



SARS-CoV-2: Tratamento e Prevenção com recurso a Nanotecnologia

Rogério Miguel Caixinha Algarvio

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentado à
Universidade do Algarve através da Faculdade de Ciências e Tecnologia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Margarida Moutinho Grenha,
Professora Associada com Agregação

2025



SARS-CoV-2: Tratamento e Prevenção com recurso a Nanotecnologia

Rogério Miguel Caixinha Algarvio

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentado à
Universidade do Algarve através da Faculdade de Ciências e Tecnologia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Margarida Moutinho Grenha,
Professora Associada com Agregação

2025

SARS-CoV-2: Tratamento e Prevenção com recurso a Nanotecnologia

DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright© 2023 Rogério Miguel Caixinha Algarvio

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“Recomeça... se puderes, sem angústia e sem pressa e os passos que deres, nesse caminho duro do futuro, dá-os em liberdade, enquanto não alcances não descanses, de nenhum fruto queiras só metade.”

Miguel Torga

Agradecimentos

À minha mãe, à minha irmã e ao meu irmão, pelo apoio constante e por estarem sempre presentes. Aos meus avós, pelos valores e força que sempre me transmitiram. Em especial, aos meus tios Maria e Vítor e ao meu primo Martim, pelo incentivo e pela ajuda ao longo deste percurso.

Aos meus amigos de sempre e aos que a Faculdade me deu, pela companhia, apoio e bons momentos que tornaram esta etapa muito mais leve.

À Professora Ana Grenha e aos restantes docentes com quem criei uma boa relação, pelo acompanhamento e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Professor Jaime Conceição, ao professor Renato Ferreira da Silva, à Farmácia Novalentejo e ao Hospital Dr. Nélio Mendonça, pelas oportunidades de aprendizagem e pela experiência profissional que contribuíram para o meu desenvolvimento.

À Universidade do Algarve, pela formação académica e pelas oportunidades que tornaram possível esta jornada.

Aos que já não estão, mas que continuarão para sempre no meu coração, o meu mais sentido obrigado.

A todos os que, de alguma forma, contribuíram para este caminho, o meu sincero obrigado.

Resumo

A pandemia de COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, representou o maior desafio de saúde pública do século XXI até à data, exigindo respostas rápidas e eficazes para controlar a sua propagação e tratar os doentes infetados. Apesar dos avanços no desenvolvimento de antivirais e vacinas, a evolução constante do vírus e o aparecimento de novas variantes continuam a desafiar a eficácia das estratégias terapêuticas e preventivas já estabelecidas. Enquanto isso, a nanotecnologia emergiu como uma abordagem inovadora e eficaz, com potencial para criar sistemas de veiculação de fármacos mais avançados, otimizar a modulação da resposta inflamatória e impulsionar o desenvolvimento de vacinas. O ponto focal desta dissertação é a utilização da nanotecnologia no tratamento e prevenção da COVID-19, realçando os seus benefícios face às abordagens tradicionais e perspetivando desenvolvimentos futuros nesta área.

Esta dissertação tem como objetivo analisar como a nanotecnologia é aplicada no tratamento e prevenção da COVID-19, abordando as principais inovações. Numa primeira fase, é apresentada a etiologia da doença, explorando as características estruturais do SARS-CoV-2, incluindo o seu ciclo replicativo e mecanismos de transmissão. A segunda parte da dissertação aborda as formas de tratamento convencionais, que incluem antivirais, anticorpos monoclonais e corticosteróides. Remdesivir e molnupiravir têm sido os principais antivirais utilizados, enquanto a dexametasona tem mostrado eficácia em doentes graves. O uso de anticorpos monoclonais tem igualmente revelado eficácia na neutralização do vírus. A última parte da dissertação é dedicada às aplicações de nanotecnologia, que têm assumido um papel central na elaboração de vacinas e terapêuticas para combater a COVID-19. As vacinas de RNAm, como as da *Pfizer* e Moderna, são um exemplo de aplicação de nanotecnologia na melhoria da eficácia e estabilidade das vacinas. Além disso, sistemas nanotecnológicos de veiculação de fármacos estão a ser desenvolvidos para melhorar a precisão e reduzir efeitos indesejáveis, abrindo novas possibilidades para terapias mais seguras e direcionadas.

Conclui-se que a nanotecnologia representa uma ferramenta promissora no combate à COVID-19, oferecendo avanços significativos tanto na eficácia das vacinas como na

precisão e segurança das terapias. A sua aplicação não só complementa as abordagens tradicionais, como também abre perspectivas para estratégias mais rápidas e adaptáveis face à evolução do SARS-CoV-2 e ao surgimento de novas variantes. O recurso a sistemas nanotecnológicos poderá, assim, desempenhar um papel determinante na preparação para futuras pandemias, reforçando a importância da inovação tecnológica na proteção da saúde pública global.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19, Nanotecnologia, Terapêuticas antivirais, Vacinas, Veiculação de fármacos.

Abstract

The COVID-19 pandemic, caused by SARS-CoV-2, has represented the greatest public health challenge of the 21st century to date, demanding rapid and effective responses to control its spread and treat infected patients. Despite advances in the development of antivirals and vaccines, the constant evolution of the virus and the emergence of new variants continue to challenge the effectiveness of already established therapeutic and preventive strategies. Meanwhile, nanotechnology has emerged as an innovative and effective approach, with the potential to create more advanced drug delivery systems, optimize the modulation of the inflammatory response, and drive vaccine development. The central focus of this dissertation is the use of nanotechnology in the treatment and prevention of COVID-19, highlighting its benefits compared to traditional approaches and considering future developments in this field.

This dissertation aims to analyze how nanotechnology is applied in the treatment and prevention of COVID-19, addressing its main innovations. Initially, the etiology of the disease is presented, exploring the structural characteristics of SARS-CoV-2, including its replication cycle and transmission mechanisms. The second part of the dissertation addresses conventional treatment methods, which include antivirals, monoclonal antibodies, and corticosteroids. Remdesivir and molnupiravir have been the main antivirals used, while dexamethasone has shown efficacy in severe patients. The use of monoclonal antibodies has likewise demonstrated effectiveness in neutralizing the virus. The final part of the dissertation is dedicated to nanotechnology applications, which have played a central role in the development of vaccines and therapeutics to combat COVID-19. mRNA vaccines, such as those from Pfizer and Moderna, are an example of the application of nanotechnology in improving the efficacy and stability of vaccines. In addition, nanotechnology-based drug delivery systems are being developed to improve precision and reduce adverse effects, opening new possibilities for safer and more targeted therapies.

It is concluded that nanotechnology represents a promising tool in the fight against COVID-19, offering significant advances in both vaccine efficacy and the precision and

safety of therapies. Its application not only complements traditional approaches but also opens prospects for faster and more adaptable strategies in response to the evolution of SARS-CoV-2 and the emergence of new variants. The use of nanotechnology-based systems may therefore play a decisive role in preparing for future pandemics, reinforcing the importance of technological innovation in protecting global public health.

KEYWORDS: Antiviral therapeutics, COVID-19, Drug delivery, Nanotechnology, Vaccines.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	v
Índice	viii
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiv
Lista de Abreviaturas	xvi
1. Introdução	1
2. Objetivos	2
3. Metodologia	2
4. Características estruturais do SARS-CoV-2	3
4.1. <i>Classificação e características estruturais</i>	3
4.2. <i>Genoma e diversidade genética</i>	6
4.3. <i>Ciclo replicativo e mecanismos de transmissão</i>	8
5. Fisiopatologia e diagnóstico da COVID-19	11
5.1. <i>Manifestações clínicas e fatores de risco</i>	12
5.2. <i>Diagnóstico laboratorial e imagiológico</i>	15
5.3. <i>Mecanismos de patogênese</i>	19
6. Opções Terapêuticas da Covid-19	24
6.1. <i>Antivirais</i>	25
6.2. <i>Anticorpos monoclonais</i>	26
6.3. <i>Corticoterapia e imunomoduladores</i>	27
6.4. <i>Terapêuticas experimentais e emergentes</i>	29
7. Prevenção da COVID-19	31
7.1. <i>Estratégias de saúde pública</i>	32
7.2. <i>Vacinação convencional e desenvolvimento de novas vacinas</i>	33
8. Aplicação da nanotecnologia na COVID-19	38

8.1. Nanotecnologia na veiculação de fármacos antivirais	40
8.1.1. Nanotransportadores lipídicos	40
8.1.2. Nanotransportadores poliméricos	43
8.1.3. Nanopartículas metálicas	49
8.1.4. Sistemas híbridos	53
8.1.5. Terapias inaláveis	55
8.2. Nanopartículas para modulação da resposta inflamatória	57
8.3. Vacinação baseada em nanotecnologia	60
9. Conclusão.....	67
Referências Bibliográficas	70

Lista de Figuras

Figura 4.1. Características clínicas do COVID-19	28
Figura 4.2. Estrutura do SARS-Cov-2.....	31
Figura 4.3. Organização genómica do SARS-CoV-2.....	33
Figura 4.4. Diagrama da proteína S do Coronavírus com os dois locais de clivagem S1/S2 e S2'.....	34
Figura 4.5. Ciclo replicativo do SARS-CoV-2 na célula hospedeira	35
Figura 5.1. Manifestações da COVID-19 noutros órgãos e sistemas	37
Figura 5.3. Ciclo de infeção do SARS-CoV-2 e cascata inflamatória	44
Figura 7.1. Principais plataformas vacinais utilizadas contra o SARS-CoV-2	58
Figura 8.1. Representação esquemática dos principais tipos de nanotransportadores lipídicos.....	65
Figura 8.2. Perfil de libertação de remdesivir em solução e em transportadores lipídicos nanoestruturados	66
Figura 8.3. Comparação da biodisponibilidade relativa de remdesivir livre e encapsulado em NLC.....	67
Figura 8.4. Representação esquemática dos principais nanotransportadores poliméricos	69
Figura 8.5. Perfil de libertação de remdesivir a partir de nanopartículas de PLGA (SelfExRem)	70
Figura 8.6. Níveis de IgA e IgG no BALF após imunização nasal com nanopartículas de quitosano mannosiladas.....	71
Figura 8.7. Avaliação in vitro de micelas poliméricas baseadas em Pluronic F127, com/sem atazanavir.....	72
Figura 8.8. Atividade antiviral de dendrímeros tetravalentes conjugados com péptido de fusão da Spike	73
Figura 8.9. Representação esquemática das principais nanopartículas metálicas	74

Figura 8.10. Concentração e efeito antiviral dependente da dose de AgNP no SARS-CoV-2.....	75
Figura 8.11. Representação esquemática dos principais sistemas híbridos aplicados à COVID-19.....	78
Figura 8.12. Resposta humoral induzida por nanopartículas lipídico–poliméricas em modelo murino.....	79
Figura 8.13. Curva dose–resposta comparativa entre AgNP e Quitosano–AgNP em células VeroE6.....	80
Figura 8.14. Efeito do nanobody inalável PiN-21 em hamsters infetados com SARS-CoV-2.....	81
Figura 8.15. Representação esquemática dos nanodecoys biomiméticos desenvolvidos	82
Figura 8.16. Efeitos do tratamento com nanoDEX inalável (sistema iSEND) em modelos murinos e primatas	83
Figura 8.17. Caracterização das nanopartículas biomiméticas PLGA-LPV@M	84
Figura 8.18. Estrutura esquemática de LNPs para veiculação de mRNA	85
Figura 8.19. Comparação entre apresentação antigénica do RBD isolado e em nanopartículas auto-organizáveis.....	86
Figura 8.20. Eficácia das vacinas baseadas em nanotecnologia (Fase III)	87
Figura 8.21. Anticorpos neutralizantes induzidos por diferentes vacinas	88
Figura 8.22. Estratégias de vacinação baseada em nanopartículas	89

Lista de Tabelas

Tabela 4.1. Principais variantes do SARS-CoV-2, características genéticas e impacto na transmissibilidade.....	31
Tabela 4.2. Tempo de sobrevivência do SARS-CoV-2 em diferentes superfícies e implicação na transmissão.....	35
Tabela 5.1. Sintomas clínicos mais frequentes da COVID-19 por faixa etária e severidade	40
Tabela 5.2. Principais mediadores inflamatórios na COVID-19 e implicações clínicas	44
Tabela 8.1. Característica da Nanopartícula.....	65
Tabela 8.2. Caracterização físico-química das nanopartículas de óxido de zinco (ZnO-NP).....	74
Tabela 8.3. Propriedades físico-químicas e atividade biológica de nanopartículas metálicas aplicadas à COVID-19	75
Tabela 8.4. Exemplos de vacinas baseadas em nanotecnologia contra COVID-19	85

Lista de Abreviaturas

ACE2	Enzima conversora da angiotensina 2, do inglês <i>Angiotensin-Converting Enzyme 2</i>
APCs	Células apresentadoras de antígeno, do inglês <i>Antigen Presenting Cells</i>
CO-RADS	Sistema de classificação e reporte da COVID-19, do inglês <i>COVID-19 Reporting and Data System</i>
ERGIC	<i>Intermédio retículo-Golgi</i>
FDA	Agência Americana do Medicamento e dos Alimentos, do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
IL-6	Interleucina-6, do inglês <i>Interleukin-6</i>
LNPs	Nanopartículas lipídicas, do inglês <i>Lipid Nanoparticles</i>
MERS	Síndrome respiratória do Médio Oriente, do inglês <i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
MERS-CoV	Coronavírus associado à Síndrome respiratória do Médio Oriente, do inglês <i>Middle East Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus</i>
MHC	Complexo maior de histocompatibilidade, do inglês <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NLCs	Transportadores lipídicos nanoestruturados, do inglês <i>Nanostructured Lipid Carriers</i>
PLGA	Ácido poliláctico-co-glicólico, do inglês <i>Poly (lactic-co-glycolic acid)</i>
qRT-PCR	RT-PCR quantitativa, do inglês <i>Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
RM	Ressonância magnética, do inglês <i>Magnetic Resonance Imaging</i>

RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>Ribonucleic Acid</i>
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa, do inglês <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
Rx	Radiografia torácica, do inglês <i>Chest X-ray</i>
SARS	Síndrome respiratória aguda grave, do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
SARS-CoV	Coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave, do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus</i>
SARS-CoV-2	Coronavírus associado à síndrome respiratória aguda grave 2, do inglês <i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus 2</i>
SDRA	Síndrome de desconforto respiratório agudo, do inglês <i>Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)</i>
TC	Tomografia Computadorizada, do inglês <i>Computed Tomography</i>
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão, do inglês <i>Transmission Electron Microscopy</i>
TLRs	Recetores tipo Toll, do inglês <i>Toll-like Receptors</i>
TMPRSS2	Protease da serina transmembranar do tipo 2, do inglês <i>Transmembrane Protease Serine 2</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
TRA	Testes rápidos de antígeno, do inglês <i>Rapid Antigen Tests</i>

1. Introdução

A pandemia de COVID-19, causada pelo *Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), representou um dos maiores desafios de saúde pública do século XXI. Depois da sua descoberta em dezembro de 2019, o número de infecções e mortes aumentou na casa dos milhões. Houve por isso uma rápida mobilização científica e tecnológica para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e tratamento.^{1,2}

O SARS-CoV-2, é um vírus de RNA de cadeia simples da família *Coronaviridae*, e é caracterizado pela alta capacidade de transmissão e de adaptação genética.³ A infecção causada pelo vírus pode variar desde sintomas mínimos ou mesmo a sua ausência, até condições graves de pneumonia e falência respiratória, afetando grupos vulneráveis, como idosos e pessoas com co-morbilidades.⁴ A compreensão detalhada de como o vírus age no organismo tem sido fundamental para o desenvolvimento de tratamentos e medidas de prevenção.⁵

Durante o processo de evolução e implementação da doença a nível mundial, a investigação de opções terapêuticas evoluiu rapidamente. Exploraram-se várias opções, como antivirais, anticorpos monoclonais, corticosteróides e imunomoduladores.⁶ Embora alguns fármacos tenham mostrado eficácia na redução da gravidade da doença, muitos tratamentos iniciais não conseguiram fornecer os benefícios que os doentes esperavam alcançar.⁷ Este cenário impulsionou o desenvolvimento de abordagens inovadoras, incluindo o uso de nanotecnologia para a veiculação de fármacos e modulação da resposta imunológica.⁸ Nesse processo, a vacinação destacou-se como uma ferramenta crucial para controlar a pandemia. O desenvolvimento de vacinas baseadas em nanotecnologia, como as de RNA mensageiro da Pfizer-BioNTech e Moderna, representou um marco histórico na imunização a nível global.⁹ Além de oferecer uma resposta imunológica forte, essas tecnologias também permitiram um processo de produção e distribuição mais rápido e eficiente.¹⁰

Assim, a presente dissertação tem como objetivo analisar de forma aprofundada o potencial destas tecnologias inovadoras na prevenção e tratamento da COVID-19, evidenciando o papel determinante da nanotecnologia e das vacinas de RNA mensageiro na evolução das estratégias de saúde pública a nível global.

