



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

SARA MIRANDA VEIGA DOS SANTOS

***MORTE RELACIONADA COM A COVID-19: O QUE
PODEMOS APRENDER COM A AUTÓPSIA MÉDICO-
LEGAL?***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA LEGAL

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROF^ª. DOUTORA HELENA MARIA DE SOUSA FERREIRA E TEIXEIRA
MESTRE CARLA MICHELLE MARQUES CARREIRA

ABRIL 2022

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**MORTE RELACIONADA COM A COVID-19: O QUE PODEMOS
APRENDER COM A AUTÓPSIA MÉDICO-LEGAL?**

SARA MIRANDA VEIGA DOS SANTOS¹

PROF^a. DOUTORA HELENA MARIA DE SOUSA FERREIRA E TEIXEIRA^{1,2}

MESTRE CARLA MICHELLE MARQUES CARREIRA^{1,2}

¹ Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

² Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.

Morada Institucional do Orientador:

Pólo III- Ciências da Saúde, Unidade Central, R/C

Azinhaga de Santa Comba, Celas

3000-548 Coimbra

E-mail do Orientador:

hteixeira@fmed.uc.pt

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	6
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE FIGURAS	9
I – RESUMO.....	10
I – ABSTRACT	11
II – INTRODUÇÃO	12
III – OBJETIVO.....	14
IV – CONTRIBUIÇÃO PESSOAL/ESTUDO DE REVISÃO	15
IV.1 – CONTEXTUALIZAÇÃO	15
IV.1.1 – O que é um vírus?	15
IV.1.2 – A família de Coronavírus.....	16
IV.1.3 – Vírus SARS-CoV-2	19
IV.2 – DA EPIDEMIA À PANDEMIA – DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	20
IV.2.1 – Origem do SARS-CoV-2: de Epidemia a Pandemia.....	20
IV.2.2 – Dados Epidemiológicos	21
a) Incidência.....	21
b) Estatística Mundial – Número de infecções e óbitos	22
c) Estatística Nacional – Número de infecções, internamentos e óbitos.....	22
IV.3 – A DOENÇA COVID-19.....	23
IV.3.1 – Infecção e mecanismos de interação.....	24
IV.3.2 – Transmissão da Covid-19	25
a) Transmissão Vertical e Perinatal	26

b) Transmissão pessoa-animal e animal-pessoa.....	26
IV.3.2.1 – Prevenção da transmissão.....	26
IV.3.3 – Diagnóstico.....	27
a) TAAN.....	27
b) TRAg.....	28
c) Autotestes.....	28
d) Testes Serológicos.....	29
e) Exames de Imagem	29
IV.3.4 – Manifestações Clínicas da Covid-19.....	30
IV.3.4.1 – A nível pulmonar.....	30
IV.3.4.2 – A nível cardiovascular.....	30
IV.3.4.3 – A nível gastrointestinal.....	31
IV.3.4.4 – A nível hepático	32
IV.3.4.5 – A nível hematológico.....	32
IV.3.4.6 – A nível neurológico	32
IV.3.4.7 – A nível renal.....	33
IV.3.4.8 – A nível endócrino	33
IV.3.4.9 – A nível dermatológico	33
IV.3.5 – Estratégias Terapêuticas	34
IV.5.1 – Medicamentos	34
IV.5.2 – Terapia de suporte.....	35
IV.5.3 – Vacinação.....	35
IV.4 – MORTE VERSUS AUTÓPSIA MÉDICO-LEGAL.....	37
IV.4.1 – Autópsia Anatomo-Patológica e Autópsia Médico-Legal.....	38

IV.4.2 – Autópsias COVID-19	39
IV.4.3 –Riscos e Perigos.....	40
IV.4.4 – Segurança e Prevenção da Transmissão do Virus	41
a) Equipamento pessoal.....	41
b) Sala de autópsias.....	42
c) Manuseamento do cadáver	42
d) Limpeza da sala e equipa	42
IV.4.5 – Exames e Recolha de Amostras	43
IV.4.6 – Virtópsia	44
IV.4.7 – Achados Autópticos	45
a) Achados pulmonares.....	45
b) Achados cardiovasculares	47
c) Achados do sistema urinário	47
d) Achados hepáticos.....	48
e) Achados cerebrais	48
f) Achados hematológicos	49
g) Achados dermatológicos.....	49
h) Achados ao nível de outros órgãos.....	50
IV.4.8 – Conclusões médico-legais	50
V – CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES FINAIS	52
VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

AGRADECIMENTOS

Na realização do presente trabalho, pude contar com o apoio direto ou indireto de múltiplas pessoas, às quais sinto a necessidade de prestar os meus agradecimentos.

Agradeço à Professora Doutora Helena Teixeira, por ter aceite orientar o meu trabalho. A orientação prestada, o seu incentivo, paciência, disponibilidade e apoio desde o início foram imprescindíveis para a realização do mesmo.

Agradeço à Mestre Carla Carreira, por ter aceite a orientação do meu trabalho. A ajuda e apoio foram um fator relevante na realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais, Carlos e Isabel, por me terem incentivado sempre a seguir os meus sonhos e objetivos. Não existem palavras para agradecer o carinho, força e apoio académico desde o início do meu percurso.

Agradeço a todos os meus restantes familiares, por estarem sempre presentes e apoiarem todas as minhas decisões.

Agradeço aos meus amigos por estarem presentes nos bons e maus momentos, pela ajuda e apoio que sempre demonstraram.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ACDP – Advisory Committee on Dangerous Pathogens
- ACE 2 – Enzima Conversora de Angiotensina tipo 2
- ACTH – Hormona Adrenocorticotrófica
- aPTT – Tempo de Tromboplastina Parcial
- APP – Proteína Percursora Amilóide
- AVC – Acidente Vascular Cerebral
- CID – Classificação Internacional de Doenças
- COVID-19 – Corona Virus Disease 2019
- DIC – Coagulação Intravascular Disseminada
- DGS – Direção Geral da Saúde
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica
- ECMO – Oxigenação por Membrana Extracorporal
- EPI – Equipamento de Proteção Individual
- GDAP – Proteína Ácida Fibrilar Glial
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- IL-1 β – Interleucina 1 β
- IL-6 – Interleucina 6
- IP-10 – Proteína induzida por interferão-gama 10
- MERS-CoV – Coronavírus de Síndrome Respiratória do Médio Oriente
- NSP – Proteínas não estruturais
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- PLP – Proteína Proteolipídica
- PT – Tempo de Protrombina
- RBD – Domínio de Ligação ao Recetor
- RdRp – RNAPolimerases dependentes de RNA
- RNA – Ácido Ribonucleico

RT- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase de transcriptase reversa

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

SDRA – Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

TAAN – Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos

TC – Tomografia Computorizada

TMPRSS2 – Protease transmembranar- serina 2

TMPRSS11D – Protease transmembranar- serina 11D

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral α

TRAg – Testes Rápidos de Antígeno

VOCs – Variantes de Preocupação

VOIs – Variantes de Interesse

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura típica do Coronavírus (80-20 nm), incluindo várias proteínas estruturais.....17
- Figura 2.** Primeiro modelo 3D dos Coronavírus. *Fonte:* Alissa Eckert, Dan Higgins, in Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2020.....19
- Figura 3.** Evolução de novos casos diários mundiais, desde 22 de janeiro 2020 até 16 de março de 2022.....22
- Figura 4.** Evolução do número de casos diários, em Portugal, desde 2 de março de 2020 a 14 de março de 2022.....23
- Figura 5.** Entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. A infeção começa com a ligação da proteína spike ao recetor ACE2 através de proteases da célula hospedeira (cathepsin, TMPRSS, furin e trypsin representadas no esquema). A seguir, o SARS-CoV-2 liberta o seu RNA para a célula hospedeira.....25
- Fig. 6.** Raio-x torácico: opacidades bilaterais e padrão de vidro despolido.....29
- Figura 7.** Lesão alveolar difusa macroscopicamente e microscopicamente. 1a: Corte transversal de pulmão vermelho e robusto. 1b: Microscopia com menor ampliação, mostrando lesão alveolar difusa do lado esquerdo e parênquima relativamente normal do lado direito. 1c: lesão alveolar difusa com membranas hialinas proeminentes.....46

I – RESUMO

O SARS-CoV-2 foi descrito pela primeira vez em dezembro de 2019, em Wuhan, na China. Este vírus infeta as células através da ligação ao seu recetor, o ACE2, altamente expresso nas células epiteliais do trato respiratório. A doença designou-se COVID-19, tendo sido considerada uma pandemia a 11 de março de 2020. Esta doença apresenta diversas manifestações clínicas com diferentes graus de gravidade tendo a vacinação sido essencial para a redução no número de internamentos e mortes.

A autópsia médico-legal, tendo como objetivo o esclarecimento da causa de morte e das circunstâncias que a rodearam, pode também ser uma excelente ferramenta para o estudo da doença, com a compreensão dos seus mecanismos fisiopatológicos. No início da pandemia, existiu grande receio na realização de autópsias devido ao número reduzido de recursos e, acima de tudo, pelo risco incerto de contágio durante o procedimento. No entanto, com a existência de algumas medidas que permitem a redução do risco de contágio, como uso de equipamento pessoal adequado, uma sala de autópsias segura, o correto manuseamento do cadáver, etc, as autópsias tornaram-se, assim, possíveis e começaram a ser realizadas em alguns países.

Os achados autópticos ajudam a determinar a causa de morte, através de uma descrição macroscópica e microscópica, sendo fundamentais para a compreensão da fisiopatologia do vírus. Efetivamente, o órgão mais afetado pela COVID-19 é o pulmão e o achado mais frequentemente descrito é lesão alveolar difusa. São, no entanto, encontradas outras alterações em vários sistemas, como no cardiovascular, por exemplo, coagulopatia e compromisso hemodinâmico. Estão descritas, também, alterações noutros órgãos e as partículas virais do SARS-CoV-2 são positivas numa grande parte dos mesmos. As causas de morte mais frequentemente relatadas constituem falência respiratória e multiorgânica. Porém, o estabelecimento de uma causa de morte exata é difícil. Todas as descobertas revelam a complexidade da fisiopatologia do vírus e a sua capacidade de provocar doença grave, mas a causa de morte parece ser multifatorial, pelo que o vírus aparece como um fator contributivo para doentes com diversas comorbilidades.

Em suma, a manutenção da realização de autópsias é extremamente importante, não somente para a contínua avaliação do mecanismo de infeção, que pode permitir novos tratamentos eficazes no combate a esta pandemia, como também para não mascarar outra causa de morte, como uma morte violenta e/ou de causa desconhecida.

Palavras-chave: SARS-COV-2, COVID-19, autópsia médico-legal, causa de morte.

I – ABSTRACT

SARS-CoV-2 was first described in December 2019, in Wuhan, China. This virus enters cells by binding to its receptor, ACE2, which is highly expressed in the epithelial cells of the respiratory tract. The disease was called COVID-19, and it was considered a pandemic on March 11, 2020. This disease has several clinical manifestations with different degrees of severity, and vaccination was essential to reduce the number of hospitalizations and deaths.

The medico-legal autopsy, with the objective of clarifying the cause of death and the circumstances that surrounded it, can also be an excellent tool for the study of the disease, with the understanding of its pathophysiological mechanisms. At the beginning of the pandemic, there was great fear in carrying out autopsies due to the reduced number of resources and, above all, the uncertain risk of contagion during the procedure. However, with the existence of measures that allow the reduction of the risk of contagion, such as the use of adequate personal equipment, a safe autopsy room, the correct handling of the corpse, etc., autopsies started to be carried out in some countries.

The autopsy findings help to determine the cause of death, through a macroscopic and microscopic description, being fundamental for the understanding of the pathophysiology of the virus. Indeed, the most affected organ by COVID-19 is the lung, and the most frequently described finding is diffuse alveolar damage. However, other alterations in the cardiovascular system are found, such as coagulopathy and hemodynamic compromise. Changes in other organs are also described, and SARS-CoV-2 viral particles are positive in most of them. The most frequently reported causes of death are respiratory and multiorgan failure. However, establishing an exact cause of death is difficult. All findings reveal the complexity of the pathophysiology of the virus and its ability to cause severe illness, but the cause of death appears to be multifactorial, so the virus appears as a contributing factor for patients with several comorbidities.

In summary, autopsies are extremely important, not only for the continuous evaluation of the infection mechanism, which can allow new effective treatments to combat this pandemic, but also for not masking another cause of death, such as a violent death and/or of unknown cause.

Keywords: SARS-COV-2, COVID-19, medico-legal autopsy, cause of death.

II – INTRODUÇÃO

O vírus da COVID-19 foi reconhecido, pela primeira vez, em dezembro de 2019, em Wuhan, na China, devido ao aparecimento de pneumonias graves em pessoas que visitaram o mercado de marisco e vida selvagem¹. Foi então assumido que este mercado terá sido a origem da atual pandemia, levando à contaminação do Homem, pelo vírus, através do contacto com os animais¹. O vírus, posteriormente denominado de SARS-CoV-2, propagou-se mundialmente em apenas dois meses, prejudicando os sistemas de cuidados de saúde² e a economia³.

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita única positiva, pertencente à família dos coronavírus, *Coronaviridae*, que causa síndrome respiratória grave em humanos⁴.

De uma forma geral, todos os coronavírus causam doenças respiratórias, gastrointestinais e do sistema nervoso central, em animais e nos humanos⁴. Estes vírus têm a capacidade de se adaptar a um novo ambiente através de mutações, modificando o tropismo dos hospedeiros, pelo que são ameaças constantes⁴. Estes vírus, onde se inclui o SARS-CoV-2, tem capacidade de cruzar diferentes espécies, desde animais até humanos, levando a surtos de doenças respiratórias graves e fatais⁴. O primeiro surto de SARS-CoV em humanos ocorreu em 2003, por meio de transmissões entre animais, em mercados ao ar livre, na China⁴. No que diz respeito à doença COVID-19, acredita-se que os pangolins foram os vetores para a infeção humana¹.

O SARS-CoV-2 infeta células humanas através da ligação à enzima conversora de angiotensina 2 (ACE 2), altamente expressa em células epiteliais do trato respiratório¹. A glicoproteína de pico (S) reforça essa ligação e a sua clivagem, através de protéases da célula hospedeira, permitindo a fusão de membranas virais e celulares, levando à entrada do vírus nas células¹.

Desta forma, a associação do SARS-CoV-2 a múltiplos processos fisiológicos em vários tipos de células explica a grande variedade de manifestações clínicas, apresentando as mesmas diferentes graus de gravidade. Os fatores de risco identificados com o desenvolvimento de formas mais graves da doença foram os indivíduos de idades mais avançadas, com a presença de comorbidades, tais como Doença Arterial Coronária, Doença Renal Crónica, Hipertensão Arterial, Obesidade e Diabetes Mellitus Tipo 2¹.

Efetivamente, assim que a pandemia teve início, começou a assistir-se a um aumento exponencial do número de mortes, especialmente em doentes com comorbidades associadas⁵. Inicialmente existiu uma grande relutância em realizar

autópsias em muitos países, causada por uma escassez de conhecimentos sobre o vírus, de recursos, do aumento assombroso do número de vítimas e, também, pelo risco incerto de infeção da equipa responsável pela autópsia^{1,6}.

Não foi, por isso, surpreendente que se tenha assistido a uma diminuição do número de autópsias médico-legais, tendo sido uma fonte de preocupação para patologistas, médicos, especialistas de doenças infecciosas, microbiologistas e epidemiologistas, uma vez que a autópsia é uma ferramenta valiosa para, entre outras, esclarecer o contexto médico-legal de uma morte, e ainda auxiliar no controlo e prevenção de doenças infecciosas emergentes¹.

Assim, durante os primeiros meses da pandemia, foram reportados relatórios de experiência, exemplos de boas práticas e foram publicadas propostas de procedimentos a ter durante uma autópsia⁶.

