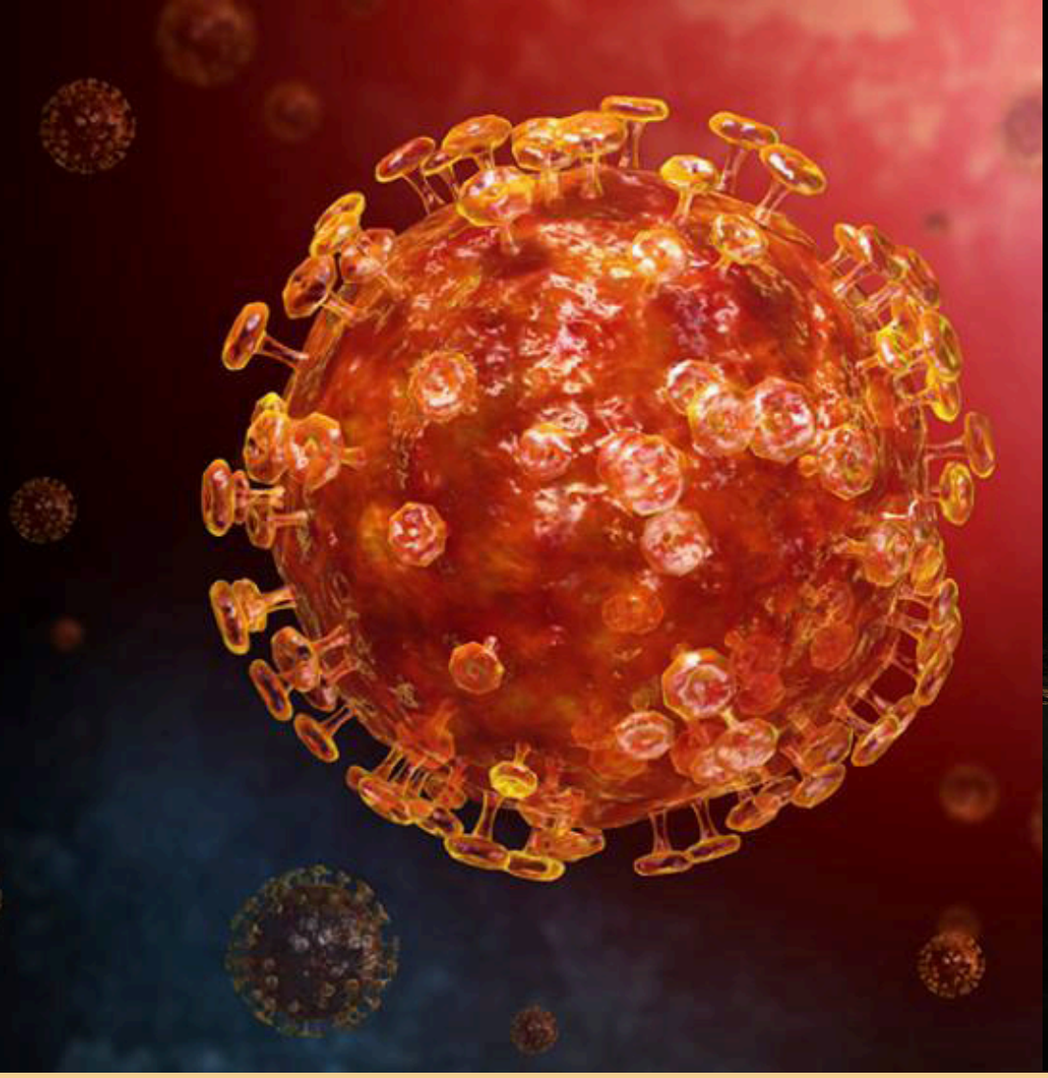

Ângela Cristina Rodrigues Castro Teles

MIDDLE EAST RESPIRATORY SYNDROME: UM NOVO CORONAVÍRUS

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016

· U C ·

Universidade de Coimbra

Ângela Cristina Rodrigues Castro Teles

MIDDLE EAST RESPIRATORY SYNDROME: UM NOVO CORONAVÍRUS

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016

· U C ·

Universidade de Coimbra

Trabalho desenvolvido sob orientação científica da Professora Cristina Luxo, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

O Orientador,

_____

(*Professora Paula Cristina dos Santos Luxo Maia*)

O Orientando,

_____

(Ângela Cristina Rodrigues Castro Teles)

Eu, Ângela Cristina Rodrigues Castro Teles, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n 2011163084, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 13 de setembro de 2016.

_____

(Ângela Cristina Rodrigues Castro Teles)

AGRADECIMENTOS

"Ensinar é compartilhar a sua própria existência, é acreditar que se pode contribuir para a formação de um caráter. Ser mestre não é apenas lecionar. É ser humano, guia e conselheiro. É ser exemplo."
À Professora Doutora Cristina Luxo pela sua orientação, total apoio e disponibilidade, pelo saber que transmitiu e pelas suas opiniões e críticas que fizeram com que fosse possível a realização desta monografia.

"Agradecer é o caminho mais curto para demonstrar a importância das pessoas que nos ajudam a ser feliz."
A todos os meus amigos que me acompanharam neste percurso e por estarem ao meu lado em todos os momentos, sejam quais forem as circunstâncias.

"Quando olhamos para o nosso lado e vemos alguém que está sempre presente, uma pessoa que nunca nos deixa desanimar, só podemos estar gratos."
Ao Jorge por nunca me deixar cair, por conseguir soltar o meu sorriso mesmo nos piores dias.

"A única forma de chegar ao impossível é acreditar que é possível."
À minha Mãe, ao meu Pai, ao meu irmão João pelo amor, incentivo e apoio incondicional, por acreditarem em mim e por me transmitirem a força para alcançar o impossível.

A Coimbra,

O meu sincero Obrigado!

ÍNDICE

LISTA DE ACRÓNIMOS **6**
RESUMO **7**
ABSTRACT **8**
1. NOTA INTRODUTÓRIA **9**
2. CORONAVIRUS **10**
3. MIDDLE EAST RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS **11**
3.1 Classificação, estrutura e genoma 11
3.2 Ciclo de vida do *Middle east respiratory syndrome coronavirus* 12
3.3 Epidemiologia 14
3.4 Origem e Reservatório do vírus 15
3.5 Transmissão do vírus 17
3.5.1 Transmissão do vírus a partir dos camelos ao ser humano 18
3.5.2 Transmissão do vírus pessoa a pessoa 19
3.6 Patogénese e Manifestações clínicas 20
3.7 Fatores de risco 22
3.8 Diagnóstico 23
3.9 Tratamento 27
3.10 Prevenção e Controlo 29
3.10.1 População 30
3.10.2 Profissionais de saúde 30
3.10.3 Vacinas 31
3.10.4 Viagens 32
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS **33**
5. BIBLIOGRAFIA **34**

LISTA DE ACRÓNIMOS

3CLpro – 3C-*like protease*

CDC – Centro de Prevenção e Controlo de Doenças

DDP4 – Dipeptidil peptidase 4

E – Proteína do envelope

IFN – Interferão tipo I

M – Proteína da membrana

MERS-Cov – *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (Síndrome Respiratória do Coronavírus do Médio Oriente)

N – Proteína da nucleocápside

OMS – Organização Mundial de Saúde

ORF – *Open reading frames* (Regiões de Leitura Aberta)

Pne – Proteína não estrutural

PLpro – *Papain-like protease*

pp1a – Poliproteína 1a

pp1ab – Poliproteína 1ab

RpRd – RNA polimerase RNA dependente

RT-PCR – *Real-time Polymerase Chain reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real)

S – Glicoproteína

SARS-Cov – *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (Coronavírus responsável pela Síndrome Respiratória Aguda Grave)

RESUMO

Desde o seu aparecimento em 2012, o coronavírus responsável pela Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV), causou a infeção de cerca de 1.800 pessoas. Destes casos, 640 resultaram em morte, sendo-lhe atribuído uma elevada taxa de mortalidade de cerca de 36%. Este novo coronovírus de origem zoonótica marca a segunda introdução de um coronavírus muito patogénico na população humana no século XXI.

A infeção pode ocorrer que por contacto direto ou indireto com camelos (que se acredita ser esse o reservatório do vírus), ou por transmissão de pessoa a pessoa. Apesar da transmissão de pessoa para pessoa não ser sustentada, pode no entanto, gerar grandes surtos, em particular em ambiente hospitalar (transmissão nosocomial).

As manifestações clínicas do coronavírus MERS variam desde uma apresentação leve, com sintomas não específicos como febre, tosse e dispneia para uma pneumonia progressiva e severa, com possível falência múltipla de órgãos, resultando em morte, especialmente em indivíduos com comorbilidades subjacentes.

Até à data, não foi aprovado nenhum fármaco para o controlo e/ou prevenção da infecção pelo coronavírus MERS.

Embora a Península Arábica seja a região mais afetada, foram relatados casos na Europa, Estados Unidos da América e Ásia, em indivíduos com historial de viagem para o Médio Oriente. A aplicação de medidas de prevenção e controlo continuam a ser a principal forma de prevenção da propagação deste vírus.

Neste momento, o coronavírus MERS representa um baixo nível de ameaça endémica à saúde pública, no entanto, existe a preocupação de que possa sofrer uma mutação que facilite a transmissão inter-humana, aumentando o potencial de pandemia.

Este trabalho apresenta uma visão geral do conhecimento atual sobre a epidemiologia, origem, modo de transmissão, manifestações clínicas, fatores de risco, diagnóstico, desenvolvimento de novos medicamentos e vacinas e medidas de prevenção e controlo relacionadas com o coronavírus MERS.

Palavras-chave: infeção viral, coronavírus responsável pela Síndrome Respiratória do Médio Oriente, epidemiologia, origem, transmissão, manifestações clínicas, fatores de risco, diagnóstico, tratamento, vacina, prevenção, controlo.

ABSTRACT

Since its appearance in 2012, the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), is responsible for the infection of 1.800 people. Of these, 640 resulted in death, which has assigned it a high 36% mortality rate. This new coronovírus of zoonotic origin marks the second introduction of a highly pathogenic coronavirus in the human population in the twenty-first century.

Infection can occur by direct or indirect contact with camels (which is believed to be the reservoir of the virus), or by person to person transmission. Although the person to person transmission is not sustained, it can, however, generate large outbreaks, particularly in hospital environment (nosocomial transmission).

Clinical manifestations of MERS-CoV vary from mild presentation with non specific symptoms such as fever, cough and dyspnoea to a progressive and severe pneumonia, with possible multiple organ failure resulting in death, especially in patients with underlying comorbidities.

To date, no drug has been clinically approved for the control and / or prevention of MERS-CoV infection.