2. Objetivos

O principal objetivo desta dissertação é analisar de forma aprofundada o papel da nanotecnologia nas estratégias de prevenção e tratamento da COVID-19, enfatizando as que são utilizadas para aumentar a eficácia terapêutica e a resposta imunológica. De forma mais específica, pretende-se explorar as inovações nanotecnológicas aplicadas à veiculação de fármacos e vacinas nesta área, detalhando os mecanismos que permitem aumentar a segurança e a eficácia destas abordagens. Será igualmente avaliado o potencial futuro da nanotecnologia no combate a doenças infecciosas, extraindo lições da experiência adquirida durante a pandemia de COVID-19 e considerando perspectivas para o desenvolvimento de novas terapêuticas avançadas.¹¹

Para que estes objetivos possam ser cumpridos, será ainda apresentada a caracterização do vírus SARS-CoV-2, incluindo a estrutura, mecanismos de replicação e fisiopatologia associada à COVID-19,¹² bem como serão revistas as terapias atualmente disponíveis e em desenvolvimento, incluindo antivirais, anticorpos monoclonais e imunomoduladores, avaliando a sua eficácia e limitações.

3. Metodologia

A metodologia utilizada para a realização desta dissertação baseou-se na análise documental de diversas fontes bibliográficas, privilegiando-se artigos científicos, livros técnicos e *guidelines*. A pesquisa iniciou-se em março de 2025 e terminou em setembro do mesmo ano. Durante este período, foi utilizado o motor de busca PubMed, sendo introduzidas as seguintes palavras-chave: nanotecnologia (*nanotechnology*), COVID-19, vacinas (*vaccines*), veiculação de fármacos (*drug delivery*), terapêuticas antivirais (*antiviral therapies*), imunomoduladores (*immunomodulators*), anticorpos monoclonais (*monoclonal antibodies*) e terapêuticas inovadoras (*innovative therapies*).

4. Características estruturais do SARS-CoV-2

No que diz respeito às características estruturais, o SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, pertence ao género *Betacoronavirus* e partilha semelhanças estruturais com outros coronavírus que apresentam patogenicidade humana, como por exemplo o SARS-CoV e o Coronavírus associado à Síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV). A sua organização estrutural é determinante para a patogenicidade e transmissibilidade que apresenta, incluindo proteínas estruturais e não estruturais que desempenham funções essenciais no ciclo replicativo e na interação com o hospedeiro.¹³

Deste modo, podemos assumir que a compreensão da sua composição molecular se torna crucial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e vacinais.¹⁴

4.1. Classificação e características estruturais

O SARS-CoV-2, membro da família Coronaviridae e do género *Betacoronavirus*, é um vírus RNA de cadeia simples com sentido positivo.¹³ Os coronavírus da sua espécie são conhecidos por infetar mamíferos, incluindo os humanos, e causar doenças respiratórias que podem variar de leves a graves (**Figura 4.1**).¹⁵

Dentro do género *Betacoronavirus*, o SARS-CoV-2 está relacionado geneticamente com o SARS-CoV, que causa a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), e com o MERS-CoV, que está associado à Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS).¹⁶

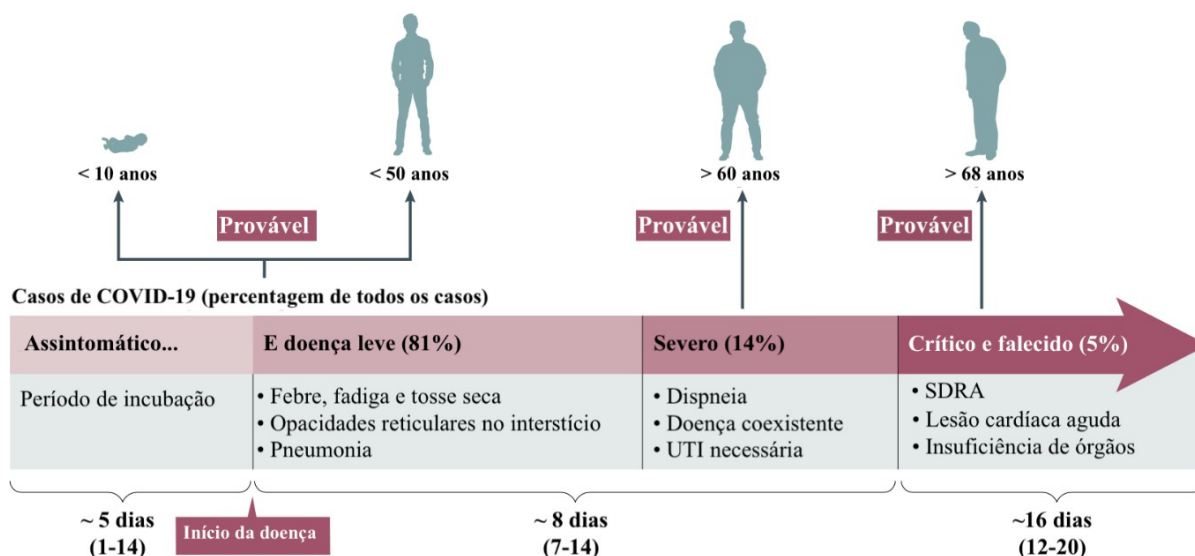


Figura 4.1. Características clínicas do COVID-19. Adaptado de:¹⁶

Evolução clínica típica da COVID-19 de acordo com a idade, gravidade e tempo desde o início dos sintomas. A maioria dos casos apresenta-se de forma assintomática ou leve (81%), com sintomas como febre, fadiga e tosse seca. Uma proporção menor progride para doença severa (14%), com dispneia e necessidade de cuidados hospitalares intensivos, enquanto cerca de 5% desenvolvem formas críticas, como síndrome de dificuldade respiratória aguda (SDRA), lesão cardíaca aguda ou falência multiorgânica. A gravidade tende a aumentar com a idade e presença de co-morbilidades. A evolução temporal típica estende-se por fases sucessivas (~5, ~8 e ~16 dias). Os sintomas típicos da doença do coronavírus 2019 (COVID-19) são febre, tosse seca e fadiga e, em casos mais graves, dispneia SDRA, Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo; UTI, Unidade de Terapia Intensiva.

Em relação à estrutura do SARS-CoV-2, esta inclui um nucleocapsídeo helicoidal envolvido por um envelope lipídico adquirido a partir da membrana da célula hospedeira infetada. Nesse envelope estão inseridas glicoproteínas do vírus que desempenham papel central tanto na invasão das células humanas quanto na indução da resposta imunitária.¹⁷ O diâmetro médio varia entre 60 e 140 nanómetros, e a superfície viral é caracterizada pela presença de espículas, que conferem o aspeto de “coroa”, detalhes apenas visíveis ao microscópio eletrónico (**Figura 4.2**).¹⁸

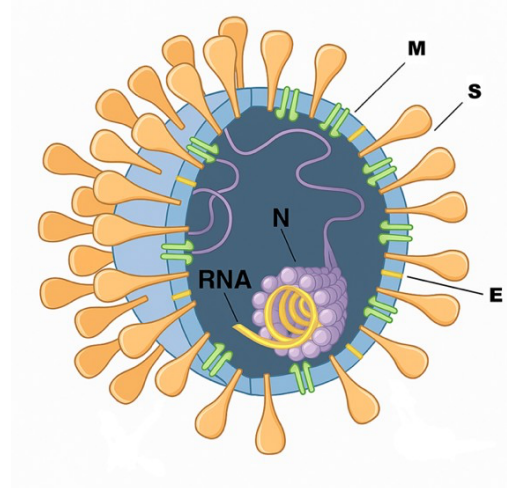
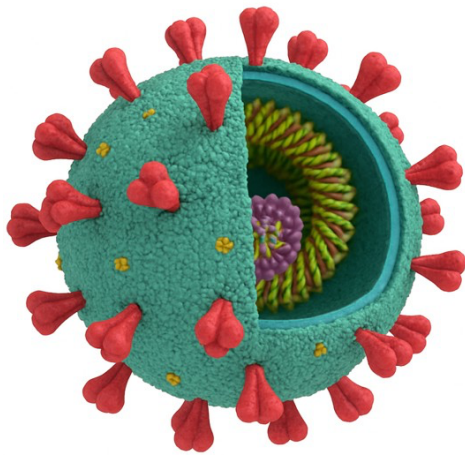


Figura 4.2. Estrutura do SARS-Cov-2. À esquerda, representação tridimensional do vírus SARS-CoV-2, evidenciando a sua morfologia esférica e presença de espículas (proteína *Spike* em encarnado) que se projetam da membrana viral. À direita, esquema representativo com legenda das principais estruturas, como: proteína S (Spike), M (Membrana), E (Envelope), N (Nucleocapsídeo) e o RNA genômico. **Adaptado de:**¹⁹

Tal como representado, o vírus possui um genoma que traduz quatro proteínas-chave: 1) a proteína S, que é uma glicoproteína que facilita a entrada do vírus nas células humanas ao ligar-se ao recetor da enzima conversora de angiotensina²⁰; 2) proteína do Envelope (E) é uma pequena proteína que ajuda a formar e libertar o vírus ajudando também o vírus a causar doença²¹; 3) a proteína de Membrana (M) é a mais abundante no envelope viral e é essencial para a estrutura do vírus, para a integridade estrutural e interação com outras proteínas do vírus²²; 4) a proteína do Nucleocapsídeo (N), que se liga ao RNA viral, desempenhando um papel crucial na replicação e transcrição do genoma, o que significa que ajuda o vírus a multiplicar-se e a criar mais cópias do seu próprio genoma.²³

As características estruturais do SARS-CoV-2 são assim importantes na determinação da sua elevada transmissibilidade e capacidade de adaptação, sendo assim, alvo de estudos para o desenvolvimento de terapias antivirais e vacinas.²⁴

4.2. Genoma e diversidade genética

O genoma do SARS-CoV-2 é constituído por uma molécula de RNA de cadeia simples e sentido positivo com cerca de 30 quilobases, o que faz dele um dos maiores genomas entre os vírus de RNA. Na extremidade 5' encontra-se a região ORF1a/ORF1b, que ocupa aproximadamente 71% do genoma e codifica duas poliproteínas, pp1a e pp1ab. Estas poliproteínas são posteriormente clivadas pelas proteases virais em dezasseis proteínas não estruturais (nsp1 a nsp16), responsáveis pela replicação e transcrição do RNA viral.²⁵

Seguem-se os genes estruturais, que codificam as principais proteínas do virião: a glicoproteína S, a proteína E, a proteína de M e a proteína N. Entre os genes estruturais encontram-se várias ORFs que codificam proteínas acessórias, como ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9a e ORF9b, as quais modulam a resposta imunitária do hospedeiro e contribuem para a patogenicidade viral.^{26,27} Esta organização genómica demonstra a forma eficiente como o vírus maximiza a produção de proteínas essenciais a partir de um genoma relativamente compacto, garantindo a sua replicação e disseminação (**Figura 4.3**).¹⁴

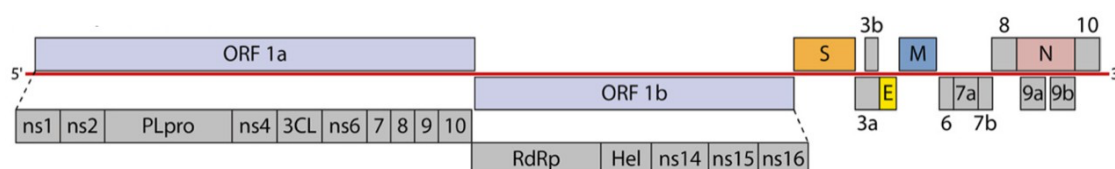


Figura 4.3. Organização genómica do SARS-CoV-2. Adaptado de:²⁸

A diversidade genética do vírus deve-se a mutações pontuais, deleções e eventos de recombinação, processos que são comuns em vírus de RNA, devido à falta duma atividade de correção de erros robusta na RNA polimerase viral.²⁹ A taxa de mutação, acaba por ser um fator importante na evolução do vírus, influenciando características como a transmissibilidade, virulência e capacidade de resistir à resposta imunológica. As mutações mais significativas ocorrem na proteína Spike, impactando a afinidade de ligação à enzima conversora da Angiotensina 2 (ACE2) e a eficácia das respostas imunitárias naturais ou induzidas por vacinas.^{30,31}

As variantes genéticas podem ser classificadas como Variantes de Interesse (VOI) e Variantes de Preocupação (VOC), com base no seu impacto epidemiológico e clínico. As variantes Alfa, Beta, Gama, Delta e Ómicron apresentam mutações específicas que aumentam a transmissibilidade e, em alguns casos, conferem resistência parcial à neutralização por anticorpos monoclonais e soros convalescentes (**Tabela 4.1**).^{32,33}

Tabela 4.1. Principais Variantes do SARS-CoV-2, Características Genéticas e Impacto na Transmissibilidade.

Variante	Principais Mutações	Impacto na Transmissibilidade	Impacto na Resposta Imunitária	Referências
Alfa (B.1.1.7)	N501Y, P681H	↑ Aumento da transmissibilidade (~50%)	Redução parcial na neutralização	25,30
Beta (B.1.351) ^{25,30}	K417N, E484K, N501Y	↑ Aumento da transmissibilidade	Evasão imunitária significativa	25,30
Gama (P.1)	K417T, E484K, N501Y	↑ Aumento da transmissibilidade	Redução da eficácia de anticorpos monoclonais	30,31
Delta (B.1.617.2)	L452R, T478K, P681R	↑↑ Maior transmissibilidade (~60%)	Redução na eficácia vacinal inicial	32,33
Ómicron (BA.1, BA.2, BA.4, BA.5, XBB, etc.)	>30 mutações na Spike, incluindo E484A, N501Y, D614G	↑↑↑ Alta transmissibilidade	Redução significativa da neutralização vacinal e natural	32,33

Estudos genómicos continuam a fazer a monitorização das novas mutações emergentes de forma a controlar o seu impacto na eficácia das estratégias de controlo da COVID-19.

4.3. Ciclo replicativo e mecanismos de transmissão

O ciclo replicativo do SARS-CoV-2 inicia-se quando a proteína S do vírus se liga ao recetor da ACE2 na membrana celular de vários tecidos, incluindo pulmões, intestino, coração e rins. A proteína S é composta por duas subunidades, sendo elas: S1, que é responsável pelo reconhecimento e ligação ao recetor, e S2, que medeia a fusão da membrana viral com a célula hospedeira (**Figura 4.4**).³⁴

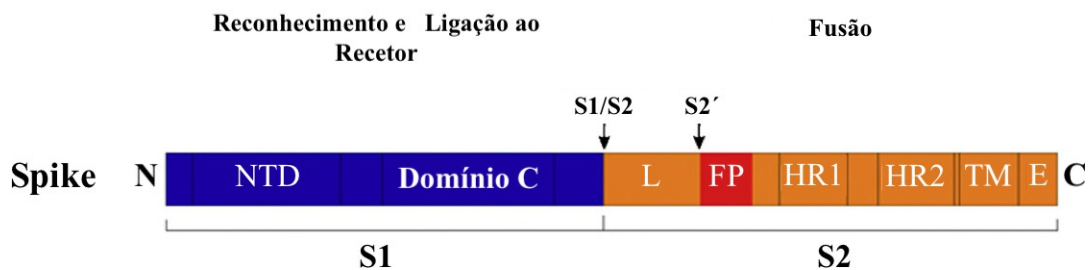


Figura 4.4. Diagrama da proteína S do Coronavírus com os dois locais de clivagem bem definidos, S1/S2 e S2'. Representam-se os principais domínios estruturais da proteína spike: NTD (domínio N-terminal de S1), domínio C (domínio C-terminal de S1), L (região de ligação entre os locais S1/S2 e S2'), FP (peptídeo de fusão putativa), HR1 (repetição de heptade 1), HR2 (repetição de heptade 2), TM (domínio transmembrana) e E (endodomínio). **Adaptado de:**³⁴

O ciclo replicativo inicia-se com a ligação da proteína S do SARS-CoV-2 ao recetor ACE2 presente na membrana da célula hospedeira. Este processo é facilitado por proteínas auxiliares, como a protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2) e a CD147, que promovem a fusão da membrana viral com a membrana celular ou, alternativamente, a entrada por endocitose mediada por recetor.

