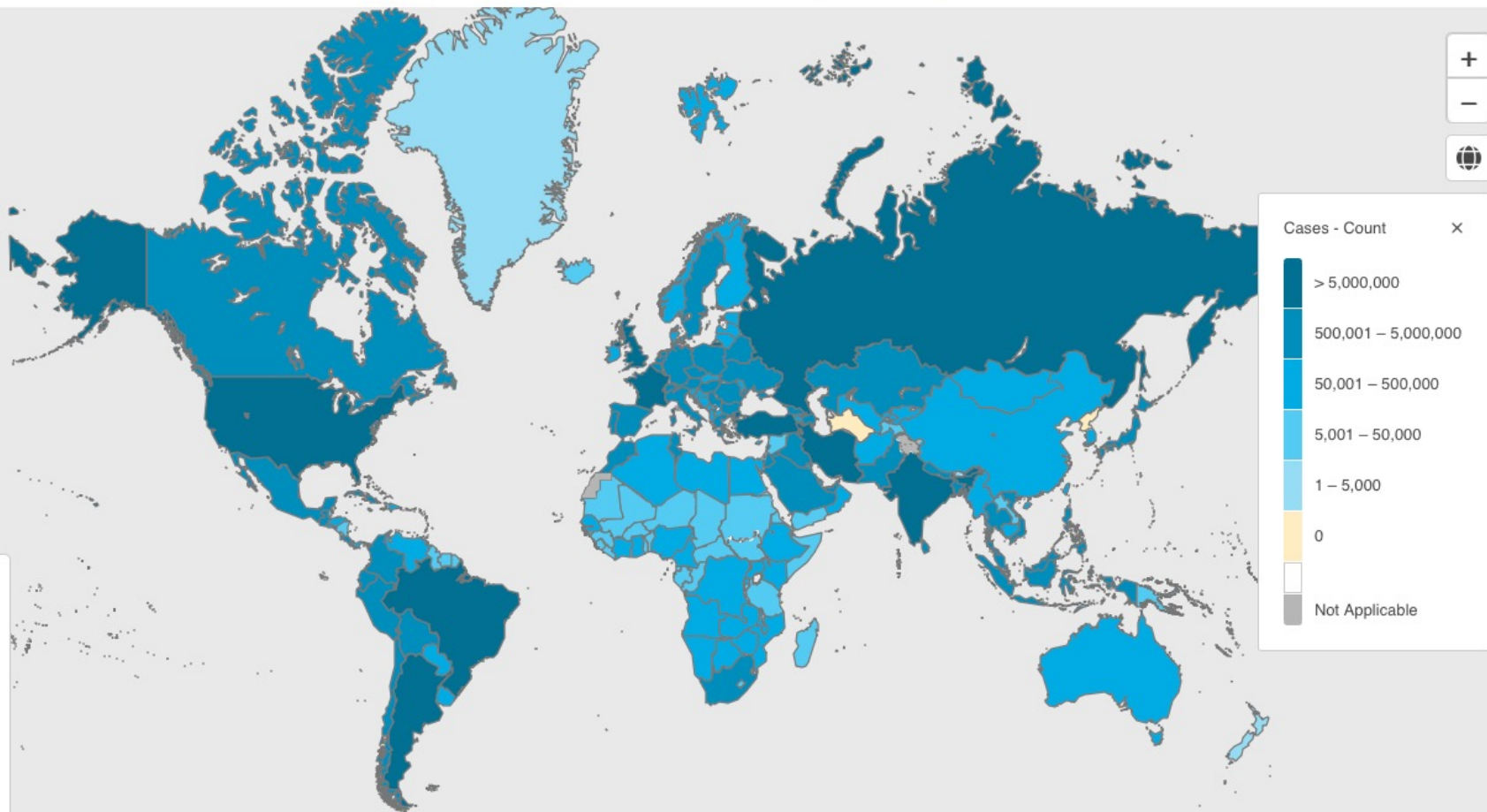
*includes all descendent lineages. The full list of Pango lineages can be found here: https://cov-lineages.org/lineage_list.html; for FAQ, visit: <https://www.pango.network/faqs/>

VARIAÇÕES EM OUTROS GENES?



Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2
van Dorp et al 2020 *Infection, Genetics and Evolution* 83 (2020) 104351

By focusing on mutations which have emerged independently multiple times (homoplasies), we identify 198 filtered recurrent mutations in the SARS-CoV-2 genome. Nearly 80% of the recurrent mutations produced non-synonymous changes at the protein level, suggesting possible ongoing adaptation of SARS-CoV-2. Three sites in Orf1ab in the regions encoding Nsp6, Nsp11, Nsp13, and one in the Spike protein are characterised by a particularly **large number of recurrent mutations (>15 events)** which may sign post convergent evolution and are of particular interest in the context of **adaptation of SARS-CoV-2 to the human host**.



Cases

Total

457,013


new cases in last 24hrs

241,411,380

cumulative cases

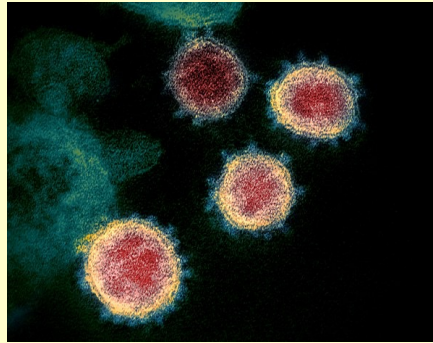
4,912,112

cumulative deaths

 Download Map Data

Globally, as of **5:09pm CEST, 20 October 2021**, there have been **241.411.380 confirmed cases** of COVID-19, including **4.912.112 deaths**, reported to WHO. As of **19 October 2021**, a total of **6.545.309.084 vaccine doses** have been administered.