Although the Arabian Peninsula is the most affected region, MERS-CoV infection has been reported in Europe, USA and Asia, in individuals with travel history to the Middle East. The application of measures to prevent and control continues to be the main way to prevent the spread of this virus.

At this time, MERS-CoV is a low level endemic threat to public health, however, there is a concern that it may mutate to facilitate transmission between humans, increasing the pandemic potential.

This paper presents an overview of the current knowledge of MERS-CoV epidemiology, source of origin, mode of transmission, clinical features, risk factors, diagnosis, development of new drugs and vaccines and measures to prevent and control its spread.

Keywords: viral infection, Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, epidemiology, origin, transmission, clinical features, risk factors, diagnosis, treatment, vaccine, prevention, control.

1. NOTA INTRODUTÓRIA

As infeções do trato respiratório são das doenças mais comuns em indivíduos previamente saudáveis.

As bactérias são a causa de uma pequena percentagem das infeções do trato respiratório superior (cerca de 10%), enquanto os restantes 90% dos casos têm origem em vírus respiratórios. Os vírus respiratórios geralmente associados a estas infeções incluem rinovírus, adenovírus, vírus parainfluenza, vírus influenza, e coronavírus.

Os coronavírus não eram considerados agentes patogénicos graves em seres humanos, uma vez que apenas causavam infeções leves do trato respiratório superior. No entanto, em 2002, surgiu um novo coronovírus responsável pela síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV). Este novo coronavírus, ao contrário dos restantes, causa uma doença respiratória grave, uma pneumonia atípica, afetando o trato respiratório inferior. Este vírus causou uma pandemia global, com cerca de 8.400 casos registados e 800 mortes. O coronavírus SARS foi o primeiro coronavírus a atravessar a barreira de espécies, de um animal para o ser humano.

O coronovírus MERS (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) marca a segunda introdução zoonótica conhecida de um coronavírus muito patogénico. Com 1800 casos confirmados laboratorialmente notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS), este novo coronavírus apresenta uma taxa de mortalidade de cerca de 36%. Esta elevada taxa de mortalidade teve dois efeitos, o medo entre a população em contrair o vírus e a sobrecarga do sistema de saúde. Os países do Médio Oriente apresentam o número mais elevado de casos, no entanto, vários países europeus e asiático orientais têm relatado casos de indivíduos com historial de viagem ao Médio Oriente. Na vida atual, a viagem extensa, tanto de seres humanos como de bens, potencia a ocorrência de surtos em qualquer lugar do mundo.

Embora este vírus não possua uma elevada taxa de transmissão, a propensão dos coronavírus para sofrer mutações e consequente capacidade para causar pandemias, a elevada taxa de mortalidade e os efeitos económicos significativos associados aos países afetados, faz com exista um grande interesse e preocupação em estudar estas doenças infeciosas emergentes.

Por esse motivo, um conhecimento exato do seu reservatório, patogénese, transmissão e sintomas, que permita desenvolver medidas preventivas para uma melhor

gestão da doença, é fundamental. A vigilância contínua e as medidas de prevenção são a prioridade das autoridades de saúde e médicos.

Este trabalho tem assim como objetivo abordar os conhecimentos adquiridos até à data sobre o coronavírus MERS, nomeadamente informações relativas à sua epidemiologia, origem e reservatório, transmissão, patogénese e manifestações clínicas, fatores de risco, diagnóstico, tratamento, prevenção e controlo.

2. CORONAVÍRUS

Os Coronavírus, membros da família *Coronaviridae* e da subfamília *Coronavirinae*, são encontrados em diversos reservatórios como mamíferos e aves, incluindo os seres humanos, morcegos, porcos, cães, roedores, e pássaros, tendo propensão para atravessar espécies. [1] [2]

Este grupo de vírus é esférico, envelopado, possui um diâmetro compreendido entre os 70 e 120 nm e o seu genoma é constituído por uma cadeia simples de RNA, positiva.

Os coronavírus, quando observados ao microscópio eletrónico, revelam à sua superfície, uma proteína espigão (glicoproteína S), que lhes confere um aspeto semelhante a uma coroa (Figura 1). A sua denominação provém da palavra latina "corona", que significa coroa ou halo.

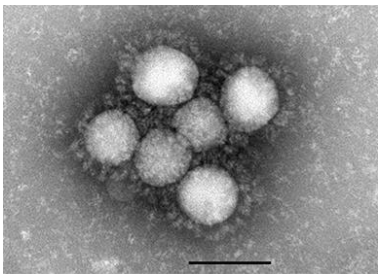

Figura 1. Coronavírus observado ao microscópio electrónico. Adaptado de "Robert Koch Institute - Coronavirus Infektionen." [41]

A subfamília *Coronavirinae* está classificada em quatro géneros: α, β, γ e δ. [3] Os coronavírus que infetam os seres humanos pertencem aos géneros α e β.

Nos seres humanos, a infeção por um coronavírus manifesta-se preferencialmente através de sintomas do trato respiratório com vários graus de gravidade e tem sido associada a gastroenterite. Quatro coronavírus humanos (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1) são endémicos na população humana e estão associados principalmente com doenças respiratórias autolimitantes leves. No entanto, outros dois coronavírus humanos que surgiram recentemente, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV) e *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (Mers-CoV), podem causar síndromes respiratórias graves e apresentam uma ameaça significativa devido às suas taxas de mortalidade elevadas. [4]

Nome	Ano de descoberta	Emergente/Já Circulante	Taxa de Mortalidade	Em circulação
SARS-CoV	2003	Emergente	~10%	Não
HCoV-NL63	2003	Já Circulante	Baixa	Sim
HCoV-HKU1	2004	Já Circulante	Baixa	Sim
MERS-CoV	2012	Emergente	~30%	Sim

Tabela 1. Coronavirus humanos identificados desde 2003. Adaptado de M. Berry, J. Gamieldien, and B. C. Fielding, "Identification of new respiratory viruses in the new millennium." [4]

3. *MIDDLE EAST RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS*

Em 2012, emergiu no Médio Oriente, uma nova doença humana denominada Síndrome Respiratória do Médio Oriente, em inglês *Middle East respiratory syndrome*, com uma elevada taxa de mortalidade. Um vírus, originalmente chamado de *Human Coronavirus Erasmus Medical Center* /2012 (HCoV-EMC / 2012), e posteriormente renomeado de *Middle east respiratory syndrome coronavirus* (Mers-CoV), apresenta-se como a causa desta doença. [5]

Este novo vírus representa desafios significativos para a saúde pública em geral. Para se obterem os melhores os melhores resultados possíveis no controlo da evolução da doença, uma educação intensiva, sensibilização e cuidado multidirecional é fundamental. Por esse motivo, é essencial um conhecimento exato da sua virologia, reservatório, transmissão e sintomas, que permita gerar um conjunto com medidas preventivas e um tratamento eficaz. [6]

3.1 Classificação, Estrutura e *Genoma*

O coronavírus MERS pertence à linhagem C do género Betacoronavirus, da família *Coronaviridae*, sob a ordem *Nidovirales* (Figura 2). Antes da sua descoberta, apenas dois coronavírus da linhagem C eram conhecidos, *Tylonycteris bat* CoV HKU4 e *Pipistrellus bat* CoV HKU5, cujo animal reservatório é o morcego. O coronavírus MERS é o primeiro da linhagem C e o sexto coronavírus conhecido a infetar o ser humano. [7]

Este é um vírus esférico, envelopado, de grandes dimensões, composto por uma cadeia de RNA simples de sentido positivo, com 30,119 nucleótidos. O seu genoma codifica ambas as proteínas estruturais e não estruturais. [3][8]

A extremidade 5' compreende duas "*open reading frames*" (ORFs), ORF1a e ORF1b, que são traduzidos em duas grandes poliproteínas, poliproteína 1a (pp1a) e poliproteína 1ab (pp1ab). Estas poliproteínas são posteriormente clivadas, através da ação de duas enzimas, a *papain-like protease* (PLpro) e a 3C-*like protease* (3CLpro), em 16 proteínas não estruturais de menores dimensões. As duas ORFs são ainda responsáveis pela codificação de outras proteínas não estruturais (pne) responsáveis pela atividade RNA-polimerase RNA dependente (pne12), helicase (pne13), exoribonuclease (pne14), endoribonuclease (pne15) e atividade metiltransferase (pne16) (Figura 3). [3] Estas proteínas são conservadas em todos os Coronavírus. Os conhecimentos adquiridos através da investigação intensiva do coronavírus SARS permitem saber a estrutura e função de muitas dessas proteínas.

As proteínas estruturais do coronavírus MERS são as mesmas encontradas nos outros coronavírus e incluem uma proteína da nucleocápside (N), uma glicoproteína (S), uma proteína da membrana (M) e do envelope (E). Entre estas proteínas estruturais encontram-se intercaladas cinco proteínas acessórias, únicas para o coronavírus MERS. As proteínas acessórias, embora codificadas por todos os coronavírus, não são necessárias para a sua replicação mas podem trazer algumas vantagens aparentes como facilitar a montagem do vírus e em evasão ao sistema imunológico. [8]

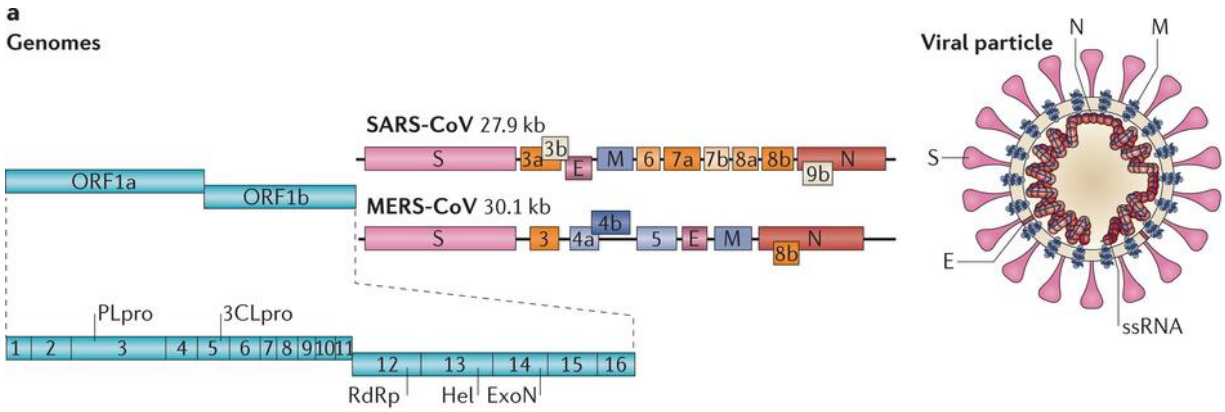

Figura 3. Genoma e partícula viral do coronavírus MERS. Adaptado de *Emmie de Wit1, Neeltje van Doremalen1, Darryl Falzarano2 and Vincent J. Munster,* SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. [11]