Uma vez no citoplasma, o RNA genómico de cadeia simples e polaridade positiva (+ssRNA) é libertado e imediatamente utilizado pelos ribossomas do hospedeiro para a tradução primária. Nesta fase, são sintetizadas as poliproteínas pp1a e pp1ab, que são clivadas por proteases virais em múltiplas proteínas não estruturais (nsps). Estas organizam-se para formar o complexo de replicação e transcrição (RTC), responsável pela síntese de novo RNA viral.^{27,34,35}

O RTC promove tanto a replicação do genoma completo como a transcrição de RNAs subgenômicos (sg mRNAs), que seguem um padrão em “ninho”, típico dos coronavírus. Estes mRNAs servem de molde para a tradução das proteínas estruturais (S, M, E e N). As proteínas estruturais são inseridas nas membranas do retículo endoplasmático (RE) e posteriormente encaminhadas para o compartimento intermédio retículo-Golgi (ERGIC). Aí, associam-se ao RNA genômico, já encapsidado pela proteína N, promovendo a montagem das novas partículas virais.^{14,36}

Por fim, os viriões recém-formados são transportados em vesículas através da via secretora celular, culminando na sua libertação por exocitose, o que permite a disseminação da infecção a novas células (**Figura 4.5**).³⁷⁻³⁹

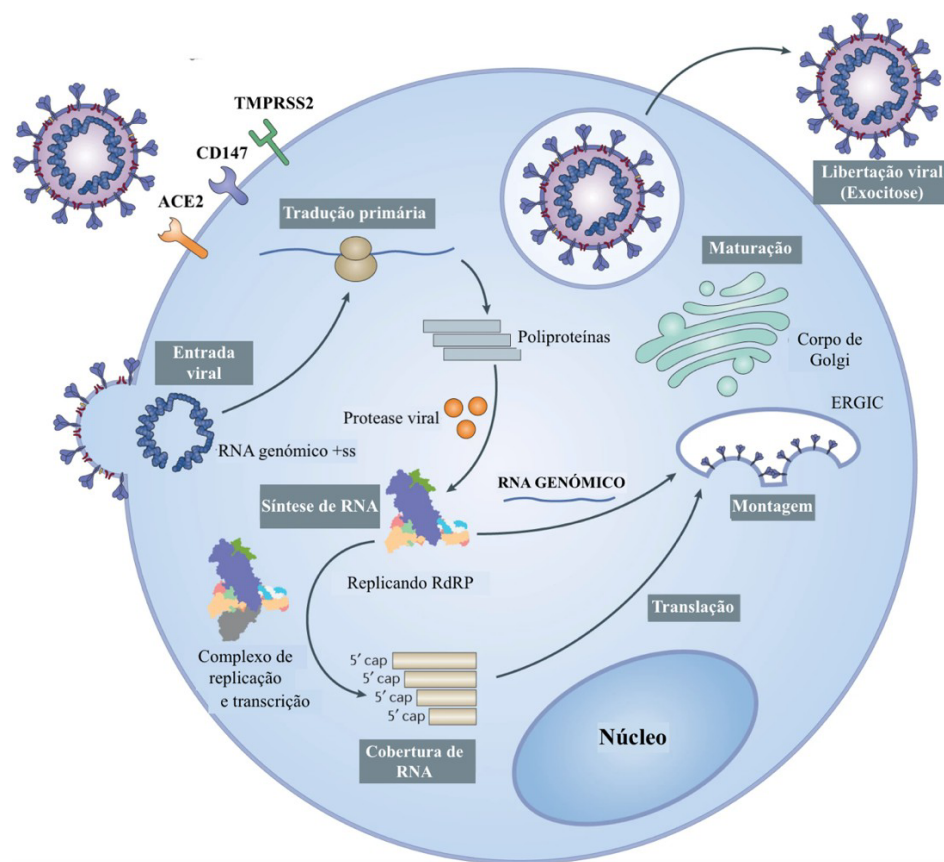


Figura 4.5. Ciclo replicativo do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. Adaptado de:⁴⁰

O vírus é transmitido principalmente pela via respiratória, quando as pessoas inalam gotículas e aerossóis expelidos por indivíduos infetados.⁴¹ As gotículas maiores (>5 μm) caem rapidamente em superfícies próximas, enquanto as partículas menores (<5 μm) permanecem suspensas no ar e podem ser inaladas a distâncias superiores a dois metros, especialmente em ambientes fechados e pouco ventilados.^{42,43} A transmissão por contato ocorre quando alguém toca em superfícies contaminadas e leva as mãos às mucosas da boca, nariz ou olhos. Os estudos indicam que o vírus pode permanecer viável em superfícies como plástico e aço inoxidável por até 72 horas, em papelão por 24 horas e em cobre por 4 horas (**Tabela 4.2**).^{44,45}

Tabela 4.2. Tempo de sobrevivência do SARS-CoV-2 em diferentes superfícies e sua implicação na transmissão.⁴⁵

Superfície	Tempo de Sobrevivência do Vírus
Plástico	Até 72 horas
Aço inoxidável	Até 72 horas
Cartão	Até 24 horas
Cobre	Até 4 horas

Além da transmissão respiratória e por contato, existe a possibilidade de transmissão fecal-oral, baseada na detecção de RNA viral em amostras fecais, embora não haja evidências concretas de infecciosidade por esta via. Outra forma de transmissão que também está sob investigação é a transmissão vertical, ou seja, da mãe para o feto durante a gravidez. Mas até agora, a evidência sobre isso é também limitada.^{46,47}

Podemos assumir que a compreensão do ciclo replicativo e dos mecanismos de transmissão do SARS-CoV-2 foi fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controlo da pandemia, como o uso de máscaras, o distanciamento físico e a ventilação de espaços fechados. Além disso, esse conhecimento permitiu a identificação de alvos terapêuticos para antivirais e a criação de vacinas eficazes.^{48,49}

5. Fisiopatologia e diagnóstico da COVID-19

A pandemia de COVID-19 trouxe consigo uma necessidade urgente de compreender, com profundidade, os mecanismos biológicos e clínicos subjacentes. A infecção pelo novo coronavírus mostrou desde o início uma ampla gama de manifestações clínicas, desde casos assintomáticos até formas graves e potencialmente fatais, marcadas por insuficiência respiratória, fenómenos tromboembólicos e falência multiorgânica.⁵⁰ Essa variedade de manifestações clínicas reflete uma fisiopatologia complexa, que envolve não apenas a multiplicação do vírus e a lesão direta dos tecidos, mas também uma resposta imunitária descontrolada e uma inflamação intensa. A intensidade dessa inflamação parece estar diretamente relacionada com o prognóstico dos adoentes.^{5,51}

O tropismo do vírus para células que expressam o recetor da enzima ACE2, que se encontra altamente presente no epitélio respiratório, nos enterócitos intestinais, no endotélio vascular e noutros tecidos, acaba por permitir explicar o espectro alargado de sintomas e complicações observadas.⁵² Além disso, o SARS-CoV-2 tem demonstrado capacidade de evasão imunológica e de indução de tempestades de citocinas, que, em determinados indivíduos, podem precipitar quadros inflamatórios sistémicos com impacto clínico dramático.^{5,53} Estes fenómenos patológicos são particularmente evidentes em grupos populacionais com fatores de risco conhecidos, como idade avançada, presença de co-morbilidades cardiovasculares ou metabólicas, e determinadas características genéticas ou imunológicas que influenciam a resposta ao vírus.^{50,54}

A par desta complexidade fisiopatológica, a identificação e caracterização da doença em contexto clínico implicam o recurso a diversas ferramentas de diagnóstico, laboratoriais e imagiológicas, cuja eficácia e aplicabilidade foram amplamente debatidas e melhoradas ao longo da pandemia.^{50,55} Isso inclui então: testes moleculares para detetar o RNA do vírus, análises sanguíneas para identificação de proteínas do vírus e exames de imagem como a tomografia computadorizada (TC) para visualizar os danos causados pelo vírus nos pulmões e noutros órgãos. Com o passar do tempo, esses métodos de diagnóstico foram melhorados e aprimorados para refletir melhor o conhecimento atual sobre a biologia do vírus e a sua expressão clínica. Além disso, a integração desses métodos com a avaliação clínica do paciente permitiu que os médicos tomassem decisões terapêuticas mais precisas e definissem estratégias eficazes para conter a transmissão do vírus.

Assim, esta abordagem mais precisa à doença ajudou a melhorar a saúde dos doentes e a prevenir a disseminação da doença em comunidades mais amplas.^{51,55}

Nesta linha de pensamento, a COVID-19 constitui um verdadeiro modelo paradigmático de doença emergente com implicações transversais à medicina, exigindo uma compreensão holística dos seus mecanismos biológicos, das suas manifestações clínicas e das ferramentas de diagnóstico que permitem fazer a sua deteção e caracterização.

A pesquisa científica tem desempenhado um papel fundamental na procura de respostas para as múltiplas dimensões da COVID-19. Essas descobertas não apenas têm ajudado a controlar a propagação da doença, mas também têm aberto portas para novas abordagens terapêuticas e preventivas mais eficazes. Isso demonstra a importância da pesquisa científica na saúde pública e na procura de soluções para as principais ameaças à saúde humana.^{5,50,51}

5.1. Manifestações clínicas e fatores de risco

A doença apresenta um amplo espectro clínico, que pode variar desde infeções assintomáticas ou ligeiras até formas graves com risco significativo de mortalidade. A maioria dos casos sintomáticos podem incluir sintomas respiratórios como febre, tosse seca, dispneia, mialgias, fadiga e cefaleias, podendo também ocorrer sintomas gastrointestinais como náuseas, vômitos e diarreia, sobretudo em crianças e idosos (**Figura 5.1**).^{4,56} Um sinal distintivo da doença é a perda súbita do olfato (anosmia) e do paladar (ageusia), que está associada à neuroinvasão do vírus.

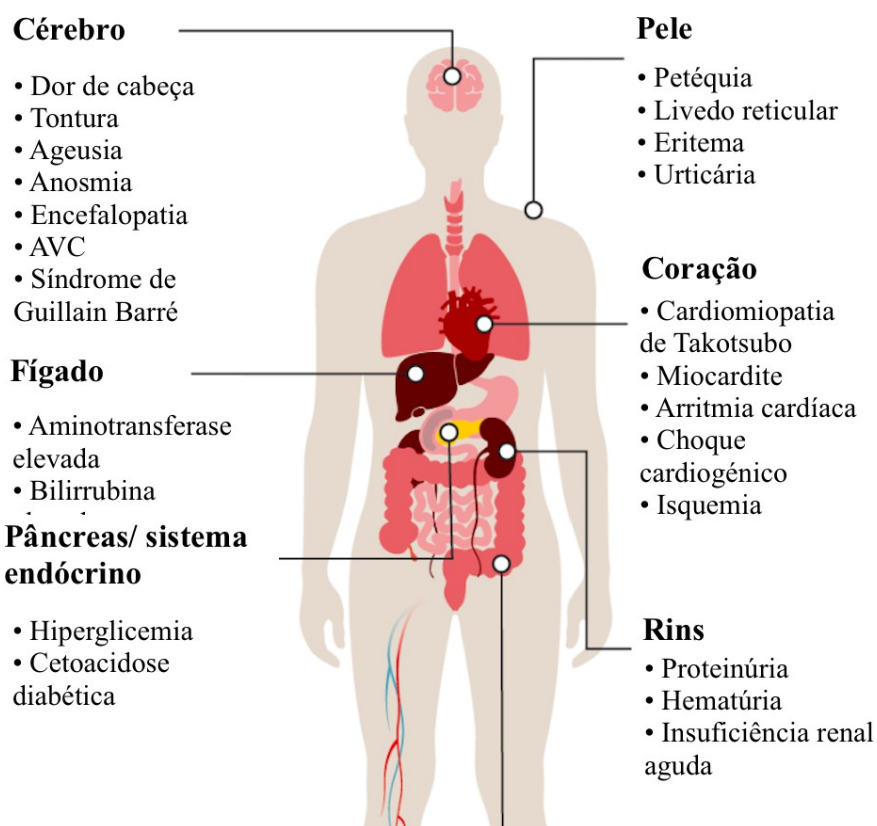


Figura 5.1. Manifestações da COVID-19 noutros órgãos e sistemas.

Essa perda do olfato e do paladar pode ser um dos primeiros sintomas da doença e pode ser uma indicação de que o vírus está a invadir o sistema nervoso central. É importante lembrar que a COVID-19 é uma doença que pode ser grave e que os sintomas podem variar de pessoa para pessoa (**Tabela 5.1.**).⁵⁷

Tabela 5.1. Sintomas clínicos mais frequentes da COVID-19 por faixa etária e severidade^{4, 56-59}

Sintomas	Crianças (<18 anos)	Adultos (18-64 anos)	Idosos (≥65 anos)	Casos ligeiros	Casos graves/críticos
Febre	50-60%	80-90%	60-70%	60-70%	90-100%
Tosse seca	40-50%	60-80%	50-70%	50-60%	80-90%
Fadiga/mialgias	20-30%	40-60%	30-40%	30-40%	60-70%
Dispneia	Raro	20-30%	30-50%	<10%	>60%
Anosmia e ageusia	>10%	30-50%	<10%	40-50%	10-20%
Cefaleia	10-20%	30-40%	10-20%	30-40%	20-30%
Sintomas GI (náuseas, diarreia)	10-20%	10-20%	10-15%	10-15%	20-25%
Confusão	Raro	Raro	20-30%	Raro	30-40%

Em casos mais graves, os doentes podem desenvolver uma SDRA, que é uma condição grave que pode levar a falência dos órgãos e coagulação sanguínea. Isso pode ser caracterizado por uma elevação do nível de dímero-D no sangue e uma redução no número de plaquetas sanguíneas. Essas condições graves podem ser resultado de uma infecção que afeta os pulmões e pode levar a complicações graves. É importante que os doentes recebam cuidados médicos imediatos e atenção devida de forma a evitar essas complicações.⁶⁰

A doença pode afetar pessoas de diferentes idades, mas alguns fatores de risco podem aumentar a probabilidade de agravamento da doença. A idade avançada é um dos principais fatores, pois as pessoas com mais de 65 anos têm uma mortalidade significativamente superior.⁵⁴ Além disso, as doenças crônicas também podem aumentar o risco da gravidade e internamentos em cuidados intensivos. Isso inclui condições como

hipertensão, diabetes mellitus, doença cardiovascular, obesidade, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), neoplasias e insuficiência renal crónica.⁶¹

A imunossupressão também é um fator de risco importante. Isso pode ocorrer devido a uma patologia de base ou a terapêutica imunossupressora. Quando as pessoas têm um sistema imunitário enfraquecido, elas têm mais probabilidades de desenvolver uma doença grave e precisar de cuidados intensivos.

É importante lembrar que esses fatores de risco não são inevitáveis e que as pessoas podem tomar medidas para reduzir o risco de desenvolver uma doença grave. Isso inclui manter uma saúde geral boa, evitar doenças crónicas e seguir as recomendações de prevenção.⁶²

Além disso, determinantes sociodemográficos, como o sexo masculino, origem étnica não caucasiana e condições socioeconómicas desfavoráveis, têm demonstrado impacto na incidência e gravidade da infeção, sugerindo uma interação entre fatores biológicos e sociais.^{63,64}

5.2. Diagnóstico laboratorial e imagiológico

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico duma infeção é um passo crucial para controlar a pandemia e tratar os doentes de forma eficaz, podendo confirmar a infeção, identificar os casos mais graves, determinar a melhor abordagem terapêutica e evitar que a doença se propague. O processo de diagnóstico envolve vários métodos, incluindo testes laboratoriais diretos e indiretos. Além disso, técnicas de imagem torácica são fundamentais, especialmente em casos moderados a graves ou quando a evolução da doença é incerta.

O teste de reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) é considerado o método mais confiável para detetar o vírus SARS-CoV-2 diretamente no RNA viral, sobretudo em amostras do trato respiratório superior como zaragatoa nasofaríngea ou orofaríngea. Em fases avançadas da doença ou em doentes com infeção pulmonar, a colheita do trato inferior (como por exemplo escarro) pode oferecer maior

sensibilidade.^{65,66} O teste pode ser preciso ou não, podendo depender de vários fatores. Por exemplo, se a pessoa tem uma carga viral baixa, ou se está numa fase muito avançada na doença, o teste pode não dar resultado. Além disso, a qualidade da amostra recolhida também é importante.

