



**Da emergência de um novo vírus humano
à disseminação global de uma nova doença**
— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Boletim de publicações

Data de publicação: 31/Mar-1/Abr

Nuno Rocha Pereira, André Silva Pinto, Beatriz Prista Leão e António Martins

Serviço de Doenças Infeciosas do CHUSJ

Paula Meireles e Ana Henriques

ISPUP



**Da emergência de um novo vírus humano
à disseminação global de uma nova doença**
— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a RCT

doi: 10.1101/2020.03.22.20040758 Available in MedRxiv **PREPRINT VERSION NOT PEER-REVIEWED**

→ ECR sobre eficácia da hidroxiclороquina (HCQ)

Objetivo:

Avaliar eficácia da HCQ em doentes internados com COVID-19

Critérios inclusão: ≥18a, PCR SARS-CoV-2 positivo, TC c/ pneumonia e SatO₂ >93% ou PaO₂/FiO₂ >300

Critérios exclusão: doença grave, estado crítico ou comorbilidades

Intervenção:

HCQ 200mg 12/12h durante 5 dias + tx padrão (O₂, antivíricos, antibióticos, Ig c/ ou s/ CCT) vs. tx padrão

Outcome:

Tempo até melhora clínica (apirexia e ↓ tosse >72h) e/ou melhora imagiológica (escala pré-definida)



Da emergência de um novo vírus humano
à disseminação global de uma nova doença
— Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a RCT

doi: 10.1101/2020.03.22.20040758 Available in MedRxiv **PREPRINT VERSION NOT PEER-REVIEWED**

→ ECR sobre eficácia da hidroxicloroquina (HCQ)

Resultados: 31 doentes c/ HCQ + tx padrão vs. 31 doentes c/ tx padrão

Tempo médio até apirexia: 2.2 (± 0.8) vs. 3.2 (± 1.3) dias – p 0.008

Tempo médio até ↓ tosse: 2 (± 0.2) vs. 3.1 (± 1.5) dias – p 0.0016

Melhoria imagiológica: 80.6% vs. 54.8% - p 0.0476

Admissão em UCI: 0 vs. 4 doentes

Conclusão:

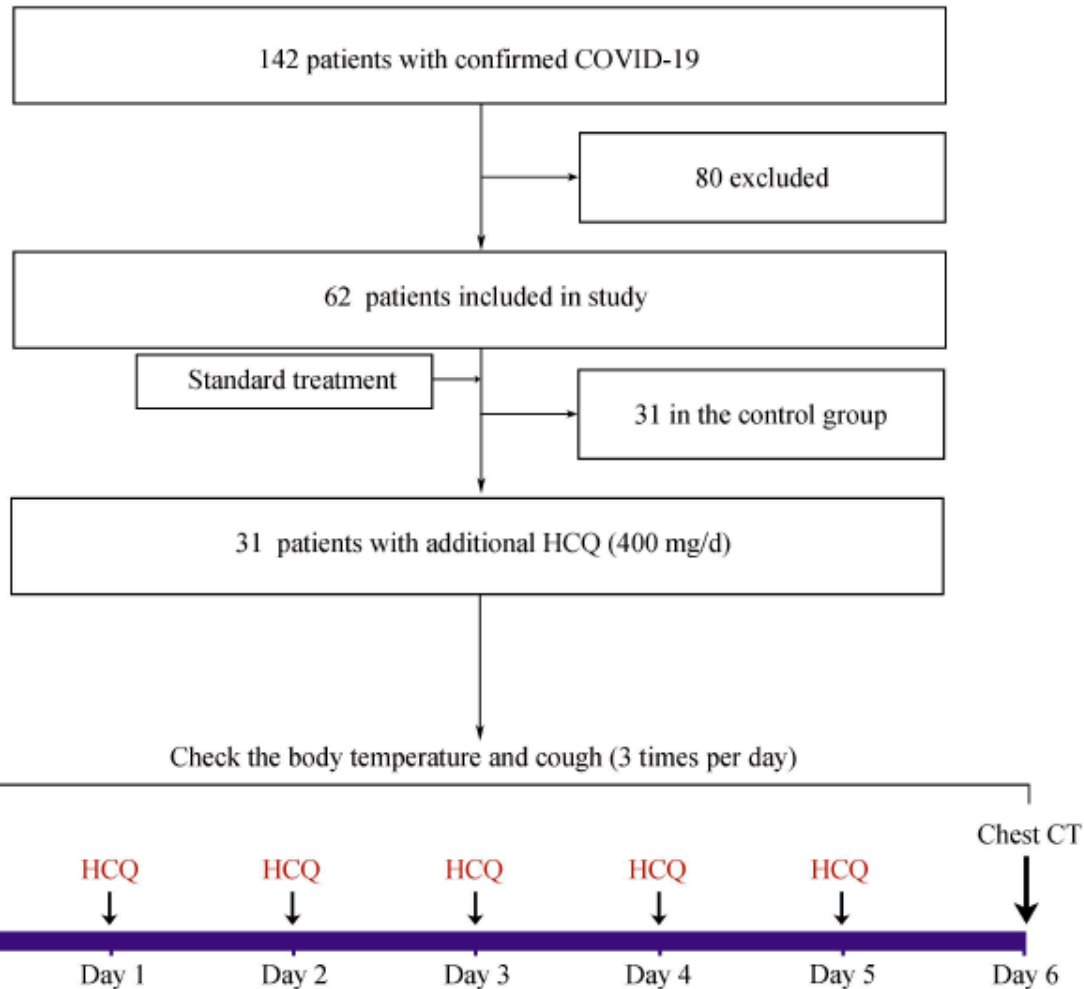
Grupo tratado c/ HCQ apresentou menor tempo até melhoria clínica e mais melhoria imagiológica