É, desta forma, no âmbito da avaliação post-mortem que assenta este artigo de revisão, tornando-se imperativa a compreensão abrangente das características patológicas da COVID-19, procurando esclarecer não unicamente as vias de infeção viral e a sua distribuição no corpo, mas também compreender quais os achados autópticos mais comumente encontrados nestes casos e sua eventual correlação com a causa da morte e, por fim, para se tomar conhecimento dos mecanismos de proteção usados pelos patologistas para a concretização das autópsias em contexto de doença⁶.

III – OBJETIVO

Em finais de 2019, o surto de um novo vírus da família corona, o SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), causador da COVID-19 (Corona Virus Disease 2019), surge em Wuhan, na China. Assim que a pandemia atinge os diversos países, muitos deles iniciaram uma ampla gama de atividades científicas, com foco no desenvolvimento de vacinas, na caracterização das propriedades do vírus e nos aspetos clínicos da COVID-19. Inicialmente, os dados clínicos e radiológicos dos pulmões de pacientes com COVID-19 estavam disponíveis, mas raramente eram realizadas investigações anatomopatológicas.

É ao nível da autópsia médico-legal que assenta este artigo de revisão, tornando-se imperativa a compreensão abrangente das características patológicas da COVID-19, esclarecendo as vias de infeção viral e sua distribuição no corpo. A necessidade de informação post-mortem é crucial para melhorar o suporte do doente com sintomas moderados e graves e definir estratégias de tratamento, uma vez que os achados que têm sido mais descritos são: dano alveolar difuso, miocardite, enfarte agudo do miocárdio e coagulação intravascular disseminada. No entanto, estes aspetos ocorrem não apenas na infeção por COVID-19, mas também noutras infeções virais e quadros de sépsis. Adicionalmente, pretendeu-se também tomar conhecimento dos estudos realizados noutros países, ao nível da segurança do patologista forense, para a correta e segura concretização de uma autópsia médico-legal, num indivíduo com COVID-19.

Assim, este trabalho pretende proceder a uma revisão de literatura onde se analise, discuta e sintetize informação e conhecimentos já publicados sobre esta temática. Para o efeito foram consultados diversos artigos científicos e artigos de revisão, obtidos com recurso à plataforma *PubMed*.

IV – CONTRIBUIÇÃO PESSOAL/ESTUDO DE REVISÃO

IV.1 – CONTEXTUALIZAÇÃO

IV.1.1 – O que é um vírus?

A palavra vírus provém do latim “virus” que significa toxina/veneno e estão presentes em diferentes formas de vida⁷.

Os vírus são infecciosos e parasitas intracelulares obrigatórios, cujo genoma consiste em ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), replicando-se no interior das células através de sistemas próprios, que serão explicados mais adiante neste trabalho⁷.

Os constituintes básicos de um vírus são o seu genoma e um revestimento proteico, conhecido como capsídeo, e dependem da célula hospedeira para a biossíntese de proteínas e de outros componentes moleculares^{7,8}.

A taxonomia é uma disciplina que classifica os organismos de acordo com as propriedades, não só as partilhadas como as que os diferenciam. As principais divisões taxonómicas são os vírus com genoma de RNA e os de DNA. Os níveis subsequentes são baseados no tamanho e estrutura do capsídeo (que pode ser helicoidal, icosaédrico ou complexo), se possui ou não um envelope e, por fim, na própria natureza do genoma (que pode ser de fita simples ou dupla, linear ou circular, segmentado ou não segmentado)⁷.

Esta informação é suficiente para definir os principais grupos de espécies geneticamente distintas em famílias. Estas divisões são definidas por propriedades, como organização genética, mecanismo de replicação, suscetibilidade a stress físico e agentes químicos, tropismo celular e propriedades patogénicas. A maioria dos vírus que infetam humanos têm um nome comum relacionado com os seus efeitos patológicos ou às circunstâncias da sua descoberta^{7,8}.

Os genomas (DNA e RNA) podem ter diferentes categorizações, no entanto, como o tema deste trabalho final consiste num vírus de RNA, será o tipo de genoma mais aprofundado.

A maioria dos genomas de vírus de RNA são lineares e podem ser de fita simples numa orientação (sense, também designada positiva) que permite a tradução direta de proteínas (ssRNA+: single-stranded), fita simples numa orientação anti-sense (também designada de negativa), de tradução (ssRNA-), ou de fita dupla (dsRNA: double-stranded)^{7,8}.

O virion ou virião é a forma infecciosa dos vírus e existe para proteger o genoma do vírus durante a sua replicação e para facilitar a entrada do vírus numa célula suscetível. É constituído por uma molécula de ácido nucleico e pelo capsídeo. Para alguns tipos de vírus, o capsídeo é encerrado por um envelope, que é uma membrana formada por uma bicamada lipídica. Dependendo do tipo de vírus e da sua complexidade, podem conter outros componentes adicionais como RNA mensageiro, proteínas e pequenas moléculas. Os vírus com envelope são, geralmente, sensíveis a solventes lipídicos ou detergentes, enquanto que os vírus com nucleocapsídeo proteico podem ser um pouco resistentes^{7,8}.

Como já foi referido anteriormente, o capsídeo pode ter uma forma isocáedrica e helicoidal e variam em tamanho e complexidade. Os capsídeos icosaédricos são formados por subunidades de proteínas de forma triangular que assumem uma forma geométrica. Fazem parte deste tipo o Parvovirus e o Herpesvirus. Por outro lado, os capsídeos helicoidais adquirem uma forma semelhante a uma hélice, por exemplo, o Rabdovírus⁷.

A formação do virião é extremamente organizada e requer energia por parte dos aminoácidos nas proteínas do capsídeo que interagem com o genoma (nucleoproteínas). O ácido nucleico, nucleoproteína (S) e o capsídeo constituem o nucleocapsídeo^{7,8}.

Os viriões podem ter atividades biológicas significativas, para além da capacidade de infeção de uma célula. Para além do virião necessitar de ser formado eficientemente para resistir a todos os factores externos, também necessita de ser “desmontado” de forma orientada após a entrada na célula recém-infetada⁷.

A evolução dos vírus está amplamente relacionada com mutações que variam entre eles. Os vírus dsDNA têm taxas de mutação elevadas, no entanto, os vírus de RNA têm taxas de mutações muito maiores. As mutações podem ocorrer de diversas formas, sendo as mais comuns por rearranjo e por substituição de bases nucleicas⁷.

IV.1.2 – A família de Coronavírus

Os Coronavírus, da família *Coronaviridae*, possuem um genoma de RNA de fita única de sentido positivo com um tamanho entre ~26 a 32 quilobases, que é o maior genoma conhecido para um vírus de RNA^{4,9,10}. Para além disso, possui um envelope que se encontra associado a quatro proteínas estruturais: proteína nucleocapsídeo (N), proteína de membrana (M), proteína de pico (S) e proteína de envelope (E)^{4,10} (Fig.1).

A proteína de pico (S) forma grandes saliências na superfície, parecendo que o vírus possui coroas, pelo que foi designado Corona (de origem latina que significa coroa)⁴.

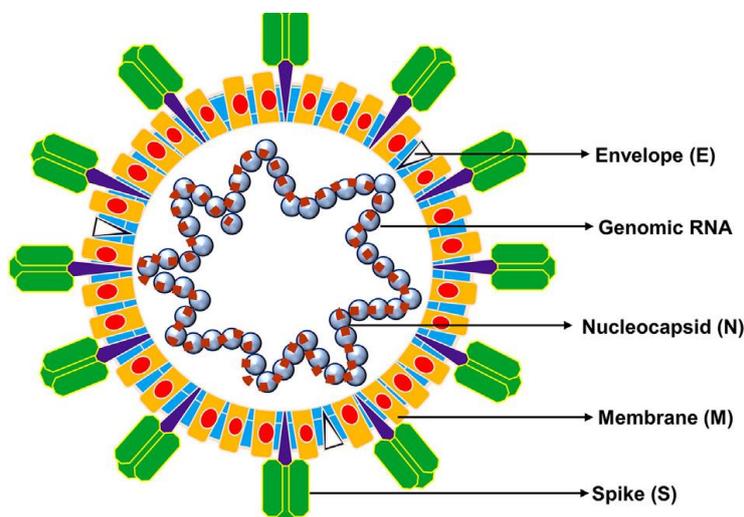


Fig.1. Estrutura típica do Coronavírus (80-20 nm), incluindo várias proteínas estruturais¹¹.

No geral, os Coronavírus causam doenças respiratórias, gastrointestinais e do sistema nervoso central, em humanos e em animais, tendo a capacidade de se adaptar a um novo ambiente através de mutações. Para além disso, conseguem modificar o tropismo do hospedeiro, pelo que as ameaças são constantes e de longo prazo⁴.

Os coronavírus são sensíveis aos raios ultravioleta e ao calor, podendo ser inativados pela exposição a 56°C, durante 30 minutos. Contrariamente, podem ser armazenados por muitos anos a temperaturas de -80°C. Além disso, também os desinfetantes que contêm cloro, ácido peracético e etanol a 75% têm capacidade de inativar o vírus⁹.

Apesar de todos os subtipos de coronavírus partilharem semelhanças na organização e expressão do genoma, são classificados em quatro tipos: alfacoronavírus, betacoronavírus, gammacoronavírus e deltacoronavírus^{4,9,10}.

Os alfa e os betacoronavírus têm origem nos morcegos e têm a capacidade de infetar mamíferos, sendo os beta mais frequentemente encontrados em humanos. O SARS-CoV pertence ao betacoronavírus^{4,12}. Os gamma e os deltacoronavírus têm

origem em pássaros e são capazes de infetar diferentes espécies de aves e mamíferos¹².

*

No século XX, apenas eram conhecidas duas estirpes de Coronavírus com capacidade de causar doença: 229 E (HcoV-229E) e OC43 (HcoV-OC43)⁸.

Entre novembro de 2002 e julho de 2003, foi identificado o SARS-CoV, devido a um surto de infeção em humanos, através da transmissão pelos animais que se encontravam em mercados ao ar livre, na China. O SARS-CoV foi assim designado devido à sua capacidade de originar uma Síndrome Respiratória Aguda Grave (Severe Acute Respiratory Syndrome - SARS)^{4,8}.

Isto mostrou que os coronavírus presentes nos animais têm potencial para transferir a infeção para os humanos, com efeitos devastadores. Este surto de infeção contou com mais de 8000 casos, com taxas de mortalidade que se aproximaram de 10%. O SARS-CoV causa pneumonia viral e, por vezes, doença neurológica e sistémica, sendo o sistema respiratório a via de entrada^{4,8}.

Os investigadores relataram a identificação de um quarto Coronavírus humano, o HcoV-NL63 e algumas evidências demonstram este vírus como um patógeno respiratório comum em humanos, causando doença do trato respiratório superior e inferior⁸.

Em 2005, foi descrito, pela primeira vez, o HcoV-HKU1, após a sua deteção num paciente com pneumonia. Muitos outros casos de doença respiratória foram associadas a este vírus, mas a sua identificação pouco frequente sugere que este coronavírus causou uma baixa incidência de doença até ao momento⁸.

Em 2012, é então isolado o MERS-CoV, Coronavírus de Síndrome Respiratória do Médio Oriente, tendo causado doença grave em humanos, com 35% de mortalidade, tendo sido identificado como sendo um vírus zoonótico (transmitido entre animais e humanos), cujo aparecimento foi relacionado com morcegos, no Médio Oriente⁸.

Por fim, em 2019, surge o SARS-CoV-2, que difere dos outros SARS-CoV por demonstrar a sua maior facilidade em ser transmitido entre humanos, devido à sua capacidade de infetar o trato respiratório superior (como nasofaringe e/ou orofaringe) pelo facto de apresentar uma maior afinidade ao recetor celular. Assim, o SARS-CoV-2 parece ter uma transmissibilidade mais rápida, em comparação com o SARS-CoV previamente conhecido. As semelhanças das diversas estruturas entre os dois vírus são notáveis, como já seria de esperar^{4,13}.

Face ao tema em questão, vamos agora debruçar-nos, mais especificamente, sobre o vírus SARS-CoV-2.

IV.1.3 – Vírus SARS-CoV-2

O vírus SARS-CoV-2 é um betacoronavírus, vírus de RNA da família *Coronaviridae*^{9,10} e possui um tamanho ~ 29,9 kb^{10,14}.

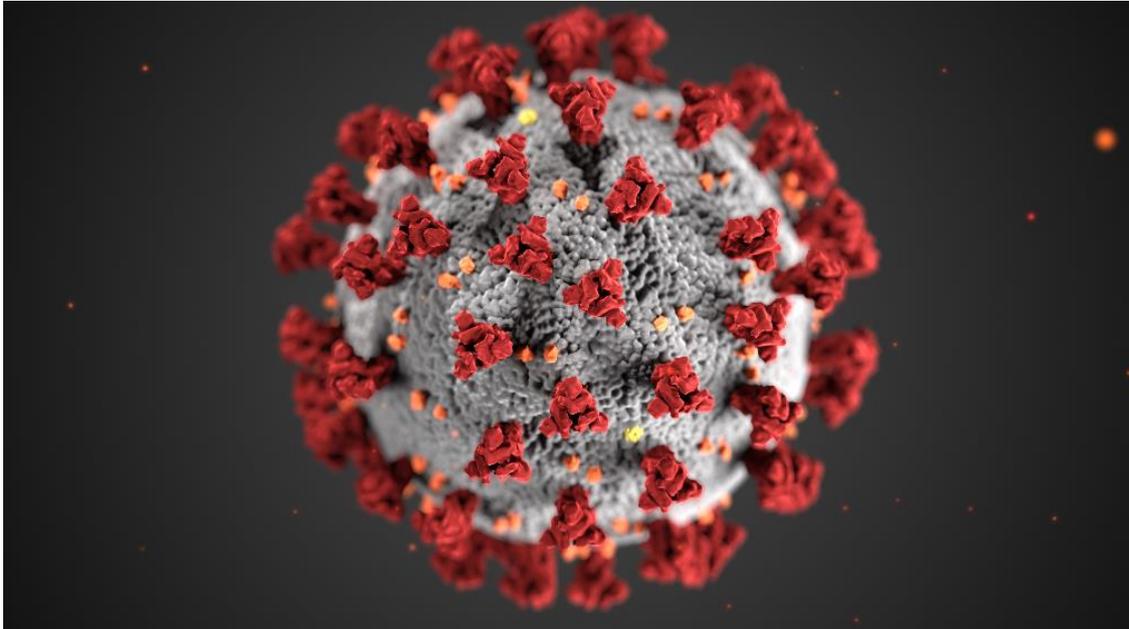


Fig. 2. Primeiro modelo 3D dos Coronavírus. *Fonte:* Alissa Eckert, Dan Higgins, in Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2020.¹⁵

As fontes animais de infecções por SARS-CoV-2 são morcegos e pode ser transmitido para gatos, pangolins e cães. Os coronavírus são capazes de causar doença grave nos seus hospedeiros, tendo existido diversas propagações de infecção em suínos, como nos leitões, por exemplo⁴. A recombinação entre diferentes coronavírus relacionados à SARS pode ter tido algum envolvimento na formação do SARS-CoV-2¹⁶.

Em relação à sua estrutura, já foi referido anteriormente que este vírus contém quatro proteínas estruturais (S, E, M e N). Para além disso, o SARS-CoV-2 contém dezasseis proteínas não estruturais (nsp1-16), que possuem diversas funções essenciais para a ligação do vírus à célula hospedeira, como a replicação do RNA e o seu processamento, nas vias de sinalização, entre outras.¹⁰ Para estas funções, destacam-se a nsp3, nsp9, nsp10, nsp12, nsp15 e nsp16¹⁷.

Em relação à evolução do vírus SARS-CoV-2, temos constatado que este tem sofrido mutações, pelo que temos ouvido falar de variantes ao longo da sua propagação. A primeira indicação da evolução genética do SARS-CoV-2 surgiu no início de 2020 e, até ao final desse ano, várias variantes foram relatadas, principalmente em dezembro,

no Reino Unido, onde a variante B.1.1.7, uma linhagem de crescimento rápido, mostrou um número elevado de alterações genéticas. No espaço de um mês, duas variantes adicionais foram relatadas na África do Sul e no Brasil, designadas de B.1.351 e P.1, respetivamente. Surgiu, de seguida, a variante B.1.617.2, detetada em Maharashtra, na Índia. Esta variante propagou-se por vários países e demonstrou ser mais transmissível que a variante B.1.17 e causadora de doença mais grave que as variantes anteriores¹⁶.