Estudos evidenciam que o teste pode ser preciso em cerca de 60% a 95% dos casos, especialmente nos primeiros dias da doença. No entanto, se o teste for feito muito cedo ou muito tarde, a precisão pode ser mais baixa. Nalguns casos, pode haver falsos negativos, ou seja, o teste pode dizer que a pessoa não está infetada quando, na verdade está, sendo que valores mais baixos ocorrem nos primeiros dois dias de sintomas ou após o décimo dia.^{66,67} Falsos negativos devem ser considerados quando há forte suspeita clínica, podendo justificar a repetição do teste.⁶⁸

Em relação à testagem por RT-PCR quantitativa (qRT-PCR), além de confirmar a presença do vírus, permite também perceber quantas partículas do vírus estão presentes no seu corpo. Isso é feito através de um valor chamado "*cycle threshold*" (Limite de ciclo - Ct). Um Ct baixo, menor que 25, indica que a carga viral é alta e que a pessoa pode ser mais propensa a transmitir o vírus para outros.⁶⁹ Além disso, uma carga viral alta também está associada a formas mais graves da doença e a um maior risco de mortalidade.⁷⁰

Os testes rápidos de antígeno (TRA) são uma opção rápida e económica para detetar a presença do vírus SARS-CoV-2, que detetam proteínas virais como a nucleoproteína, apresentam vantagens logísticas (rapidez, custo reduzido e aplicação em grande escala). No entanto, estes testes têm algumas limitações. Há uma sensibilidade menor do que a dos testes de PCR, especialmente em pessoas que estão assintomáticas ou têm uma carga viral baixa. Além disso, são mais eficazes em populações com alta prevalência da doença e em estágios iniciais da infeção (os primeiros 7 dias).⁷¹ A Organização Mundial da Saúde recomenda o uso desses testes em situações em que o teste de PCR não esteja disponível imediatamente. Isso pode ajudar a detetar a doença em grande escala e a prevenir a sua disseminação.⁷²

Até recentemente, não existiam as ferramentas necessárias para entender como o vírus sofria alterações e se adaptava. Atualmente, com a sequenciação genómica de nova geração (NGS), é possível monitorizar as variantes do vírus em tempo real.⁷³ Esta tecnologia é essencial para a compreensão do comportamento do vírus e para a definição

de estratégias de combate eficazes. Além disso, os painéis multiplex RT-PCR, que permitem distinguir o SARS-CoV-2 de outros vírus respiratórios, como os da gripe, são especialmente úteis durante a época gripal. Isso ajuda a um diagnóstico diferenciado e ao fornecimento do tratamento certo para as pessoas infetadas.⁷⁴

Os biomarcadores laboratoriais são como um conjunto de sinais que permitem entender melhor a doença. Informam sobre se o indivíduo está a desenvolver uma inflamação generalizada, o que pode ser um sinal de que a doença está a piorar, tendo igualmente valor diagnóstico e prognóstico. Por exemplo, níveis sanguíneos elevados de substâncias como a proteína C-reativa, a interleucina-6 (IL-6), a ferritina, a troponina I, o LDH e o dímero-D, podem indicar que o indivíduo está em risco de desenvolver complicações graves, como a SDRA ou coagulopatia.^{56,75}

Diagnóstico imagiológico

O diagnóstico imagiológico da infeção por SARS-CoV-2 tornou-se uma ferramenta indispensável na avaliação clínica, sobretudo nos casos com manifestações respiratórias moderadas a graves. As técnicas de imagem são caracterizadas por complementar os métodos laboratoriais, sendo fundamentais para a avaliação da extensão e da gravidade da doença pulmonar, para o seguimento evolutivo e, em alguns casos, para a deteção de complicações, como a embolia pulmonar ou a fibrose pós-infeciosa. Embora a confirmação diagnóstica do vírus se baseie em testes laboratoriais, os exames de imagem têm-se cada vez mais tornado extremamente importantes na prática clínica. Isso acontece especialmente quando os testes moleculares não são conclusivos, a carga viral é baixa ou os sintomas são atípicos. Nesses casos, os resultados de imagem são fundamentais para orientar os médicos sobre como tratar os doentes e priorizar os casos mais críticos.⁷⁷

O raio-X foi amplamente utilizado nos serviços de urgência pela sua rapidez, acessibilidade e baixo custo, embora apresente sensibilidade limitada, especialmente nas fases iniciais da doença. Embora a presença de infiltrados pulmonares, especialmente na região inferior e nas partes periféricas, seja um sinal comum associado à COVID-19, esse facto não é exclusivo da doença e pode ocorrer noutras condições. Isso limita o valor do exame de

radiografia como ferramenta de diagnóstico isolado.⁷⁶ A TC dos pulmões é agora o principal método imagiológico na avaliação do envolvimento pulmonar. Isto porque, a alta resolução dessa técnica permite detetar padrões radiológicos muito sensíveis, mesmo nos estágios iniciais da infecção. Os padrões radiológicos identificados nas TC de alta resolução revelaram-se altamente sensíveis, mesmo nos estágios precoces da infecção. Vários estudos recentes demonstraram que, entre os dias 5 a 13 de evolução sintomática, a TC atinge uma sensibilidade superior a 90%, permitindo não apenas confirmar a suspeita clínica, mas também monitorizar a progressão das lesões e a resposta terapêutica.⁷⁷

Nesse sentido, a identificação de padrões imagiológicos típicos levou ao desenvolvimento de sistemas de categorização como o CO-RADS (COVID-19 Reporting and Data System), que ajuda a classificar os resultados de TC de acordo com a probabilidade de infecção. Esta ferramenta foi amplamente validada e está a ser utilizada para uniformizar a interpretação dos exames e facilitar a comunicação entre os profissionais de saúde.⁷⁸ Além disso, a TC com contraste é indicada em casos de agravamento respiratório súbito ou sinais de hipoxemia inexplicada, pois permite diagnosticar complicações como o tromboembolismo pulmonar, que é mais comum em pessoas com disfunção endotelial e estado pró-trombótico associados à infecção.⁷⁹

A ecografia pulmonar surgiu como uma ferramenta valiosa no contexto hospitalar, especialmente em unidades de cuidados intensivos. Por ser portátil, de baixo custo e isenta de radiação, a ecografia permite uma avaliação junto ao doente, com correlação satisfatória com os achados da TC. Estudos publicados até 2023 confirmaram a sua utilidade na monitorização seriada da resposta ao tratamento, sendo particularmente vantajosa em populações vulneráveis e em situações de restrição logística de acesso à TC.⁸⁰

No caso de doentes que têm sintomas prolongados ou sequelas pulmonares suspeitas, outras técnicas como a ressonância magnética (RM) e a tomografia por emissão de positrões (PET-TC) com fluorodesoxiglicose (FDG) têm sido exploradas. A RM é uma opção útil para avaliar o envolvimento pulmonar em doentes que não podem ser submetidos a radiação, como crianças ou grávidas, mas tem limitações em termos de resolução espacial. Por sua vez, a PET-TC fornece informações sobre a atividade

inflamatória metabólica e tem sido utilizada em estudos que demonstram uma captação aumentada de FDG nas áreas de lesão pulmonar ativa e até mesmo em tecidos extrapulmonares como o miocárdio, sugerindo uma inflamação sistêmica persistente.^{81,82}

A integração dos dados imagiológicos com os parâmetros clínicos e laboratoriais ajuda a aumentar a precisão do diagnóstico e a oferecer uma abordagem mais completa e personalizada ao doente. As recomendações clínicas internacionais sugerem que uma TC torácica seja realizada sempre que os sintomas respiratórios graves não forem explicados pelos resultados da radiografia ou quando houver suspeita de complicações como embolismo pulmonar ou SDRA.⁸³ Além disso, a monitorização evolutiva por imagem deve ser equilibrada com a exposição à radiação e adaptada ao contexto clínico. De forma complementar, vários estudos de seguimento radiológico demonstraram que a maioria das lesões pulmonares regrediu ao longo de semanas a meses, embora casos de fibrose residual e alterações irreversíveis tenham sido documentados, em particular em doentes que necessitaram de ventilação mecânica ou com inflamação prolongada.^{84,85} Essas ferramentas, juntamente com a experiência clínica e a interpretação radiológica especializada, representam um novo paradigma na integração entre tecnologia e medicina.⁸⁶

5.3. Mecanismos de patogénese

O processo de entrada na célula hospedeira envolve, de forma característica, duas clivagens da glicoproteína S: uma na região de junção entre as subunidades S1 e S2 e outra no sítio S2', localizado na subunidade S2. Durante a maturação viral, ainda no interior da célula infetada, a sequência polibásica presente na fronteira S1–S2 é clivada, preparando a proteína para a infeção subsequente. A segunda clivagem, no sítio S2', ocorre apenas após a ligação da proteína S ao ACE2, presente em elevada densidade nas células epiteliais do trato respiratório, mas também expresso em órgãos como o coração, rins, intestino e sistema nervoso central. Esta ligação induz alterações conformacionais na subunidade S1, expondo o sítio S2' da subunidade S2.³⁵

A partir deste ponto, o vírus pode seguir dois percursos distintos de entrada. No primeiro, quando a célula alvo apresenta expressão insuficiente da protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2), ou quando o complexo vírus–ACE2 não encontra esta protease, o SARS-CoV-2 é captado por endocitose mediada por clatrina. Uma vez no interior dos endolisossomas, a clivagem do sítio S2' é realizada por catepsinas, enzimas que necessitam de um ambiente ácido para a sua atividade, culminando na exposição do péptido de fusão (FP) e na subsequente fusão da membrana viral com a membrana endossómica. No segundo percurso, que ocorre na presença de TMPRSS2 na superfície celular, a clivagem do sítio S2' dá-se diretamente à entrada. A dissociação da subunidade S1 promove alterações estruturais profundas na subunidade S2, em especial na região *heptad repeat 1* (HR1), que impulsiona o FP em direção à membrana da célula hospedeira, formando um poro de fusão. Este poro permite a libertação do genoma viral no citoplasma, iniciando as etapas de descapsidação e replicação.³⁵

Independentemente do mecanismo de entrada, o processo finaliza sempre com a fusão das membranas e a libertação do RNA viral, o qual utiliza a maquinaria da célula hospedeira para se replicar e produzir novas partículas virais. Do ponto de vista terapêutico, existem diferentes estratégias de intervenção nestas etapas iniciais da infeção. A interação entre a proteína S e o recetor ACE2 pode ser bloqueada por anticorpos neutralizantes, vacinas ou miméticos de ACE2, o que impede a entrada viral por qualquer dos dois percursos. Por outro lado, inibidores específicos podem interferir em etapas posteriores: o camostato mesilato, como inibidor de serina proteases, limita a via mediada por TMPRSS2, enquanto compostos como a hidroxicloroquina e a cloroquina, ao inibirem a acidificação endossómica, reduzem a atividade das catepsinas e comprometem a via endossómica (**Figura 5.3**).^{25,87}

1 β , fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), e outras citocinas pró-inflamatórias, que causam inflamação sistêmica severa.⁹³ Esta tempestade inflamatória contribui para a lesão pulmonar difusa e pode resultar na SDRA, a principal causa de mortalidade associada à COVID-19.⁶⁰ A **Tabela 5.2** resume os principais mediadores inflamatórios envolvidos na resposta imunológica ao SARS-CoV-2 e as suas implicações fisiopatológicas.

Tabela 5.2. Principais mediadores inflamatórios na COVID-19 e suas implicações clínicas.

Citocina	Origem celular	Efeito principal	Implicação clínica	Referência
IL-6	Macrófagos, células endoteliais	Estimula febre, resposta de fase aguda	Correlação com gravidade e prognóstico	⁹⁴
TNF-α	Macrófagos, linfócitos T	Apoptose, aumento da permeabilidade vascular	Agravamento da inflamação pulmonar	⁹⁰
IL-1β	Macrófagos, células epiteliais	Ativação de neutrófilos, febre	Associada a complicações sistêmicas	⁹⁰
IFN-γ	Linfócitos T e NK	Ativação de macrófagos, antiviral	Papel protetor, mas também pró-inflamatório	⁵³
IL-10	Linfócitos T reguladores	Inibe resposta inflamatória	Efeito imunossupressor tardio	⁵⁶

Recentemente, estudos têm mostrado que a resposta imunitária adaptativa, incluindo a ativação dos linfócitos T CD8⁺ citotóxicos e a produção de anticorpos neutralizantes, é fundamental para curar a infecção. No entanto, uma resposta imunitária descoordenada ou insuficiente pode levar a uma persistência viral e à progressão da doença.⁹⁵ Além disso, também se investigam as alterações metabólicas celulares induzidas pelo vírus, que

afetam a produção de energia e a apoptose, contribuindo para a patogénese e o dano celular.⁹⁶

6. Opções Terapêuticas da Covid-19

Desde o início da pandemia, tornou-se uma prioridade global identificar opções terapêuticas eficazes, impulsionando uma mobilização sem precedentes de recursos científicos, acadêmicos e clínicos. Devido à complexidade da fisiopatologia associada à infecção por SARS-CoV-2, tendo em conta que envolve desde a replicação viral até à disfunção imunológica e inflamação sistêmica, o seu tratamento requer uma abordagem em várias fases e personalizada. As estratégias terapêuticas foram inicialmente baseadas na experiência com vírus respiratórios semelhantes, mas evoluíram rapidamente com os dados emergentes de ensaios clínicos e estudos observacionais conduzidos mundialmente.⁷

Atualmente, as opções de tratamento incluem agentes antivirais que visam inibir a replicação do vírus, terapias imunomoduladoras que controlam a resposta inflamatória desregulada, anticorpos monoclonais com ação neutralizante, anticoagulantes preventivos de eventos trombóticos, além de cuidados de suporte em contexto hospitalar. Referir ainda que a eficácia de muitas dessas intervenções varia conforme o estadió da doença, a presença de co-morbilidades e o estado imunológico do doente.⁷ Portanto, o sucesso terapêutico reside na aplicação atempada e racional dos tratamentos, guiada por biomarcadores clínicos e laboratoriais.

A emergência de novas variantes virais, como as variantes Delta e Omicron, trouxe desafios adicionais para os profissionais de saúde, especialmente em relação à eficácia de alguns fármacos e anticorpos que já haviam anteriormente sido aprovados. Isso levou a ajustes constantes nas diretrizes terapêuticas.^{6,97}

No entanto, o desenvolvimento de novos fármacos para combater a doença continua ativo, com vários fármacos em diferentes fases de investigação clínica. Esses esforços visam reduzir a morbidade e mortalidade associadas à doença.

Desta forma, é possível explorar as principais abordagens terapêuticas, com foco nas evidências mais recentes e no enquadramento clínico da sua utilização, começando com os agentes antivirais, cujo papel tem sido central sobretudo nas fases iniciais da infecção viral. De seguida descrevem-se com detalhe as várias classes de fármacos utilizados.⁹⁷

6.1. Antivirais

Os fármacos antivirais são uma das primeiras opções de tratamento da COVID-19, especialmente nas fases precoces da infecção. O seu objetivo principal é inibir a replicação viral, reduzindo a progressão da doença e o risco de complicações. Desde o início da pandemia, vários fármacos antivirais foram desenvolvidos, reposicionados ou investigados, com resultados variáveis quanto à eficácia, disponibilidade e indicação.

Entre os antivirais de administração oral disponíveis, um dos mais destacados é o nirmatrelvir, que é coadministrado com o ritonavir. O nirmatrelvir funciona como um inibidor potente da protease 3CL, que é essencial para o processamento das poliproteínas virais e, portanto, fundamental para a replicação do SARS-CoV-2. O ritonavir, embora não atue diretamente contra o vírus, é utilizado como inibidor do metabolismo hepático, prolongando a semi-vida do nirmatrelvir e garantindo concentrações plasmáticas eficazes.^{98,99} Estudos clínicos demonstraram que a administração desta combinação nas primeiras 72 horas após o início dos sintomas pode reduzir o risco de hospitalização ou morte em doentes de alto risco em até 89%, tornando-se assim uma das estratégias antivirais mais eficazes atualmente disponíveis.¹⁰⁰

Outro antiviral de administração oral relevante é o molnupiravir, que atua por mutagênese letal, induzindo erros fatais na replicação do RNA viral. Embora tenha demonstrado benefício na redução de hospitalizações em doentes não vacinados, a sua eficácia é inferior comparativamente à administração da associação nirmatrelvir/ritonavir.

Além disso, preocupações quanto à sua segurança genómica, sobretudo em relação à teratogenicidade e potencial mutagenicidade, limitam a sua utilização clínica a casos específicos.^{101,102}

Entre os antivirais de administração intravenosa, o remdesivir é uma das opções mais utilizadas em contexto hospitalar. Trata-se de um análogo de nucleótido que inibe a RNA polimerase viral, o que faz com que a síntese do RNA viral seja interrompida prematuramente. A administração precoce do remdesivir tem demonstrado reduzir a mortalidade e a necessidade de ventilação mecânica em doentes hospitalizados.^{6,103} Ainda assim, a necessidade de administração endovenosa e a possibilidade de efeitos adversos como hepatotoxicidade são limitações relevantes a considerar.¹⁰⁴

Recentemente, surgiram novos antivirais com mecanismos semelhantes, mas com uma maior conveniência para o tratamento. O ensitrelvir, um inibidor da protease semelhante à quimotripsina 3 (3CLpro) de administração oral, demonstrou ser eficaz tanto no tratamento como na prevenção da infecção em pessoas que estavam próximas a doentes, com uma redução do risco de infecção de 67%. Isso significa que o ensitrelvir pode ser usado para controlar surtos de infecção em contextos familiares ou institucionais, embora sejam necessários mais dados sobre a sua segurança a longo prazo.¹⁰⁵

De forma semelhante, o deuremidevir (VV116), derivado do remdesivir, constitui uma alternativa de administração oral que apresenta vantagens a nível farmacocinético. Ensaios clínicos realizados na China mostraram que o deuremidevir pode ajudar a reduzir o tempo de recuperação clínica, embora a evidência internacional ainda seja limitada. Isto implica que a recomendação do deuremidevir permanece restrita a contextos de investigação, sendo ainda necessários mais estudos antes de poder ser aprovado para utilização generalizada.¹⁰⁶

Por fim, o olgotrelvir é uma das mais recentes adições ao arsenal de antivirais. Este novo fármaco de administração oral demonstrou, em ensaios de fase III, que pode reduzir em cerca de 2,4 dias o tempo de recuperação dos sintomas. Isso significa que o olgotrelvir é uma opção promissora que poderá tornar-se relevante nos próximos anos à medida que surgirem mais dados.¹⁰⁷

6.2. Anticorpos monoclonais

Os anticorpos monoclonais (mAbs) surgiram como uma abordagem terapêutica importante. Atuam por neutralização direta do vírus, impedindo a sua entrada nas células humanas. Esta estratégia revelou-se especialmente relevante em doentes com risco elevado de evolução para formas graves da doença, particularmente em fases precoces da infecção.¹⁰⁸

Entre os primeiros anticorpos monoclonais amplamente utilizados, destaca-se a combinação casirivimab/imdevimab (REGN-COV2), que demonstrou eficácia na redução da hospitalização e mortalidade em doentes com infecção ligeira a moderada. A administração subcutânea ou intravenosa desta combinação permitiu uma abordagem versátil, mas a sua eficácia foi comprometida pelo surgimento de variantes como a Ómicron, levando à suspensão da sua utilização em várias regiões.^{108,109}

Por outro lado, o tixagevimab/cilgavimab, associação inicialmente desenvolvida para profilaxia pré-exposição em indivíduos imunocomprometidos, mostrou proteção eficaz durante os primeiros meses após a vacinação. No entanto, a sua capacidade de neutralização também foi superada por variantes mais recentes, levando à recomendação de uso apenas em situações muito específicas.