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a RCT

doi: 10.1101/2020.03.22.20040758 Available in MedRxiv **PREPRINT VERSION NOT PEER-REVIEWED**



| Characteristics | All | Control | HCQ | P value |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|
| Cases, n | 62 | 31 | 31 | |
| Age, mean (SD) | 44.7 (15.3) | 45.2 (14.7) | 44.1 (16.1) | 0.8809 |
| Sex, n (%) | | | | 0.7991 |
| Male | 29 (46.8%) | 15 (48.3%) | 14 (45.2%) | |
| Female | 33 (53.2%) | 16 (51.7%) | 17 (54.9%) | |
| Fever, day (SD) ^a | 2.6 (1.0) | 3.2 (1.3) | 2.2 (0.4) | 0.0008 |
| Cough, day (SD) ^b | 2.4 (1.1) | 3.1 (1.5) | 2.0 (0.2) | 0.0016 |
| Progressed to severe illness | 4 (6.5 %) | 4 (12.9 %) | 0 | |
| Adverse effects | 2 (3.2 %) | 0 | 2 (6.4 %) | |

| Group | All | Exacerbated | Unchanged | Improved | | |
|----------------|--------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | | Moderate | Significant | Total |
| All | 62 | 11 (17.7 %) | 9 (14.5 %) | 18 (29.0 %) | 24 (38.7 %) | 42 (67.7 %) |
| Control, n (%) | 31 | 9 (29.0 %) | 5 (16.1%) | 12 (38.7 %) | 5 (16.1%) | 17 (54.8%) |
| HCQ, n (%) | 31 | 2 (6.5 %) | 4 (12.9 %) | 6 (19.4%) | 19 (61.3%) | 25 (80.6%) |
| P value | 0.0476 | | | | | |



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2

Nature March 2020. doi.org/10.1038/s41586-020-2179-y

Entender o mecanismo de reconhecimento de receptores do vírus, que regula sua infecciosidade, patogénese e tipo de hospedeiros é importante para combater esta pandemia; SARS-CoV-2 and SARS-CoV reconhecem o mesmo receptor - hACE2.

Objetivo: determinar a base estrutural para o reconhecimento de receptores por SARS-CoV-2 e comparar a afinidade de ligação da hACE2 entre SARS-CoV-2, SARS-CoV e RaTG13.

Para entender a base estrutural para o reconhecimento de hACE2 pelo SARS-CoV-2 → cristalizar o complexo SARS-CoV-2 RBD/hACE2