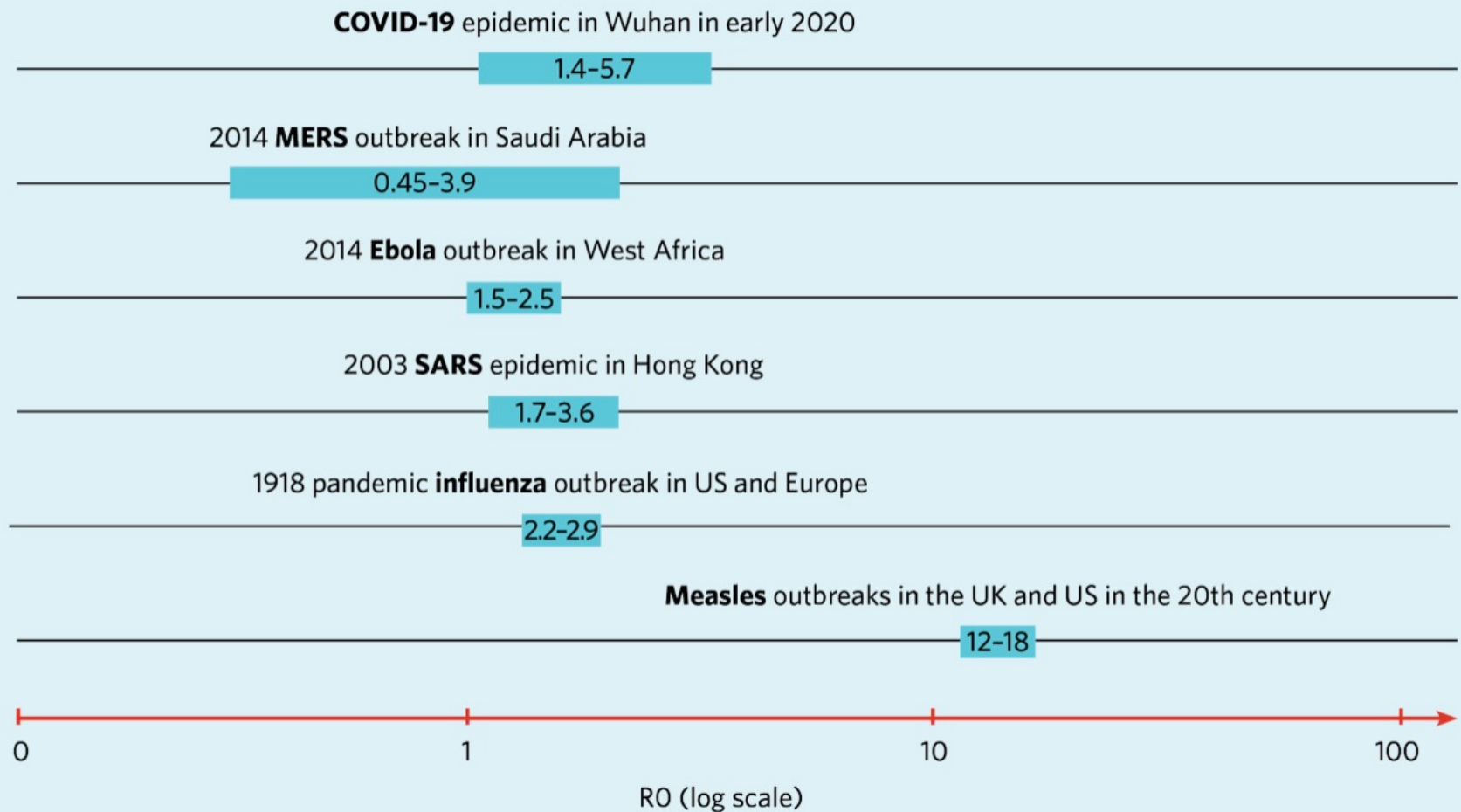
Name	Cases - cumulative total ⌵	Cases - newly reported in last 24 hours	Deaths - cumulative total	Deaths - newly reported in last 24 hours
Global	241.411.380	457.013	4.912.112	8.093
Americas	92.399.661 	145.502	2.266.491	3.672
Europe	73.921.143 	239.174	1.388.047	3.193
South-East Asia	43.664.119 	26.267	685.654	351
Eastern Mediterranean	16.166.305 	21.320	297.411	333
Western Pacific	9.140.020 	22.598	125.113	432
Africa	6.119.368 	2.152	149.383	112
 United States of America	44.771.558 	121.562	722.690	2.996
 India	34.108.996 	14.623	452.651	197
 Brazil	21.651.910 	7.446	603.465	183
 The United Kingdom	8.541.196 	43.324	138.852	223
 Russian Federation	8.094.825 	34.073	226.353	1.028
 Turkey	7.714.379 	30.862	68.060	223



A transmissão acontece de uma pessoa doente para outra ou por contato próximo por meio de:

- Gotículas de saliva;
- Espirro;
- Tosse;
- Catarro;
- Toque do aperto de mão contaminadas;
- Objetos ou superfícies contaminadas, como celulares, mesas, talheres, maçanetas, brinquedos, teclados de computador etc.

TAXA DE TRANSMISSÃO



THE SCIENTIST STAFF

Varia ao longo do tempo, dependendo de vários fatores, como adesão ao isolamento social e outras medidas de prevenção.

FATORES DE RISCO

Idade (maior risco em idosos)

Sexo (maior risco nos homens)

CO-MORBIDADES

Cardiopatias

Diabetes

Pneumopatias

Doenças renais

Imunodepressão

Obesidade

Asma

O **período** médio de incubação é de 5 dias, com intervalos que chegam a 12 dias, **período** que os primeiros sintomas levam para aparecer desde a infecção.

Doença sistêmica, atinge vários tipos celulares.

Sintomas mais comuns:

- Tosse
- Febre
- Coriza
- Dor de garganta
- Dificuldade para respirar
- Perda de olfato (anosmia)
- Alteração do paladar (ageusia)
- Distúrbios gastrintestinais (náuseas/vômitos/diarreia)
- Cansaço (astenia)
- Diminuição do apetite (hiporexia)
- Dispnéia (falta de ar)

O desfecho pode ser a **Síndrome Respiratória Aguda Grave**, letal em parte dos casos, mesmo com internação.