Mais recentemente, outros anticorpos monoclonais, como o bebtelovimab, demonstraram eficácia contra múltiplas variantes do SARS-CoV-2, incluindo as subvariantes da ~~linhagem~~ Ómicron. Este anticorpo monoclonal representa uma estratégia emergente de neutralização viral, mas de forma genérica, a utilidade prática destas moléculas continua condicionada pela emergência de novas mutações que podem comprometer a neutralização viral, exigindo uma monitorização contínua da sensibilidade viral.¹¹⁰

O panorama descrito evidencia um dos principais desafios associados ao uso de anticorpos monoclonais: a necessidade constante de atualização face à evolução antigénica do vírus.

6.3. Corticoterapia e imunomoduladores

Em fases avançadas da doença, especialmente quando se focam casos que requerem hospitalização e oxigenoterapia ou ventilação mecânica, a resposta inflamatória do organismo torna-se o principal fator de morbidade e mortalidade. Esta resposta é marcada por uma libertação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, uma proteína que desempenha um papel importante na inflamação, IL-1 e TNF- α , o que leva à chamada tempestade de citocinas. Essa tempestade culmina numa lesão pulmonar

aguda, SDRA e falência multiorgânica. Nesse contexto, podemos concluir que o uso de corticosteróides e imunomoduladores visa modular essa resposta inflamatória desregulada.

A dexametasona, um corticosteróide sintético com potente ação anti-inflamatória, demonstrou reduzir significativamente a mortalidade em doentes hospitalizados com necessidade de oxigenoterapia ou ventilação mecânica. Atualmente, continua a ser o agente de primeira linha. O estudo RECOVERY (2020) foi determinante ao mostrar que a administração de 6 mg/dia durante 10 dias reduziu a mortalidade em 33% nos doentes ventilados e em 20% nos que recebiam apenas oxigênio suplementar. Este benefício é atribuído à capacidade da dexametasona de inibir múltiplas vias inflamatórias e suprimir a ativação excessiva de leucócitos.⁷

Todavia, o uso de corticosteróides em fases precoces da infecção pode ser prejudicial, pois compromete a resposta imunitária antiviral e favorece a replicação viral. Portanto, a indicação deve ser criteriosa e limitada à fase inflamatória e em doentes com sinais de progressão para insuficiência respiratória.¹¹¹

No que respeita aos imunomoduladores, o tocilizumab é um medicamento que bloqueia o recetor da IL-6. Embora seja formalmente classificado como um anticorpo monoclonal, a sua ação sobre marcadores inflamatórios permite considerá-lo também um imunomodulador, porque modula diretamente a resposta imunitária, pelo que pode ser incluído nesta categoria quando se discute a modulação da resposta imunitária. Em estudos, o tocilizumab mostrou benefícios em doentes com COVID-19 grave, especialmente quando associado à dexametasona.¹¹² Além disso, o tocilizumab reduziu a mortalidade e a necessidade de ventilação mecânica em doentes com elevação significativa de marcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa (PCR) e a ferritina.¹¹³

O baricitinib é um fármaco que inibe as *janus quinases* (JAK1/JAK2) e que revelou também potencial em doentes com COVID-19 moderada a grave, ao modular a transdução de sinais pró-inflamatórios mediados por citocinas como IL-6, interferão-gama (IFN- γ) e fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). Ensaios clínicos randomizados mostraram que o baricitinib, isoladamente ou em

combinação, com corticosteróides pode reduzir o tempo de recuperação e a mortalidade em doentes com COVID-19. Isso é um resultado importante, pois pode ajudar a melhorar a qualidade de vida e a reduzir a mortalidade.¹¹⁴

6.4. Terapêuticas experimentais e emergentes

Além das terapêuticas descritas acima, já mais suportadas com evidência clínica, existem algumas outras de cariz ainda mais experimental e consideradas emergentes, as quais se considerou igualmente adequado descrever. Uma abordagem experimental envolve o uso de interferão beta (IFN- β) administrado por via inalatória, com o objetivo de potenciar a resposta imunitária antiviral nos estágios iniciais da doença. Ensaio clínico indicam que essa forma de tratamento pode levar a uma recuperação mais rápida em doentes hospitalizados, especialmente quando a resposta imunitária está comprometida.¹¹⁵

Outro tipo de interferão, o interferão beta-1a, foi também testado para administração por via inalatória. Sendo uma citocina com propriedades antivirais, após inalação pode alcançar maiores concentrações locais do próprio interferão beta-1a nos pulmões, estimulando assim a resposta imunitária inata. Um ensaio clínico realizado no Reino Unido demonstrou que doentes hospitalizados que receberam interferão beta-1a inalado apresentaram uma taxa de recuperação duas vezes superior à dos doentes que receberam placebo, além de uma redução significativa na progressão para formas graves da doença.¹¹⁵

O reposicionamento de fármacos tem oferecido uma via estratégica para identificar tratamentos eficazes com base em moléculas já aprovadas para outras indicações. A Fluvoxamina, um inibidor seletivo da recaptção da serotonina, tradicionalmente utilizado em perturbações psiquiátricas, demonstrou propriedades anti-inflamatórias relevantes. Ensaio clínico sugerem que a fluvoxamina pode reduzir a progressão da doença e a necessidade de hospitalização, através da modulação da resposta imunitária inflamatória e da redução da libertação de citocinas pró-inflamatórias.^{116,117} No entanto, os resultados ainda são inconsistentes e exigem confirmação adicional.

A fluvoxamina atua como agonista do recetor sigma-1, uma proteína envolvida na regulação da resposta inflamatória celular. A ativação deste recetor pode atenuar a produção de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 e o TNF- α que estão associadas à tempestade de citocinas observada em casos graves. Estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que a fluvoxamina pode reduzir significativamente os níveis dessas citocinas, contribuindo para uma resposta inflamatória mais controlada.¹¹⁸ Evidências clínicas indicam que essa forma de tratamento pode levar a uma recuperação mais rápida em doentes hospitalizados, especialmente quando a resposta imunitária está comprometida.^{115,119}

Estas abordagens terapêuticas experimentais, embora promissoras, requerem validação robusta em ensaios clínicos multicêntricos e randomizados antes de poderem ser integradas nas recomendações terapêuticas formais. A sua investigação contínua é essencial para responder à evolução do vírus e às lacunas da terapêutica convencional, contribuindo para uma resposta clínica mais adaptada.

7. Prevenção da COVID-19

A prevenção é um dos pilares fundamentais da resposta global à infecção causada por este vírus. A complexidade desta infecção, com manifestações clínicas variáveis e elevada capacidade de transmissão, exige uma abordagem multifacetada baseada na ciência, que envolve tanto intervenções não farmacológicas como medidas farmacológicas, em constante adaptação à evolução epidemiológica e ao surgimento de novas variantes do vírus, destacando a importância de uma resposta articulada e dinâmica para conter a propagação da doença. Nas fases iniciais da pandemia, as estratégias de saúde pública concentraram-se em medidas que não dependiam de fármacos, como o uso de máscaras, manter distância, ventilar os espaços e lavar as mãos frequentemente. Essas ações mostraram resultados significativos a redução da transmissão viral de pessoa para pessoa. Além disso, o fecho temporário de escolas, as restrições ao movimento e o rastreio de contactos, ajudaram a diminuir propagação do vírus.¹²⁰

Com o surgimento da vacinação em massa a partir do final de 2020, a prevenção farmacológica passou a ter um papel preponderante. As vacinas desenvolvidas com tecnologias inovadoras, como as de mRNA da Pfizer-BioNTech e da Moderna, as vacinas com vetores virais da Oxford-AstraZeneca e da Janssen, e as vacinas com proteínas recombinantes da Novavax, demonstraram ser extremamente eficazes na prevenção sintomática e das formas graves da doença, além de reduzirem significativamente as hospitalizações e mortes.^{9,121}

Contudo, a emergência de variantes com maior transmissibilidade e potencial de escape imunitário, como visto anteriormente, obrigou a uma revisão das estratégias de prevenção. A redução da eficácia das vacinas contra as infecções leves nessas variantes levou à introdução de doses de reforço e vacinas adaptadas, com composições atualizadas para melhor proteção contra a infecção.¹²²

Outra área promissora na prevenção da COVID-19 é a imunidade de mucosa, promovida por vacinas intranasais em investigação, que visam bloquear a infecção diretamente ao nível do epitélio respiratório, impedindo a colonização viral e a transmissão.¹²³ A eficácia

de qualquer estratégia preventiva depende de vários domínios, incluindo a tecnologia farmacêutica envolvida, a adesão populacional, o acesso equitativo a vacinas e cuidados de saúde e a qualidade da comunicação em saúde. No entanto, a desinformação, a hesitação vacinal e as desigualdades globais no acesso a vacinas e cuidados básicos de saúde continuam a ser desafios estruturais que impactam negativamente na eficácia dos programas de prevenção.¹²⁴

7.1. Estratégias de saúde pública

As estratégias de saúde pública continuam a ser essenciais para gerir a COVID-19 e prevenir a sua propagação, complementando os avanços médicos e farmacêuticos com medidas coletivas que visam reduzir a transmissão viral, proteger populações vulneráveis e garantir a resiliência dos sistemas de saúde. Isso significa que as ações das autoridades de saúde pública precisaram de ser adaptadas constantemente ao longo do tempo, considerando a evolução da pandemia, o surgimento de novas variantes do vírus e a disponibilidade de recursos para enfrentar a situação.^{125,126} A adaptação contínua das estratégias de saúde pública desde o início da pandemia até ao momento atual foi essencial para mitigar o impacto da doença em populações vulneráveis e garantir a disponibilidade de cuidados de saúde para aqueles que precisavam e deles continuam a precisar. Além disso, a evolução das estratégias de saúde pública também foi influenciada pelo progresso da investigação científica, o que permitiu que as autoridades de saúde pública se ajustassem às novas informações e aplicassem as adaptações necessárias.¹²⁵

A testagem em massa foi uma ferramenta crucial no combate à pandemia. Com a utilização de testes PCR e antigénio, foi possível identificar casos assintomáticos e implementar rapidamente o isolamento. Além disso, o rastreio de contactos e a quarentena profilática foram fundamentais para interromper as cadeias de transmissão, especialmente em ambientes comunitários e institucionais.¹²⁷ Em países que aplicaram estratégias de testagem amplas e regulares, observou-se um melhor controlo epidemiológico e uma menor sobrecarga hospitalar. Isso demonstra a importância da testagem em massa como uma medida preventiva eficaz para controlar a disseminação do vírus.^{128,129}

Outro pilar foi a comunicação em saúde, essencial para garantir a adesão da população. Campanhas públicas eficazes, baseadas em linguagem acessível e informações verificadas, mostraram-se determinantes para combater a desinformação e fomentar comportamentos protetores.¹³⁰

Com o surgimento de novas variantes, especialmente as da linhagem Ómicron, houve necessidade de reforçar estratégias de vigilância genômica para identificar mutações relevantes e adaptar rapidamente as medidas. Esta vigilância foi vital para antecipar surtos, orientar o desenvolvimento de vacinas e avaliar a eficácia das medidas já implementadas, tornando-se um elemento crucial na resposta à pandemia.¹³¹

Além disso, as intervenções direcionadas a grupos de risco, como residentes em lares, profissionais de saúde e pessoas com co-morbilidades, incluíram testagem frequente, restrições de visitas e vacinação prioritária. Estas medidas contribuíram significativamente para a redução da mortalidade e da existência ou propagação de formas graves da doença nesses grupos, reduzindo assim o impacto devastador da pandemia nestes segmentos vulneráveis da população.¹³²

Por fim, a resposta coordenada entre níveis locais, nacionais e internacionais revelou-se essencial. A Organização Mundial de Saúde e o *European Centre for Disease Prevention and Control* desempenharam um papel crucial ao compartilhar dados em tempo real, no estabelecimento de orientações técnicas baseadas em evidências e no apoio a países com menor capacidade de resposta, promovendo uma abordagem mais equitativa e global para lidar com a pandemia.

Ainda assim, estas estratégias de saúde pública não substituem as intervenções farmacológicas, mas são indispensáveis para garantir o seu sucesso, sobretudo quando aplicadas de forma integrada, equitativa e baseada na evidência.

7.2. Vacinação convencional e desenvolvimento de novas vacinas

A vacinação contra o vírus tornou-se a principal estratégia de saúde pública global para reduzir a morbimortalidade associada ao SARS-CoV-2 desde o início da pandemia, mantendo-se ainda atualmente para grupos de risco identificados. As vacinas de RNA

mensageiro (mRNA), administradas por via parenteral, como BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) e mRNA-1273 (Moderna), demonstraram elevada eficácia inicial, superior a 90% na prevenção de doença sintomática, hospitalização e morte durante as primeiras vagas da pandemia.^{9,10} Estas vacinas funcionam através da codificação da proteína spike do vírus, induzindo uma resposta imunitária robusta e dirigida. No entanto, a emergência de novas variantes do vírus, como Delta e especialmente Ómicron e as suas sublinhagens (BA.4, BA.5, XBB), levou a uma diminuição na eficácia vacinal ao longo do tempo, destacando a necessidade contínua de atualizações nos antigénios vacinais e estratégias de reforço.^{122,133,134} É importante reforçar também que a resposta imunitária se revelou heterogénea entre indivíduos, sendo influenciada pela idade, estado imunológico e exposição prévia ao vírus, o que reforça a importância da vacinação adaptada a grupos vulneráveis, como imunodeprimidos e idosos.¹³⁵

A adaptação das vacinas de mRNA às novas variantes tornou-se uma prioridade científica. As vacinas bivalentes, que incluem componentes tanto da estirpe original como da Ómicron, demonstraram melhorar a resposta imunitária cruzada e reduzir a infeção sintomática em contexto de circulação predominante dessas variantes. Esta abordagem permitiu que as vacinas fossem mais eficazes a combater as novas variantes, protegendo melhor os indivíduos e mitigando a propagação do vírus.¹³⁶ Os dados de um estudo publicado no *New England Journal of Medicine* mostraram que os indivíduos vacinados com uma dose de reforço bivalente tinham níveis significativamente mais elevados de anticorpos neutralizantes contra a variante BA.5 em comparação com aqueles vacinados com reforço monovalente. Isso sugere que a vacinação com doses de reforço bivalente pode oferecer uma proteção mais robusta contra as variantes mais recentes do vírus.¹³⁷ Para além disso, a durabilidade da proteção continua a ser um aspeto crucial de monitorização. Estudos sugerem que a proteção contra a infeção diminuiu substancialmente após 3 a 6 meses, embora a proteção contra a doença grave se mantenha por mais tempo. Isso significa que os indivíduos vacinados devem considerar doses de reforço para manter a proteção adequada contra a doença.¹³⁸

A tecnologia de mRNA, previamente investigada em vacinas contra a gripe, vacinas experimentais contra a raiva e em terapias imunológicas para doenças autoimunes e HIV, foi determinante no desenvolvimento das vacinas contra a COVID-19.

Neste contexto, as nanopartículas lipídicas (LNPs) surgiram como sistemas de veiculação altamente eficazes, permitindo a veiculação segura e estável do mRNA nas células. Essas nanopartículas permitem encapsular e proteger o RNA mensageiro, facilitando a sua entrada nas células e posterior tradução da proteína S. A inovação dessas plataformas foi determinante para a rapidez de desenvolvimento das vacinas e para a sua eficácia. Além disso, novas abordagens com nanovacinas baseadas em nanopartículas proteicas, como ferritina ou nanopartículas produzidas com materiais derivados de plantas, têm demonstrado resultados promissores em ensaios pré-clínicos. Elas são capazes de apresentar múltiplos epítomos virais de forma ordenada, o que aumenta a amplitude da resposta imunitária e potencialmente confere proteção contra múltiplas variantes do vírus. Isso significa que essas nanovacinas poderiam oferecer uma proteção mais ampla e duradoura, reduzindo a probabilidade de infecções futuras e variantes mais resistentes ao vírus.¹³⁹

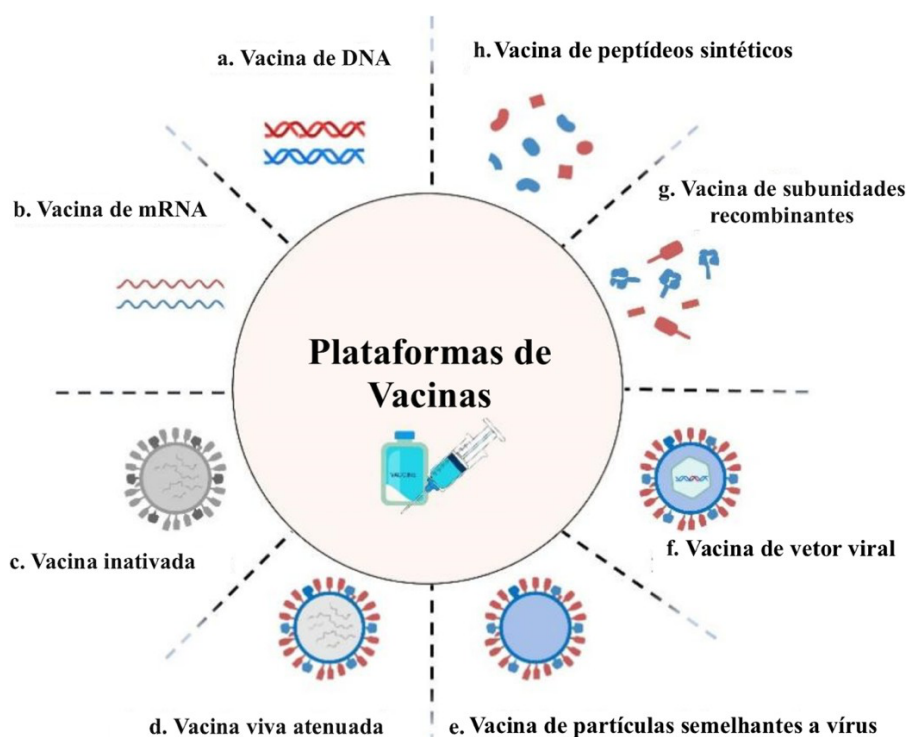


Figura 7.1. Principais plataformas vacinais utilizadas contra o SARS-CoV-2.
Adaptado de:¹⁴⁰