3.2 Ciclo de vida do Midle east respiratory syndrome coronavirus.

A glicoproteína S dos coronavírus tem um papel determinante na sua virulência, tropismo para os tecidos e variedade de hospedeiros infectados. Esta glicoproteína é um

trímero composto por duas subunidades, S1, que contém o domínio de ligação ao receptor e determina o tropismo celular, e S2, responsável pela fusão do envelope viral com a membrana celular. [9][10]

Esta glicoproteína de fusão viral de Classe I, semelhante ao envelope do vírus HIV e hemaglutinina do vírus influenza, requer uma clivagem entre os domínios S1 e S2 para permitir alterações conformacionais, tornando-se a partícula viral infeciosa. Estas alterações conformacionais são ativadas por ligação ao receptor celular e / ou pH baixo, permitindo a fusão da membrana e entrada do vírus na célula hospedeira (Figura 4). [9]

O recetor celular do coronavírus MERS, dipeptidil peptidase 4 (DPP4), facilita mas não é essencial para a entrada do vírus nas células hospedeiras. [3][8] Embora o DPP4 possua uma ampla distribuição nos tecidos, a maior parte das manifestações clínicas do coronavírus MERS pode ser atribuída à sua localização no tracto respiratório inferior. [10]

Após a entrada na célula por endocitose, o genoma de RNA viral é libertado para o citoplasma da célula e o RNA traduzido nas duas poliproteínas, pp1a e pp1ab. [11] As poliproteínas são posteriormente clivadas por proteases codificadas pelo vírus, a *papain-like protease* e a 3C-*like protease*, em 16 proteínas não estruturais maduras. [3]

Através da ação das enzimas RNA-polimerase RNA-dependente e helicase são formados complexos de replicação/transcrição junto ao núcleo, que se associam com vesículas originadas no retículo endoplasmático. O RNA viral contém sequências ricas em uridilato adenilato chamadas de sequências de regulação da transcrição. Estas sequências definem se o complexo de replicação/transcrição origina sequências curtas de RNA(-) para, depois de convertido em RNA(+), ser traduzido em proteínas estruturais e acessórias ou se origina um molde de RNA contínuo para a replicação. [3]

As proteínas S, M e E recém-formadas são inseridas na membrana do retículo endoplasmático rugoso (RER) e posteriormente transportadas para a área compreendida entre o RER e o complexo de golgi. Nesse local, o RNA genómico e as proteínas N combinam-se para formar nucleocápsides, e em seguida ocorre a formação da partícula viral. Após a maturação das partículas virais no complexo de golgi, as vesículas dirigem-se para a superfície da célula para serem libertadas. [3][11]

O ciclo de replicação viral termina quando as partículas virais são libertadas por exocitose para o compartimento extracelular. [7]

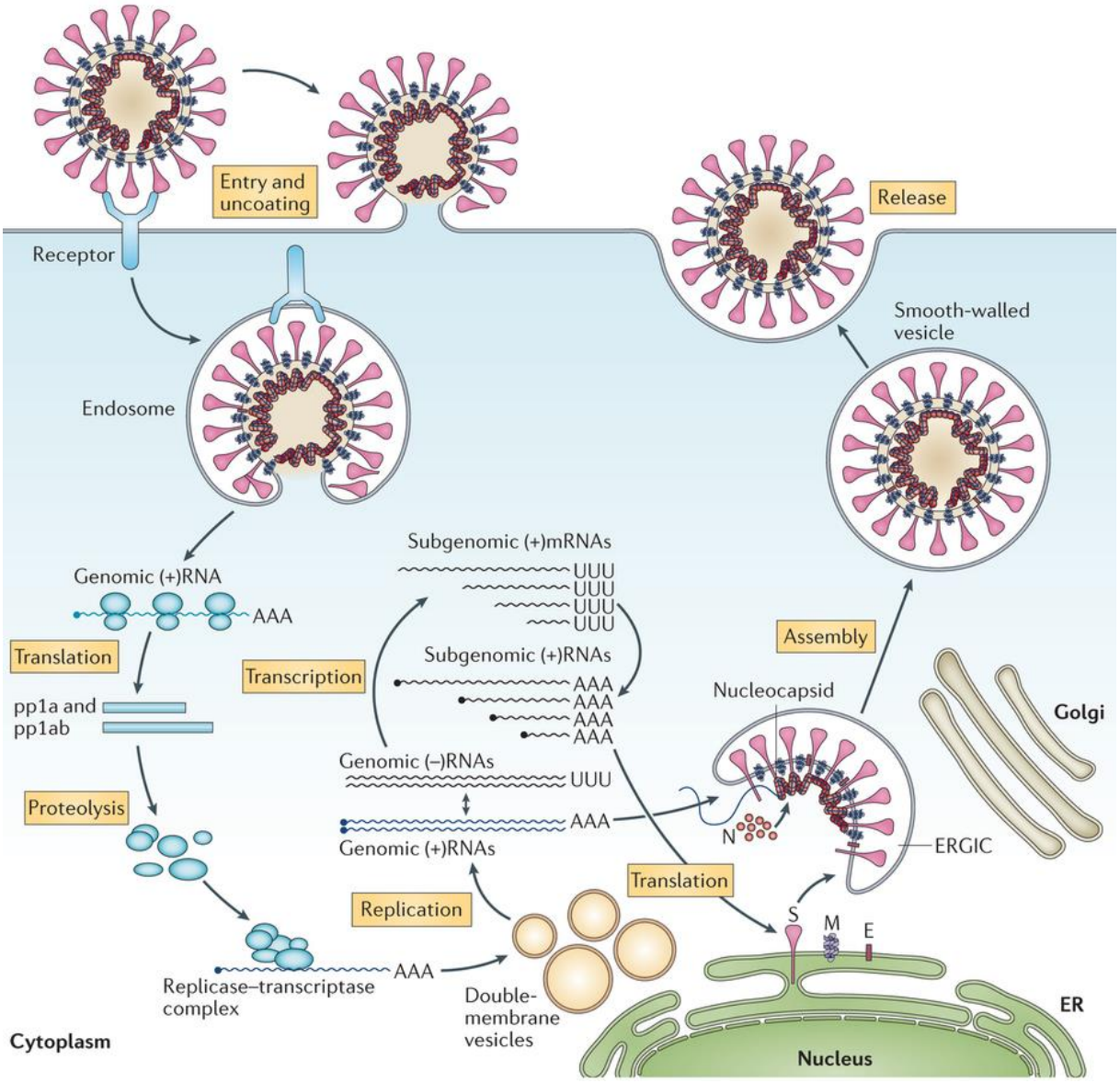

Figura 4. Ciclo de vida do coronavírus MERS. Adaptado de *Emmie de Wit1, Neeltje van Doremalen1, Darryl Falzarano2 and Vincent J. Munster,* "SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses." [11]

3.3 Epidemiologia

O primeiro caso de infeção humana pelo coronavírus MERS identificado tratou-se um homem saudita de 60 anos de idade, em Jeddah, Arábia Saudita. A 13 de junho de 2012, deu entrada num hospital privado, apresentando sintomas de febre, tosse, expetoração e falta de ar. No dia décimo primeiro dia após a sua admissão, o doente acabou por morrer devido a insuficiência respiratória e renal progressiva. [12]

Após a identificação do vírus foi possível realizar a sua associação com uma série de

casos de doenças respiratórias ocorridos na Jordânia, em março de 2012. A epidemiologia da doença tem sido caracterizada por casos esporádicos ao longo do ano, com alguns surtos a nível hospitalar. [2] Esta persistência da epidemia parece estar relacionada com transmissões diretas e repetidas, através de uma fonte zoonótica provável, que está em contacto frequente com os residentes da região, que são amplificadas por transmissão não sustentada de pessoa para pessoa a nível hospitalar e aglomerados domésticos limitados. [7][13]

No dia 15 de setembro de 2012 foi identificado em Londres, um caso de infeção pelo coronavírus MERS. O doente tinha viajado do Médio Oriente para o Reino Unido. Outros casos foram também relatados em países do Mediterrâneo (Kuwait, Iêmen, Omã, Irã, Líbano, Tunísia), países do Sudeste Asiático (Bangladesh, Malásia), países europeus (França, Itália, Alemanha, Reino Unido, Grécia) e ainda nos Estados Unidos. [6] Desde setembro de 2012, 27 países relataram casos de infeção pelo coronavírus MERS. [14]

O potencial epidémico de coronavírus MERS foi recentemente ilustrado através de um surto nos hospitais em Seul, Coreia do Sul. Em meados de 2015, o coronavírus MERS foi importado por um viajante para o Médio Oriente, resultando em 184 casos de doentes infetados e 33 mortes. Este surto sem precedentes foi atribuído a medidas de controlo de infeção pouco eficazes nos hospitais. [15]

Desde setembro de 2012, 1.800 casos de infeção pelo coronavírus MERS foram notificados à OMS. Destes casos, 640 resultaram em morte, sendo atribuído ao coronavírus MERS uma taxa de mortalidade de cerca de 36%. [14]

3.4 Origem e Reservatório do vírus

A origem do coronavírus MERS não é totalmente compreendida, mas acredita-se ter sido originado em morcegos e posteriormente transmitido aos camelos, em algum momento no passado distante. [14]

Após o isolamento do coronavírus MERS em 2012, foi possível, em semanas, proceder-se à caracterização do seu genoma viral, permitindo uma primeira perspetiva sobre a sua origem. O coronavírus MERS pertence filogeneticamente à linhagem C do género Betacoronavirus assim como os coronavírus HKU4 e HKU5, cujo animal de origem é o morcego. Desta forma, torna-se também o morcego suspeito da origem do emergente coronavírus MERS. [16] [17] Várias sequências de coronavírus estreitamente relacionadas

com o coronavírus MERS foram recuperadas em morcegos em África, Ásia, Américas, e Eurásia. Na realidade, uma amostra fecal recolhida a partir de um morcego em Bisha, Arábia Saudita, obteve uma correspondência de 100% com o coronavírus MERS clonado a partir de um caso de um doente residente na mesma área. No entanto, este estudo, apresenta limitações já que, o fragmento do gene analisado possuía apenas 182 nucleótidos e, foi apenas possível detetar em 1 dos 29 morcegos *Taphozous perforatus* capturados no mesmo local. Estudos posteriores, na África do Sul, permitiram identificar um outro vírus intimamente relacionado com o coronavírus MERS, denominado de NeoCovirus. O NeoCovirus isolado a partir das fezes de um *Neoromicia capensis*, demostrou um correlação de 85,6% dos nucleótideos com o coronavírus MERS obtido de amostras recolhidas a partir de humanos e camelos infetados. [1][7][16]