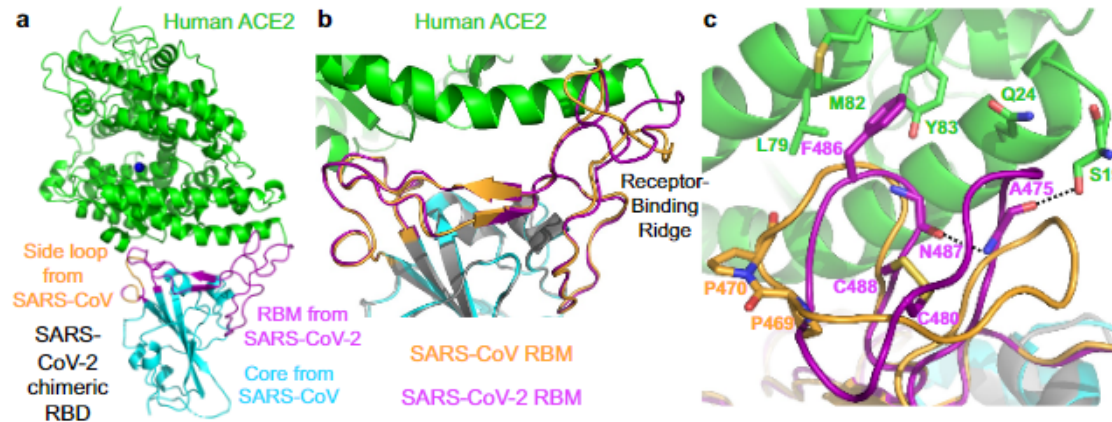


Fig. 1 | Structure of SARS-CoV-2 chimeric RBD complexed with human ACE2. (a) Crystal structure of SARS-CoV-2 chimeric RBD complexed with ACE2. ACE2 is in green. RBD core is in cyan. RBM is in magenta. A side loop in RBM is in orange. A zinc ion in ACE2 is in blue. (b) Comparison of the conformations of the ridge in SARS-CoV-2 RBM (purple) and SARS-CoV RBM (orange).

(c) Comparison of the conformations of the ridge from another angle of view. In SARS-CoV RBM, a proline-proline-alanine motif is shown. In SARS-CoV-2 RBM, a newly formed hydrogen bond, Phe486, and some of the ridge's interactions with the N-terminal helix of ACE2 are shown.

Para facilitar a cristalização, projetaram um RBD quimérico que usa o núcleo do SARS-CoV RBD como “*crystallization scaffold*” e o RBM do SARS-CoV-2 como a unidade funcionalmente relevante.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2

Nature March 2020. doi.org/10.1038/s41586-020-2179-y

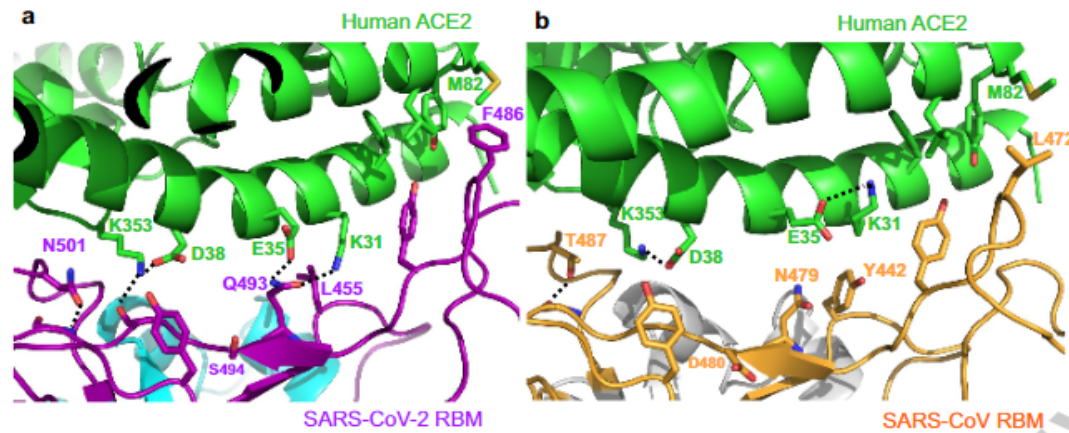


Fig. 2 | Structural details at the interface between SARS-CoV-2 RBM and human ACE2. (a) Interface between SARS-CoV-2 RBM and human ACE2. (b) Interface between SARS-CoV RBM and human ACE2.

Para melhorar ainda mais a cristalização, a afinidade de ligação da hACE2 do RBD quimérico foi otimizada, mantendo um loop curto do SARS-CoV RBM, que mantém uma forte ponte entre Arg426 do RBD e Glu329 do hACE2.

Determinaram a estrutura do complexo quimérico RBD / hACE2 por substituição molecular usando a estrutura do complexo SARS-CoV RBD / hACE2 como modelo de pesquisa. A estrutura desse complexo quimérico RBD / hACE2, particularmente na região RBM, é altamente semelhante a outra estrutura recentemente determinada do complexo RBD / hACE2 do tipo selvagem SARS-CoV-217 (fig. 3 próximo slide).