As variantes que se propagaram amplamente, que exibiram evidências de serem mais transmissíveis e de causarem doença mais grave ou redução da neutralização de anticorpos adquiridos por vacinação prévia ou exposição ao vírus prévia, foram classificadas como variantes preocupantes (Variants of Concern- VOCs) pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Por outro lado, as variantes que tinham propagação e transmissão mais baixas, mas que continham mutações semelhantes, foram classificadas como variantes de interesse (Variants of Interest- VOIs)¹⁶.

A 31 de maio de 2021, a OMS rotulou as variantes preocupantes e de interesse utilizando o alfabeto grego. Assim, as variantes preocupantes passaram a designar-se de Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gama (P.1) e Delta (B.1.617.2). Às variantes de interesse, mas sem relevo na propagação e transmissibilidade, foram dados outros nomes, como Epsilon, Kappa, Lambda, Lota, Eta, Mu, Zeta e Theta^{16,18}.

Por fim, a 11 de novembro de 2021, em Botswana, foi identificada uma nova variante, a B.1.1.529, que, logo a 26 de novembro de 2021, foi considerada uma variante de preocupação pela OMS, designada Ómicron. Numa primeira análise, a variante estaria associada a um aumento do risco de reinfeção após a infeção primária e seria capaz de causar doença grave. No entanto, a gravidade e a mortalidade por COVID-19 variam de acordo com o país, a prevalência da vacinação, a população e as suas características como idade, nível socioeconómico e comorbilidades¹⁹.

IV.2 – DA EPIDEMIA À PANDEMIA – DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

IV.2.1 – Origem do SARS-CoV-2: de Epidemia a Pandemia

Uma epidemia consiste na ocorrência de infeções em pessoas num determinado local. Por outro lado, a palavra pandemia significa “de todas as pessoas” e refere-se ao surgimento generalizado de uma doença, numa ou em várias regiões do mundo, e surge quando os vírus conseguem infetar humanos e promover a transmissão entre pessoas antes que estes desenvolvam imunidade. Para além disso, as pandemias acontecem devido a vários mecanismos genéticos, sem padrões previsíveis de mortalidade em

todas as faixas etárias e diferem em como e quando surgem ou reaparecem. Uma pandemia afeta vários aspetos dos sistemas de saúde e requer um planeamento rigoroso em relação aos recursos humanos, mantimentos e a garantia da sustentabilidade do sistema de saúde durante o pico e a duração da epidemia. Todo este processo requer implementação de medidas específicas de forma a conter o vírus⁹.

Acredita-se que a origem do SARS-CoV-2 tenha sido num mercado na cidade de Wuhan, na China, conhecido por vender, não apenas peixe e marisco, mas também diferentes animais selvagens, como cobras, pássaros, morcegos, coelhos, sapos, entre outros^{4,9}. Após os primeiros 29 casos de pneumonia de etiologia desconhecida na China, os casos foram atribuídos ao mercado por ser um factor comum entre os doentes. A análise da sequência de várias espécies de coronavírus revelou que este SARS-CoV-2 é um vírus recombinante entre o coronavírus do morcego e um coronavírus de origem desconhecida, que se suspeita ser o pangolim⁹.

Assim, após a declaração oficial do SARS-CoV-2 ser a potencial causa do surto em Wuhan, a questão mais crítica era a possibilidade de se tornar numa pandemia global. No espaço de um mês, a doença já se tinha propagado por todo o país e países vizinhos e, no final de janeiro de 2020, já tinham sido reportados casos de COVID-19 na Europa e nos Estados Unidos da América. Ao contrário dos surtos infecciosos de outros vírus anteriores, o SARS-CoV-2 foi considerado menos virulento, uma vez que o número de pacientes em estado crítico era menor, em comparação com outros vírus⁹.

Após o vírus se ter alastrado por 20 países e haver 10000 casos confirmados por laboratório e 200 mortes registadas, a infeção foi declarada uma emergência internacional de saúde pública, pela OMS, a 30 de janeiro de 2020^{4,9}. A 10 de março de 2020, tinham sido registados mais de 48000 casos e aproximadamente 3000 mortes. A OMS declarou, assim, a COVID-19 como uma pandemia a 11 de março de 2020^{9,20}.

A COVID-19 demonstrou ser uma emergência médica e a pandemia é considerada uma das maiores tragédias após a segunda guerra mundial⁹.

IV.2.2 – Dados Epidemiológicos

a) Incidência

De acordo com as características epidemiológicas observadas, todas as pessoas são consideradas suscetíveis de adquirir a infeção, sendo a idade média de incidência os 50 anos¹⁰. Observou-se que o vírus, quando afeta pessoas com mais de 60 anos, é mais agressivo e com maior probabilidade de tempo de recuperação maior,

justificando-se pelo facto de, nesta faixa etária, haver uma maior tendência para níveis de marcadores inflamatórios mais elevados e a uma diminuição de neutrófilos e linfócitos^{3,4,10}. Estes factores provocam uma resposta imune fraca, pelo que os doentes mais idosos são mais vulneráveis a uma infeção grave¹³. No entanto, a hipótese de pessoas mais jovens terem doença grave também é possível³.

b) Estatística Mundial – Número de infeções e óbitos

Devezas e Miranda publicaram, este ano, um estudo onde abordam a evolução temporal do número de casos diários de infeção de COVID-19 desde 12 de março de 2020 até 27 de setembro de 2021, ou seja um total de 565 dias. Estes autores concluem que a evolução tem seis fases importantes de evolução. As primeiras três fases, ou seja, ao longo do ano de 2020, apresentam menores intensidades, enquanto que as últimas três fases (ano de 2021) têm mais números de casos diários²¹.

De acordo com a *Our World in Data*, desde 22 de janeiro de 2020 até 16 de março de 2022, foram registados, mundialmente, mais de 461 milhões de casos e mais de 6 milhões de mortes²².

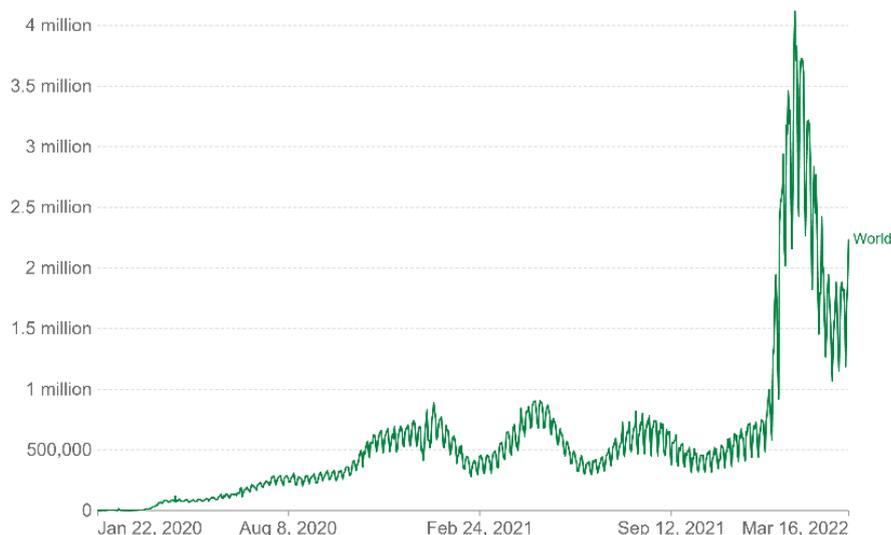


Fig. 3. Evolução de novos casos diários mundiais, desde 22 de janeiro 2020 até 16 de março de 2022²³.

c) Estatística Nacional – Número de infeções, internamentos e óbitos

Os mesmos autores anteriormente referidos, analisaram também a evolução temporal de casos diários em Portugal, desde que foi identificado o primeiro caso (2 de

março de 2020) até 20 de outubro de 2021. Os autores consideram dois períodos distintos: até ao final de fevereiro de 2021, e até outubro de 2021 e constataram que o primeiro período apresentou dois picos de intensidade e o segundo período teve uma diminuição significativa dos casos diários, justificando a mesma devido a medidas de controlo por parte do governo português²¹.

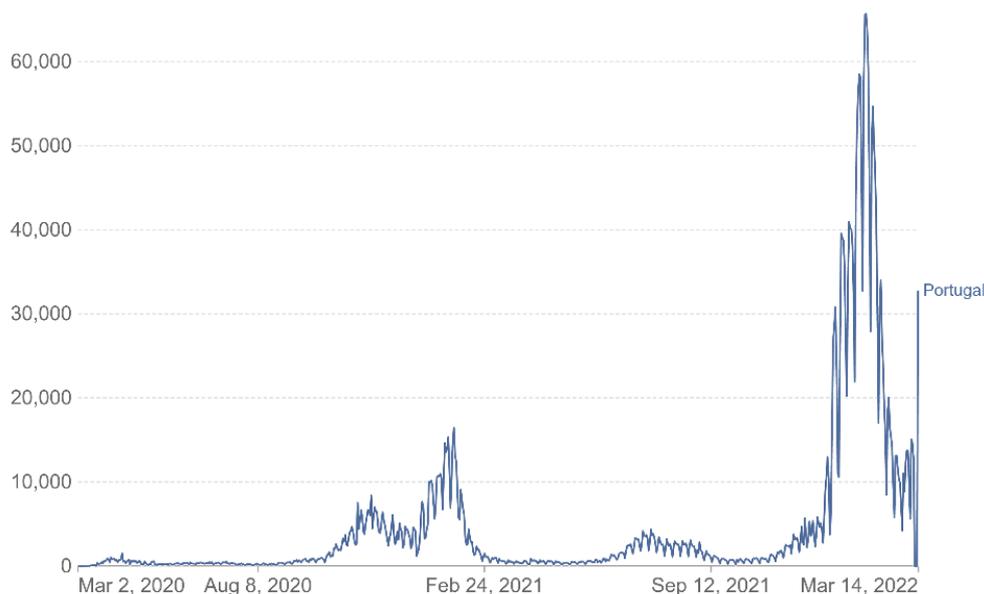


Fig. 4. Evolução do número de casos diários, em Portugal, desde 2 de março de 2020 a 14 de março de 2022²³.

A figura 4 apresenta a evolução de casos diários confirmados em Portugal. No início do ano de 2022 podemos observar um aumento do número de casos diários, com um pico de intensidade nunca antes atingido em Portugal.

De acordo com a *Our World in Data*, até 17 de março de 2022 foram confirmados e registados, em Portugal, mais de 3 milhões de casos diários e mais de 21 000 mortes²². Ao nível dos internamentos, Portugal alcançou um pico no final de janeiro e início de fevereiro, na ordem de cerca de 6000 internamentos. A 13 de março de 2022, foi registado um número de internamentos de 1095²⁴.

IV.3 – A DOENÇA COVID-19

O surgimento de uma nova pandemia em dezembro de 2019, associada a um antigo vírus Coronavírus, revelou a vulnerabilidade do mundo. Após o surto de SARS-CoV e MERS-CoV, o SARS-CoV-2 é o terceiro grande surto que demonstrou ser mais

agressivo que outros surtos anteriores. Assim, foi em fevereiro de 2020 que a OMS deu o nome de COVID-19 a esta nova doença provocada pelo SARS-CoV-2²⁵.

De acordo com a OMS, são atribuídos nomes às doenças para possibilitar a discussão sobre a prevenção, transmissão, gravidade e tratamento da mesma. A responsabilidade da preparação e resposta a doenças humanas é o papel da OMS, por isso, as doenças são oficialmente designadas na Classificação Internacional de Doenças (CID). Assim, segundo diretrizes previamente desenvolvidas com a Organização Mundial de Saúde Animal e a Organização para a Agricultura e Alimentação das Nações Unidas, a OMS declarou a COVID-19 como a doença provocada pelo vírus SARS-CoV-2.²⁶

IV.3.1 – Infecção e mecanismos de interação

A ligação do SARS-CoV-2 ao recetor da célula hospedeira é a primeira fase na infecção viral que vai determinar a gravidade de infecção e patogénese¹¹. A entrada do vírus nas células é mediada pela proteína spike (S)¹⁰. Esta é composta por duas subunidades funcionais: S1 e S2^{4,10,11}. A subunidade S1 contém o domínio de ligação ao recetor (RBD)¹¹ e tem como principal função a ligação ao recetor da célula hospedeira^{4,10}. Por outro lado, a subunidade S2 tem como principal função fundir as membranas do vírus e células hospedeiras⁴.

O ACE2 é um recetor de superfície celular amplamente distribuído nas células epiteliais do sistema respiratório, como traqueia, brônquios e alvéolos¹¹. Este recetor encontra-se, também, em vários órgãos, como nos vasos sanguíneos, nos neurónios cerebrais, rins, intestinos e coração, o que representa uma variedade de alvos suscetíveis à infecção pelo SARS-CoV-2^{4,11}. Esta combinação é semelhante ao que já se conhecia nos vírus SARS-CoV, no entanto, a afinidade parece ser maior no SARS-CoV-2^{10,11}.

Em primeiro lugar, o RBD da S1 liga-se ao domínio do recetor ACE2 e esta interação aciona proteases celulares que, posteriormente, clivam a proteína spike e permitem que a S2 funda as membranas e que, assim, o vírus entre na célula^{11,27}.

A entrada do vírus foi decifrada por dois caminhos diferentes, com base na disponibilidade da protease da célula hospedeira para ativar a proteína spike ao recetor¹¹. Na primeira via, os vírus entram na célula através de endocitose mediada por um recetor¹¹, e sendo esta via endocítica a mais frequente, estava descrita no SARS-CoV e no MERS-CoV e, mais recentemente, foi relatado que o SARS-CoV-2 também utiliza o mesmo mecanismo de entrada⁴. A segunda via consiste na invasão direta de

partículas virais na célula hospedeira, mediada por uma clivagem proteolítica da proteína spike ligada ao recetor da protease transmembranar- serina 2 (TMPRSS2) ou da protease transmembranar- serina 11D (TMPRSS11D) na superfície celular¹¹.

Após o evento de fusão de membranas do vírus e da célula hospedeira, o vírus liberta o nucleocapsídeo que contém o genoma de RNA para o citoplasma celular¹¹. A replicação do SARS-CoV-2 é dominada por uma replicação/complexo de transcrição que contém várias subunidades¹⁰. O complexo é formado por proteínas não estruturais virais (nsp)¹⁰ e o núcleo do complexo é o RdRp em nsp12¹⁰.

Na figura 5, é possível observar um esquema representativo da entrada do vírus na célula hospedeira.

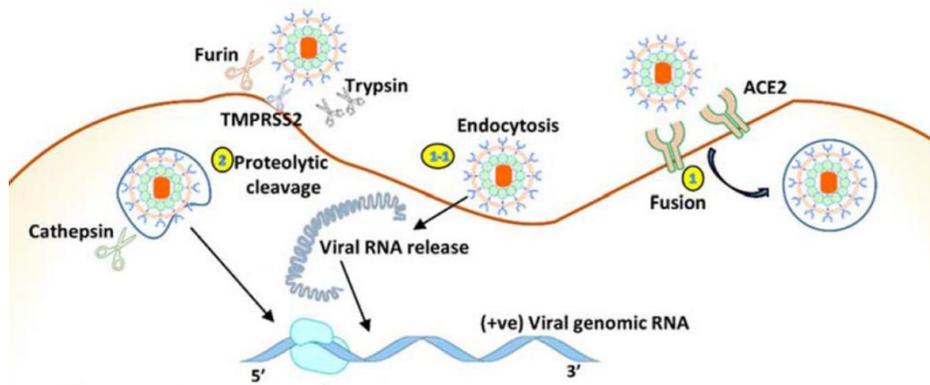


Fig. 5. Entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. A infeção começa com a ligação da proteína spike ao recetor ACE2 através de proteases da célula hospedeira (cathepsin, TMPRSS, furin e trypsin representadas no esquema). A seguir, o SARS-CoV-2 liberta o seu RNA para a célula hospedeira⁴.