Ao contrário de muitos outros coronavírus, o coronavírus MERS pode ser cultivado em células de morcego. A proteína dipeptidil peptidase-4 (DPP4), existente nas células humanas, é também conservada nas células de morcegos, actuando como receptor celular do coronavírus MERS, permitindo a entrada do vírus. O coronavírus HKU4, também utiliza a DPP4 como um receptor celular, no entanto não consegue infectar células humanas devido à sua incapacidade de ativação por proteases endógenas. A glicoproteína S do coronavíus HKU4 difere em dois resíduos da glicoproteína S do coronavírus MERS, revelando uma potencial adaptação deste último, para se tornar mais patogénico no ser humano. Esta descoberta reforça a hipótese de que os morcegos podem ser os reservatórios naturais de coronavírus MERS. [13][16][17]

O facto de existirem, inicialmente, apenas casos esporádicos e isolados de infeção pelo coronavírus MERS, sugere uma transmissão direta por parte do animal reservatório. Uma vez que o contacto entre o ser humano e o morcego é limitado, o mais provável que, outras espécies animais comuns na Península Arábica, atuem como fonte direta de infeção zoonótica. Várias observações iniciais sugeriam o contacto de doentes infetados com gado, incluindo camelos e cabras. [8][16][17]

A primeira evidência da ligação do coronavírus MERS com camelos surgiu em agosto de 2013, proveniente de estudos serológicos, que investigaram vários animais como ovelhas, cabras, camelos, cavalos e aves. Os anticorpos neutralizantes do coronavírus MERS foram detetados apenas nos camelos (de Omã e das Ilhas Canárias). Todos os camelos de Omã eram seropositivos, assim como cerca de 14% dos camelos das ilhas Canárias e nenhuma das outras espécies de gado estudadas eram positivas. Isto sugere que existe uma circulação

generalizada e de longa data do coronavírus MERS, ou um vírus estreitamente relacionado com este, entre os camelos no Médio Oriente, com evidências serológicas que datam até 1983. [7][8][17]

Estudos recentes detetaram a presença do coronavírus MERS em camelos numa fazenda no Qatar. Onze dos catorze camelos testados, através de amostras nasais, apresentaram resultados positivos para o coronavírus MERS e, as amostras de três dos camelos seropositivos apresentavam fragmentos virais muito semelhantes às sequências de dois casos humanos na mesma fazenda. Este estudos, além de fornecer uma confirmação virológica do coronavírus MERS em camelos, revela uma potencial transmissão do vírus, através do contacto próximo, entre os camelos e os seres humanos. [16][18]

Vários estudos conduzidos em diferentes áreas do Médio Oriente proporcionaram novas perspetivas acerca da cinética de excreção viral em camelos. Na Arábia Saudita, 202 amostras nasais camelos, foram testadas para a presença de RNA do coronavírus MERS utilizando a técnica *Real-time Polymerase Chain reaction* (RT-PCR). Cerca de 25% das amostras apresentaram um resultado positivo. Dos camelos que se encontravam a excretar o vírus, 71% eram camelos juvenis (menos de dois anos de idade) em comparação com 29% dos camelos adultos (dois anos ou superior). Os resultados indicam que camelos juvenis parecem ter um papel maior na transmissão do vírus do que os animais mais velhos. Uma explicação possível é que estes têm uma menor probabilidade de contacto prévio com o vírus e como tal têm falta de anticorpos neutralizantes. [7][17][18]

A identificação dos animais que atuam como hospedeiros intermediários ajuda a determinar as populações humanas em risco e a definir medidas de preventivas adequadas, que ajudem a evitar a propagação do vírus.

3.5 Transmissão do vírus

O coronavírus MERS, parece ter sido originado nos morcegos e transmitido aos camelos em algum momento no passado. Os camelos são considerados a fonte de infeção para os seres humanos. Apesar da transmissão de pessoa para pessoa não ser sustentada pode, no entanto, gerar grandes surtos, em particular em ambiente hospitalar (transmissão nosocomial) (Figura 5).

A transmissão do coronavírus MERS exige a classificação dos casos em: transmissão esporádica (animal para pessoa) e transmissão pessoa a pessoa (intrafamiliar e nosocomial).

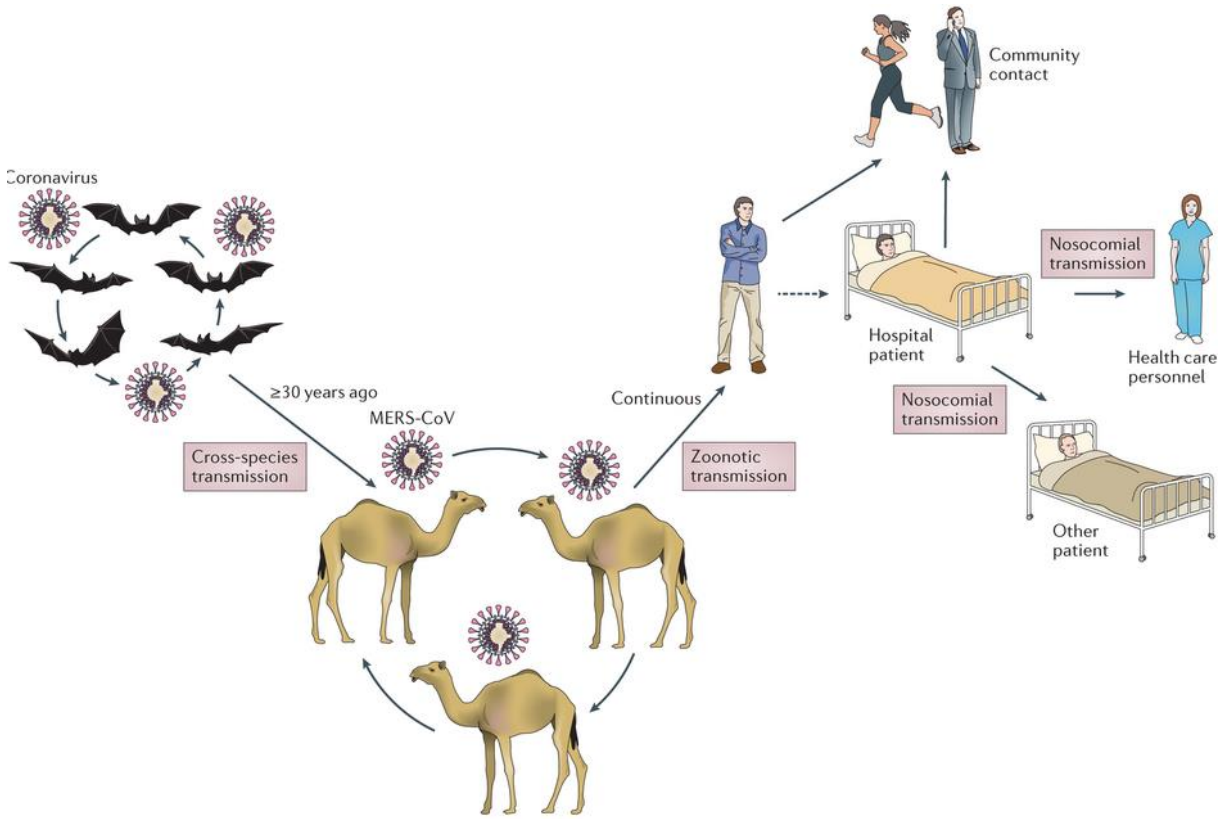

Figura 5. Um vírus ancestral do coronavírus MERS atravessou a barreira de espécies dos morcegos para os camelos. A circulação abundante do coronavírus MERS em camelos resulta na transmissão zoonótica deste vírus. Os seres humanos, são posteriormente infetados principalmente através de transmissão nosocomial. Adaptado de Emmie de Wit1, Neeltje van Doremalen1, Darryl Falzarano2 and Vincent J. Munster, SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. [11]

3.5.1 Transmissão do vírus a partir dos camelos ao ser humano

De todos os casos notificados à OMS, apenas 25% são considerados como casos primários. A aquisição da infeção viral nestes casos esporádicos poderá ter sido através de fonte animal. [19]

Como já referido anteriormente, o camelo parece ser a fonte de transmissão do coronavírus MERS ao ser humano, evidência suportada por vários estudos. Os camelos, animais extremamente comuns no Médio Oriente, são dotados de uma grande importância cultural e económica nessas regiões. O leite e a carne de camelo são consumidos regularmente e alguns órgãos crus são considerados uma iguaria. Embora não existam evidências de que o vírus esteja presente na carne dos camelos infetados, a sua contaminação pode ocorrer através do contacto com secreções respiratórias ou fecais durante o abate. Num matadouro no Qatar, 59% dos camelos revelou estar a excretar RNA

viral nas secreções nasais no momento do abate, e foi encontrado RNA viral em 15% das amostras fecais. O leite de camelo, uma vez que se acredita conter um elevado valor nutricional e medicinal, é preferencialmente consumido cru. O coronavírus MERS foi detetado em 41,7% das 12 amostras de leite de camelo testadas que foram recolhidas de acordo com os costumes locais. Poderá também existir uma contaminação durante o processo de coleta do leite uma vez que os úberes dos camelos não são, geralmente, limpos antes da ordenha, podendo estar contaminados com secreções nasais e fecais e saliva das crias. [17][19] Através da análise de leite de camelo inoculado com o coronavírus MERS foi possível estabelecer que o vírus se mantém estável no leite durante 48 horas quando armazenado a 22°C e 72 horas a 4°C. [17] Embora o modo de transmissão ainda seja desconhecido suspeita-se que ocorre através quer do consumo de leite fresco não pasteurizado, quer através de carne mal cozida de camelos infetados ou manipulação de carne de camelo crua infetada sem equipamento de adequado. [3][16]

A urina do camelo faz parte dos tratamentos tradicionais nos países do Médio Oriente, sendo utilizado como um remédio natural para uma variedade de doenças. Também estas práticas podem representar fatores de risco para a infeção pelo coronavírus MERS. [16]

Para além do contacto direto com as secreções nasais dos camelos, um modo de transmissão oral-fecal foi alvo de análise, concluindo-se que o coronavírus MERS provavelmente persiste no meio ambiente durante um longo período de tempo, apresentando elevada probabilidade de transmissão oral-fecal. Esta estabilidade do coronavírus MERS sugere o seu potencial para ser transmitido através do contato direto, aerossóis ou via fômites. [16][20][21]

3.5.2 Transmissão do vírus pessoa a pessoa

A transmissão pessoa a pessoa do coronavírus MERS foi confirmada através de estudos epidemiológicos e sequenciamento de genoma de casos, sendo principalmente limitada aos aglomerados familiares e ambiente hospitalar. [22] Esta limitação pode resultar da necessidade do coronavírus MERS ter um contacto próximo para que ocorra a transmissão, ou devido ao facto da transmissão pessoa a pessoa ser controlada pelo diagnóstico precoce e isolamento dos doentes e das pessoas com que estes entraram em contacto. [16]

Um bom exemplo de transmissão dentro do aglomerado familiar ocorreu em Riyadh, KSA. Após o surgimento de um caso de infeção pelo coronavírus MERS, uma investigação epidemiológica identificou como o caso primário o pai do segundo caso, que tinha sido admitido anteriormente com insuficiência cardíaca congestiva e pneumonia. Subsequentemente, foram reconhecidos um terceiro e quarto casos dentro do mesmo aglomerado familiar. [13][23]

Sabe-se que uma grande proporção dos casos do coronavírus MERS ocorreu no contexto dos cuidados de saúde.