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2

Nature March 2020. doi.org/10.1038/s41586-020-2179-y

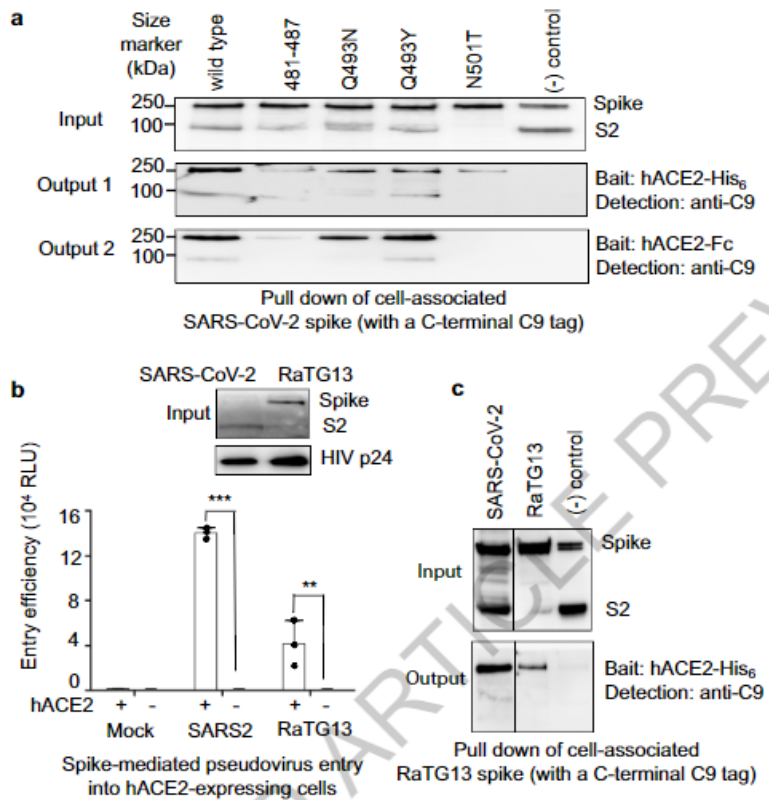


Fig. 3 | Biochemical data showing the interactions between SARS-CoV-2 or bat RaTG13 spike and human ACE2. (a) Protein pull-down assay using hACE2 as the bait and cell-associated SARS-CoV-2 spike molecules (wild type and mutants) as the targets. Top panel: cell-expressed SARS-CoV-2 spike. Middle panel: pull-down result using His₆-tagged hACE2. Bottom panel: pull-down result using Fc-tagged hACE2. MERS-CoV spike was used as a negative control.

no pseudoviruses. Error bars indicate ± 1 S.D. Two-tailed t-test comparing SARS-CoV-2 (with hACE2; $n=3$ independent samples) with SARS-CoV-2 (no hACE2; $n=4$ independent samples) showed a significant difference, $p < 1.16 \times 10^{-5}$. Two-tailed t-test comparing RaTG13 (with hACE2; $n=3$ independent samples) with RaTG13 (no hACE2; $n=4$ independent samples) showed a significant difference, $p = .0097$. Individual data points are in black dots. *** $p < .001$. ** $p < .01$. (c) Protein

O pico do SARS-CoV-2 continha uma das seguintes alterações de RBM: 481-487 (481-NGVEGFN-487 no SARS-CoV-2 sofreram mutação para TPPALN como no SARS-CoV), Q493N (Gln493 no SARS-CoV-2 sofreu mutação para uma asparagina como no SARS-CoV humano), Q493Y (Gln493 em SARS-CoV-2 sofreu mutação para uma tirosina como em morcego RaTG13) e N501T (Asn493 em SARS-CoV-2 sofreu mutação para uma treonina como no SARS-CoV humano). Os resultados mostraram que todas essas mutações introduzidas reduziram a afinidade de ligação a hACE2 do pico de SARS-CoV-2.

As diferenças entre SARS-CoV-2, SARS-CoV e RaTG13 no reconhecimento de hACE2 lançam algumas pistas sobre a possível transmissão de SARS-CoV-2 de animal para o ser humano. Este estudo fornece orientação para estratégias de intervenção visando o reconhecimento de receptores por SARS-CoV-2.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed

New England Journal of Medicine 2020 doi: 10.1056/NEJMp2005630

Perspectiva sobre o desenvolvimento de vacinas durante uma pandemia.