As plataformas de vacinas contra vírus respiratórios abrangem diversas abordagens tecnológicas, como mostrado na **Figura 7.1**. As vacinas de DNA (a) e mRNA

(b) introduzem material genético que leva as células do hospedeiro a produzir antígenos virais. As vacinas inativadas (c) e vivas atenuadas (d) usam o vírus inteiro, na forma morta ou enfraquecida, para desencadear imunidade. As vacinas de partículas semelhantes a vírus (e) imitam a estrutura do vírus sem conter genoma, oferecendo assim uma elevada segurança. As vacinas de vetor viral (f) utilizam vírus modificados, como adenovírus, para transportar genes de patógenos e estimular respostas imunitárias amplas. Já as subunidades recombinantes (g) apresentam apenas proteínas virais específicas, enquanto as vacinas de peptídeo sintético (h) utilizam fragmentos curtos dessas proteínas. Esta classificação evidencia a diversidade de estratégias exploradas para o desenvolvimento de vacinas modernas e demonstra o avanço rápido das tecnologias de imunização impulsionado pela pandemia de COVID-19.¹⁴¹

Os estudos recentes têm mostrado o potencial das vacinas administradas por via mucosa, como as vacinas intranasais, que induzem imunidade local nas vias respiratórias superiores, bloqueando o vírus antes de este se espalhar pelo organismo. A imunidade de mucosa, mediada pela IgA secretora produzida localmente pelo organismo em resposta à vacinação, constitui uma vantagem considerável em relação à imunidade sistêmica gerada pelas vacinas convencionais e pode ser particularmente eficaz na prevenção da transmissão.¹⁴² Além disso, uma vez que o vírus é adquirido essencialmente por via respiratória e os pulmões são o órgão mais afetado, faz sentido tentar reforçar a proteção exatamente neste local. A presença de anticorpos IgA nas mucosas pode neutralizar o vírus logo na entrada, limitando a sua replicação e reduzindo a propagação para outros órgãos. Assim, a administração direta das vacinas por via nasal ou pulmonar surge como uma estratégia lógica, já que permite estimular diretamente a imunidade local, algo que a vacinação parenteral convencional não consegue fazer tão eficazmente. Estudos recentes têm explorado estas abordagens, mostrando que elas podem aumentar significativamente os níveis de IgA e potencialmente reduzir tanto a doença grave como a transmissão.¹⁴³

Embora ainda em fase experimental, as vacinas intranasais baseadas em nanopartículas estejam a revolucionar a forma como se pensa na vacinação em pandemias respiratórias, sendo desenvolvidas para facilitar a administração não invasiva, com resultados promissores em modelos animais e ensaios clínicos iniciais. Isso pode representar uma mudança significativa na forma como se aborda a profilaxia de infecções respiratórias no futuro.¹²³ Com essas vacinas, pode ser possível prevenir a infecção pelo vírus de forma

mais eficaz e com menos dor e desconforto para o paciente. Além disso, a administração intranasal pode ser mais fácil e menos invasiva do que as vacinas tradicionais, o que pode aumentar a adesão e a eficácia da vacinação.

É ainda importante sublinhar que a equidade no acesso global à vacinação continua a ser um desafio. A utilização de plataformas de produção baseadas em nanotecnologia pode ser uma solução para facilitar a produção descentralizada e acelerar a disponibilização de vacinas adaptadas, especialmente em países de baixo e médio rendimento. No entanto, vacinas baseadas em nanotecnologia, como qualquer outro medicamento que incorpore esta tecnologia, tendem a ter um custo mais elevado, o que pode limitar a sua acessibilidade em países com menos recursos. Tecnologias avançadas como a nanotecnologia podem ter efeitos positivos ou negativos dependendo da sua implementação: quando bem geridas, permitem produção rápida, flexível e adaptada às necessidades locais; por outro lado, falhas na gestão, problemas de qualidade, distribuição desigual ou custos elevados podem aumentar riscos ou agravar desigualdades. Além disso, a dependência de infraestruturas especializadas e de pessoal qualificado pode limitar a sua eficácia em contextos com recursos reduzidos, tornando essencial um planeamento cuidadoso e supervisão rigorosa. Isso pode ajudar a mitigar as desigualdades globais no combate à pandemia.¹⁴⁴

Iniciativas como o COVAX e programas de transferência de tecnologia, como o mRNA *technology transfer hub* da OMS na África do Sul, estão a trabalhar para proporcionar essa inovação e expandir a capacidade de resposta global. Com estas soluções, é possível reduzir as desigualdades no acesso à vacinação e proteger populações em todo o mundo. A equidade na vacinação continua a ser essencial para controlar a propagação de doenças e proteger os grupos mais vulneráveis.^{145,146}

Estas evidências reforçam a necessidade de inovação contínua em estratégias vacinais, com foco não só na eficácia e segurança, mas também na adaptabilidade tecnológica e acessibilidade global. O cruzamento entre biotecnologia e nanotecnologia tem-se mostrado fundamental para enfrentar a evolução viral do SARS-CoV-2, permitindo não apenas proteger populações em risco, mas também antecipar e conter futuras ameaças pandémicas com maior rapidez e precisão.

8. Aplicação da nanotecnologia na COVID-19

A pandemia impulsionou uma reconfiguração global das prioridades em investigação biomédica, expondo limitações das abordagens tradicionais na prevenção, diagnóstico e tratamento de infeções virais. Neste contexto, a nanotecnologia emergiu como um dos pilares mais promissores e transformadores da resposta médica e científica, graças à sua capacidade de agir de forma precisa e multifuncional em todas as fases da cadeia infecciosa, desde a deteção do vírus até a modulação da resposta imunitária e administração de terapias antivirais.^{147,148}

A nanotecnologia, definida como o uso de estruturas na escala nanométrica, permite a manipulação da matéria à escala atómica e molecular, conferindo aos materiais propriedades únicas, que incluem elevada área superficial, reatividade aumentada, capacidade de funcionalização bioquímica, comportamento inteligente e capacidade de penetração em compartimentos celulares específicos.¹⁴⁹ Estas propriedades tornam os nanomateriais altamente atrativos para aplicações médicas, em especial na virologia e imunologia, onde a necessidade de atingir alvos biológicos com precisão e reduzir efeitos adversos é crítica.¹⁵⁰

Um dos exemplos mais notáveis de aplicação bem-sucedida da nanotecnologia na COVID-19 foi o desenvolvimento das vacinas de mRNA encapsuladas em LNPs, como a BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) e a mRNA-1273 (Moderna). Estas LNPs protegem o RNA mensageiro da degradação enzimática, facilitam a sua veiculação intracelular e promovem a expressão do antigénio viral em células hospedeiras, desencadeando uma resposta imunitária robusta. O sucesso destas vacinas permitiu o desenvolvimento de soluções seguras e eficazes contra a doença num tempo recorde, com taxas de eficácia superiores a 90% em ensaios iniciais.^{9,151}

A nanotecnologia tem sido explorada em várias frentes terapêuticas, além da vacinação. Nanotransportadores lipídicos e poliméricos têm sido utilizados para encapsular fármacos antivirais e anti-inflamatórios, permitindo libertação controlada, aumento da biodisponibilidade e redução da toxicidade sistémica.¹⁵² Além disso, nanopartículas metálicas, como as de prata, ouro ou óxido de ferro, têm demonstrado atividade antiviral

intrínseca, especialmente contra vírus encapsulados como o estudado, ao desestabilizar a membrana viral, inibir a fusão com a célula hospedeira ou produzir espécies reativas de oxigénio. Estes mecanismos são particularmente eficazes contra vírus como o SARS-CoV-2.¹⁵³ Também a criação de materiais nanoestruturados com propriedades antivirais tem sido uma aposta, em que se aplicam revestimentos nas superfícies com nanopartículas de cobre, prata ou dióxido de titânio, as quais demonstraram capacidade de inativar o vírus em minutos. Isso abre portas para ferramentas adicionais na prevenção da transmissão e na proteção de ambientes hospitalares e públicos.¹⁵⁴

Na área do diagnóstico, a nanotecnologia também mostrou enorme valor. Biossensores baseados em nanopartículas de ouro, grafeno ou pontos quânticos têm sido desenvolvidos para deteção ultra-rápida e altamente sensível de antígenos ou RNA viral, muitas vezes em menos de 10 minutos e com limites de deteção na ordem dos attogramas.¹⁵⁵ Estas tecnologias permitem rastreios mais acessíveis, precisos e rápidos, fundamentais para o controlo de surtos em tempo real.

O investimento em nanotecnologia para combater a pandemia de COVID-19 é um exemplo claro de como a ciência e a indústria podem trabalhar de forma articulada para encontrar soluções. Num tempo incrivelmente curto, menos de três anos, centenas de plataformas tecnológicas foram transformadas em produtos passíveis de uma aplicação na prevenção ou tratamento da doença, muitas delas envolvendo nanotecnologia.¹⁵⁶ Além disso, alguns estudos demonstraram que os produtos de base nanotecnológica não apenas são mais eficazes, mas também são capazes de se adaptar a diferentes variantes do vírus.

157

Além da sua aplicação direta, a nanotecnologia está a moldar o futuro da medicina personalizada, da imunoterapia e do controlo de infeções. Com capacidade de criar sistemas inteligentes de veiculação de fármacos que respondem a estímulos locais, como mudanças de pH, temperatura ou presença de enzimas, podem criar-se terapias adaptativas com precisão sem precedentes. As lições aprendidas com a COVID-19 estão a ser aplicadas para preparar tecnologias nanoestruturadas para enfrentar ameaças virais futuras, incluindo pandemias zoonóticas emergentes.

8.1. Nanotecnologia na veiculação de fármacos antivirais

A veiculação eficiente de fármacos antivirais continua a representar um dos maiores desafios na farmacoterapia de infecções virais, sobretudo quando se pretende atingir compartimentos celulares específicos ou minimizar efeitos adversos sistêmicos. A nanotecnologia oferece soluções versáteis e personalizáveis, como sistemas nanoestruturados de veiculação que podem transportar, proteger e libertar princípios ativos com precisão.¹⁵⁸

8.1.1. Nanotransportadores lipídicos

Os nanotransportadores lipídicos (NTL) constituem uma das abordagens mais exploradas na nanotecnologia aplicada ao tratamento da COVID-19. Este grupo inclui diferentes arquiteturas, como as *solid lipid nanoparticles* (SLN), os *nanostuctured lipid carriers* (NLC), os lipossomas e as *lipid nanoparticles* (LNP). A **Figura 8.1** apresenta uma representação esquemática destas estruturas, permitindo observar as diferenças morfológicas e de organização lipídica entre elas, que se traduzem em propriedades distintas de encapsulação, libertação e biodistribuição.

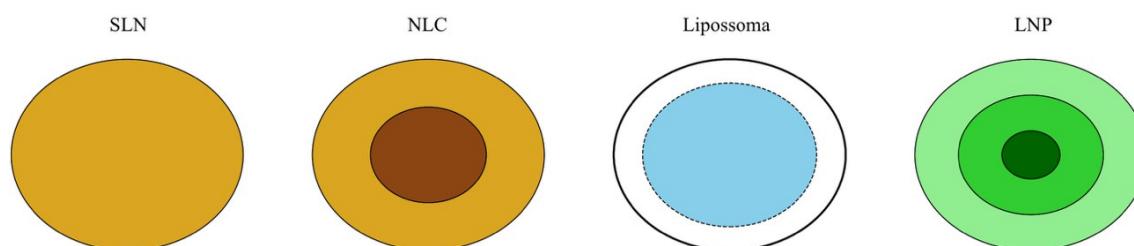


Figura 8.1. Representação esquemática dos principais tipos de nanotransportadores lipídicos. SLN (nanopartícula lipídica sólida, com núcleo compacto), NLC (transportador lipídico nanoestruturado, com mistura de lipídios sólidos e líquidos), lipossoma (vesícula com bicamada lipídica) e LNP (nanopartícula lipídica contendo lipídios ionizáveis, colesterol, fosfolípido e PEG). **Adaptado de:**^{141,159}

Os nanotransportadores lipídicos são plataformas de eleição para veicular antivirais de baixo peso molecular, como o remdesivir e o favipiravir, e oligonucleótidos como siRNA, no contexto da COVID-19. A possibilidade de ajustar a dimensão nanométrica, a carga

superficial e a composição lipídica permitem otimizar a estabilidade coloidal, a liberação controlada e a veiculação pulmonar.¹⁵⁹

Um estudo desenvolveu NLCs para encapsulação de remdesivir e administração oral, obtendo administração oral, obtendo partículas com cerca de 150 nm, índice de polidispersão (Pdl) de 0,4, potencial zeta de $-43,8$ mV e eficiência de encapsulação de 81%. Estes parâmetros indicam uma formulação com estabilidade coloidal adequada e elevada capacidade de carga do fármaco.¹⁶⁰ Conforme demonstrado no perfil de liberação *in vitro* (**Figura 8.2**), a solução convencional de remdesivir apresentou uma dissolução rápida e quase completa ($>90\%$) nas primeiras horas, enquanto a formulação nanoestruturada (RDV-NLC) exibiu uma liberação sustentada e gradual, atingindo apenas cerca de 40% após 72 h. O ensaio de liberação foi realizado recorrendo ao método da bolsa da diálise, em PBS/etanol (1:1, v/v, pH 7,4) a $37 \pm 0,5$ °C durante 72 h. Observou-se que a solução de RDV apresentou uma liberação rápida, atingindo cerca de 90% em 10 h, seguida de estagnação. Em contraste, as formulações de RDV-NLC exibiram um perfil bifásico, com liberação inicial de aproximadamente 30% nas primeiras 6 h, seguida de uma fase prolongada de liberação sustentada por mais de 66 h. Estes resultados demonstram que os NLCs reduzem o risco de dose-dumping (liberação súbita e não controlada do fármaco), prolongam a disponibilidade do fármaco e contribuem para uma exposição terapêutica mais estável ao longo do tempo.¹⁶⁰

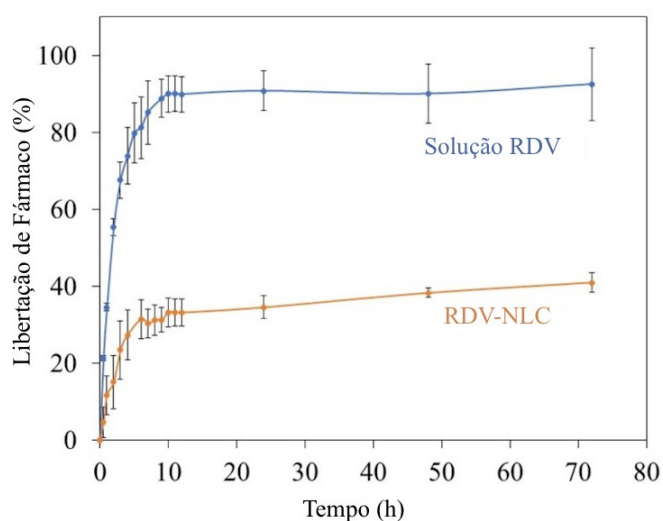


Figura 8.2. Perfil de liberação de remdesivir (RDV) em solução e encapsulado em transportadores lipídicos nanoestruturados (RDV-NLC), obtido por ensaio *in vitro* em PBS/etanol (1:1, v/v, pH 7,4), a $37 \pm 0,5$ °C durante 72 h, utilizando bolsa de diálise. Adaptado de:¹⁶⁰

Adicionalmente, os autores demonstraram que os NLCs de remdesivir apresentaram menor citotoxicidade em células HK-2 (linha epitelial de origem renal, representativa de nefrotoxicidade) relativamente à formulação convencional, reforçando o seu potencial como plataforma segura e eficaz na terapêutica antiviral.¹⁶⁰ O estudo demonstrou ainda que a formulação aumentou a captação celular e a atividade antiviral contra variantes do SARS-CoV-2 (Alfa, Beta e Delta). A modelação farmacocinética em animais indicou um aumento de +211% na biodisponibilidade relativa comparativamente ao fármaco em solução intravenosa, refletindo uma melhoria significativa na exposição sistémica (**Figura 8.3**). Estes resultados, combinados com o perfil de libertação sustentada e a melhor tolerabilidade *in vitro*, sustentam o racional de utilização de NLC-remdesivir por via intravenosa, visando reduzir picos plasmáticos e eventos adversos renais associados à formulação convencional.¹⁶⁰