Em 2013, um surto em Al-Hasa, Arábia Saudita, forneceu informações valiosas sobre a transmissão do coronavírus MERS em ambiente hospitalar. Nas unidades de cuidados intensivos e hemodiálise, um total de 23 doentes foram infetados com o coronavírus MERS tendo a maioria das infeções ocorrido como resultado da propagação de pessoa para pessoa. A propagação parece ter ocorrido em grande parte através de gotículas e contacto, embora a possibilidade de transmissão por via aérea ou fômite não tenha sido excluída. [19][22][23]

No mais recente surto na Arábia Saudita, pelo menos 25% dos casos ocorreram em profissionais de saúde. Um estudo demonstrou que os profissionais que contraíram a infeção viral estavam envolvidos em procedimentos que geravam aerossóis, como intubação e aspiração da via aérea. Por esse motivo, é recomendado a utilização de uma máscara durante o contacto com um doente infetado. [19]

A compreensão de todos os fatores (médicos, sociais, culturais) que facilitam a transmissão pessoa a pessoa e levam a grandes surtos é crítica para a contenção da ameaça contínua representada pelo Coronavírus MERS. [24]

3.6 Patogénese e Manifestações clínicas

A patogénese do coronavírus MERS é ainda pouco estudada e compreendida. O coronavírus MERS, entra nas células através do receptor celular DPP4, também conhecido como CD26, e replica em células bronquiais, células bronquiolares e células epiteliais alveolares de tipo I e II. O vírus foi detetado em secreções respiratórias, sendo que o trato respiratório inferior apresentava as cargas virais mais elevadas. Na sua forma mais grave, o coronavírus MERS provoca uma pneumonia aguda muito letal. A infeção por este vírus está muitas vezes associada a lesão renal aguda, cuja patogénese ainda permanece desconhecida. Esta pode ser uma consequência da lesão hipóxica ou infeção direta do rim. Esta última

hipótese é uma possibilidade, uma vez que o DPP4 é expresso em níveis elevados no rim. [2][22]

O coronavírus MERS utiliza várias estratégias para evitar a resposta imune inata. Durante a infeção de células respiratórias humanas não ocorre um aumento acentuado do interferão tipo I (IFN) como seria esperado. Os IFN de tipo I desempenham um papel chave na imunidade viral, pelo que os vírus patogénicos tentam muitas vezes evitar a resposta imune inata através de proteínas antagonistas que perturbem a ação do IFN. No coronavírus MERS, tem sido demonstrado que a proteína estrutural M e as proteínas acessórias codificadas pelo ORF 4a, ORF 4b e ORF 5 inibem o IFN de tipo I. O inibidor mais potente, a proteína codificada pelo ORF 4a inibe a ação do IFN tipo I bloqueando a interacção entre a MDA5 (*Melanoma Differentiation-Associated protein* 5), que funciona como um sensor viral e a cadeia dupla de RNA viral. [1][25]

O coronavírus MERS apresenta um amplo espetro de sinais e sintomas que variam desde uma infeção assintomática até insuficiência respiratória grave progressiva com falência múltipla de órgãos. [2]

O período de incubação do vírus, está compreendido entre os 2 e os 14 dias, sendo a média 5 dias. Ainda não foi possível determinar se os doentes são infeciosos durante esse período. [13][23]

Embora a intensidade e gravidade dos sintomas varie amplamente, os sintomas mais comuns incluem febre (71%), tosse (68%), dispneia (66%) e sintomas gastrointestinais (32%) como perda de apetite, diarreia, náuseas e vómitos (ver tabela 2). Outros sintomas como dor de cabeça, mialgia e insuficiência renal podem também ocorrer. [2][6][26] Determinados casos severos podem manifestar-se posteriormente como pneumonia, síndrome da angústia respiratória aguda, encefalite, miocardite, ou outras complicações graves e potencialmente fatais. [27] Essas complicações graves podem causar insuficiência respiratória, sendo necessário recorrer a ventilação mecânica e suporte nas unidades de tratamento intensivo. [14]

As análises laboratoriais de casos de infeção com o vírus revelaram algumas alterações como leucopenia, linfocitopenia e trombocitopenia, creatinina sérica e lactato desidrogenase elevadas, e enzimas hepáticas alteradas. Radiografias ao toráx mostraram infiltrados intersticiais bilaterais com aparência de "vidro fosco". [2]

	Assiri *et al.*	Saad *et al.*	Al-Tawfiq *et al.*	Arabi *et al.*	Assiri *et al.*	Shalhoub *et al.*
Total	23	70	17	12	47	24
Sexo masculino	17	46	11	8	36	14
Diabetes mellitus	17	-	13	8	32	15
Doença cardíaca	9	-	11	7	13	0
Insuficiência renal	12	-	-	5	23	10
Hemodiálise	-	-	5	1	-	6
Cancro	-	-	1	1	1	0
Hipertensão	-	-	6	6	16	18
Febre	20	43	10	8	46	19
Dispneia	11	42	1	11	34	20
Dor no peito	20	-	12	10	7	0
Tosse	-	38	1	1	39	21
Hemoptise	-	6	1	1	8	-
Garganta inflamada	-	-	1	2	10	-
Dor de cabeça	-	9	1	3	6	-
Mialgia	-	14	1	-	15	-
Vomitar	4	21	1	-	10	4
Diarreia	5	21	1	2	12	3
Fraqueza	-	21	1	2	12	-
Dor abdominal	-	17	-	-	8	2
Rinorreia	-	-	6	1	2	-
Linfopenia	-	36	-	9	16	-
Trombocitopenia	4	-	-	2	17	-

Tabela 2. Dados recolhidos em quatro estudos em relação aos sinais e sintomas apresentados pelos doentes infetados e respetivas comorbilidades. Adaptado de J. a Al-Tawfiq, A. S. Omrani, and Z. a Memish, "Middle East respiratory syndrome coronavirus: current situation and travel-associated concerns."[23]

3.7 Factores de risco

Em doentes imunocomprometidos ou com condições subjacentes a taxa de mortalidade do vírus tende a aumentar substancialmente. Um grande número de casos notificados revelou que, a presença de comorbilidades, consistente com os doentes de maior idade, origina normalmente casos mais graves que requerem hospitalização. Esses casos tendem a coincidir com casos primários enquanto, os casos secundários tendem a ser doentes mais jovens e profissionais de saúde sem comorbilidades, No entanto, a infeção nosocomial grave pode ocorrer entre doentes que partilhem equipamento contaminado independentemente da sua idade. [7]

Num estudo numa clínica em KSA com 47 casos graves, a idade média dos doentes foi de 56 anos com predomínio do sexo masculino. Cerca de 96% dos doentes apresentavam

comorbilidades, sendo a diabetes *mellitus* a mais comum (68%), seguida de doença renal crónica (49%), hipertensão (34%), doença cardíaca crónica (28%), e doença pulmonar crónica (26%) (ver anexo 3). Tabagismo e obesidade foram relatados em 23% e 17% dos doentes, respetivamente. Indíviduos com mais de 50 anos de idade, do sexo masculino, e com presença de múltiplas comorbilidades foram associados a uma taxa de mortalidade mais elevada. [7] A predominância masculina na cultura dessa região e de outros países do Médio Oriente pode ter-se refletido no maior número de casos em homens em relação às mulheres. [27] Além disso é necessário ter em conta que algumas dessas condições são muito prevalentes entre os residentes do Médio Oriente, por exemplo, a diabetes *mellitus* afeta quase 63% das pessoas em KSA com idade igual ou superior a 50 anos, o que pode levar a conclusões erradas. [7]

Os profissionais de saúde que contactam com os doentes infetados, assim como as pessoas que trabalham com camelos, como trabalhadores rurais, trabalhadores de matadouros e veterinários, possuem um risco mais elevado de contrair infecção por coronavírus MERS do que outras pessoas. [6][19]

Compreender quais os grupos populacionais que se encontram em maior risco de contrair a infeção viral e/ou desenvolver complicações é essencial para a prevenção da ocorrência de novos casos com surtos associados bem como, minimizar a taxa de mortalidade associada ao coronavírus MERS.

3.8 Diagnóstico

Um teste de diagnóstico rápido e específico torna-se essencial para a gestão e controlo do vírus, prevenindo a sua propagação, uma vez que atualmente não existe nenhum fármaco específico ou vacina aprovada para o tratamento da infeção pelo coronavírus MERS.

As manifestações clínicas, bioquímicas, e radiológicas não permitem diferenciar de forma fiável o coronavírus MERS de outras causas de infeção respiratória. Assim sendo, o diagnóstico passa pela confirmação laboratorial, quer por deteção de ácido nucleico viral quer por serologia. [28]

Até à data, o RT-PCR é o principal meio de diagnóstico do coronavírus MERS. Posteriormente é realizada uma confirmação por sequenciação, quando necessário. [7][29]

Um resultado positivo implica a deteção de pelo menos dois genes alvo específicos do coronavírus MERS (rastreio seguido de confirmação) tais como, a montante do gene da

proteína E (Up E), ORF 1b, ORF 1a e o gene codificador da nucleocápside (N) ou, a deteção de pelo menos um dos genes alvo específicos do coronavírus MERS com confirmação por sequenciação do gene codificador da enzima RNA polimerase RNA dependente (RpRd) ou da nucleocápside. [22][29][30]

O ensaio para o alvo Up E é considerado muito sensível e por esse motivo recomendado para o rastreio. O ensaio ORF 1a possui sensibilidade semelhante. Já o ensaio o ensaio ORF 1b é considerado menos sensível, sendo no entanto útil para a confirmação.