O processo de replicação e tradução do RNA viral ocorre dentro do retículo endoplasmático das células hospedeiras, levando à formação de proteínas estruturais S, E e M. A proteína N engloba o recém-produzido genoma de RNA num nucleocapsídeo helicoidal. De seguida, a proteína estrutural M cria o virião e, mais tarde, é libertado como uma vesícula que se funde com a membrana plasmática e secretada pela célula hospedeira por exocitose¹¹.

IV.3.2 – Transmissão da COVID-19

A transmissão entre humanos ocorre, principalmente, através de gotículas durante o contacto próximo desprotegido entre uma pessoa infetada e uma pessoa não infetada, devido à exposição a gotículas respiratórias, tosse e espirros. Os pacientes assintomáticos podem igualmente transmitir a doença, uma vez que o vírus tem uma

grande capacidade para se transmitir no período assintomático (pré-exposição e pós-exposição)^{4,9,10,20,28}.

No entanto, vários estudos colocaram a hipótese de transmissão via aerossóis, que são partículas mais pequenas que as gotículas, e que podem permanecer no ar durante mais tempo. Os aerossóis podem atingir os pulmões por inalação através de passagem oral ou nasal^{9,10}. Para além das gotículas e aerossóis, a saliva pode constituir também um método de transmissão pois o RNA do SARS-CoV-2 é detetado na saliva de pessoas infetadas²⁹.

O tempo de incubação varia entre 1 a 12⁴ dias, até a um máximo de 14 dias²⁰. O período médio de incubação é de 4 dias⁴.

Desde o início da vacinação e com uma estimativa de 40% da população mundial já vacinada, parece haver uma diminuição de transmissão do vírus devido ao facto da vacina limitar a infeção e a replicação viral³⁰.

Para além dos modos de transmissão descritos anteriormente, também foi estudado a possibilidade de transmissão não só vertical e perinatal, como também entre animais-humanos.

a) Transmissão Vertical e Perinatal

Existe informação contraditória sobre a possibilidade de transmissão vertical intrauterina^{4,10}. O risco de transmissão perinatal do SARS-CoV-2 é relativamente baixo. No entanto, existem, de facto, relatos sobre recém-nascidos que apresentam anticorpos positivos, o que sugere transmissão placentária¹⁰.

b) Transmissão pessoa-animal, animal-pessoa

O SARS-CoV-2 pode ser transmitido de humano para animal, como cães e gatos. As sequências genéticas do SARS-CoV-2 são os mesmos do que detetados em humanos. No entanto, não é ainda conhecido o mecanismo de infeção de animais para humanos¹⁰.

IV.3.2.1 – Prevenção da transmissão

A transmissão pode ser evitada se algumas regras forem respeitadas⁴. As precauções baseadas na transmissão são implementadas quando há suspeita de infeção ou de colonização do paciente. O objetivo consiste em isolar e diminuir o risco de contágio, pelo que um doente positivo deve ficar em isolamento. Para além disso, uma forma de diminuir o risco de contágio consiste em manter o distanciamento de 2 metros entre duas pessoas^{4,31}.

Uma das principais formas de diminuir a transmissão consiste na higiene das mãos, pois estas são um vetor primário de contacto e de possível transmissão de infeções. Esta deve ser feita com recurso a água e sabão. Os desinfetantes à base de álcool também são importantes pois têm capacidade de inativar o vírus SARS-CoV-2 e devem ser utilizados na higiene das mãos e na limpeza e desinfeção de superfícies³¹.

Em relação a materiais de proteção pessoal, os profissionais de saúde devem utilizar os equipamentos de proteção individual (EPI) e as pessoas devem utilizar máscaras cirúrgicas ou N95 de forma a reduzir a possível transmissão de gotículas respiratórias³¹.

IV.3.3 – Diagnóstico

Desde a primeira descoberta sobre a informação genética do SARS-CoV-2, vários métodos moleculares têm sido aplicados para detetar o vírus³².

Com base nos sintomas clínicos, é impossível distinguir a COVID-19 de outras infeções respiratórias. O conhecimento de dados epidemiológicos, como o histórico de viagens e contactos com pessoas infetadas, é essencial para permitir um diagnóstico diferencial de COVID-19²⁵.

Assim, o diagnóstico final é feito de acordo com os resultados dos exames laboratoriais, como Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos (TAAN), Testes Rápidos de Antígeno de uso profissional (TRAg), Autotestes, testes serológicos. Para além disso, os exames de imagem também são importantes²⁵.

Outros testes estão a ser estudados, no entanto, os mais frequentemente utilizados são os supramencionados.

a) Testes TAAN

Os testes TAAN são testes moleculares que englobam os testes de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) de transcriptase reversa (RT-PCR), que pode ser convencional ou em tempo real³³. Estes testes são os mais válidos e eficazes, recomendados também pela OMS, e consistem na deteção do genoma viral³².

O RT-PCR consiste na extração de RNA das amostras e na posterior transcrição reversa, de forma a converter o RNA em DNA complementar. De seguida, o DNA complementar é sujeito a uma amplificação quantitativa através de sondas fluorescentes que vão reconhecer e hibridizar segmentos dos produtos de amplificação. Este tipo de

teste tem a capacidade de detetar os ácidos nucleicos virais em diferentes tipos de amostra, tornando-o o melhor teste de diagnóstico para a infeção³⁴.

As amostras devem ser retiradas do trato respiratório superior, principalmente a nasofaringe, com uso de uma zaragatoa. O tropismo do vírus é extenso nas secreções das vias aéreas superiores, e a sua replicação é elevada na zona faríngea. A zaragatoa deve ser introduzida na cavidade nasal e em paralelo com a linha do palato duro e, após atingir a nasofaringe, deve ser rodada e retirada^{20,35}. Porém, o genoma viral pode ser, apesar de com taxas menores, detetado no soro, fezes, expetoração ou secreções oculares³².

A saliva também pode ser utilizada para detetar a presença do vírus e tem algumas vantagens em relação às zaragatoas nasofaríngeas, como o facto de ter menos risco de contágio, um custo menor e o facto de permitirem colher amostras do trato respiratório superior e inferior. A técnica consiste no paciente tossir de forma autónoma para um recipiente esterilizado^{29,35}.

Os resultados são, normalmente, obtidos após 24 horas da realização do teste³³.

Este método apresenta uma sensibilidade entre 70% e 99% para o SARS-CoV-2, enquanto a especificidade é de, aproximadamente, 95%. O número de falsos negativos tem apresentado resultados que variam entre 21% e 67%, admitindo-se que resultem por diversos motivos, como erros na técnica de colheita da amostra, no manuseamento da mesma, pela reação cruzada com outros vírus respiratórios, pela duração da doença e pelo início da doença, entre outros^{32,34}.

b) TRAg

Este tipo de teste é realizado por profissionais habilitados. A sua sensibilidade é de 90% e a especificidade é igual ou superior a 97%. Estes testes devem ser realizados nos primeiros 5 dias de doença, de forma a diminuir a probabilidade de falsos negativos. Para além disso, os resultados são obtidos após 15-30 minutos. As amostras colhidas são do trato respiratório superior³³.

c) Autotestes

São testes rápidos de antigénio, no entanto, em modalidade de autoteste, com pouca complexidade na execução técnica, com uma sensibilidade igual ou superior a 80% e uma especificidade igual ou superior a 97%, principalmente nos doentes com

maior carga viral. As amostras colhidas são nasais. A grande vantagem é que pode ser realizado por todos os indivíduos que não sejam profissionais de saúde³³.

A realização destes testes não substitui, mas sim, apenas complementa a utilização dos outros testes laboratoriais, pelo que um resultado positivo no autoteste deve ser sempre confirmado³³.

d) Testes serológicos

Os testes serológicos são utilizados para detetar os anticorpos produzidos por indivíduos após a exposição ao vírus ou o antígeno em indivíduos infetados. Estes testes contêm um período de janela menor, em comparação com o PCR²⁰.

e) Exames de imagem

Os exames de imagem são utilizados, no contexto de COVID-19, mais frequentemente em ambiente hospitalar, como um exame complementar de diagnóstico, pelo que não fazem o diagnóstico sem um resultado laboratorial³⁶.

Os exames de imagem mais utilizados são a Radiografia Torácica e a Tomografia Computorizada (TC). As alterações mais observadas consistem em opacidades em vidro despolido e consolidação pulmonar, que estão representados na Figura 6³⁷. Estas têm uma distribuição bilateral, periférica e com espessamento vascular. Estes exames são suficientes para detetar as alterações típicas de pneumonia associada ao COVID-19³⁶.



Fig. 6. Raio-x torácico: opacidades bilaterais e padrão de vidro despolido³⁷.

IV.3.4 – Manifestações Clínicas da COVID-19

As manifestações clínicas do vírus SARS-CoV-2 são muito variadas e os doentes apresentam uma variedade de sintomas: de assintomáticos a sintomas leves/moderados, sintomas graves e sintomas de doença crítica³.

Mondello e *col.*, no decorrer da sua investigação, constataram que o tempo médio, desde o primeiro sintoma até ao aparecimento de dispneia, foi de 5 dias, de 7 dias até à admissão hospitalar e de 8 dias até apresentação de Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA)²⁰.

IV.3.4.1 – A nível Pulmonar

O recetor ACE2 está presente no espaço alveolar, na região apical das células epiteliais alveolares tipo II. Para além disso, a grande área superficial dos pulmões funciona como um reservatório de ligação e replicação viral, o que explica o tropismo do vírus e a vulnerabilidade pulmonar apresentada³.

O envolvimento pulmonar pode ir desde uma pneumonia (em grande percentagem) até doença grave com hipóxia, doença crítica associada a choque²⁰, falência respiratória e multiorgânica³. Muitas vezes os doentes apresentam-se com tosse seca^{4,10}, febre^{4,10}, produção de muco, fadiga⁴ e dispneia^{3,20}. A hipóxia é um sinal comum a acompanhar a pneumonia, no entanto, é muitas vezes insidiosa e paradoxalmente bem tolerada pelos pacientes³. Este fator é visto mais vezes em estadios iniciais da doença e é referida como “hipóxia silenciosa”³.

Um estudo refere que nos doentes que progridem para doença grave, a quantidade de expectoração aumenta gradualmente, tem consistência pegajosa, sendo difícil de libertar sem aspiração, e é acompanhada por um aumento da contagem de neutrófilos, que poderia indicar uma infeção bacteriana, sugerindo, assim, que as mudanças das características da expectoração poderá ser um dos primeiros sinais de alerta para a evolução crítica da doença³⁸.

IV.3.4.2 – A nível Cardiovascular

A expressão do ACE2 é elevada no tecido cardíaco, o que facilita o dano miocárdico direto, induzido pela infeção viral. Para além disso, o ACE2 desempenha um papel importante no sistema renina-angiotensina, convertendo a angiotensina II em angiotensina 1-7, provocando um efeito protetor sobre o sistema cardiovascular. Esta

função catalítica é perdida quando o SARS-CoV-2 se liga ao recetor ACE2, pelo que a diminuição dos níveis de angiotensina 1-7 compromete a função cardíaca. Adicionalmente, um grande número de doentes com COVID-19 parece apresentar um quadro hiperinflamatório, onde citocinas inflamatórias e outros marcadores de inflamação sistémica estão muito aumentados. Esta elevação aumenta a possibilidade de uma doença coronária aguda³.

As manifestações cardiovasculares mais comuns são lesão do miocárdio^{10,20}, arritmias^{10,20} e falência cardíaca aguda²⁰, que são complicações presentes em doentes com algumas comorbilidades, como hipertensão arterial, obesidade, diabetes e algumas doenças cardiovasculares específicas³.

Algumas manifestações do vírus são miocardite fulminante, que pode resultar em disfunção ventricular sistólica esquerda³; e síndrome “kasawaki-like”, que se caracteriza por uma disfunção circulatória e síndrome ativadora de macrófagos³.

Em doentes hospitalizados com COVID-19, um sinal comum é hipercoagulabilidade, associada a elevação de D-dímeros, pelo que doentes com COVID-19 estão em risco de desenvolver tromboembolismo venoso (risco maior de 10% em doentes hospitalizados). Outras alterações na coagulação são a elevação dos tempos de protrombina (PT) e de tromboplastina parcial (aPTT), bem como o aumento da degradação da fibrina que, juntamente com a trombocitopenia, podem resultar em coagulação intravascular disseminada (DIC), que necessita de vigilância contínua³.

Por fim, referir que parece existir uma maior incidência de COVID-19 em doentes do tipo sanguíneo A, que predispõe a falência da microcirculação pulmonar e coagulopatias³⁹.

IV.3.4.3 – A nível Gastrointestinal

As manifestações clínicas do sistema gastrointestinal estão relacionadas com a afinidade pelo recetor ACE2, que está presente em enterócitos no íleo e cólon. A ocorrência de diarreia em doentes infetados poderia ser explicada pelo envolvimento do recetor nos mecanismos de inflamação³.

De acordo com alguns estudos realizados, o sintoma mais prevalente em doentes com COVID-19 é anorexia^{3,29}. Seguem-se, como sintomas mais prevalentes as náuseas, os vómitos, a dor abdominal e a diarreia^{3,20,29}.

São necessárias mais investigações nesta área, de forma a perceber melhor o papel do vírus no envolvimento gastrointestinal, designadamente ao nível de complicações³.

IV.3.4.4 – A nível Hepático

Os recetores ACE2 estão localizados em hepatócitos e colangiócitos, pelo que seria de prever que o fígado e vias biliares estariam envolvidos³.

As análises hepáticas têm demonstrado valores anormais em diversos estudos³. Os níveis de bilirrubina total e transaminases (ALT e AST) estão, em muitos casos, elevados³. Disfunção hepática tem sido uma manifestação presente em doentes com doença severa^{3,20}.

No entanto, tem sido difícil criar uma correlação entre o vírus SARS-CoV-2 e a presença de manifestações hepáticas, uma vez que podem ser manifestações iatrogénicas, relacionadas com possíveis terapêuticas a que o doente possa ter sido submetido, como antibióticos e medicamentos anti-virais³.

IV.3.4.5 – A nível Hematológico

Os linfócitos expressam o recetor ACE2 na sua superfície. Portanto, o SARS-CoV-2 pode infetar diretamente essas células, uma vez que o aparecimento de citocinas podem promover a apoptose dos linfócitos. Para além disso, a ativação de citocinas pode estar associada à atrofia dos órgãos linfoides, como o baço³.

O vírus da COVID-19 tem um significativo impacto no sistema hematopoiético e na homeostasia. Os parâmetros hematológicos têm sido anormais em doentes com doença severa. Um achado laboratorial cardinal é linfopenia^{3,10} e o ratio neutrófilo/linfócito e o ratio do pico de plaquetas/linfócitos podem ser importantes na determinação do prognóstico de casos severos³.

Desta forma, nos primeiros 7-14 dias após o aparecimento de sintomas, existe uma resposta sistémica pronunciada, com elevação de mediadores inflamatórios e citocinas e, neste contexto, a linfopenia torna-se evidente³.

IV.3.4.6 – A nível Neurológico

Existem vários mecanismos que explicam a presença de sintomas neurológicos, no entanto, o problema reside na capacidade de diferenciar se o vírus é uma causalidade destes sintomas ou se é uma consequência do estado hiperinflamatório e da desregulação da função metabólica, em combinação com a lesão orgânica múltipla observada em pacientes pós-infeção. O recetor ACE2 é encontrado no sistema nervoso e no músculo esquelético. A sua expressão e distribuição nas células endoteliais

cerebrais pode explicar os sintomas neurológicos referidos pela infeção por SARS-CoV-2, no entanto, não existem dados que possam concluir esta infeção diretamente nos tecidos³.