- Na última década, a comunidade científica e a indústria foram chamadas a responder urgentemente às epidemias de influenza H1N1, Ébola, Zika e agora SARS-CoV-2;
- As epidemias de SARS e Zika terminaram antes do término do desenvolvimento da vacina, e o financiamento atribuído ao desenvolvimento da vacina foi realocado, deixando fabricantes com perdas financeiras e atrasando outros programas de desenvolvimento de vacinas;
- Esta história recente enfatizou a necessidade de novas plataformas para o desenvolvimento e produção que possam ser prontamente adaptadas a novos agentes – idealmente, com o desenvolvimento da sequenciação viral até aos ensaios clínicos em menos de 16 semanas, demonstraria a obtenção de respostas imunes consistentes entre os agentes e seria adequada para a produção em larga escala usando uma plataforma agnóstica de agentes;
- A tabela lista os principais tipos de plataforma e exemplos de tipos de vacina SARS-CoV-2 em desenvolvimento em cada.

| Vaccine Platforms, Their Attributes, and the Status of Vaccine Candidates.* | | | | | | |
|---|-------------|-------------------|----------------|----------------|--|---|
| Technology | Attributes | | | | Candidates in Preclinical Development | Candidates in Phase I |
| | Single Dose | Licensed Platform | Speed | Current Scale | | |
| DNA | No | No | Fast | Medium | Inovio Pharmaceuticals Takis/Applied DNA Sciences/Ervivax Zyodus Cadila | |
| Inactivated | No | Yes | Medium | Medium to high | Sinovac | |
| Live attenuated | Yes | Yes | Slow | High | Codagenix/Serum Institute of India | |
| Nonreplicating vector | Yes | No | Medium | High | GeoVax/BravoVax Janssen Pharmaceutical Companies University of Oxford Altimune Greffex Vaxart Expres2ion | CanSino Biologics (ChiCTR2000030906) |
| Protein subunit | No | Yes | Medium to fast | High | WRAR/U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases Clover Biopharmaceuticals Inc/GSK Vaxil Bio AJ Vaccines Genrex/EpiVax/University of Georgia Sanofi Pasteur Novavax Heat Biologics/University of Miami University of Queensland/GSK/ Baylor College of Medicine iBio/CC-Pharming | |
| Replicating viral vector | Yes | Yes | Medium | High | Zyodus Cadila Institut Pasteur/Themis Tonix Pharma/Southern Research | |
| RNA | No | No | Fast | Low to medium | Fudan University/Shanghai JiaoTong University/RNAcure Biopharma China CDC/Tongji University/Stermina Arcturus/Duke-NUS Imperial College London Curevac BioNTech/Pfizer | Moderna/NIAID (NCT04283461) |
| Uncertain | | | | | University of Pittsburgh University of Saskatchewan ImmunoPrecise MIGAL Galilee Research Institute Doherty Institute Tulane University | |

* Attributes refer to general attributes of the platform, and assessments are not intended as inferences about a particular candidate. NIAID denotes National Institute of Allergy and Infectious Diseases, and WRAR Walter Reed Army Institute of Research.