Estes ensaios de RT-PCR não demonstraram reatividade cruzada com outros vírus respiratórios, incluindo os coronavírus humanos. [22][29][30]

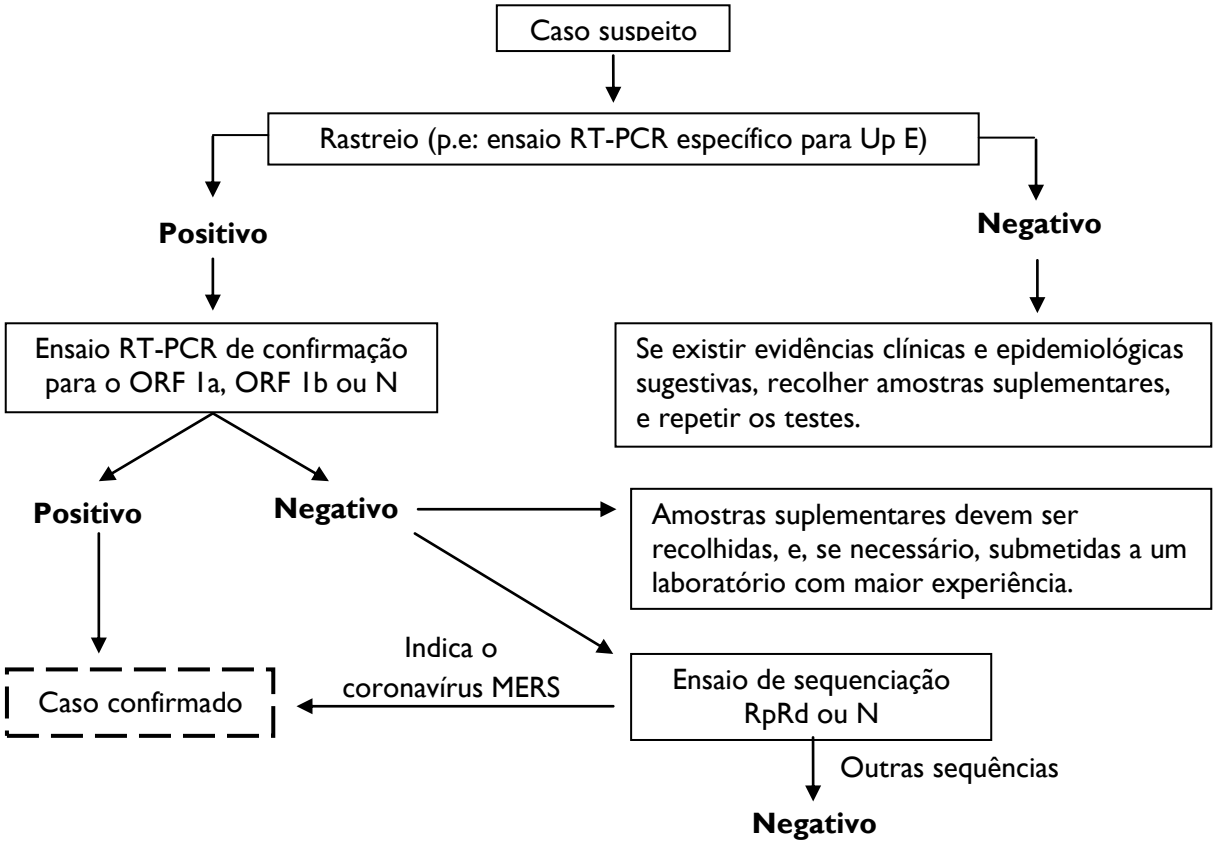

Figura 6. Algoritmo para a detecção do coronavírus MERS através de RT-PCR e sequenciação. Adaptado de M. East, T. W. Organisation, A. Health, and V. Examples, "Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus."

É importante compreender que embora possam existir uma série de resultados negativos, não deve ser excluída a possibilidade de infeção pelo coronavírus MERS. Vários fatores podem conduzir a falsos negativos como a má qualidade da amostra, a sua recolha demasiado tarde ou cedo durante a progressão da doença, a amostra não ser tratada e

acondicionada de forma apropriada ou por motivos técnicos inerentes ao teste, por exemplo, a mutação do vírus impede a sua deteção. [29]

Em julho de 2014, ocorreu uma mudança fundamental no diagnóstico viral com a inclusão de um novo método de diagnóstico baseado na serologia. A confirmação serológica de infeção viral pelo coronavírus MERS requer a seroconversão em duas amostras colhidas, preferencialmente, com pelo menos 14 dias de intervalo, através de um teste de rastreio ELISA (*protein-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay*) ou imunofluorescência indireta (IFA) seguido de confirmação com um teste de neutralização. Os resultados serológicos devem ser interpretados com cautela, devido a uma possível reatividade cruzada com outros coronavírus. [22]

O Centro de Prevenção e Controlo de Doenças (CDC) nos Estados Unidos, assim como a Sociedade Coreana de Doenças Infeciosas definiram em que situações se deve considerar um caso suspeito e como tal passível de ser avaliado:

- Casos que correspondem a a) ou b) abaixo descritos:
    a. Febre mais pneumonia ou síndrome da insuficiência respiratória aguda (diagnóstico clínico ou radiológico) e pelo menos um dos seguintes:
        i. Doentes que desenvolveram os sintomas dentro de 14 dias após visitarem países dentro ou perto da Península Arábica;
        ii. Doentes que estiveram em contacto próximo com um indivíduo que visitou países dentro ou perto da Península Arábica e desenvolveu febre e síndrome da insuficiência respiratória aguda dentro de 14 dias;
        iii. Membro de um grupo de doentes com doença respiratória aguda grave (por exemplo, febre e pneumonia com necessidade de hospitalização) de etiologia desconhecida, na qual o coronavírus MERS está a ser avaliado.
    b. Casos com febre e sintomas respiratórios (tosse, dispneia, …) e pelo menos um dos seguintes:
        i. Indivíduos que desenvolvam sintomas dentro de 14 dias após estarem uma unidade de saúde num país dentro ou perto da Península Arábica (como um doente, trabalhador, ou visitante) em que foram identificados casos recentes MERS associados aos cuidados de saúde;
        ii. Indivíduos que estiveram em contacto próximo com um caso MERS confirmado enquanto este era sintomático. [30][31]

As amostras clínicas ideais para diagnóstico laboratorial devem poder ser obtidas através de meios não invasivos e conter um grande número de células infetadas com elevada carga viral. [7]

As amostras do trato respiratório inferior como o aspirado traqueal e lavagem broncoalveolar, permitem uma maior sensibilidade dos métodos de deteção viral, uma vez que possuem carga viral mais elevada do que as amostras do trato respiratório superior. No entanto, são procedimentos invasivos e podem não ser facilmente obtidos na fase precoce da doença. [2][22] Assim sendo, amostras como aspirado ou amostras da nasofaringe e da orofaringe do trato respiratório superior são mais frequentemente utilizadas para a deteção da infeção viral. As amostras da nasofaringe e orofaringe colhidas com zaragatoas devem ser colocados no mesmo tubo para aumentar a carga viral. [29]

As amostras ideais para cada teste bem como as condições de recolha e transporte encontram-se descritas na tabela 3.

Em casos confirmados por PCR, amostras clínicas extrapulmonares, como soro, urina e fezes, podem ter resultados positivos e como tal, devem ser recolhidas se possível, um vez que auxiliam na compreensão da cinética da replicação viral e orientam a implementação de medidas de controlo de infeção. [7][22]

É muito importante manter um sequenciamento contínuo e aleatório de amostras do coronavírus MERS para se perceber precocemente mutações virais.

Os testes serológicos ainda não são amplamente utilizados, no entanto a sua implementação pode ser muito útil uma vez que os testes baseados na pesquisa de ácidos nucleicos, além do seu elevado custo, requerem técnicas moleculares, equipamentos e pessoal especializado, que podem não estar disponíveis em muitos laboratórios clínicos no Médio Oriente, onde existe o maior número de casos de MERS. Por esse motivo, métodos alternativos que possam ser adaptados à deteção clínica rápida e confiável do coronavírus MERS, são extremamente necessários. [28][32]

Doente	Teste	Tipo de amostra	Tempo	Armazenamento e transporte
Sintomático	PCR	Trato respiratório inferior: – escarro – aspirado – lavagem Trato respiratório superior: Amostras colhidas da: – nasofaringe – orofaringe Lavagem/aspirado: – nasofaringe Soro para deteção de vírus (a amostra aguda para sorologia pode ser utilizada para a deteção do vírus por PCR).	Recolha na chegada/apresentação Para confirmar a que um indivíduo se encontra livre do vírus, devem ser recolhidas repetidamente amostras até que os resultados em 2 amostras sequenciais sejam negativos.	Se a amostra chegar ao laboratório em: – menos de 72 horas, armazenagem e transporte a 4 ° C – mais de 72 horas, armazenar a -80 ° C e enviar em gelo seco ou nitrogênio líquido.
	Serologia	Soro para testes serológicos.	São necessárias 2 amostras para a confirmação com a amostra inicial recolhida na 1ª semana de doença e a 2ª idealmente recolhida 2-3 semanas mais tarde. Uma única amostra de soro deve ser recolhida, pelo menos, 14 dias após o início dos sintomas para a determinação de um caso provável.	Como referido anteriormente
Contatos Assintomático	PCR	Trato respiratório superior: Amostras colhidas da: – nasofaringe – orofaringe Se possível escarro	Dentro de 14 dias do último contato documentado.	Como referido anteriormente
	Serologia	Soro	Soro de referência recolhido dentro de 14 dias do último contato documentado e soro convalescente recolhido 2-3 semanas mais tarde. Se apenas for possível uma única amostra, recolher pelo menos, 14 dias após o último contato documentado.	Como referido anteriormente

Tabela 3 – Adaptado de M. East, T. W. Organisation, A. Health, and V. Examples, "Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus."