Quanto ao percentual de **assintomáticos** há dados indicando 80% dos infectados. Porém, não há consenso sobre esse percentual.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- De biologia molecular para detecção do genoma **até o oitavo dia** de início dos sintomas.
RT-PCR, amostra de Swab nasal.
RT-PCR-LAMP, teste rápido (amplificação + sonda marcada), saliva.
- Imunológicos para detectar a presença de anticorpos em amostras coletadas depois do período sintomático.
ELISA - Ensaio imunoenzimático.
Imunocromatografia para detecção de anticorpos (teste rápido).

Tratamento

Muitas drogas têm sido testadas *in vitro* e *in vivo*, quanto à capacidade de inibir o SARS-Cov-2, tanto já aprovadas para outras doenças (reposicionamento), quanto recém desenvolvidas.

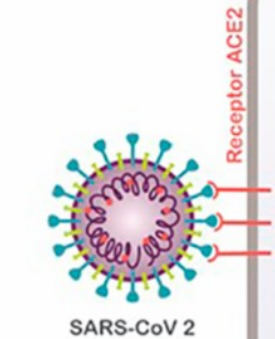
Sistemas de “screening” em larga escala, em culturas celulares infectadas pelo SARS-Cov-2, têm sido utilizados para verificar se em painéis de drogas são identificadas potenciais candidatas a testes clínicos.

Sistemas “*in silico*” para buscar moléculas que se encaixem em sítios ativos de enzimas virais ou que interfiram na ligação receptor-anti receptor, têm sido adotados para orientar a síntese de potenciais novos antivirais.

Tratamento

REPLICATION

AVLQSGFR; Phe-Phe dipeptide inhibitor C (JM1521); Dipeptidyl EP128533; GC373; GC376; β -D-N4-hydroxycytidine; 6-azauridine; 2-(benzylthio)-6-oxo-4-phenyl-1,6-dihydropyrimidine; Ribavirin; Acyclic sugar scaffold of acyclovir; Niclosamide; Mycophenolic acid (MPA); TP29 peptide; Bananins; Ivermectin, Remdesivir, Lopinavir/Ritonavir.



Receptor ACE2

Membrane fusion and RNA viral release

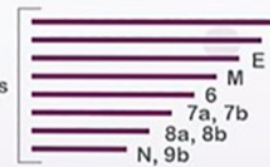
REPLICATION

+5' -3'
Genomic (+) RNA

Translation
pp1a pp1ab

REPLICASE

mRNAs



Transcription

-3' +5'
Genomic (-) RNA

+5' -3'
Genomic (+) RNA

Translation

Endoplasmic Reticulum

NUCLEUS

ERGIC

Golgi Complex

Plasma membrane

ENTRY

NAAE; Glycyrrhizin; 2-acetamido- α -D-Glucopyranosylamine derivative; Tetrahydroquinoline oxocarbazate; SSAA09E1; SSAA09E2; SSAA09E3; Emodin; Griffithsin (GRFT); Eremomycin derivate 27; Eremomycin derivate 39; Mucroporin-M1; Tyr-Lys-Tyr-Arg-Tyr-Leu; TAPI-2; Monoclonal antibody 47D11; Chloroquine; Hydroxychloroquine; Convalescent Plasm.

ENTRY

Proteolysis

RELEASE

ASSEMBLY

HOST OR VIRAL ENZYMES

Nitazoxanide; Tizoxanide; Saracatinib; Cyclosporin A (CsA); Alisporivir; Interference RNA (iRNAs); IFN- β ; Corticosteroids (dexamethasone); Tocilizumab.

Tratamento

Medicamentos com inibição in vitro verificada

Com resultados em testes clínicos

- Ligação

Plasma de convalescentes.

Soro anti SARS-Cov-2 produzido em animais.

Monoclonais produzidos em laboratório.