Desta forma, de acordo com alguns autores, um terço dos pacientes desenvolvem um espectro amplo de sintomas neurológicos, que afetam o sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso periférico (SNP) e musculo-esquelético. Estes sintomas ocorrem nos primeiros dias de hospitalização e podemos dividi-los em categorias. No SNC, os sintomas mais encontrados são náuseas e cefaleias. No SNP, os sintomas mais referidos são perturbações do paladar e olfato. Sintomas menos frequentes incluem perturbações de consciência, doença cerebral aguda, ataxia, alterações na visão e nevralgias^{3,10}.

IV.3.4.7 – A nível Renal

O recetor ACE2 está presente em diversas células renais, como os podócitos, células mesangiais, epitélio da cápsula de Bowman, entre outras³.

O maior sintoma descrito em pacientes com COVID-19 é proteinúria leve a moderada, que é mediada de acordo com vários mecanismos³. Em pacientes com doença moderada, a lesão renal aguda é frequente^{3,20}.

IV.3.4.8 – A nível Endócrino

O recetor ACE2 é expresso no hipotálamo e na hipófise, o que pode explicar um possível tropismo viral nestes tecidos. Assim, o vírus SARS-CoV-2 expressa aminoácidos essenciais que atuam como mímicos da hormona adrenocorticotrófica (ACTH) do paciente, o que implica uma insuficiência de cortisol³.

Apesar de existir pouca informação sobre este tópico, um estudo realizado em doentes infetados sem sinais de insuficiência adrenal, demonstrou que níveis elevados de cortisol podem refletir a severidade de doença sistémica, associando-se a uma maior mortalidade nestes doentes³.

IV.3.4.9 – A nível Dermatológico

O recetor ACE2 é expresso na derme, especialmente nos queratinócitos⁴⁰. Assim, apesar das manifestações cutâneas serem raras, o número de doentes com envolvimento da pele têm aumentado. A manifestação cutânea mais prevalente é rash

eritematoso⁴⁰. Outros sintomas variam entre lesões urticárias, purpúricas, vesiculares e papulo-escamosas. No entanto, não está claro se é uma consequência direta da infecção pelo vírus ou se é uma complicação de algum tratamento administrado ou da própria resposta do sistema imunitário da pessoa³.

Podem encontrar-se ainda lesões tipo frieira, lesões isquémicas e lesões acrais, que estão associadas ao estado de hipercoagulabilidade dos positivos para COVID-19⁴⁰. No entanto, mais estudos são necessários para explorar este tópico.

IV.3.5 – ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA

É importante definir o status do doente antes do aparecimento da clínica, a nível das suas doenças conhecidas ou comorbilidades, de forma a otimizar o tratamento da infecção e das complicações⁵.

A maioria dos doentes apresenta um bom prognóstico, com diagnóstico e tratamentos adequados para COVID-19; porém, doentes idosos e os pacientes com comorbilidades têm pior prognóstico¹⁰.

IV.3.5.1 – Medicamentos

O desenvolvimento de um medicamento depende do mecanismo de infecção viral. Até à atualidade, não existe um fármaco que trate a doença com sucesso^{5,9}. Alguns antivirais mostraram alguma eficácia, no entanto, muitos deles foram descontinuados pela elevada interferência com outros fármacos e pela maior quantidade de efeitos secundários⁵.

De todos os fármacos disponíveis, em Portugal é utilizado o Remdesivir. Este medicamento tem uma atividade de amplo espectro e a sua atividade contra MERS e SARS foi demonstrada em testes com animais. O remdesivir tem como principal função a inibição da transcrição de RNA viral, através da inibição da atividade do RNA polimerase. Uma desvantagem deste fármaco são os efeitos adversos⁹. De acordo com a DGS, a administração deve ser considerada em doentes internados com pneumonia por SARS-CoV-2 e com hipoxémia confirmada, pois as indicações são a sua utilização em doentes sob oxigenoterapia e em risco de progressão para doença grave, mas sem Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA) com necessidade de suporte ventilatório invasivo⁴¹.

O uso de corticosteroides continua a ser utilizado em casos de doença mais avançada⁵. A DGS recomenda a utilização de Dexametasona ou Metilprednisolona (na

indisponibilidade de Dexametasona e sobretudo na idade pediátrica) em doentes com doença grave ou crítica⁴¹.

Outros medicamentos estão a ser testados, nomeadamente três antivirais mais recentes que são promissores no tratamento da COVID-19, o Molnupiravir, Fluvoxamine e Paxlovid (produzido pela Pfizer). O Paxlovid parece ter melhores resultados (com uma taxa de cerca de 89%) na diminuição do risco de hospitalização ou morte. Estes fármacos parecem ser eficazes na redução das taxas de mortalidade e hospitalização em pacientes infetados. Além disso, não têm muitos efeitos adversos, pelo que são seguros⁴².

IV.3.5.2 – Terapia de suporte

Os doentes tendem a desenvolver diversas complicações pelo facto de não existir um tratamento específico, pelo que é necessário existir uma boa terapia de suporte. Como terapia de suporte vida, pode-se destacar a oxigenação por membrana extracorporeal (ECMO)⁹.

A característica fisiopatológica SDRA, devido à doença COVID-19, num doente grave e crítico, é a heterogeneidade da lesão pulmonar. A ventilação em decúbito ventral, designada de pronação, é uma terapia de resgate importante nestes casos e tem mostrado resultados na regressão da doença crítica e na melhoria do prognóstico do doente³⁸.

Para além disso, a DGS recomenda também, nos doentes com doença grave e crítica em recuperação, a implementação de um plano multidisciplinar de reabilitação funcional e respiratória, bem como a vigilância de sequelas⁴¹.

IV.3.5.3 – Vacinação

Uma vacina eficaz e segura tem um papel significativo na diminuição da transmissão e infeção crescentes pelo vírus SARS-CoV-2. O desenvolvimento de uma vacina requer planeamento extensivo e inúmeras pesquisas para confirmar a sua segurança. Requer, também, várias etapas de ensaios clínicos em humanos para determinar a sua eficácia na intervenção da doença⁴³.

Assim, a produção de vacinas eficazes é essencial de forma a fornecer imunidade a longo prazo. As vacinas contra o SARS-COV-2 podem ser de vírus inativo, vacina de vetores virais não replicantes, vacinas de DNA, vacinas de mRNA e vacinas baseadas em subunidades de proteína⁴⁴.

Em primeiro lugar, as vacinas de vírus inativo são a opção mais rápida para as vacinas antivirais, que são tradicionalmente obtidas a partir de células infetadas pelo vírus. Alguns métodos físicos e químicos são utilizados para inativar o vírus e as suas subunidades são comumente usadas para produzir anticorpos. Contra o SARS-CoV-2, destaca-se a BBIP-CorV, produzida em Wuhan, que se tem mostrado eficaz. O grande desafio das vacinas de vírus inativo é o tempo curto de imunidade, tendo sido mostrado que os níveis de IgG decresceram 16 meses após a inoculação⁴⁵.

As vacinas de vetores virais não replicantes são também utilizadas contra o SARS-CoV-2, e destaca-se o Adenovírus como vetor viral. O processo consiste na inativação do vírus e inserção da proteína spike, de forma a que o organismo crie anticorpos e, assim, reduza a gravidade da infeção numa exposição próxima. Uma das limitações deste tipo de vacinas é o facto da maioria das pessoas ter imunidade prévia a estes vetores, pelo que a eficácia pode ser mais reduzida. Neste tipo de vacinas, destacam-se a AstraZeneca (AZD1222/ ChadOx1nCoV-19), Johnson & Johnson (JNJ-78436735) e Sputnik V (Gam-COVID-Vac)⁴⁵.

As vacinas de DNA consistem na criação de um sistema imunológico eficaz, sem criar o desequilíbrio provocado pela infeção por SARS-CoV-2. Assim, estas vacinas são capazes de ativar a imunidade celular e criar, então, uma resposta imune adequada. Têm grandes vantagens, como o facto de serem não infecciosas, de fácil produção em pouco tempo e de terem uma boa relação de custo/benefício⁴⁵.

As vacinas de mRNA contêm moléculas de mRNA que codificam antígenos proteicos que são, posteriormente, injetados diretamente na célula hospedeira e traduzido na proteína alvo no citoplasma. As grandes vantagens são não haver risco de infeção durante a produção da vacina, a imunidade parece ser longa e, uma vez que não há necessidade de entrar no núcleo da célula para a expressão do antígeno, não existe a possibilidade de criação de mutações insercionais. A desvantagem deste tipo de vacinas são os efeitos secundários após a toma da vacina, que incluem calafrios, mialgias, cefaleias e fadiga. A Pfizer (BNT162b2) e a Moderna (mRNA-1273) são as mais utilizadas e apresentam uma eficácia elevada⁴⁵.

Por fim, as vacinas baseadas em subunidades proteicas consistem na clonagem dos genes que codificam os componentes antigénicos predominantes do vírus, que são posteriormente expressos (em células bacterianas, por exemplo). Os produtos recombinantes dessa expressão são usados para formar uma vacina. Das vacinas contra o SARS-CoV-2 destaca-se a Novavax (NVX-CoV2373)⁴⁵.

O grande desafio da eficácia da vacinação está relacionado com o aparecimento de diferentes mutações do vírus uma vez que, apesar do número não ser tão elevado,

a transmissibilidade e a propagação mundial pode causar um fenômeno de seleção natural em certas mutações. Desta forma, reconhecer as mutações é essencial para a produção de vacinas eficazes a longo termo⁴⁴.

Apesar do esforço dos cientistas de todo o mundo para produzir uma vacina eficaz, existem ainda algumas ambiguidades, como o tempo de imunidade que a vacina cria, se a imunidade desenvolvida após a infecção é diferente da resultante da vacinação, se a vacinação reduz a propagação do vírus, se as vacinas funcionam da mesma forma em diferentes populações, entre outras questões que poderão surgir no futuro. Para além disso, apesar da elevada taxa de vacinação em muitos países, o cumprimento das regras de prevenção e transmissão devem continuar a ser cumpridas⁴⁵.

De acordo com a *Our World in Data*, a nível mundial, até ao dia 16 de março de 2022, 63,84% da população já se encontrava vacinada contra o SARS-CoV-2. A nível nacional, até ao dia 10 de março de 2022, 95,04% da população encontrava-se vacinada contra o SARS-CoV-2⁴⁶.

IV.4 – MORTE *VERSUS* AUTÓPSIA MÉDICO-LEGAL

Os doentes com doença grave têm um prognóstico pior em relação aos que têm doença ligeira. Quando a situação dos doentes agrava, chegam a necessitar de ventilação mecânica ou têm falência multiorgânica, e a taxa de mortalidade nestes casos pode chegar até 78%. Assim, é importante a identificação de doentes que podem evoluir para doença grave e melhorar, assim, a taxa de sobrevivência³⁸.

Anteriormente foi referido que a existência de comorbilidades influenciava a mortalidade da infeção pelo SARS-CoV-2. Efetivamente, alguns autores concluíram que as patologias mais frequentemente associadas são doenças cardiovasculares (Hipertensão Arterial^{47,48} e Doença Arterial Coronária⁴⁸), distúrbios metabólicos (excesso de peso⁴⁸, obesidade^{47,48} e diabetes⁴⁸), DPOC (Doença Pulmonar Crónica Obstrutiva)⁴⁷ e neoplasias⁴⁸.

As complicações que conduzem à morte são Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA)^{48,49} com microtrombos, Lesão Renal Aguda⁴⁸, Lesão Cardíaca⁴⁸, Insuficiência Hepática⁴⁸, Sepsis^{48,49} e Enfarte Pulmonar⁶. Também a diminuição significativa da contagem de linfócitos, citocinas e marcadores inflamatórios no sangue periférico e anormalidades persistentes nos indicadores de coagulação vascular disseminada se revelam importantes³⁸. As principais causas de morte registadas são, de acordo com um artigo e por ordem de prevalência: falência respiratória, falência multiorgânica, causa cardíaca, COVID-19 e pneumonia⁵⁰.

IV.4.1 – Autópsia Anatomo-Patológica e Autópsia Médico-Legal

Uma autópsia é realizada, não só para fins clínicos, mas também para fins médico-legais. A autópsia clínica, denominada também como autópsia anatomo-patológica, é realizada tendo como principais objetivos estudar a doença que causou a mortalidade, a sua natureza, a sua evolução, a eficácia dos tratamentos implementados e ainda de controlo de qualidade de cuidados médicos e de formação médica. Por outro lado, a autópsia médico-legal é realizada em casos com interesse judicial para esclarecimento da causa da morte e das circunstâncias que a rodearam, nomeadamente da eventual intervenção de terceiros, sua identificação e seu grau de responsabilidade. Não obstante, uma autópsia que começou por ser Médico-Legal, pode ter uma importante componente Anatomo-Patológica⁵¹.

Como o presente trabalho se insere na área da Medicina Legal, é nosso objetivo aprofundar mais a autópsia Médico-Legal, a nível de objetivos e procedimentos. A avaliação da morte num contexto Médico-Legal é algo que não é natural e pode levantar dúvidas, ou seja, uma autópsia Médico-Legal é usualmente solicitada quando estão em situações de morte violenta ou de suspeita de morte violenta, como são os acidentes, os suicídios e os homicídios bem como nas mortes de causa ignorada⁵¹. Alguns dos objetivos de uma autópsia Médico-Legal são:

- Determinar a causa da morte;
- Estabelecer identidade do falecido;
- Determinar o tempo decorrido desde a morte;
- Esclarecer as circunstâncias da morte, incluindo local onde a mesma possa ter ocorrido, a eventual intervenção de terceiros, e a etiologia médico-legal em casos de morte violenta.⁵¹

Idealmente, uma autópsia Médico-Legal deveria incluir o exame do local do evento, exame da documentação disponível, exame do vestuário, exame do hábito externo do cadáver, exame do hábito interno do cadáver e exames complementares, dos quais se destacam os exames histopatológicos dos órgãos principais, exames no âmbito da química e toxicologia forense, exames microbiológicos e exames imagiológicos, que podem ser realizados para estabelecimento de uma correta causa de morte⁵¹⁻⁵³.

A palavra autópsia deriva do grego e significa “ver por si próprio” e consiste no estudo de um corpo morto. Uma autópsia é reconhecida como uma parte necessária da medicina, não só por nos determinar uma correta causa de morte, mas também por conseguir identificar outras patologias presentes, o que permite estabelecer uma

correlação entre as duas⁵². O grande desafio da medicina legal é identificar a causa de morte e, em alguns casos, esta pode permanecer indeterminada após grande esforço de toda a equipa. Assim, existem factores que levam a dificuldades, como a coexistência de uma condição pré-existente e uma lesão fatal ou quando existem diversas causas potenciais de morte⁵⁴.

A taxa global de autópsias realizadas tem vindo a decrescer, não só devido ao aumento de novos métodos complementares de diagnóstico que ajudam a estabelecer um diagnóstico correto, mas também pela existência de melhores estratégias terapêuticas, como novos medicamentos e novas técnicas cirúrgicas^{52,55}. No entanto, a autópsia tem-se mostrado um pilar para a deteção de doenças infecciosas, tendo contribuído significativamente para o esclarecimento de inúmeras doenças, como Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), SARS, entre outros⁵⁶. É estimado que cerca de 20 a 30% de infeções em pacientes hospitalares permanecem indetetáveis até à realização da autópsia⁵⁶.

Para além disso, a autópsia ainda tem grande impacto na educação médica, na medida em que permite um estudo anatómico real e estabelece uma relação com achados clinicopatológicos⁵⁵. Devido ao facto de ainda existirem erros no diagnóstico clínico, quando comparado à causa de morte relatada na autópsia, esta constitui ainda uma prática da medicina essencial para compreender uma doença, principalmente o seu mecanismo de infeção, interação com outros órgãos, a sua transmissão, perceber novos padrões de doenças antigas (como tuberculose) e facilitar a investigação de questões ambientais, ocupacionais e doenças relacionadas com o estilo de vida^{52,55,56}.

IV.4.2 – Autópsias COVID-19

Inicialmente, existiu um grande receio em relação à realização de autópsias em vários países, não só pela escassez de recursos e pelo número elevado de vítimas, mas também por um risco incerto de contágio da equipa⁶.