3.9 Tratamento

Atualmente, não existe nenhum tratamento específico para a infeção pelo coronavírus MERS. Assim sendo, a terapêutica de suporte é o pilar do tratamento dos casos MERS graves com insuficiência respiratória e complicações extra-pulmonares, utilizando oxigénio suplementar para hipoxemia e insuficiência respiratória e ventilação mecânica invasiva precoce para a insuficiência respiratória significativa ou hipoxemia persistente. [2]

A melhoria na evolução dos casos de MERS, com uma taxa de mortalidade de 36%, depende do desenvolvimento de uma terapia antiviral eficaz. Uma das formas mais rápidas de identificar agentes antivirais candidatos consiste em testar fármacos com um amplo espetro atividade antiviral, incluindo aqueles com atividades relatadas contra outros coronavírus associados à infeção em seres humanos. Esta abordagem permitiu identificar numerosos agentes, incluindo interferões (INF), ribavirina, e inibidores da ciclofilina como a ciclosporina A. O IFN tipo I em combinação com a ribavirina (análogo estrutural da guanina), quando administrado em macacos num período de 8 horas após a inoculação do coronavírus MERS, reduz a lesão pulmonar e a diminuí ligeiramente a carga viral pulmonar. [7][22][23] *In vitro*, o INF e a ribavirina sozinhos inibem o coronavírus MERS, no entanto, as concentrações necessárias para alcançar um efeito benéfico são mais elevadas do que o que é praticável em seres humanos. Quando combinadas, a concentração inibitória de ambos diminuí para intervalos realizáveis em seres humanos. A sua combinação é uma possível opção terapêutica, no entanto, os efeitos colaterais potenciais deste tratamento, como a fadiga, depressão e anemia, têm inibido o seu uso como tratamento de primeira linha, sendo geralmente administrado quando a condição do doente começa a deteriorar-se. Esta combinação foi administrada em 20 doentes gravemente doentes com MERS com uma sobrevivência aos 14 dias de 70% no grupo submetido a tratamento e 29% no grupo de referência, não se verificando uma melhoria da sobrevida significativa aos 28 dias (30% no grupo submetido a tratamento vs. 17% no grupo de referência), possivelmente refletindo a administração tardia do tratamento num estágio avançado da doença. [11][22] [33][34]

Uma outra abordagem para identificar agentes antivirais eficazes baseia-se no rastreio de moléculas úteis na inibição do coronavírus MERS em bibliotecas/bases de dados químicas. Vários agentes têm demonstrado efeitos inibitórios contra o coronavírus MERS em culturas celulares. O ácido micofenólico é tipicamente utilizado como um imunossupressor após transplantes, inibindo a enzima Inosina Monofosfato Desidrogenase (IMPDH), necessária para

a síntese de nucleótidos de guanina. A sua atividade antiviral deve-se à inibição da replicação do RNA viral. Esta molécula é um inibidor mais potente que a ribavarina o que significa que níveis plasmáticos eficazes deste fármaco poderão ser mais facilmente obtidos para doses intravenosas do que para a ribavarina. Outros compostos como a cloroquina, cloropromazina, loperamida e lopinavir também inibem a replicação do coronavírus MERS em baixas concentrações *in vitro*. [7][22]

Uma terceira abordagem para identificar possíveis candidatos envolve o desenvolvimento de agentes antivirais específicos com base nos conhecimentos do genoma e estrutura viral do coronavírus MERS. Um dos alvos mais interessantes e óbvios é a proteína S devido ao seu papel essencial na interação do vírus com o recetor celular do hospedeiro. O próprio recetor celular, DPP4, pode também ser utilizado como alvo para inibir a infeção celular pelo coronavírus MERS. Anticorpos monoclonais, bem como análogos da adenosina deaminase (inibidor natural da DPP4) podem ser utilizados com este fim. No entanto, devido à ampla distribuição celular deste recetor no organismo humano e o seu papel metabólico e imunológico essencial, o risco de perturbações fisiológicas deve ser bem avaliado. As proteínas 3CLpro e PLpro são essenciais para a clivagem das poliproteínas virais e posterior maturação viral e, sendo distintas das proteases celulares, são alvos ideais para os fármacos. O desenvolvimento deste tipo de moléculas é mais demorado do que nas primeiras duas abordagens, no entanto, esses agentes antivirais "feitos à medida" representam opções terapêuticas mais específicas e possivelmente mais eficazes contra o coronavírus MERS. [3][7][11]

O tratamento com anticorpos monoclonais humanos neutralizantes e soro de convalescentes podem ser úteis na profilaxia pós-exposição e tratamento precoce da infeção do coronavírus MERS. [13] No entanto, os potenciais dadores de soro de convalescença estão limitados aos doentes que recuperaram de pneumonia severa já que os doentes com infeção leve ou subclínica produzem baixos níveis de anticorpos neutralizantes com curta duração. [35]

Embora existam já alguns estudos envolvendo anticorpos monoclonais humanizados em modelos animais com resultados favoráveis, são necessários mais estudos antes da sua aplicação em seres humanos. [36]

Neste momento, as terapias alternativas mais utilizadas na gestão das pessoas infetadas com o coronavírus MERS incluem a administração de soro de convalescentes, lopinavir, interferon (IFN) e ribavirina. [6] [34]

3.10. Prevenção e Controlo

A compreensão da via e do padrão de transmissão do coronavírus MERS é essencial para evitar a propagação deste vírus. O bloqueio da transmissão, através do diagnóstico precoce e isolamento intra-hospitalar, é a principal forma de controlo e prevenção da infeção. [37]

3.10.1 População em geral

A OMS aconselha as pessoas em risco de contrair infeção pelo coronavírus MERS a evitar o contacto com camelos, praticar uma boa higiene das mãos, evitar beber leite não pasteurizado ou ingerir carne de camelo, a menos que esteja devidamente cozinhada e lavar adequadamente frutas e legumes antes de serem consumidos. A ingestão de urina do camelo, que faz parte dos tratamentos tradicionais nos países do Médio Oriente, deve também ser evitada. Em relação aos trabalhadores que contactam com camelos como em quintas, trabalhadores do mercado, matadouro, veterinários e pessoas que manuseiem camelos nas instalações de corrida, é importante a prática de uma boa higiene pessoal, incluindo a lavagem frequente das mãos depois de tocar nos animais e evitar o contato com animais doentes. Além disso e especialmente, se os camelos manifestarem sinais de doença do trato respiratório superior, devem ser utilizadas batas e luvas durante o manuseio de animais. [22]

3.10.2 Profissionais de saúde

A maioria dos casos ocorre no contexto dos cuidados de saúde. No ambiente hospitalar, a triagem, o diagnóstico precoce, o cumprimento de medidas de controlo de infeção apropriadas, o rápido isolamento de casos suspeitos e o rastreio oportuno de pessoas que estiveram em contato com casos, são a chave para prevenir a transmissão nosocomial.

É importante que todos os profissionais de saúde pratiquem medidas de controlo de infeção apropriadas ao cuidar de doentes suspeitos ou casos confirmados de infeção pelo coronavírus MERS. Os profissionais de saúde devem proceder a uma higienização adequada das suas mãos antes de tocar em doentes, após um risco de exposição a fluidos corporais, depois de tocar num doente ou ambiente que o rodeia, incluindo artigos ou superfícies contaminadas. [38] Devem ser adicionadas precauções em relação às gotículas durante o atendimento de doentes com sinais de infeção respiratória aguda, bem como em procedimentos que envolvam a formação de aerossóis, tais como intubação, ventilação não invasiva, ventilação manual antes da intubação, broncoscopia, traqueostomia, e aspiração das vias aéreas. Antes de entrar e m contato com um doente suspeito ou um caso confirmado, os profissionais de saúde devem usar luvas, bata, máscara e óculos de proteção ou protetor facial (Figura 5).

Figura 5 – Equipamento de proteção. Adaptado de J. Y. Kim, et al.; "Middle East Respiratory Syndrome Infection Control and Prevention Guideline for Healthcare Facilities."

Os profissionais de saúde devem ser educados e treinados com as competências de prevenção e controlo de infeção.

3.10.3 Vacinas

A vacinação pode ser utilizada para prevenir a infeção ou reduzir a gravidade da doença, excreção viral e desse modo, a transmissão, contribuindo assim para controlo de surtos. Até à data, várias vacinas candidatas têm sido estudadas, com a proteína S1 e o domínio de ligação ao recetor como principal alvo. No entanto, o reduzido número de pessoas infetadas e baixa taxa de reprodução viral faz com que seja difícil definir as populações alvo para a vacinação que iriam apoiar o investimento no seu fabrico e desenvolvimento. [10] Os indivíduos saudáveis aparentam um baixo risco de doença grave., já doentes idosos ou com condições subjacentes, que têm o maior risco de MERS grave, seriam populações-alvo importantes. No entanto, a vacinação nestes doentes pode ser

problemática devido às fracas respostas imunes, tal como foi verificado para o vírus da gripe. Pessoas com um elevado risco de exposição ao coronavírus MERS, tais como profissionais de saúde e trabalhadores que contactam com camelos seria aconselhável serem vacinados. Um outro problema prende-se com o facto de a proteína S do coronavírus MERS, apesar de ainda não o ter demonstrado, ser propensa a mutação e recombinação (característica comum dos coronavírus), o que pode resultar na evasão aos anticorpos. Também é difícil encontrar modelos animais adequados que desenvolvam a doença com a mesma patogénese como ocorre em doentes com doença respiratória grave. Um dos aspetos também a ter em conta é o facto do coronavírus MERS infetar um número muito maior de camelos do que seres humanos. Desta forma, a vacinação dos camelos pode ser uma abordagem para diminuir a quantidade de vírus em circulação e excretado pelos animais infetados. [11][39]

3.10.3 Viagens

No que diz respeito a viagens, a OMS não está a restringir as viagens aos países do Médio Oriente. No entanto, são feitas algumas recomendações, nomeadamente referir aos viajantes de que determinadas condições médicas pré-existentes (por exemplo, doenças crónicas, como a diabetes, doença pulmonar crónica e imunodeficiência) pode aumentar a probabilidade de doença, incluindo a infeção pelo coronavírus MERS, aconselhar sobre as precauções de saúde de viagem, nomeadamente, lavar as mãos frequentemente, aderir a boas práticas de segurança alimentar e manter uma boa higiene pessoal, aconselhar os viajantes que desenvolvam uma doença respiratória aguda significativa com febre e tosse a minimizar os seus contactos com outras pessoas, cobrir a boca e o nariz com um lenço de papel quando tossir ou espirrar e informar o pessoal médico o mais rápido possível. [40]

Para o Hajj e Umrah (peregrinações à cidade santa de Meca pelos muçulmanos), o Ministério da Saúde da Arábia recomenda que as pessoas com maior risco de infeção e complicações, devem adiar a sua Hajj. Estas pessoas incluem grupos de certa idade (<12 anos, e ≥65 anos), portadores de doenças crónicas, deficiências imunológicas, doenças terminais, ou gravidez. [19]

4. Considerações finais e Perspetivas Futuras

Apesar de todo o progresso na compreensão do coronavírus MERS, existem ainda várias questões importantes que permanecem sem resposta. As lacunas de conhecimento da sua origem, vias de transmissão e patogénese fazem com que as preocupações globais de saúde sobre este vírus vão aumentando.

Embora o camelo tenha sido implicado como o reservatório intermédio do coronavírus MERS, são necessários mais detalhes sobre a variação genética deste vírus para identificar o camelo como fonte de infeção definitiva para o ser humano.

Esporadicamente ocorre a introdução do coronavírus MERS na população humana a partir da sua fonte zoonótica, no entanto, a transmissão nosocomial continua a ser a principal forma de transmissão ao ser humano, sendo responsável pela ocorrência de surtos em diversos locais. Por esse motivo, a compreensão de todos os fatores (médicos, sociais, culturais) que facilitam a transmissão pessoa a pessoa é crítica para a contenção da desta ameaça à saúde pública.