Induzem imunidade passiva, anticorpos ligam a Spike, promissores em teste/uso

- Entrada

Cloroquina/Hidroxicloroquina, interferem com a acidificação do lisossomo, muitos ensaios feitos, sem efeito clínico demonstrado, não recomendado

- Replicação

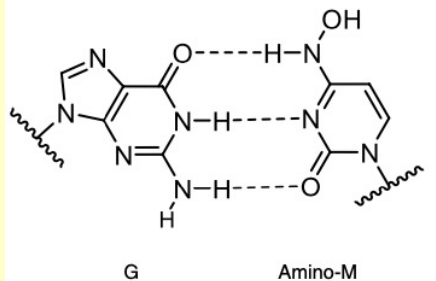
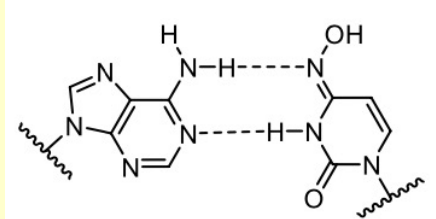
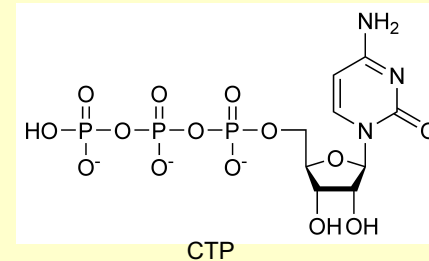
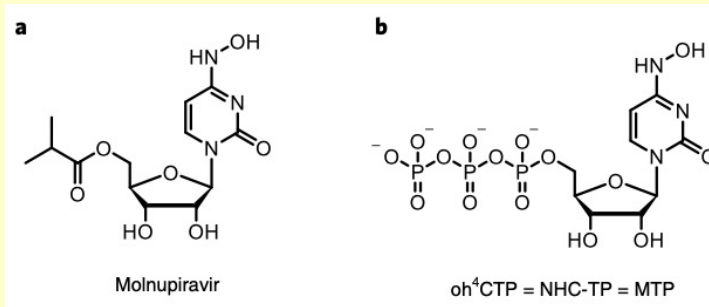
Remdesivir, inibe a RNAPol viral (desenvolvido como inibidor de transcriptase reversa), promissor em teste/uso

Lopinavir/Ritonavir, inibem a protease viral 3CL, promissor em teste/uso

Tratamento

Replicação

Molnupiravir, induz mutagênese por ação sobre a RNAPol viral, **uso oral**, promissor em teste/uso



RdRp aceita muito bem o MTP, que substitui o CTP e para com A ou G. Causa mutações, provocando uma “catástrofe de erro”.

Passo 1 incorporação



Passo 2 mutagênese



Kabinger et al. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis
Nature Structural & Molecular Biology, Vol 28 September 2021, 740–746

Tratamento

- Fatores celulares

Ivermectina, bloqueia transporte de proteínas para o núcleo inibindo resposta antiviral, sem efeito clínico demonstrado, não recomendado

Dexametasona, inibe resposta inflamatória, promissor em teste/uso

Tocilizumab, inibe IL6 bloqueando a tempestade de citocinas e resposta inflamatória, promissor em teste/uso

Devido à gravidade da pandemia de Covid-19, tem havido constantes mudanças nos protocolos clínicos, e testando drogas conhecidas para reverter os sintomas de pacientes internados, ao nível ambulatorial / UTIs, complementando oxigênio e ventilação mecânica.

Heparina, reverte coagulopatia em capilares dos alvéolos, aparentemente também interage com ACE2, bloqueando a ligação da Spike, promissor em teste/uso

PREVENÇÃO

Além do **isolamento social**, as recomendações de prevenção à COVID-19 são as seguintes:

- **Lave com frequência as mãos** até a altura dos punhos, com água e sabão, ou então higienize com álcool em gel 70%. Essa frequência deve ser ampliada quando estiver em algum ambiente público (ambientes de trabalho, prédios e instalações comerciais, etc), quando utilizar estrutura de transporte público ou tocar superfícies e objetos de uso compartilhado.
- **Ao tossir ou espirrar, cubra nariz e boca** com lenço ou com a parte interna do cotovelo. Não tocar olhos, nariz, boca ou a máscara de proteção fácil com as mãos não higienizadas. Se tocar olhos, nariz, boca ou a máscara, higienize sempre as mãos como já indicado.
- **Mantenha distância** mínima de 1 (um) metro entre pessoas em lugares públicos e de convívio social. Evite abraços, beijos e apertos de mãos.
- **Higienize** com frequência o celular, brinquedos das crianças e outro **objetos** que são utilizados com frequência.
- **Não compartilhe objetos** de uso pessoal como talheres, toalhas, pratos e copos.
- Mantenha os **ambientes limpos e bem ventilados**.
- **Evite circulação desnecessária** nas ruas, estádios, teatros, shoppings, shows, cinemas, etc.
- **Se estiver doente, evite contato** próximo com outras pessoas, principalmente idosos e doentes crônicos, busque orientação pelos canais on-line disponibilizados pelo SUS ou atendimento nos serviços de saúde e siga as recomendações do profissional de saúde.
- Durma bem e tenha uma alimentação saudável.
- Recomenda-se a **utilização de máscaras** em todos os ambientes. As máscaras funcionam como uma barreira física, em especial contra a saída de gotículas potencialmente contaminadas.

PREVENÇÃO - VACINAS

Covid-19 vaccines, to January 6th 2021

Approved by: ● Stringent regulators ● Other regulators

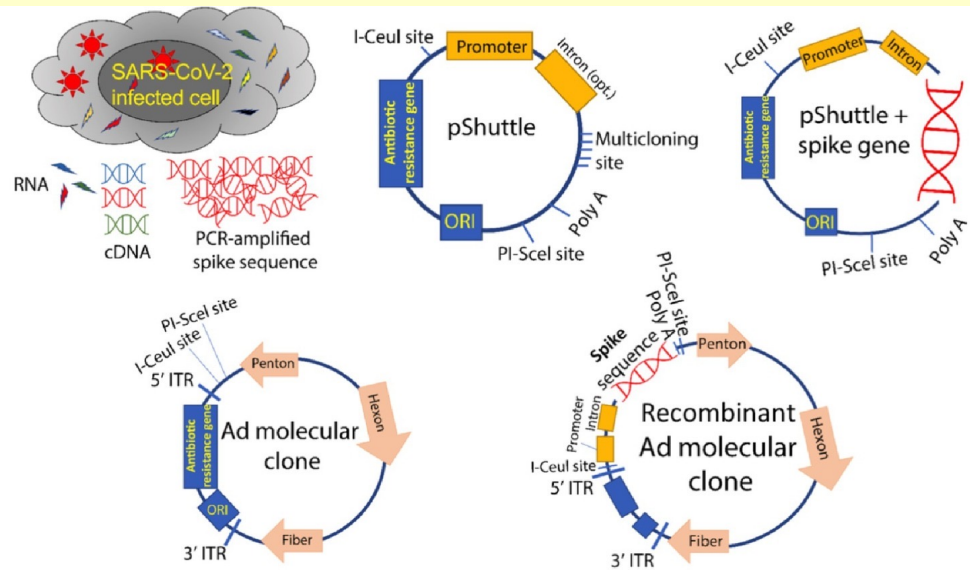
Producer	Name	Type
● AstraZeneca-Oxford Uni.	AZD1222†	Viral vector
Novavax	NVX-CoV2373	Protein subunit
● Pfizer-BioNTech	tozinameran	mRNA
● Sinopharm	BBIBP-CorV	Inactivated
● Gamaleya Centre	Sputnik V	Viral vector
Johnson & Johnson	JNJ-78436735	Viral vector
● Sinovac Biotech	CoronaVac	Inactivated
● Moderna	mRNA-1273	mRNA
● Bharat Biotech-ICMR	Covaxin	Inactivated
CureVac	CVnCoV	mRNA

Sources: Regulatory Affairs Professionals Society; The Economist Intelligence Morgan Stanley; press reports; government websites; company websites

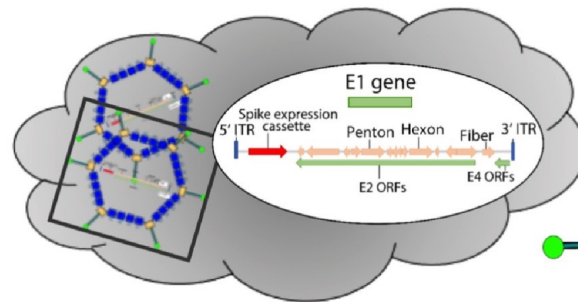
The Economist

Ordenadas pela capacidade de produção

Step 1: Isolate RNA from SARS-CoV-2 infected cells, clone amplified spike sequence into pShuttle vector, clone expression cassette from pShuttle into the Ad molecular clone.