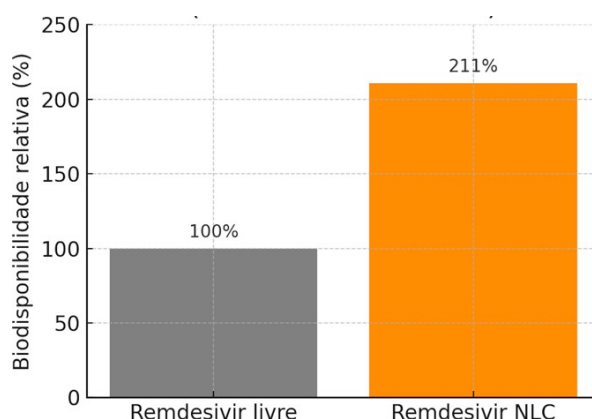


Figura 8.3. Comparação da biodisponibilidade relativa de remdesivir livre e encapsulado em NLC.¹⁶⁰

Observa-se que as NLC apresentam elevada homogeneidade, estabilidade coloidal e encapsulação eficiente; as SLN apresentam dimensões maiores, mas elevada capacidade de deposição pulmonar; e as LNP são indispensáveis para a veiculação de RNA, tanto por via intravenosa como intranasal, assegurando eficácia antiviral significativa.^{141,160,161}

Num estudo independente, SLN de favipiravir desenvolvidas para administração por via pulmonar atingiram cerca de 538 nm e uma fração de partículas finas de aproximadamente 60%, muito satisfatório para a via de administração em causa. Os resultados demonstraram ainda atividade anti-SARS-CoV-2 determinada *in vitro*

em células Vero E6 (epitélio renal) infetadas com o vírus, com um IC50 de 29,9 µg/mL. Estes resultados confirmam a adequação desta formulação para deposição pulmonar e viabilidade farmacodinâmica.¹⁶¹

No caso dos oligonucleótidos, LNP constituídas por lípido iônico catiónico, fosfolipídio estrutural, colesterol e lipídio-PEG foram utilizadas para encapsular siRNA dirigido contra o SARS-CoV-2. Estas formulações demonstraram supressão viral pulmonar e vantagem de sobrevivência em modelos murinos K18-hACE2 após administração intravenosa, além de redução significativa da infecção quando administradas por via intranasal em regime profilático. Importa salientar que o siRNA administrado diretamente e sem encapsulação nas LNP por via intranasal não apresentou eficácia, confirmando que a nanopartícula é determinante para a veiculação e ação terapêutica.¹⁶² A **Tabela 8.1.** apresenta as principais características físico-químicas das LNP utilizadas neste estudo. Observa-se que o tamanho médio foi de 80 nm, com índice de polidispersão (PDI) de 0,16, o que indica uma elevada homogeneidade populacional. O potencial zeta de +18,58 mV sugere boa estabilidade coloidal e interação favorável com membranas celulares, facilitando a captação. Finalmente, a eficiência de encapsulação de siRNA de 97,6% demonstra uma excelente capacidade de carga, assegurando que a maioria do material terapêutico é efetivamente transportado pela nanopartícula até ao local de ação. Estes parâmetros justificam, em parte, os resultados *in vivo*, nos quais a administração intravenosa de LNP-siRNA promoveu supressão viral robusta e aumento da sobrevivência, enquanto a administração intranasal em regime profilático resultou numa redução significativa da infecção inicial no pulmão.¹⁶²

Tabela 8.1. Características das Nanopartículas lipídicas com siRNA encapsulado.¹⁶²

Característica da Nanopartícula	
Tamanho médio	80 nm
Polidispersidade (PDI)	0.16
Potencial Zeta	18.58 mV
Eficiência de Encapsulamento de siRNA	97.6%

8.1.2. Nanotransportadores poliméricos

Os nanotransportadores poliméricos constituem uma plataforma versátil para a veiculação de antivirais e vacinas no contexto da COVID-19, destacando-se pela possibilidade de ajustar composição, biodegradabilidade e funcionalização da superfície. Entre os sistemas mais estudados encontram-se as nanopartículas poliméricas sólidas, obtidas a partir de polímeros sintéticos, como o PLGA, ou de polímeros naturais, como o quitosano. Para além destas, podem ser utilizados sistemas de auto-organização, como as micelas formadas por copolímeros anfifílicos (ex.: PEG-PLA, PEG-PCL), bem como dendrímeros, estruturas altamente ramificadas e de geometria controlada.¹⁶³ A **Figura 8.4** apresenta uma representação esquemática destas arquiteturas, destacando as diferenças estruturais que se traduzem em propriedades distintas de encapsulação, libertação e interação biológica.^{163,164}

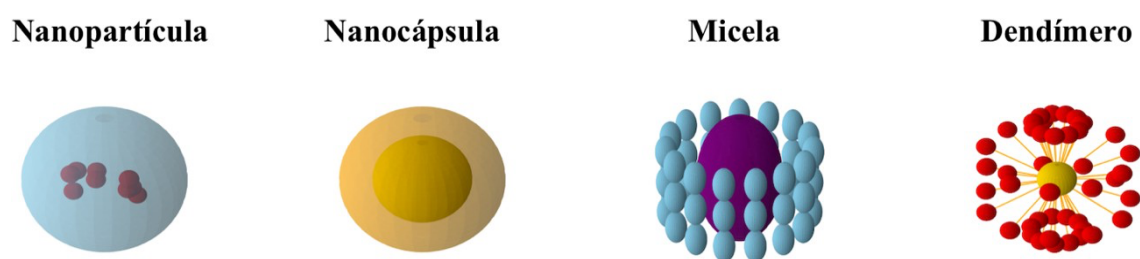


Figura 8.4. Representação esquemática dos principais nanotransportadores poliméricos.¹⁶³

Esta diversidade estrutural traduz-se em diferentes mecanismos de encapsulação, libertação e biodistribuição, justificando a ampla aplicabilidade destes sistemas em terapias antivirais e vacinas contra a COVID-19.^{163,162}

No caso de nanopartículas de PLGA, a formulação “*SelfExRem*” com remdesivir, desenvolvida como alternativa injetável de longa duração para administração subcutânea ou intramuscular, mostrou partículas esféricas com distribuição homogénea, no intervalo de 200–500 nm, capazes de manter perfis de libertação controlada até 48 h, com níveis plasmáticos sustentados em modelos pré-clínicos. A **Figura 8.5** apresenta o perfil de libertação cumulativa do fármaco, obtido em tampão fosfato salino (PBS, pH 7,4, 37 °C), demonstrando que concentrações mais elevadas de PLGA (30%) e o uso do polímero

752H reduzem o efeito de libertação inicial e prolongam a libertação ao longo do tempo. Estes resultados confirmam que a escolha do tipo e da proporção do polímero é determinante para controlar a cinética de libertação, oferecendo vantagens em termos de exposição sustentada e menor risco de toxicidade associada a picos plasmáticos.^{163,164} De forma consistente, outros trabalhos confirmam que sistemas de PLGA permitem modular a biodisponibilidade de antivirais e adaptar-se a diferentes contextos clínicos.^{165,163}

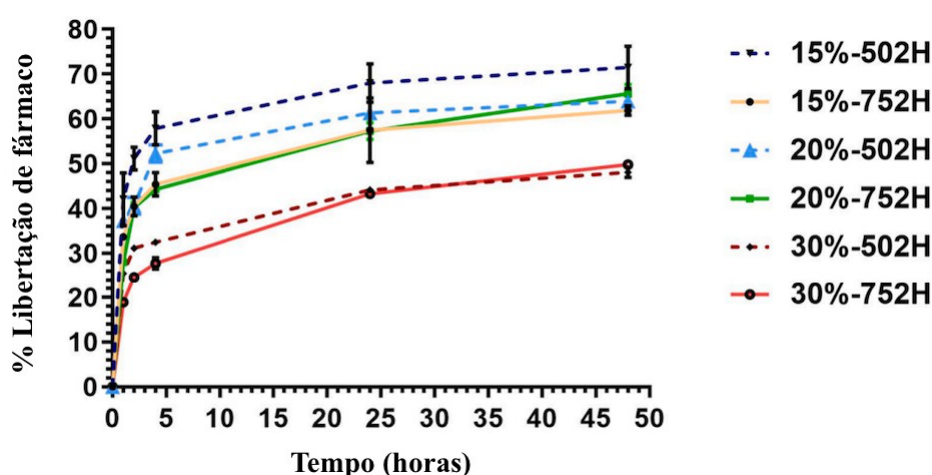


Figura 8.5. Perfil de libertação de remdesivir a partir de nanopartículas de PLGA (SelfExRem) em tampão fosfato salino (PBS, pH 7,4, 37 °C). Adaptado de:¹⁶³

As nanopartículas de quitosano produzidas por gelificação iónica com tripolifosfato de sódio (TPP) têm sido descritas como sistemas versáteis, apresentando tamanhos entre 100–300 nm, PDI \approx 0,2 e potencial zeta positivo entre +15 e +30 mV, parâmetros frequentemente associados a elevada eficiência de encapsulação de fármacos hidrofílicos e biomoléculas (>80%). No entanto, no estudo de referência não foi encapsulado remdesivir, mas sim testada a plataforma como sistema modelo para aplicações biomédicas. Neste estudo, os autores utilizaram moléculas modelo para avaliar a capacidade de encapsulação, propondo o sistema como plataforma genérica para veiculação de fármacos por via oral e parenteral, dada a sua elevada estabilidade e versatilidade.¹⁶⁶

Outras nanopartículas de quitosano foram igualmente propostas para administração intranasal do antígeno proteico RBD da proteína Spike, exibindo um tamanho de 100–200 nm, PDI \approx 0,2 e potencial zeta positivo moderado (+24 mV), assegurando homogeneidade e interação com muco e tecidos. A robustez da matriz polimérica explica a elevada eficiência de encapsulação (>90%). Em ratinhos BALB/c, o regime vacinal consistiu numa dose intranasal inicial (priming) seguida de um reforço (booster) ao dia 14. A **Figura 8.6** mostra os níveis de IgA no lavado broncoalveolar e de IgG sérica, confirmando a indução de imunidade local e sistêmica protetora contra o SARS-CoV-2.¹⁶⁸

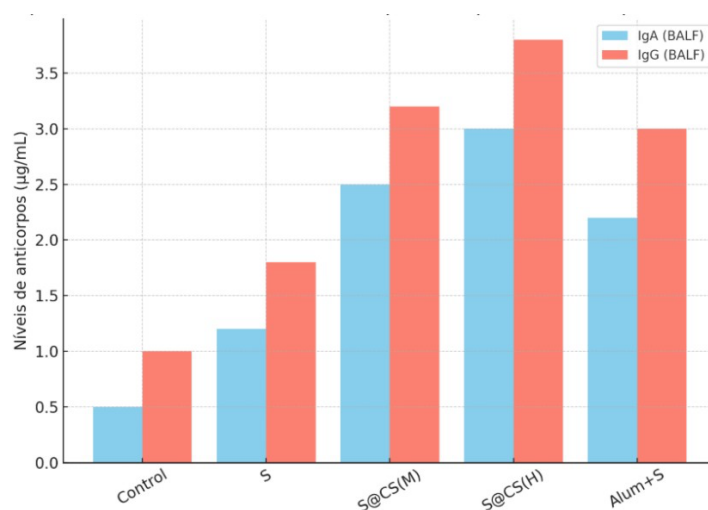


Figura 8.6. Níveis de IgA e IgG sérica no lavado broncoalveolar (BALF) após imunização por via nasal com nanopartículas de quitosano mannosiladas (S@CS). Adaptado de:¹⁶⁸

Micelas poliméricas com aplicação na terapêutica antiviral também foram reportadas na literatura. Estão descritas micelas formadas por PEG-PLA ou PEG-PCL, com tamanhos entre 20 e 100 nm e PDI $<$ 0,2. A sua arquitetura núcleo-cobertura permite solubilizar antivirais hidrofóbicos, como lopinavir ou remdesivir, aumentando a estabilidade da formulação e a eficácia antiviral. Na **Figura 8.7**, os ensaios em células Vero e Calu-3 (células epiteliais) não infectadas demonstram elevada viabilidade celular mesmo em concentrações de micelas até 200 $\mu\text{g/mL}$, confirmando a segurança da plataforma,

baseadas em Pluronic F127. Por outro lado, os ensaios em células Vero E6 infetadas com SARS-CoV-2 mostram que os antivirais encapsulados em micelas reduzem significativamente a replicação viral quando comparados com a forma livre, evidenciando a vantagem farmacológica desta abordagem.¹⁶⁹

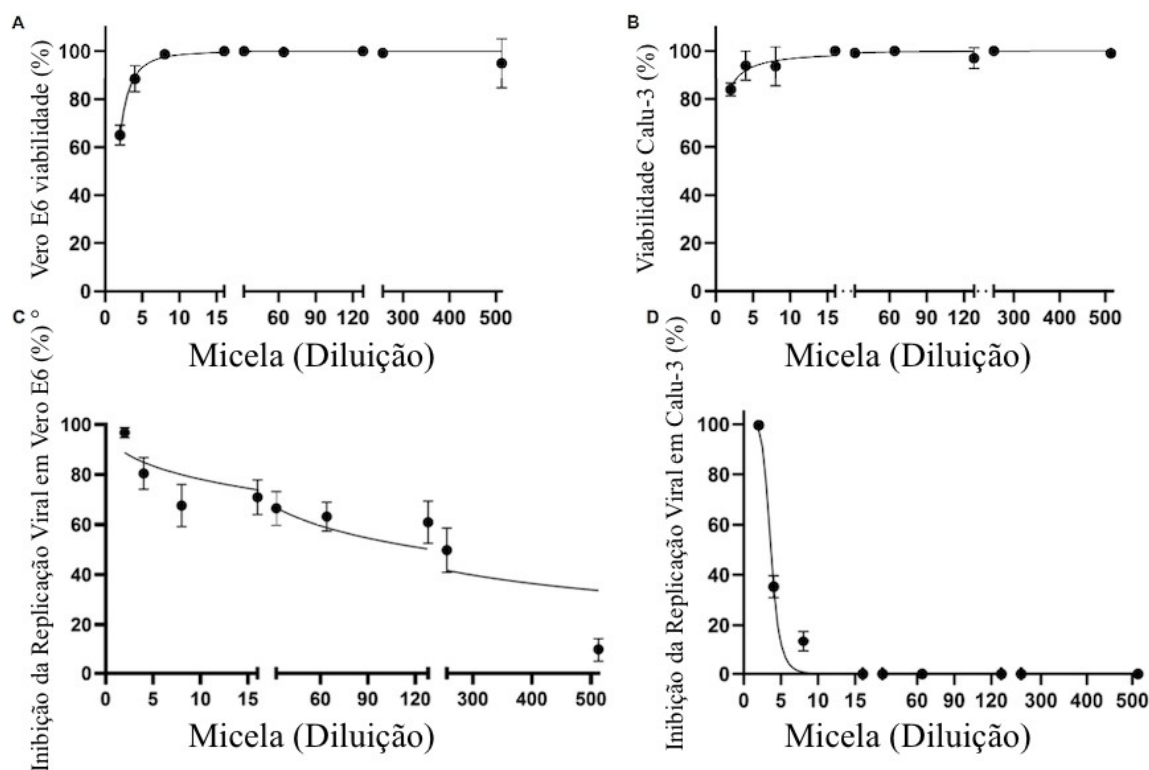


Figura 8.7. Avaliação *in vitro* de micelas poliméricas baseadas em Pluronic F127, com ou sem encapsulação de atazanavir.(a) Viabilidade de células Vero E6; (b) Viabilidade de células Calu-3; (c) Inibição da replicação viral em células Vero E6; (d) Inibição da replicação viral em células Calu-3. **Adaptado de:**¹⁶⁹

Estes ensaios *in vitro* demonstraram que estas nanoestruturas apresentam baixa citotoxicidade em células Vero E6 (epitélio renal; **Figura 8.7-A**) e Calu-3 (epitélio bronquial; **Figura 8.7-B**), mantendo a viabilidade acima de 90% mesmo em diferentes diluições, o que confirma a segurança da sua aplicação. Paralelamente, foi observada uma inibição robusta da replicação viral, dependente da concentração, tanto em células Vero E6 (**Figura 8.7-C**) como em Calu-3 (**Figura 8.7-D**). A eficácia foi máxima nas concentrações mais elevadas de micelas (100–200 $\mu\text{g/mL}$), aproximando-se de 100% de inibição da replicação viral, e diminuiu progressivamente de forma dependente da dose

com a redução da concentração (50 e 25 $\mu\text{g/mL}$), mantendo ainda efeito superior ao fármaco livre. Além da baixa citotoxicidade, observa-se elevada eficácia antiviral em células Calu-3 infectadas com SARS-CoV-2. Estes resultados evidenciam que as micelas poliméricas não só melhoram a solubilidade e estabilidade de antivirais hidrofóbicos, como também potenciam a atividade antiviral, posicionando-se como plataformas promissoras para o tratamento da infecção.