É fundamental a existência de mais dados epidemiológicos, mais casos de infeções resolvidas e ensaios clínicos de diferentes intervenções terapêuticas. A colaboração entre as autoridades internacionais de saúde e centros de pesquisa é essencial para se atingir essas metas.

Vários esforços têm sido realizados no sentido de desenvolver uma terapia eficaz e vacinação, não estando no entanto disponíveis até à data. Devido ao número reduzido de pessoas infetadas e consequente falta de benefícios comerciais, a busca de tratamentos eficazes tem de ser realizada pelos governos dos países desenvolvidos.

Embora a Península Arábica permaneça a região mais afetada, existe uma preocupação sobre a propagação deste vírus para outros países. O aumento das viagens para essa região e o Hajj representam uma ameaça de uma pandemia global. Fortes medidas de prevenção, controlo e vigilância, bem como um diagnóstico precoce e isolamento dos casos, são extremamente importantes e continuam a ser a principal forma para prevenir a propagação deste vírus.

5. Bibliografia

[1] SHAUNA MILNE-PRICE, KERRI L. MIAZGOWICZ, And Vincent J. Munster - The emergence of the Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV). [S.l.] : National Institutes of Health, 2015. 119–134 p. ISBN 1406375748.

[2] AL-DORZI, Hasan M.; ALSOLAMY, Sami; ARABI, Yaseen M. - Critically ill patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. Critical care (London, England). . ISSN 1466-609X. 20:2016) 65. doi: 10.1186/s13054-016-1234-4.

[3] DURAI, Prasannavenkatesh *et al.* - Middle East respiratory syndrome coronavirus: transmission, virology and therapeutic targeting to aid in outbreak control. Experimental & molecular medicine. . ISSN 2092-6413. 47:8 (2015) e181. doi: 10.1038/emm.2015.76.

[4] BERRY, Michael; GAMIELDIEN, Junaid; FIELDING, Burtram C. - Identification of new respiratory viruses in the new millennium. Viruses. . ISSN 1999-4915. 7:3 (2015) 996–1019. doi: 10.3390/v7030996.

[5] BÁEZ-SANTOS, Yahira M. *et al.* - Catalytic function and substrate specificity of the papain-like protease domain of nsp3 from the Middle East respiratory syndrome coronavirus. Journal of virology. . ISSN 1098-5514. 88:21 (2014) 12511–27. doi: 10.1128/JVI.01294-14.

[6] AL-HAZMI, Ali - Challenges presented by MERS corona virus, and SARS corona virus to global health. Saudi Journal of Biological Sciences. . ISSN 1319562X. 23:4 (2016) 507–511. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.02.019.

[7] CHAN, Jasper F. W. *et al.* - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: Another Zoonotic Betacoronavirus Causing SARS-Like Disease. Clinical Microbiology Reviews. . ISSN 0893-8512. 28:2 (2015) 465–522. doi: 10.1128/CMR.00102-14.

[8] PERLMAN, Stanley; VIJAY, Rahul - Middle East respiratory syndrome vaccines. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. . ISSN 1878-3511. 2016) 6–11. doi: 10.1016/j.ijid.2016.04.008.

[9] QIAN, Zhaohui; DOMINGUEZ, Samuel R.; HOLMES, Kathryn V - Role of the spike glycoprotein of human Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in virus entry and syncytia formation. PloS one. . ISSN 1932-6203. 8:10 (2013) e76469. doi: 10.1371/journal.pone.0076469.

[10] MODJARRAD, Kayvon - MERS-CoV vaccines candidates in development: The current landscape. Vaccine. . ISSN 1873-2518. 34:26 (2016) 2982–2987. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.03.104.

[11] WIT, Emmie DE *et al.* - SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. Nature reviews. Microbiology. . ISSN 1740-1534. 14:8 (2016) 523–34. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81.

[12] ZAKI, Ali M. *et al.* - Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. The New England journal of medicine. . ISSN 1533-4406. 367:19 (2012) 1814–20. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.

[13] SHARIF-YAKAN, Ahmad; KANJ, Souha S. - Emergence of MERS-CoV in the Middle East: origins, transmission, treatment, and perspectives. PLoS pathogens. . ISSN 1553-7374. 10:12 (2014) e1004457. doi: 10.1371/journal.ppat.1004457.

[14] World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). [Consult. 23 jul. 2016]. Disponível em WWW:<URL:http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>.

[15] ZUMLA, Alimuddin *et al.* - Taking forward a "One Health" approach for turning the tide against the Middle East respiratory syndrome coronavirus and other zoonotic pathogens with epidemic potential. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. . ISSN 1878-3511. 2016) 4–8. doi: 10.1016/j.ijid.2016.06.012.

[16] HAN, Hui-Ju; YU, Hao; YU, Xue-Jie - Evidence for zoonotic origins of Middle East respiratory syndrome coronavirus. The Journal of general virology. . ISSN 1465-2099. 97:2 (2016) 274–80. doi: 10.1099/jgv.0.000342.

[17] REUSKEN, Chantal Bem *et al.* - Cross host transmission in the emergence of MERS coronavirus. Current opinion in virology. . ISSN 1879-6265. 16:2016) 55–62. doi: 10.1016/j.coviro.2016.01.004.

[18] MOHD, Hamzah A; AL-TAWFIQ, Jaffar A; MEMISH, Ziad A - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. Virology journal. . ISSN 1743-422X. 13:1 (2016) 87. doi: 10.1186/s12985-016-0544-0.

[19] PRESS, Dove - Middle East respiratory syndrome coronavirus : epidemiology and disease control measures. 2014) 281–287.

[20] MUHAIRI, Salama Al *et al.* - Epidemiological investigation of Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camel farms linked with human infection in Abu Dhabi Emirate, United Arab Emirates. Virus genes. . ISSN 1572-994X. 2016). doi: 10.1007/s11262-016-1367-1.

[21] AZHAR, Esam I. *et al.* - Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. The New England journal of medicine. . ISSN 1533-4406. 370:26 (2014) 2499–505. doi: 10.1056/NEJMoa1401505.

[22] ALIMUDDIN ZUMLA, DAVID S HUI, Stanley Perlman - Middle East Respiratory Syndrome. Nat Genet. 386:9997 (2015) 995–1007. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60454-8.Middle.

[23] AL-TAWFIQ, Jaffar A; OMRANI, Ali S.; MEMISH, Ziad A - Middle East respiratory syndrome coronavirus: current situation and travel-associated concerns. Frontiers of medicine. . ISSN 2095-0225. 10:2 (2016) 111–9. doi: 10.1007/s11684-016-0446-y.

[24] WATSON, John T. *et al.* - Unraveling the Mysteries of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Emerging Infectious Diseases. . ISSN 1080-6040. 20:6 (2014) 1054–1056. doi: 10.3201/eid2006.140322.

[25] BRAND, Judith M. A VAN DEN; SMITS, Saskia L.; HAAGMANS, Bart L. - Pathogenesis of Middle East respiratory syndrome coronavirus. The Journal of pathology. . ISSN 1096-9896. 235:2 (2015) 175–84. doi: 10.1002/path.4458.

[26] YOUSEFI, Maysam; DEHESH, Mohammad Moein; FAROKHNIA, Mehrdad - Epidemiological and clinical characteristics of patients with Middle East Respiratory syndrome Coronavirus in Iran in 2014. Japanese journal of infectious diseases. . ISSN 1884-2836. 2016). doi: 10.7883/yoken.JJID.2015.536.

[27] BADAWI, Alaa; RYOO, Seung Gwan - Prevalence of comorbidities in the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): a systematic review and meta-analysis. International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. . ISSN 1878-3511. 49:January (2016) 129–133. doi: 10.1016/j.ijid.2016.06.015.

[28] YAMAOKA, Yutaro *et al.* - Development of Monoclonal Antibody and Diagnostic Test for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Using Cell-Free Synthesized Nucleocapsid Antigen. Frontiers in microbiology. . ISSN 1664-302X. 7:April (2016) 509. doi: 10.3389/fmicb.2016.00509.

[29] EAST, Middle *et al.* - Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. 2014) 1–13.

[30] LEE, Hyukmin *et al.* - Guidelines for the Laboratory Diagnosis of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Korea. 36:1 (2016) 61–69.

[31] Centers for disease Control and Prevention - [Consult. 21 aug. 2016]. Disponível em WWW:<URL:http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/interim-guidance.html>.

[32] CHEN, Yixin *et al.* - A sensitive and specific antigen detection assay for Middle East respiratory syndrome coronavirus. Emerging microbes & infections. . ISSN 2222-1751. 4:4 (2015) e26. doi: 10.1038/emi.2015.26.

[33] FALZARANO, Darryl *et al.* - Inhibition of novel β coronavirus replication by a combination of interferon-α2b and ribavirin. Scientific reports. . ISSN 2045-2322. 3:2013) 1686. doi: 10.1038/srep01686.

[34] CHONG, Yong Pil *et al.* - Antiviral Treatment Guidelines for Middle East Respiratory Syndrome. Infection & chemotherapy. . ISSN 2093-2340. 47:3 (2015) 212–22. doi: 10.3947/ic.2015.47.3.212.

[35] ALSHUKAIRI, Abeer N. *et al.* - Antibody Response and Disease Severity in Healthcare Worker MERS Survivors. Emerging infectious diseases. . ISSN 1080-6059. 22:6 (2016) 1113–1115. doi: 10.3201/eid2206.160010.

[36] QIU, Hongjie *et al.* - Single-dose treatment with a humanized neutralizing antibody affords full protection of a human transgenic mouse model from lethal Middle East respiratory syndrome (MERS)-coronavirus infection. Antiviral research. . ISSN 1872-9096. 132:2016) 141–148. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.06.003.

[37] KIM, Jin Yong *et al.* - Middle East Respiratory Syndrome Infection Control and Prevention Guideline for Healthcare Facilities. Infection & chemotherapy. . ISSN 2093-2340. 47:4 (2015) 278–302. doi: 10.3947/ic.2015.47.4.278.

[38] EAST, Middle *et al.* - Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection Interim guidance. 2015) 1–5.

[39] PERLMAN, Stanley - The Middle East Respiratory Syndrome — How Worried Should We Be ? 4:4 (2013) 1–4. doi: 10.1128/mBio.00531-13.Copyright.

[40] Frequently Asked Questions on Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) - [Consult. 28 aug. 2016]. Disponível em WWW:<URL:http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/faq/en/>.

[41] Robert Koch Institute - Coronavirus Infektionen - [Em linha] [Consult. 12 jul. 2016]. Disponível em WWW:<URL:http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/C/Coronavirus-Infektionen/Coronavirus-Infektionen_Krankheit.html>.