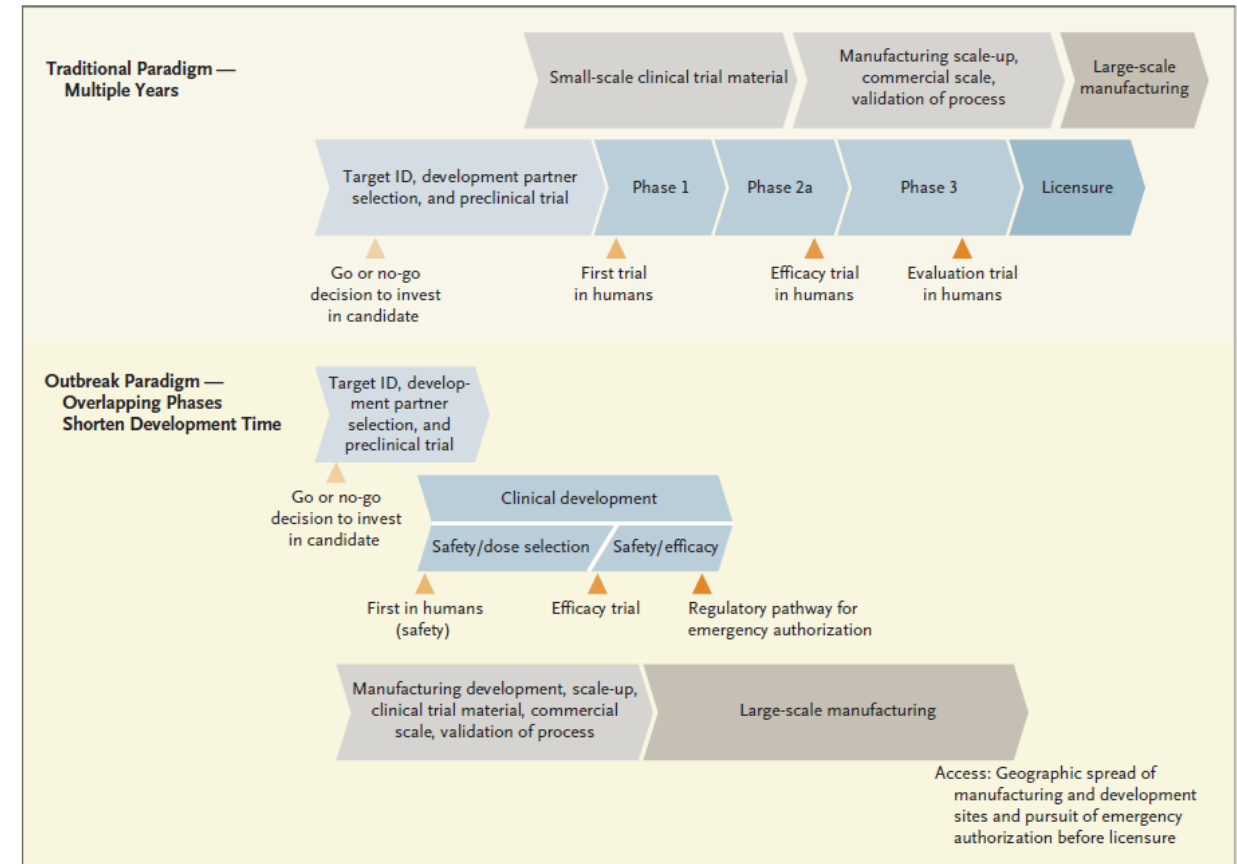
Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed

New England Journal of Medicine 2020 doi: 10.1056/NEJMp2005630

O desenvolvimento da vacina é um processo demorado e caro;
O atrito é alto e normalmente leva vários candidatos e muitos anos para produzir uma vacina licenciada;
Devido ao custo e à alta probabilidade de falhas, os desenvolvimento geralmente segue uma sequência linear de etapas, com várias pausas para análise de dados ou verificações do processo de produção;
Desenvolvimento de uma vacina rapidamente requer um **novo paradigma pandêmico** (ver o diagrama):

- Início rápido e várias etapas executadas em paralelo antes de confirmar um resultado bem-sucedido de outra etapa;
- Elevado risco financeiro.



Difference between Traditional Vaccine Development and Development Using a Pandemic Paradigm.

The pandemic paradigm requires multiple activities to be conducted at financial risk to developers and manufacturers and without knowing whether the vaccine candidate will be safe and effective, including very early manufacturing scale-up to commercial scale before establishment of clinical proof of concept. ID denotes identification.



Da emergência de um novo vírus humano à disseminação global de uma nova doença — Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19)

Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed

New England Journal of Medicine 2020 doi: 10.1056/NEJMp2005630

Mesmo com novas plataformas, o desenvolvimento da vacina SARS-CoV-2 apresenta desafios.

1. Primeiro, embora a proteína do pico do vírus seja um imunogénio promissor para proteção, a otimização do design do antígeno é fundamental para garantir uma resposta imune ideal;
2. A experiência pré-clínica com candidatos a vacina para a SARS e MERS levantou preocupações sobre a exacerbação da doença pulmonar, diretamente ou como resultado da potenciação dependente de anticorpos;
3. Embora se possam inferir correlações de proteção a partir da experiência com as vacinas SARS e MERS, estas ainda não estão estabelecidas. Como na infeção adquirida naturalmente, a duração potencial da imunidade é desconhecida; da mesma forma, é incerto se as vacinas de dose única conferem imunidade;
4. Uma situação de pandemia gera a procura simultânea de vacinas em todo o mundo. Vão ser necessários estudos clínicos e serológicos para confirmar quais as populações que permanecem em maior risco quando as vacinas estiverem disponíveis, e assim formar a base para o estabelecimento de um sistema globalmente justo de alocação das vacinas.

Embora seja improvável, se a pandemia terminar abruptamente antes que as vacinas estejam prontas, devemos continuar o desenvolvimento dos candidatos mais promissores até ao ponto em que possam ser armazenados e prontos para testes e autorização de emergência caso ocorra um novo surto.