De facto, alguns países optaram por não realizar autópsias por não terem materiais e equipamentos adequados e suficientes. Em Itália, por exemplo, foi decidido não realizar autópsias, exceto em casos seleccionados²⁰. Em Portugal, de acordo com a DGS, as autópsias médico-legais deveriam ser dispensadas, à exceção se o objetivo for a investigação de um crime⁵⁷.

Para além do supramencionado, uma autópsia num cadáver positivo para COVID-19 demora cerca de três vezes mais tempo do que uma autópsia normal, não só devido ao tempo necessário antes para a preparação da sala da autópsia (cumprir o

protocolo de segurança e limpeza de todos os materiais), mas também pelo tempo que demora a equipar e desequipar a equipa de profissionais, esperar pelo resultado de análises e exames, registar e documentar todos os procedimentos⁶.

O funeral deve ser realizado com o caixão fechado e a sepultura em jazigo deve ser evitada, de acordo com a Direção Geral de Saúde⁵⁷.

IV.4.3 – Riscos e Perigos

O maior risco na realização de uma autópsia é a possibilidade de contágio. Os microorganismos são categorizados em quatro níveis (HG1-4), em relação ao seu risco de transmissão aos humanos, de acordo com o Advisory Committee on Dangerous Pathogens (ACDP)²⁸. Os microorganismos do primeiro nível não têm capacidade de desenvolver doença em humanos. Os microorganismos do grupo 2 podem desencadear doença em humanos e apresentam risco de contágio para quem realiza o procedimento. A profilaxia e/ou tratamento nestes casos é geralmente acessível. Os microorganismos do nível 3 podem desencadear doença grave em humanos e podem representar um risco significativo para quem realiza os procedimentos. Para além disso, têm capacidade de transmissão entre humanos, mas a profilaxia e/ou tratamento é geralmente acessível. Por último, os microorganismos do nível 4 desencadeiam doença severa em humanos e o risco de contágio é significativo, pelo que profilaxia e/ou tratamento não se encontra disponível. O que merece destaque é o HG3 pois os vírus SARS e MERS fazem parte deste grupo, e o SARS-CoV-2 foi considerado um organismo HG3²⁸.

O risco de contágio é acrescido pela permanência do vírus em diversas superfícies por algum tempo. Os vírus SARS e MERS podem persistir por um longo período de tempo em ambientes húmidos – até 4 horas em superfícies metálicas; mais do que um dia em papel; 2 dias em águas de torneira e plásticos; 3 dias nas fezes; até 14 dias em solução salina e até 17 dias na urina^{36,58}.

De acordo com a positividade dos cadáveres, existem três possibilidades, pois o comportamento do vírus é ainda desconhecido: 1) o cadáver testar positivo durante os vários dias de estudo; 2) o cadáver testar positivo no início e negativo após uns dias; 3) o cadáver testar negativo no início e positivo após uns dias⁵⁹.

De forma a entender melhor a razão do vírus ter este padrão desigual após a morte, uns investigadores estudaram algumas hipóteses. Em primeiro lugar, foi proposta a explicação de que o vírus, no início do processo de morte, ainda se consegue ligar às células e multiplicar-se. No entanto, ficamos com duas dúvidas: por que razão existem casos positivos que permanecem positivos e outros casos que se tornam negativos ao

longo do tempo. Uma explicação poderia ser o facto de quando o processo de autópsia está concluído, o genoma viral acaba por se degradar. Por outro lado, quando esse mesmo processo termina, o genoma viral entra em circulação e consegue permanecer com atividade viral detetável⁵⁹.

Desta forma, com o objetivo de aprofundar que fatores poderiam estar na origem desta diferença na carga viral, foram procuradas comorbilidades ou causas de morte que pudessem ter alguma relação, mas todos os resultados foram inconclusivos⁵⁹. Um outro estudo refere que, para além do que já foi mencionado, um dos factores decisivos para a capacidade de infeção de um cadáver parece estar relacionado com a duração de infeção antes da morte e a carga viral do doente. Assim, este mesmo estudo propôs que os cadáveres de doentes com COVID-19 devessem ser considerados potencialmente infecciosos por mais de 2 semanas post-mortem⁶⁰.

IV.4.4 – Segurança e Prevenção da Transmissão do Vírus

Previamente a cada autópsia, deve ser realizada uma check-list com todos os passos de preparação, documentação, equipamento e todo o vestuário necessário. Para além disso, cada membro da equipa deve testar a sua condição de saúde (em particular, temperatura corporal e sinais e sintomas de infeção)⁶. É importante, também, recolher informação do hospital sobre a vítima, de forma a reconhecer o histórico clínico da vítima, informação dos médicos que contactaram diretamente com esta e o histórico dos achados laboratoriais²⁸.

a) Equipamento pessoal

Os profissionais envolvidos na autópsia devem garantir que as medidas de proteção adequadas estão asseguradas, principalmente o uso de EPI de barreira máxima para reduzir o risco de infeção durante os procedimentos^{2,28,57}. Este deve incluir luvas cirúrgicas duplas ou luvas resistentes ao corte; bata impermeável comprida com um avental de plástico; proteção dos antebraços até aos cotovelos; calçado adequado (por exemplo socas) com um cobre botas por cima, ou uma bota de borracha com reforço metálico; touca cirúrgica com proteção do pescoço; máscara FFP2 ou FFP3 e proteção ocular, como uma viseira ou óculos com proteção lateral. Deve-se evitar o uso de EPI reutilizáveis^{2,14,57}.

b) Sala de Autópsias

As autópsias devem ser realizadas numa sala adequadamente iluminada e ventilada. Se existirem sistemas de ventilação mecânica, deve ser criado um sistema de pressão negativa. Os procedimentos geradores de aerossóis devem ser minimizados, pelo que assegurar uma ventilação exaustiva da sala é importante^{2,6,28}.

O número de pessoas autorizadas na sala deve ser limitado às estritamente necessárias e as portas da sala devem permanecer fechadas⁵⁷.

Um estudo sugere a divisão da sala em zonas contaminadas, zonas intermédias e zonas limpas, de forma a evitar passagens de uma área para outra e possível contágio da equipa de profissionais².

c) Manuseamento do cadáver

Para observação das estruturas respiratórias, a técnica utilizada, descrita num artigo, consiste na extração “em bloco” das estruturas orais, cervicais e torácicas, através de técnicas de disseção específicas, cujo objetivo é visualizar todo o trato respiratório fora do corpo⁶¹. Outro investigador utiliza uma combinação de técnica em bloco e da in-situ, com a realização de um corte em Y para abrir a cavidade torácica e abdominal. Como já foi referido anteriormente, devem evitar-se procedimentos produtores de aerossóis, pelo que a cavidade torácica foi aberta ao longo da parte condral, com uso de tesouras. É de referir que todos os outros órgãos são dissecados com utilização de tesouras e bisturis novos, de forma a evitar contaminação cruzada⁶.

O uso de ferramentas elétricas deve também ser dispensado, de forma a evitar a produção de aerossóis. O manuseamento dos órgãos deve ser cuidadoso, de forma a evitar ressalto de partículas. Por exemplo, os intestinos podem ser abertos debaixo de água, de forma a evitar jatos de água de alta pressão. Em caso de ressalto, para a roupa do profissional ou para a mesa de autópsia, a desinfeção deve ser realizada^{2,6}.

No fim da autópsia, o corpo deve ser fechado, lavado com uma solução desinfetante e, alguns autores, defendem a não utilização de sacos de cadáver, exceto se o derrame ou drenagem de fluidos forem excessivos; para procedimentos pós-autópsia; para facilitar o transporte ou armazenamento de corpos fora da área mortuária; ou quando necessário para a gestão de um elevado número de corpos. Por outro lado, a DGS recomenda a utilização de saco duplo de cadáver sempre^{6,28,57}.

d) Limpeza da sala e da equipa

A limpeza da sala de autópsia deve ser realizada com o material de proteção individual já mencionado, deve iniciar-se 20 minutos após terminar a autópsia e os

sistemas de ventilação devem permanecer ativos. A limpeza e desinfecção devem ser por meios húmidos, ou seja, evitar o aspirador a seco e métodos de aplicação de produtos que salpiquem ou gerem aerossóis (por exemplo, água sob pressão)^{6,57}. Toda a sala deve ser limpa com desinfetantes com ação contra o vírus, como o hipoclorito de sódio ou álcool etílico, com um tempo de atuação, no mínimo, de 30 minutos⁶. Os materiais utilizados (como máquina fotográfica, telefones e teclados de computador) devem, também, ser limpos e desinfetados⁵⁷.

Por fim, no fim da autópsia e quando a limpeza estiver concluída, retirar o EPI de forma cuidadosa e sequencial, de forma a evitar a contaminação, e descartar o material em locais apropriados. De seguida, deve-se proceder à higienização das mãos⁵⁷.

IV.4.5 – Exames e recolha de amostras

A recolha de amostras deve respeitar algumas regras básicas, em todas as autópsias, destacando-se as mais relevantes, como a recolha de fragmentos dos órgãos principais, para exame histológico. Para além disso, deve conter amostras para exames químico-toxicológicos e de biologia e genética forenses⁵³.

Durante a pandemia, os exames e testes *post-mortem* para o SARS-CoV-2 são de extrema importância pois possibilitam a manutenção das precauções, não só durante a autópsia, mas também na gestão posterior do cadáver³⁶. Apesar de existirem estudos onde as vítimas não foram diagnosticadas com SARS-CoV-2 antes da autópsia¹⁴, todos os cadáveres deveriam ser testados com colheitas nasofaríngeas e pulmonares, de forma a eliminar falsos negativos ou recorrência de positividade viral.^{6,14,28}

As amostras do trato respiratório podem ser facilmente retiradas com utilização de zaragatoa nas regiões anatómicas mais importantes como os pulmões, como o cérebro, intestino delgado e cólon, e devem ser, posteriormente, analisados quanto à infeção por SARS-CoV-2^{6,14}. Estas regiões anatómicas podem ser testadas para outros vírus, como o vírus Influenza¹⁴.

Quando não é possível analisar os fragmentos dos órgãos rapidamente, deve ser utilizada a criopreservação, que consiste no congelamento de tecidos a temperaturas muito baixas. As colheitas de sangue ou de urina devem ser realizadas antes da abertura das cavidades corporais, de forma a minimizar o risco de contaminação³⁶.

IV.4.6 – Virtópsia

O termo virtópsia é derivado das palavras “virtual” e “autópsia” e foi descrito, pela primeira vez, em 2002, na Universidade de Bern, na Suíça. Corresponde a uma técnica que pode ser utilizada independentemente do exame do cadáver, ou como uma avaliação adicional durante a autópsia convencional, que traz muitas vantagens. Tem como objetivo a visualização em alta definição de todo o corpo, através da utilização de técnicas de imagem, como a TC e a Ressonância Magnética, de forma a esclarecer a causa de morte correta. Em alternativa, quando não existem instalações com o equipamento necessário para a realização da virtópsia, podem ser utilizadas máquinas de Rx portáteis e ultrassonografia. A radiografia pode ser utilizada na deteção de pneumotórax, pneumoperitóneu, embolismo, entre outros. A ultrassonografia consegue detetar hipertrofia cardíaca e aneurisma da aorta, por exemplo.⁶²⁻⁶⁴

A grande vantagem da virtópsia é o facto de conseguir detetar lesões mais pequenas e em áreas como, por exemplo, a coluna lombar, pélvis ou membros, que a autópsia convencional não costuma examinar por rotina, e sem mutilar o corpo, respeitando algumas crenças religiosas. Para além disso, este tipo de autópsia permite a reavaliação e reinterpretação das imagens, à medida que a investigação progride.^{62,65}

Algumas das limitações desta técnica foram ultrapassadas ao longo dos anos, com a introdução da biópsia percutânea, de forma a obter amostras para histologia e toxicologia, e na utilização da Angio-TC *post-mortem*, de forma a visualizar as alterações vasculares.⁶³

De facto, durante a pandemia, esta técnica de autópsia minimamente invasiva começou a tornar-se um complemento ou mesmo uma alternativa. Numa autópsia convencional, o risco de contágio é grande devido à abertura dos pulmões e outros órgãos, e à exposição a fluidos corporais, algo que pôde ser ultrapassado com a virtópsia, uma vez que apresenta uma considerável redução do risco de contágio.^{63,64}

Os pulmões consistem no órgão mais afetado pela infeção SARS-CoV-2, e a TC consiste num dos melhores exames de imagem para a avaliação dos mesmos. Assim, a maior parte dos resultados descritos são pela avaliação *post-mortem* através de TC, e consistem na presença de opacidades com padrão em vidro despolido bilaterais e consolidação pulmonar, distribuídas de forma periférica ou difusa. Estes resultados são muito semelhantes aos relatados nos exames de imagem complementares ao diagnóstico, em doentes vivos positivos.⁶³

A angio-TC *post-mortem* tem sido introduzida na virtópsia como uma técnica complementar e consegue adicionar informação valiosa sobre o sistema vascular, como

a deteção de tromboembolismo pulmonar ou outros eventos trombóticos em doentes COVID-19 positivos. Para além disso, as biópsias percutâneas guiadas por TC podem ser utilizadas de forma a obter amostras para análise histológica, microbiológica e toxicológica.⁶³

Num artigo de opinião publicado na Acta Radiológica Portuguesa, o autor refere que, em Portugal, a ligação entre a Radiologia e as Ciências Forenses tem-se tornado cada vez mais forte, sofrendo um grande impulso no surgimento da pandemia. Refere, ainda, que o Instituto de Medicina Legal e Ciências Forenses tem mostrado um interesse maior na solicitação de exames por TC.⁶⁵

Algumas das limitações da Virtópsia, constatadas por um artigo, são o custo maior na aquisição do material e o desequilíbrio na distribuição dos mesmos em diferentes zonas; a falta de equipas experientes; a dificuldade em perceber e documentar algumas diferenças na cor, textura e consistência dos órgãos; a incapacidade de detetar alterações no cheiro das cavidades corporais; alguns conflitos bioéticos relacionados com a confidencialidade, privacidade de imagens e de dados; e o facto da validação judicial ainda não ser concordante.⁶⁶

A existência de limitações e a falta de informação na literatura sobre este tema, tornam a total substituição da autópsia convencional pela autópsia virtual difícil, no entanto, ambas têm vantagens e devem complementar-se.^{63,64}

IV.4.7 – Achados autópticos

Os achados autópticos que irão ser descritos são provenientes de tecidos mais frequentemente relacionados com a COVID-19 e onde os autores descrevem achados macroscópicos e microscópicos (histológicos e imunohistoquímicos) mais frequentes. Os achados autópticos, principalmente as amostras histológicas, ajudam a determinar a causa de morte, em casos suspeitos ou prováveis de infeção por SARS-CoV-2. Para além disso, a evidência post-mortem fornece dados fundamentais para a compreensão da fisiopatologia do vírus²⁰.

a) Achados pulmonares

Macroscopicamente, os achados mais comuns são consolidação pulmonar, pleurisia e edema pulmonar^{20,28,36}. O peso dos pulmões também pode estar aumentado^{2,20,28}, com a presença de muco nas vias aéreas^{36,67}. Em alguns casos, é possível observar áreas de hemorragia e de fibrose pulmonar²⁰.

De acordo com vários autores, a análise microscópica de fragmentos pulmonares revela lesão alveolar difusa^{2,5,6,14,20,28,47,49,68}. Este dano alveolar é caracterizado por: membranas hialinas ao longo da parede alveolar, edema intersticial e/ou intra-alveolar, exsudato fibrinoso intra-alveolar e infiltrado de células mononucleares intra-alveolares (macrófagos, linfócitos e neutrófilos), ativação/hiperplasia dos pneumócitos tipo II e metaplasia escamosa^{20,49,69}. Muitas vezes é encontrada bilateralmente, em vários estádios, principalmente nas fases proliferativa e exsudativa, em que se associa a trombose de algumas artérias^{14,20,47,49,68} e enfarte hemorrágico do tecido pulmonar⁶. A inflamação é predominantemente linfocítica e algumas células gigantes multinucleadas foram encontradas ao lado de pneumócitos grandes atípicos^{28,36}.