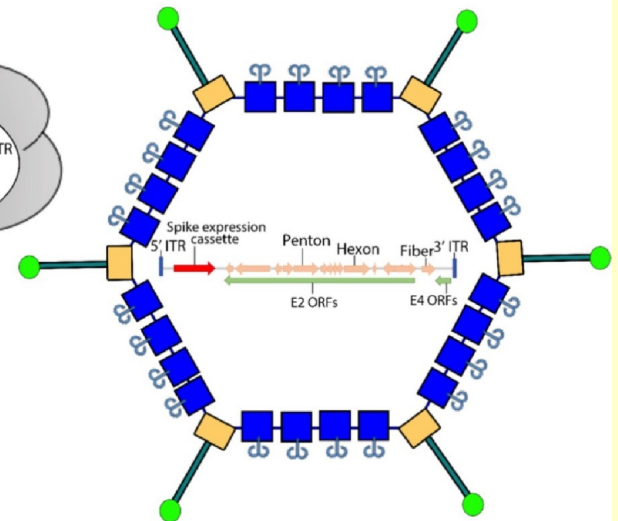
Step 2: Transfect E1 helper cell line with linearized Ad molecular clone. Amplify, purify, and quality control rescued Ad vector.

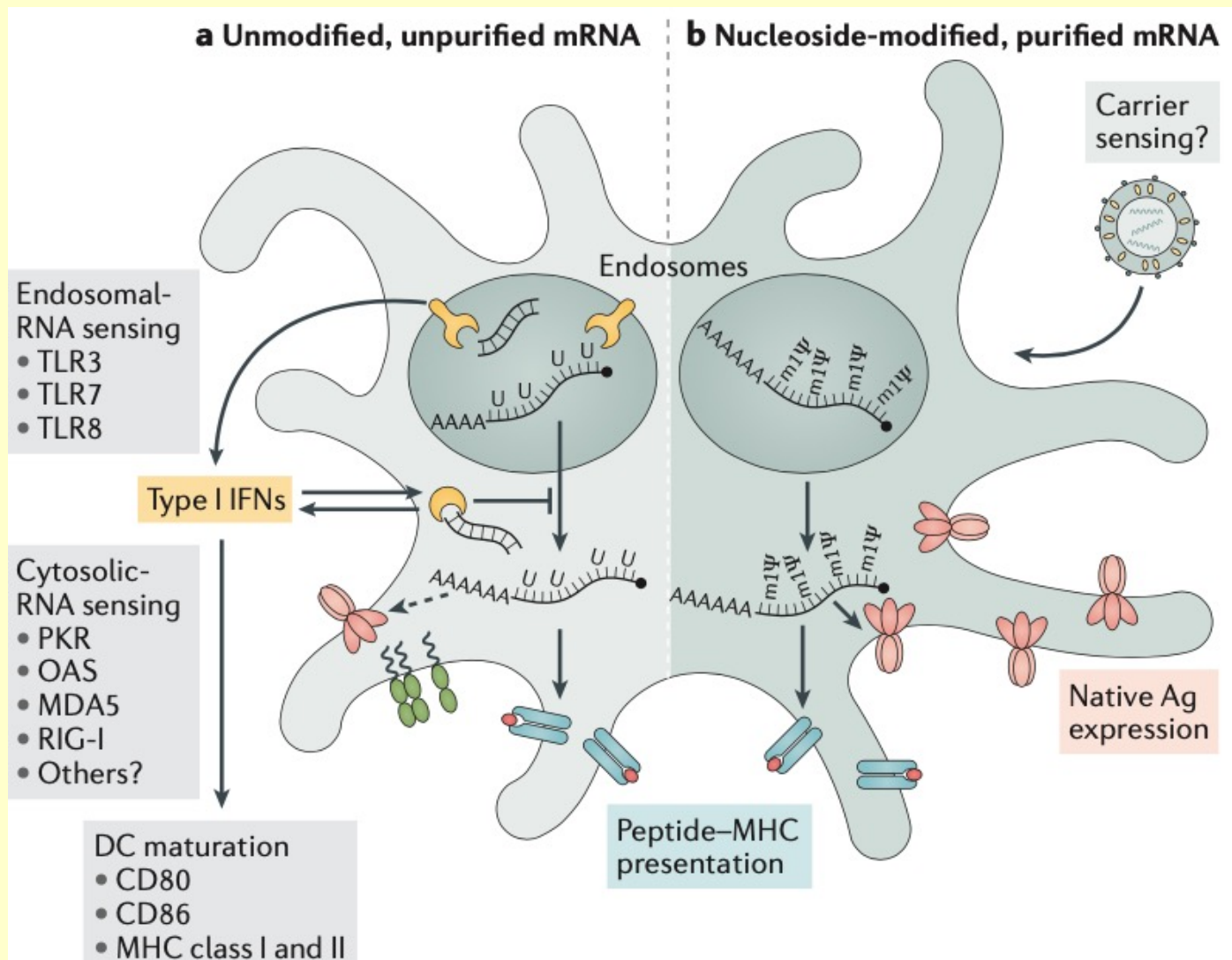


Step 3: Conduct preclinical animal experiments.

Step 4: Conduct clinical trials.

Step 5: Gain regulatory approval for use in humans.





Summary Information on Vaccine Products in Clinical Development

1. - Number of vaccines in clinical development

112

2. - Number of vaccines in pre-clinical development

184

3. - Candidates in clinical phase

Filter

All

Select phase of development (default is all)

Platform		Candidate vaccines (no. and %)	
PS	Protein subunit	38	34%
VVnr	Viral Vector (non-replicating)	17	15%
DNA	DNA	11	10%
IV	Inactivated Virus	16	14%
RNA	RNA	18	16%
VVr	Viral Vector (replicating)	2	2%
VLP	Virus Like Particle	5	4%
VVr + APC	VVr + Antigen Presenting Cell	2	2%
LAV	Live Attenuated Virus	2	2%
VVnr + APC	VVnr + Antigen Presenting Cell	1	1%

112

VARIANTES DO VÍRUS X EFICIÊNCIA DAS VACINAS

Há escape (ex.: a vacina da AstraZeneca tem eficácia diminuída contra a variante sul africana).

Ações:

Incorporar variantes (principalmente no RBD da spike), o que já está sendo feito.

Incorporar outros antígenos virais, além da spike, também em teste.

Aula a seguir:
Imunidade aos microrganismos - Sars-Cov-2

Como a resposta imune e fatores inerentes ao hospedeiro interferem na resposta à infecção e à vacinação.

Guia de estudos

Quais características da estrutura da partícula viral e do genoma dos coronavírus são marcantes?

Que características diferenciam a replicação dos coronavírus dos demais vírus com genoma RNA fita simples de polaridade positiva?

O que na evolução e patogenia dos coronavírus passou a chamar mais a atenção dos virologistas e das autoridades de saúde mundiais no começo deste século?

Como pode ocorrer variabilidade genética nos coronavírus, e que impactos isso pode ter na dinâmica da pandemia de Covid-19?

Que etapas da replicação do SARS-Cov-2 são alvo de drogas antivirais? Descreva brevemente o mecanismo de ação das drogas promissoras.

Quais fatores de risco e co-morbidades impactam o desenvolvimento da covid-19?

A obtenção de vacinas eficazes contra SARS-Cov-2 foi rápida, tendo sido utilizadas várias estratégias de desenvolvimento, tanto as já em uso quanto as em fase experimental. Escolha duas delas que ache mais interessantes, pesquise sobre elas e descreva como funcionam.