Em alguns casos, foi observada hemorragia alveolar, tendo sido descritas algumas imagens de pneumonia ou de broncopneumonia como focais ou difusas^{6,20,49}. A broncopneumonia pode, ou não, estar associada a um abscesso bacteriano^{67,68}. Alguma fibrina enriquecida no interior de vasos sanguíneos foi descrita aparecendo, principalmente, como microtrombos nos alvéolos capilares e nos vasos de pequeno calibre^{20,69}. Esta formação de fibrina pode significar que o SARS-CoV-2 tem capacidade de alterar o sistema de coagulação, criando um estado de hipercoagulabilidade⁶⁹.

O dano pulmonar foi investigado por microscopia eletrônica, mostrando partículas virais predominantemente localizadas em pneumócitos, livres no espaço alveolar, em fagossomas de macrófagos alveolares. As partículas virais foram observadas fora e dentro das células, em agregados confinados às vesículas²⁰. Num estudo, os autores descreveram vascularização pulmonar distorcida com capilares estruturalmente deformados que se pareciam alongados, com alterações de calibre²⁰.

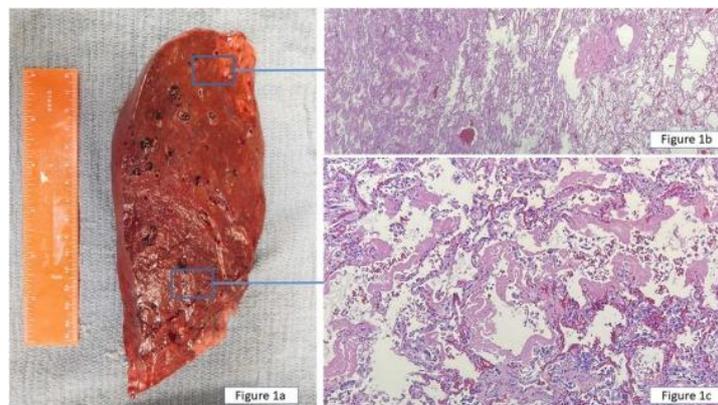


Fig. 7. Lesão alveolar difusa macroscopicamente e microscopicamente. 1a: Corte transversal de pulmão vermelho e robusto. 1b: Microscopia com menor ampliação, mostrando lesão alveolar difusa do lado esquerdo e parênquima relativamente

normal do lado direito. 1c: lesão alveolar difusa com membranas hialinas proeminentes⁴⁰.

A análise imunohistoquímica é fundamental para definir as células imunes que se infiltram no tecido pulmonar. O recetor ACE 2 localizou a glicoproteína spike do SARS-CoV-2 nos alveólos pulmonares e epitélio brônquico, mas não em pacientes que tenham falecido por um enfarte agudo do miocárdio⁶⁷. Para além disso, a glicoproteína S e o recetor ACE2 foram coexpressos nos epitélios alveolar e brônquico^{20,67}. Os macrófagos, marcados com CD68, estavam localizados nos espaços alveolares e em áreas fibroproliferativas^{20,67}. Outros marcadores inflamatórios como Interleucina 6 (IL-6), proteína interferão induzido por gama (IP-10), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 1 β (IL-1 β), implicados na evolução da doença, foram detetados nos alveólos com infiltração difusa de células imunes⁶⁷.

b) Achados cardiovasculares

Um achado frequente foi cardiomegalia, com hipertrofia ventricular do miocárdio com dilatação, principalmente da cavidade direita, que se associava a esclerose de artérias coronárias^{20,47}, com deposição de fibrina e consequente fibrose do miocárdio^{5,6,20,70,71}. Um estudo revelou pequenos focos de necrose de miócitos em 26% dos cadáveres observados e um caso de enfarte agudo do miocárdio do ventrículo esquerdo, com perfuração e hemopericárdio fatal⁷¹.

Pode associar-se miocardite aguda com a infeção pelo SARS-CoV-2, que é caracterizada por infiltrado linfocitário^{5,20,50,68,70}, edema intersticial, sendo tudo causas de morte cardíaca aguda⁵. Mais raramente foram descritos amiloidose cardíaca^{6,20}, doença de pequenos vasos, trombose das veias miocárdicas, trombose endocárdica do ventrículo esquerdo, pericardite/miocardite/epicardite linfocitária^{20,70}.

Nos vasos sanguíneos, é possível observar vasculite, trombos mistos ou hialinos com necrose hemorrágica e hemorragia focal⁶⁷.

A nível imunohistoquímico, foi observado um número aumentado de macrófagos intersticiais CD68 positivos⁷¹.

c) Achados do sistema urinário

Os achados histopatológicos mais frequentes são lesão tubular aguda, que se pode associar a nefrosclerose benigna⁶, com evidência de lesão endotelial³⁶ e e trombos

de fibrina nos capilares glomerulares⁶⁸. Algumas alterações isquémicas da bexiga foram encontradas em 24% dos casos, associadas a ulcerações da mucosa⁶.

A nível macroscópico, os rins não revelaram nenhuma alteração em particular. O maior e mais relevante achado a nível microscópico foi o dano tubular agudo⁴⁷ e microtrombos de fibrina em glomérulos²⁰. Num estudo específico, descreveram uma lesão tubular aguda focal com epitélio achatado e acumulação intraluminal de detritos celular em áreas focais²⁰. Outras alterações menos frequentes são coagulação intravascular disseminada, hemossiderina nos túbulos renais, inflamação intersticial crónica com proeminência esporádica de inflamação linfocítica, nefropatia hipertensiva e diabética e nefrosclerose inespecífica²⁰.

d) Achados hepáticos

Macroscopicamente, a alteração mais comum a nível hepático foi a presença de esteatose⁶⁸; porém, em alguns casos, foram encontrados sinais de necrose hepática²⁰.

A nível microscópico, os achados mais comuns foram esteatose, congestão crónica, infiltrado linfocitário especialmente na via portal e periportal, necrose do hepatócito e hiperplasia e hipertrofia das células Kupffer²⁰. Alguns achados menos comuns incluíram palidez lobular central, colestase e proliferação ductal e inflamação lobular focal com predominância de linfócitos²⁰.

e) Achados cerebrais

Alguns estudos revelaram presença de alterações cerebrais, muitas vezes associada a doença prévia, como neurodegeneração, Acidentes Vasculares Cerebrais (AVC) anteriores, ressecção tumoral, encefalopatia hepática, doença desmielinizante e aterosclerose^{20,72}.

A nível macroscópico, a hemorragia foi a alteração mais frequentemente reportada, desde petéquias e hemorragias pontilhadas subaracnoideias, até hemorragias cerebrais/cerebelares significativas^{20,72}. Outros achados como enfartes agudos ou subagudos, microenfartes ou enfartes lacunares e enfartes Watershed foram reportados, assim como edema severo que pode resultar, ou não, em herniações⁷².

A nível microscópico, a alteração mais frequentemente registada foi lesão hipóxica aguda leve a moderada, seguida de lesão hipóxica-isquémica grave e enfarte/necrose isquémica focal^{68,72}. Num estudo realizado em 23 casos, foi identificada microhemorragia focal e sufusões hemorrágicas⁷². Num grande número de casos,

foram registados infiltrados linfocitários predominantes de células T, perivasculares e leptomeníngeos focais leves, sem evidência de vasculite ou meningoencefalite⁷². Também foi reportada a presença de encefalite intersticial e perivascular²⁰.

Alguns autores observaram uma imunohistoquímica positiva, com os marcadores CD68, CD3, CD20, GFAP (proteína ácida fibrilar glial), APP (proteína precursora amiloide) e PLP (proteína proteolipídica), para diversas situações, como lesão axonal e infiltrado de células perivasculares²⁰. No entanto, num outro estudo foi detetada uma imunohistoquímica negativa para SARS-CoV-2²⁰, mas com um diagnóstico molecular positivo através de RT-PCR em amostras de medula, nervos olfatórios e lobo frontal²⁰.

O epitélio do sistema olfativo foi estudado e foi identificada inflamação aguda e crónica²⁰, ativação microglial²⁰ e neurónios vermelhos no bulbo olfatório⁷².

f) Achados hematológicos

No baço, a nível macroscópico, é mais comum encontrar um órgão maior, macio e friável²⁰, com evidência de esplenite²⁰. A nível histológico, foi detetada congestão²⁰ e atrofia da polpa branca²⁰, associada à diminuição ou ausência de folículos linfóides^{20,67}. A polpa vermelha pode encontrar-se hemorrágica ou enfartada²⁰, associada também a hiperplasia histiócita com macrófagos com hemossiderina, que é sugestivo de fagocitose de células vermelhas²⁰. Por fim, foram descritas alterações endoteliais de arteríolas foliculares, vasculite e trombos arteriais²⁰.

Os nódulos linfáticos encontram-se aumentados no mediastino e nos pulmões, com os seios subcapsulares moderadamente expandidos, infiltrados com macrófagos CD-68 positivos⁶⁷ e histiócitos hemofagocíticos CD163+²⁰. Um outro estudo mostrou congestão dos nódulos linfáticos e aumento de plasmablastos²⁰.

A nível medular, os resultados demonstraram hiperplasia mieloide, histiócitos positivos para CD163+, necrose focal, folículos linfóides primários e linfócitos T espalhados²⁰. Foi também descrita hiperplasia ajustada à idade, causada por hiperplasia reativa de granulopoiese⁴⁹ e foi também relatada siderose acentuada⁴⁹.

g) Achados dermatológicos

Em dois estudos foram descritas alterações purpúricas, caracterizadas por vasculopatia trombogénica, epiderme e necrose das estruturas anexais²⁰. Também foi descrita neutrofilia intersticial e perivascular com prevalência de leucocitoplasia? ou infiltrado linfocítico perivascular na derme superficial com trombose de pequenos vasos

na derme profunda²⁰. A imunohistoquímica foi positiva para CD4, CD3, C5b-9, MASP2 e pico de SARS-CoV-2 e proteínas do envelope²⁰.

h) Achados ao nível de outros órgãos

Alguns achados interessantes foram pancreatite⁴⁷, isquémia da bexiga com ulceração e hemorragia, isquémia entérica e mesentérica e endotelite dos pequenos vasos do duodeno²⁰.

A nível da glândula adrenal, foram descritas alterações como necrose fibrinóide aguda, vacuolização subendotelial e destroços apoptóticos²⁰. Também foi descrita hiperplasia adrenal e áreas de enfarte nos vasos^{20,47,69}.

Num estudo realizado com 12 amostras, foi descrito inchaço das células de Sertoli com diminuição do número de células de Leydig²⁰. Também foi encontrada inflamação linfocítica moderada, descolamento as membranas basais tubulares e perda de massa celular intratubular do lúmen e descamação²⁰. A imunohistoquímica foi positiva para alguns marcadores como CD3, CD20, CD68, CD138 e ACE2, mas o RT-PCR apenas confirmou a presença do vírus numa única amostra numa biópsia²⁰.

IV.4.8 – Conclusões médico legais

Em todos os estudos, nota-se uma grande dificuldade em estabelecer uma causa de morte exata⁴⁸. Em todos os casos analisados, o vírus aparece como um factor agravante de todas as comorbilidade pré-existentes⁴⁸. Porém, as causas de morte mais frequentemente relatadas incluem falência respiratória e falência multiorgânica⁵⁰.

As partículas virais sugestivas de SARS-CoV-2 foram registadas em células de diferentes órgãos, como traqueia, pulmões, fígado, cólon, rim e no sistema nervoso central, através de microscopia eletrónica, imunohistoquímica e imunofluorescência⁵⁰. Foi também detetado, num caso, RNA viral no ovário³⁷. As partículas virais encontradas nos alvéolos abrangem todos os seus constituintes, como pneumócitos, células endoteliais, capilares e macrófagos alveolares⁵⁰. As células endoteliais e os macrófagos são as principais células produtoras de citocinas e, assim, a lesão pulmonar é presumivelmente o resultado do efeito viral nos pneumócitos e células endoteliais, potenciados pela resposta inflamatória e libertação de citocinas. À medida que a lesão endotelial se desenvolve, a função anti-trombótica e anti-inflamatória do endotélio normal é diminuída e o equilíbrio muda para um efeito pró-trombótico⁵⁰, provocando perda da função de barreira, infiltração tecidual inflamatória, edema e lesão⁷⁰.

Os achados clinicopatológicos mais relevantes são lesão alveolar difusa, coagulopatia e compromisso hemodinâmico. O envolvimento extra pulmonar parece ser limitado a inflamação do parênquima, como miocardite, hepatite e encefalite⁵⁰.

A lesão alveolar difusa é um aspeto cardinal de lesão pulmonar e pode ocorrer noutros contextos clínicos, porém, nos doentes com COVID-19, esta lesão não é previsível, pelo que pode afetar indivíduos previamente não críticos como idosos, mas também indivíduos jovens e saudáveis⁵⁰.

As comorbilidades do sistema cardiovascular têm mostrado um papel crítico na patogénese da doença COVID-19⁷¹. A coagulopatia associada ao COVID-19 explica os eventos trombóticos intracardíacos, coronários e venosos⁷⁰. Todo o mecanismo é explicado pelo que foi dito anteriormente em relação ao efeito pró-trombótico.

Todas estas descobertas revelam a complexidade da fisiopatologia do SARS-CoV-2. Este vírus contribuiu para a mortalidade em quase todos os casos, no entanto, existe uma causa multifatorial de morte e o vírus aparece como um fator contributivo para doentes com diferentes comorbilidades³⁹.

V – CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES FINAIS

A COVID-19 representa, provavelmente, o maior evento pandémico na história humana moderna. O SARS-CoV-2 é um vírus altamente infeccioso transmitido entre humanos e a doença apresenta-se com um amplo espectro de sinais e sintomas clínicos com envolvimento de vários órgãos vitais. O envolvimento multissistémico é associado a doença grave e consegue prever um pior prognóstico e aumento da mortalidade.

O maior mecanismo principal descrito é a alta afinidade com o recetor ACE2, amplamente expresso na maioria das células do organismo.

Apesar de não existir uma cura definitiva para o vírus, a criação de vacinas permite uma proteção contra a forma grave da doença de forma eficaz, de acordo com os resultados demonstrados no último ano. No entanto, a morte continua a ser uma realidade para alguns doentes, principalmente com múltiplas comorbilidades, como idade avançada, obesidade, HTA, DM tipo 2, entre outros. Assim, o SARS-CoV-2 parece agravar a mortalidade destes doentes, que falecem por complicações como falência respiratória, falência multiorgânica ou eventos cardiovasculares.

A autópsia continua a ser um ponto-chave para a compreensão da causa de morte destes doentes e os achados clinicopatológicos ajudam no diagnóstico eficiente de COVID-19 e na gestão da infeção.

Numa autópsia, existem alguns pontos chave que devem ser respeitados, como dar a conhecer à equipa todos os procedimentos e todas as regras de segurança de forma a diminuir o risco de contágio; utilizar material adequado de proteção; e manusear o cadáver de forma a diminuir a produção de aerossóis.

Todos os achados autópticos confirmam uma afeção principal pelos pulmões, em relação à lesão alveolar difusa; e pelo sistema cardiovascular, com a grande incidência de um estado pró-trombótico nestes doentes. Estes constituem grande parte das complicações observadas na causa de morte por COVID-19. Para além disso, a existência de comorbilidades afeta o desenvolvimento da doença para uma forma mais grave da mesma pelo que o reconhecimento destes é essencial, de forma a estratificar o risco e propor terapias precoces para intervenção.

A realização de autópsias deve ser considerada em mortes por COVID-19, principalmente por ser uma pandemia, por se conhecer pouco em relação ao seu mecanismo de interação e pela capacidade da autópsia nos ensinar o que até hoje era desconhecido. Isto permite a criação de novos tratamentos que possam ser realmente eficazes no combate a este novo vírus. Para além do mais que nos permite determinar a causa de morte e não mascarar uma morte violenta ou de causa desconhecida.

VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calabrese F, Pezzuto F, Fortarezza F, Hofman P, Kern I, Panizo A, et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02886-6>
2. Aljerian K, BaHammam AS. COVID-19: Lessons in laboratory medicine, pathology, and autopsy. Vol. 15, *Annals of Thoracic Medicine*. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2020. p. 138–45.
3. Gavriatopoulou M, Korompoki E, Fotiou D, Ntanasis-Stathopoulos I, Psaltopoulou T, Kastritis E, et al. Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. Vol. 20, *Clinical and Experimental Medicine*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2020. p. 493–506.
4. Yesudhas D, Srivastava A, Gromiha MM. COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. Vol. 49, *Infection*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 199–213.
5. Mansueto G. COVID-19: Brief check through the pathologist's eye (autopsy archive). *Pathology Research and Practice*. 2020 Nov 1;216(11).
6. Skok K, Vander K, Setaffy L, Kessler HH, Aberle S, Bargfrieder U, et al. COVID-19 autopsies: Procedure, technical aspects and cause of fatal course. Experiences from a single-center. *Pathology Research and Practice*. 2021 Jan 1;217.
7. Pellett PE, Mitra S, Holland TC. *Basics of virology*. 2014.
8. Jameson JL, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. In: 20th ed. McGraw-Hill; 2018. p. 1325–79.
9. Khan M, Adil SF, Alkhathlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, *Epidemiology and Progress So Far*. *Molecules*. 2020 Dec 23;26(1).
10. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. Vol. 10, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2020.

11. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. Vol. 85, *Infection, Genetics and Evolution*. Elsevier B.V.; 2020.
12. Haake C, Cook S, Pusterla N, Murphy B. Coronavirus Infections in Companion Animals: Virology, Epidemiology, Clinical and Pathologic Features. *Viruses*. 2020 Sep 1;12(9).
13. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. Vol. 41, *Trends in Immunology*. Elsevier Ltd; 2020. p. 1100–15.
14. Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S. COVID-19 autopsies, Oklahoma, USA. *American Journal of Clinical Pathology*. 2020;153(6):725–33.
15. Primeiro modelo 3D dos Coronavírus. Fonte: Alissa Eckert, Dan Higgins, in Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2020.
16. Tao K, Tzou PL, Nouhin J, Gupta RK, de Oliveira T, Kosakovsky Pond SL, et al. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. Vol. 22, *Nature Reviews Genetics*. Nature Research; 2021. p. 757–73.
17. Mohamadian M, Chiti H, Shoghli A, Biglari S, Parsamanesh N, Esmaeilzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. Vol. 23, *Journal of Gene Medicine*. Blackwell Publishing Inc.; 2021.
18. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, et al. SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunity. Vol. 12, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
19. Ferré VM, Peiffer-Smadja N, Visseaux B, Descamps D, Ghosn J, Charpentier C. Omicron SARS-CoV-2 variant: What we know and what we don't. Vol. 41, *Anaesthesia Critical Care and Pain Medicine*. Elsevier Masson s.r.l.; 2022.
20. Mondello C, Rocuzzo S, Malfa O, Sapienza D, Gualniera P, Ventura Spagnolo E, et al. Pathological Findings in COVID-19 as a Tool to Define SARS-CoV-2 Pathogenesis. A Systematic Review. Vol. 12, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
21. Devezas T, Miranda LCM. On the global time evolution of the Covid-19 pandemic: Logistic modeling. *Technological Forecasting and Social Change*. 2022 Feb 1;175.

22. Our World in Data. Cumulative confirmed COVID-19 deaths [Internet]. Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. Jan 22, 2020 – Mar 17, 2022. [cited 2022 mar 17]. Available from: https://ourworldindata.org/explorers/coronavirus-data-explorer?zoomToSelection=true&facet=none&pickerSort=asc&pickerMetric=location&Interval=Cumulative&Relative+to+Population=false&Color+by+test+positivity=false&country=PRT~OWID_WRL&Metric=Confirmed+deaths
23. Our World in Data. Daily new confirmed COVID-19 cases [Internet]. Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. Jan 22, 2020 – Mar 17, 2022. [cited 2022 mar 16]. Available from: <https://ourworldindata.org/covid-cases>
24. Our World in Data. Number of COVID-19 patients in hospital [Internet]. Official data collated by Our World in Data. Jan 6, 2020 – Mar 16, 2022. [cited 2022 mar 17]. Available from: <https://ourworldindata.org/grapher/current-covid-patients-hospital?country=~PRT>
25. Bevova MR, Netesov S v., Aulchenko YS. The New Coronavirus COVID-19 Infection. Vol. 35, Molecular Genetics, Microbiology and Virology. Pleiades Publishing; 2020. p. 53–60.
26. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [Internet]. [cited 2022 mar 21]. Available from: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
27. Bakhiet M, Taurin S. SARS-CoV-2: Targeted managements and vaccine development. Vol. 58, Cytokine and Growth Factor Reviews. Elsevier Ltd; 2021. p. 16–29.
28. Hanley B, Lucas SB, Youd E, Swift B, Osborn M. Autopsy in suspected COVID-19 cases. *Journal of Clinical Pathology*. 2020 May 1;73(5):239–42.
29. Kariyawasam JC, Jayarajah U, Riza R, Abeysuriya V, Seneviratne SL. Gastrointestinal manifestations in COVID-19. Vol. 115, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Oxford University Press; 2021. p. 1362–88.

30. Mostaghimi D, Valdez CN, Larson HT, Kalinich CC, Iwasaki A. Prevention of host-to-host transmission by SARS-CoV-2 vaccines. *The Lancet Infectious Diseases*. 2022 Feb;22(2):e52–8.
31. Jara BJ. Infection prevention in the era of covid-19: 2021 basic procedure review. Vol. 49, *Journal of Nuclear Medicine Technology*. Society of Nuclear Medicine Inc.; 2021. p. 126–31.
32. Rahimi A, Mirzazadeh A, Tavakolpour S. Genetics and genomics of SARS-CoV-2: A review of the literature with the special focus on genetic diversity and SARS-CoV-2 genome detection. Vol. 113, *Genomics*. Academic Press Inc.; 2021. p. 1221–32.
33. Portugal. Ministério da Saúde. Direção Geral da Saúde. NORMA nº019/2020: COVID-19: Estratégia Nacional de Testes para SARS-CoV-2 [Internet]. 2022 [updated 2022 jan 21; cited 2022 fev 21]. Available from: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0192020-de-26102020-pdf.aspx>
34. Pecoraro V, Negro A, Pirotti T, Trenti T. Estimate false-negative RT-PCR rates for SARS-CoV-2. A systematic review and meta-analysis. Vol. 52, *European Journal of Clinical Investigation*. John Wiley and Sons Inc; 2022.
35. Torretta S, Zuccotti G, Cristofaro V, Etori J, Solimeno L, Battilocchi L, et al. Diagnosis of SARS-CoV-2 by RT-PCR Using Different Sample Sources: Review of the Literature. Vol. 100, *Ear, Nose and Throat Journal*. SAGE Publications Ltd; 2021. p. 131S-138S.
36. Baj J, Ciesielka M, Buszewicz G, Maciejewski R, Budzyńska B, Listos P, et al. COVID-19 in the autopsy room—requirements, safety, recommendations and pathological findings. Vol. 17, *Forensic Science, Medicine, and Pathology*. Springer; 2021. p. 101–13.
37. Ren L, Liu Q, Wang R, Chen R, Ao Q, Wang X, et al. Clinicopathologic Features of COVID-19: A Case Report and Value of Forensic Autopsy in Studying SARS-CoV-2 Infection. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*. 2021 Jun 1;42(2):164–9.
38. Wang Y, Zhang M, Yu Y, Han T, Zhou J, Bi L. Sputum characteristics and airway clearance methods in patients with severe COVID-19. *Medicine*. 2020 Nov 13;99(46):e23257.

39. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N, et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*. 2020 Aug 1;77(2):198–209.
40. Geller RL, Aungst JL, Newton-Levins A, Smith GP, Mosunjac MB, Mosunjac MI, et al. Is it COVID-19? The value of medicolegal autopsies during the first year of the COVID-19 pandemic. *Forensic Science International*. 2022 Jan 1;330.
41. Portugal. Ministério da Saúde. Direção Geral da Saúde. NORMA nº004/2020: COVID-19: Abordagem da Suspeita ou Confirmação de COVID-19 [Internet]. 2022 [updated 2022 jan 5; cited 2022 fev 23]. Available from: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0042020-de-230320201.aspx>
42. Wen W, Chen C, Tang J, Wang C, Zhou M, Cheng Y, et al. Efficacy and safety of three new oral antiviral treatment (molnupiravir, fluvoxamine and Paxlovid) for COVID-19 : a meta-analysis. *Annals of Medicine* [Internet]. 2022 Dec 31;54(1):516–23. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07853890.2022.2034936>
43. Yadav T, Srivastava N, Mishra G, Dhama K, Kumar S, Puri B, et al. Recombinant vaccines for COVID-19. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2020;16(12):2905–12.
44. Fathizadeh H, Afshar S, Masoudi MR, Gholizadeh P, Asgharzadeh M, Ganbarov K, et al. SARS-CoV-2 (Covid-19) vaccines structure, mechanisms and effectiveness: A review. Vol. 188, *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V.; 2021. p. 740–50.
45. Fathizadeh H, Afshar S, Masoudi MR, Gholizadeh P, Asgharzadeh M, Ganbarov K, et al. SARS-CoV-2 (Covid-19) vaccines structure, mechanisms and effectiveness: A review. Vol. 188, *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V.; 2021. p. 740–50.
46. Our World in Data. Share of people vaccinated against COVID-19 [Internet]. Official data collated by Our World in Data. Dec 13, 2020 – Mar 16, 2022. [cited 2022 mar 17]. Available from: <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>

47. Hanley B, Naresh KN, Roufousse C, Nicholson AG, Weir J, Cooke GS, et al. Histopathological findings and viral tropism in UK patients with severe fatal COVID-19: a post-mortem study. *The Lancet Microbe*. 2020 Oct 1;1(6):e245–53.
48. Salerno M, Sessa F, Piscopo A, Montana A, Torrisi M, Patanè F, et al. No autopsies on COVID-19 deaths: A missed opportunity and the lockdown of science. Vol. 9, *Journal of Clinical Medicine*. MDPI; 2020.
49. Evert K, Dienemann T, Brochhausen C, Lunz D, Lubnow M, Ritzka M, et al. Autopsy findings after long-term treatment of COVID-19 patients with microbiological correlation. *Virchows Archiv*. 2021 Jul 1;479(1):97–108.
50. Peiris S, Mesa H, Aysola A, Manivel J, Toledo J, Borges-Sa M, et al. Pathological findings in organs and tissues of patients with COVID-19: A systematic review. Vol. 16, *PLoS ONE*. Public Library of Science; 2021.
51. Kotabagi RB, Charati, Jayachandar D. Clinical autopsy vs medicolegal autopsy. Vol. 61, *Medical Journal Armed Forces India*. Medical Journal Armed Forces India; 2005. p. 258–63.
52. Costache M, Anca ;, Lazaroiu M, Contolenco A, Costache D, George S, et al. *Maedica-a Journal of Clinical Medicine Clinical or Postmortem? The Importance of the Autopsy; a Retrospective Study*. Vol. 9, *Maedica A Journal of Clinical Medicine*. 2014 p. 261–5.
53. Portugal. Ministério da Justiça. Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, IP. NP-INMLCF-008: Recomendações quanto aos procedimentos gerais de realização de autópsia [Internet]. 2013 [cited 2022 jan 20]. Available from:
<https://www.inmlcf.mj.pt/wdinmlWebsite/Data/file/OutrasInformacoes/PareceresOrientacoesServico/Normas/NP-INMLCF-008-Rev01.pdf>
54. Pollanen MS. Deciding the cause of death after autopsy - Revisited. Vol. 12, *Journal of Clinical Forensic Medicine*. Churchill Livingstone; 2005. p. 113–21.
55. van den Tweel JG, Wittekind C. The medical autopsy as quality assurance tool in clinical medicine: dreams and realities. Vol. 468, *Virchows Archiv*. Springer Verlag; 2016. p. 75–81.

56. Buja LM, Barth RF, Krueger GR, Brodsky S v., Hunter RL. The Importance of the Autopsy in Medicine: Perspectives of Pathology Colleagues. Vol. 6, Academic Pathology. SAGE Publications Ltd; 2019.
57. Portugal. Ministério da Saúde. Direção Geral da Saúde. NORMA nº002/2020: COVID-19: Procedimentos post mortem [Internet]. 2022 [updated 2022 jan 21; cited 2022 jan 25]. Available from: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0022020-de-16032020-pdf.aspx>
58. Pomara C, Salerno M, Sessa F, Esposito M, Barchitta M, Ledda C, et al. Safe management strategies in clinical forensic autopsies of confirmed COVID-19 cases. *Diagnostics*. 2021 Mar 1;11(3).
59. Aquila I, Ricci P, Bonetta CF, Sacco MA, Longhini F, Torti C, et al. Analysis of the persistence time of the SARS-CoV-2 virus in the cadaver and the risk of passing infection to autopsy staff. *Med Leg J*. 2021 Mar 1;89(1):40–53.
60. Plenzig S, Bojkova D, Held H, Berger A, Holz F, Cinatl J, et al. Infectivity of deceased COVID-19 patients. *International Journal of Legal Medicine*. 2021 Sep 1;135(5):2055–60.
61. Santurro A, Scopetti M, D'Errico S, Fineschi V. A technical report from the Italian SARS-CoV-2 outbreak. Postmortem sampling and autopsy investigation in cases of suspected or probable COVID-19. *Forensic Science, Medicine and Pathology*. 2020 Sep 12;16(3):471–6.
62. Kanchan T, Saraf A, Krishan K, Misra S. The advantages of virtopsy during the Covid-19 pandemic. *Medico-Legal Journal*. 2020 Nov 6;88(1_suppl):55–6.
63. Filograna L, Manenti G, Ampanozi G, Calcagni A, Ryan CP, Floris R, et al. Potentials of post-mortem CT investigations during SARS-COV-2 pandemic: a narrative review. *La radiologia medica* [Internet]. 2022 Feb 28; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11547-022-01457-w>
64. Kanchan T, Saraf A, Krishan K, Surekha B, Garg PK, Misra S. COVID-19 pandemic: A reminder to develop forensic radiology facility. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2021 Nov 1;15(11):1593–6.
65. Rodrigues H. Radiologia Forense: Renascimento na Era da TC Precipitado pelo Covid-19. *Acta Radiológica Portuguesa*. 2021;33(1):5–7.

66. Haque MA. Medical Professionals' Perspective on Virtual Autopsy: Comprehensive Analysis and Validation Study with Respect to Traditional Autopsy. *Medico-legal Update*. 2021;21(4).
67. Liu Q, Shi Y, Cai J, Duan Y, Wang R, Zhang H, et al. Pathological changes in the lungs and lymphatic organs of 12 COVID-19 autopsy cases. *National Science Review*. 2020 Dec 1;7(12):1868–78.
68. Palo S, Mishra D. Pathology of COVID-19: A Review of Emerging Evidences from Autopsy Studies. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2021;
69. Tombolini A, Scendoni R. SARS-CoV-2-related deaths in routine forensic autopsy practice: histopathological patterns. 2020; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02354-5>
70. Roshdy A, Zaher S, Fayed H, Coghlan JG. COVID-19 and the Heart: A Systematic Review of Cardiac Autopsies. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021 Jan 28;7.
71. Haslbauer JD, Tzankov A, Mertz KD, Schwab N, Nienhold R, Twerenbold R, et al. Characterisation of cardiac pathology in 23 autopsies of lethal COVID-19. *Journal of Pathology: Clinical Research*. 2021 Jul 1;7(4):326–37.
72. Mukerji SS, Solomon IH. What can we learn from brain autopsies in COVID-19? *Neuroscience Letters*. 2021 Jan 18;742.