Por fim, a literatura também reporta trabalhos com dendrímeros, compostos especificamente por poli(amidoamina) (PAMAM). De uma forma geral, estes sistemas destacam-se pela sua dimensão controlada ($\sim 5\text{--}20$ nm na forma livre; >50 nm quando conjugados com os fármacos) e pela possibilidade de funcionalizar quimicamente os grupos terminais da sua superfície, permitindo modular propriedades como solubilidade, toxicidade ou capacidade de ligação a fármacos e ligandos direcionadores.¹⁷⁰

No âmbito da terapêutica anti-Covid-19 a literatura reporta o desenvolvimento de dendrímeros tetravalentes conjugados com o péptido de fusão da proteína Spike, os quais demonstraram elevada capacidade antiviral. A **Figura 8.8** apresenta resultados deste trabalho. No painel A observa-se, por coloração viral, que concentrações de $20\text{--}50$ μM inibiram quase totalmente a formação de focos de infecção já após 30 minutos de incubação. Já no painel B mostra-se uma análise quantitativa que confirma esta inibição próxima dos 100%, mesmo para tempos de incubação mais curtos, enquanto concentrações inferiores ($5\text{--}10$ μM) mostraram apenas uma inibição parcial ($\sim 40\text{--}60\%$). Estes resultados reforçam que a densidade multivalente dos dendrímeros e a presença do péptido de fusão conjugado são determinantes para bloquear eficazmente a replicação viral.¹⁷¹

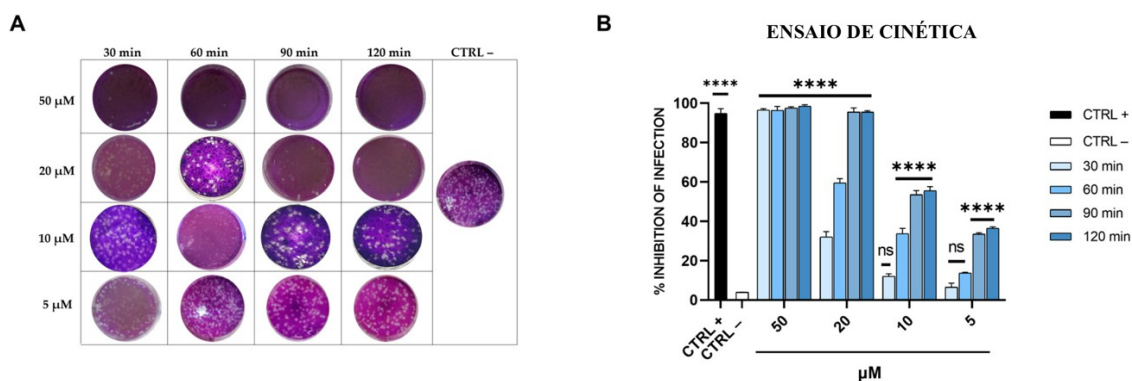


Figura 8.8. Atividade antiviral de dendrímeros tetravalentes conjugados com o péptido de fusão da proteína Spike do vírus. (A) Placas representativas de células Vero-76 infetadas com SARS-CoV-2 e coradas com cristal violeta após incubação prévia do vírus com o dendrímero R1 durante 30, 60, 90 ou 120 minutos, em diferentes concentrações (5, 10, 20 e 50 µM). O grupo CTRL corresponde a células infetadas sem tratamento (controlo interno); (B) Análise quantitativa da redução de placas virais no ensaio virucida, em função do tempo de incubação do vírus com o dendrímero R1 e da concentração utilizada. O grupo CTRL+ corresponde a células infetadas tratadas com ivermectina (12 µM), usada como controlo positivo. Os dados representam as médias ± desvio padrão (n=3) **** p < 0,0001; ns: não significativo. **Adaptado de:**¹⁷¹

8.1.3. Nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas (NM) constituem uma das classes mais estudadas no contexto da nanotecnologia antiviral, tendo propriedades eletrónicas únicas e capacidade de interação direta com proteínas virais. Estruturalmente, incluem partículas de dimensões tipicamente entre 5 e 100 nm, geralmente esféricas, mas que podem apresentar morfologias anisotrópicas (triangulares, bastonetes), o que influencia a sua atividade biológica. A **Figura 8.9** apresenta uma representação esquemática das principais nanopartículas metálicas investigadas no âmbito da COVID-19, nomeadamente constituídas por ouro (AuNP), prata (AgNP), óxido de zinco (ZnO-NP) e óxido de ferro (Fe₂O₃ / Fe₃O₄).

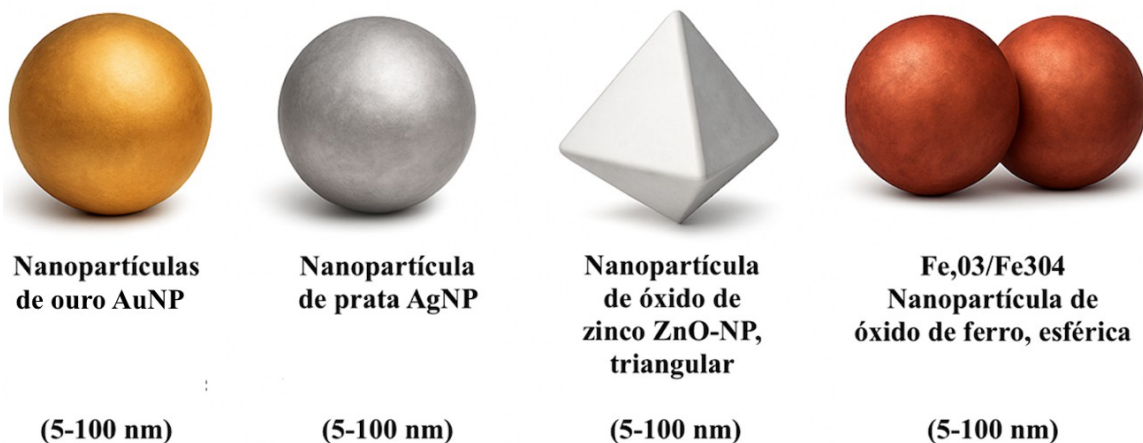


Figura 8.9. Representação esquemática das principais nanopartículas metálicas investigadas contra a COVID-19: ouro (AuNP), prata (AgNP), óxido de zinco (ZnO-NP) e óxido de ferro (Fe₂O₃/Fe₃O₄). Adaptado de:^{172,173}

As nanopartículas de ouro destacam-se pela sua biocompatibilidade e facilidade de funcionalização superficial. Alguns estudos demonstraram que AuNP esféricas de 15–40 nm, conjugadas com peptídeos derivados da proteína Spike, inibiram de forma significativa a ligação ACE2-Spike, com IC₅₀ entre 1,5 e 2,0 nM.¹⁷⁴

As nanopartículas de prata têm sido reportadas como inibidoras potentes da entrada viral, sobretudo pela capacidade de interagir com resíduos sulfidrílicos da proteína Spike, e de induzir desestabilização da membrana viral. AgNP com 5–20 nm demonstraram capacidade para reduzir significativamente a infecção por SARS-CoV-2 em células VeroE6, com IC₅₀ entre 1–10 µg/mL, sem citotoxicidade relevante nas concentrações eficazes. A **Figura 8.10** ilustra os resultados desses ensaios, onde se verifica uma diminuição progressiva da carga viral com o aumento da concentração de AgNP. Em concentrações de 5–10 ppm, a supressão da replicação viral foi quase completa, confirmando o efeito concentração-dependente e a elevada eficácia antiviral destas nanopartículas.¹⁷⁵

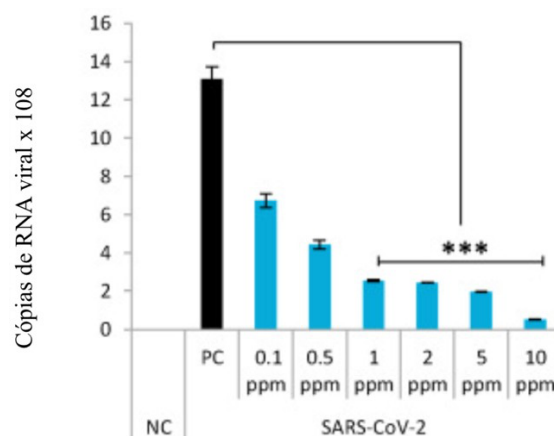


Figura 8.10. Concentração e efeito antiviral dependente da dose de nanopartículas de prata sem fármaco no SARS-CoV-2. Adaptado de:¹⁷⁵

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO-NP), com dimensões de 20–40 nm, têm também sido exploradas pela sua atividade antiviral e pelo seu potencial como adjuvantes vacinais. Demonstraram interagir com a proteína Spike, modulando a ligação ao recetor ACE2, além de apresentarem boa biocompatibilidade em células epiteliais Calu-3 (pulmão humano), nas quais também se confirmou a redução da replicação viral.¹⁷⁶

A **Tabela 8.2** apresenta a caracterização físico-química das ZnO-NP testadas, confirmando a sua estabilidade coloidal e propriedades estruturais.

Tabela 8.2. Caracterização físico-química das nanopartículas de óxido de zinco (ZnO-NP).¹⁷⁶

Parâmetro	Valor Reportado
Tamanho médio (nm)	20–40
Potencial zeta (mV)	–15 a –25
Cristalinidade	Confirmada (DRX)
Estrutura cristalina	Wurtzita hexagonal
Biocompatibilidade	Elevada em células epiteliais
Atividade antiviral	Interação com Spike; modulação ACE2

Já nanopartículas de óxido de ferro, previamente aprovadas pela FDA como agentes de contraste em imagem por ressonância magnética, foram alvo de estudos de reposicionamento. Singh et al. (2022) utilizaram modelação molecular e ensaios *in vitro*, mostrando que estas partículas apresentam elevada afinidade para domínios da proteína Spike e para a protease viral 3CLpro, interferindo com a entrada e replicação viral.¹⁷⁷

De forma integrativa, a **Tabela 8.3** resume as principais propriedades físico-químicas (tamanho, Pdl, potencial zeta) e resultados biológicos (IC₅₀, percentagem de inibição, modelos in vitro) das diferentes nanopartículas metálicas aplicadas à COVID-19.

Tabela 8.3. Propriedades físico-químicas e atividade biológica de nanopartículas metálicas aplicadas à COVID-19.¹⁷⁰⁻¹⁷³

Nanopartícula	Tamanho (nm)	Pdl	Potencial zeta (mV)	IC ₅₀ / Inibição	Resultados biológicos principais
AuNP (conjugadas com peptídeos Spike)	15–40	n.r.	–10 a –20	IC ₅₀ na ordem de nM	Inibição significativa da ligação Spike–ACE2; morfologia esférica confirmada por TEM
AgNP	5–20	n.r.	–15 a –25	IC ₅₀ : 1–10 µg/mL	Redução dependente da concentração da infecção por SARS-CoV-2 em VeroE6; ausência de citotoxicidade relevante nas doses eficazes
ZnO-NP	20–40	≈0,25	–20	n.r. (inibição qualitativa)	Interação com Spike modulando ACE2; elevada estabilidade coloidal; biocompatíveis em células epiteliais
Fe₃O₄ (magnéticas, funcionalizadas)	10–50	≈0,3	+25	n.r.	Captação celular eficiente; propostas como adjuvantes vacinais; elevada biocompatibilidade e potencial uso em sistemas de veiculação guiados por campo magnético

n.r. - não registado.

8.1.4. Sistemas híbridos

Os sistemas híbridos resultam da combinação de diferentes plataformas nanotecnológicas, permitindo integrar propriedades complementares e superar limitações individuais. Estruturalmente, incluem formulações lipídico–poliméricas, polimérico–metálicas e lipídico–metálicas, com dimensões geralmente na gama de 100–250 nm, potencial zeta ajustável e elevada eficiência de encapsulação.¹⁷⁸

A **Figura 8.11** apresenta uma representação esquemática dos principais tipos de sistemas híbridos estudados no contexto da COVID-19.

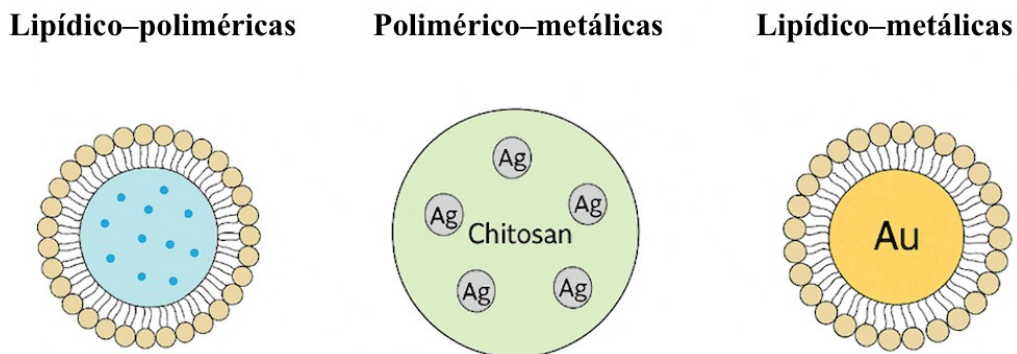


Figura 8.11. Representação esquemática dos principais tipos de sistemas híbridos aplicados à COVID-19. Lipídico-poliméricos (núcleo polimérico de PLGA com revestimento lipídico), polimérico-metálicos (quitosano associado a nanopartículas de prata) e lipídico-metálicos (nanopartículas de ouro revestidas com bicamada lipídica).
Adaptado de:^{179,180}

As nanopartículas lipídico-poliméricas reportadas são geralmente constituídas por um núcleo de PLGA revestido por uma camada lipídica. Foram exploradas para a veiculação de antígenos da proteína Spike, adquirindo um tamanho de cerca de ~180 nm, PDI <0,2 e potencial zeta de ≈ -25 mV, com eficiência de encapsulação superior a 75%. Em modelo murino, estas partículas induziram níveis elevados de IgG e IgA, demonstrando maior imunogenicidade comparativamente com nanopartículas de PLGA ou lipossomas isolados (**Figura 8.12**).¹⁸¹

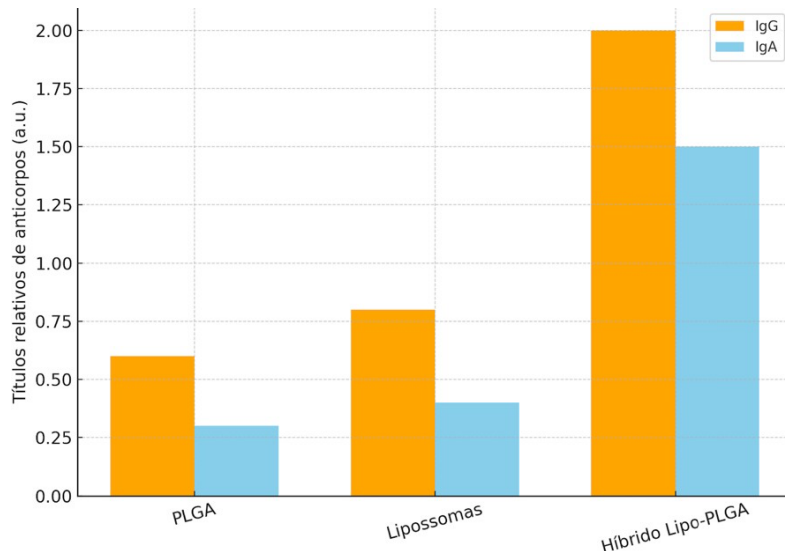


Figura 8.12. Resposta humoral induzida por nanopartículas lipídico–poliméricas em modelo murino. Adaptado de:¹⁸¹

Observa-se que as nanopartículas lipídico–poliméricas, constituídas por núcleo de PLGA recoberto por uma camada lipídica, induziram níveis significativamente mais elevados de IgG e IgA contra a proteína Spike, quando comparadas com nanopartículas de PLGA ou lipossomas isolados. Estes resultados confirmam a capacidade dos sistemas híbridos em potenciar a imunogenicidade, beneficiando simultaneamente da estabilidade do polímero e da eficiência de veiculação conferida pela camada lipídica.¹⁸¹

As formulações polimérico–metálicas, como nanopartículas de prata revestidas por uma camada de quitosano, combinaram a atividade antiviral direta da prata com a mucoadesividade e biocompatibilidade do polímero. Em células VeroE6, partículas híbridas de ~120 nm apresentaram $IC_{50} \approx 2 \mu\text{g/mL}$, com menor citotoxicidade que AgNP livres. A **Figura 8.13** mostra a curva comparativa de inibição viral, confirmando a vantagem da plataforma híbrida.¹⁸²

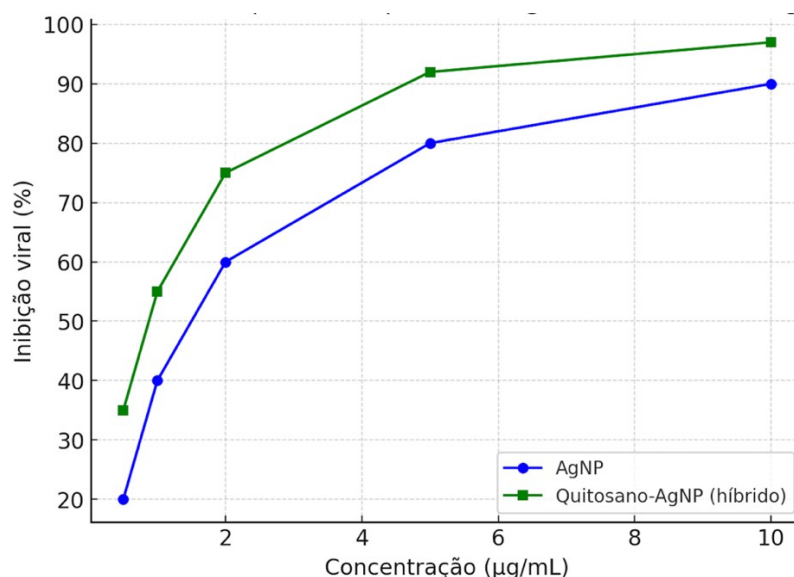


Figura 8.13. Curva dose-resposta comparativa entre nanopartículas de prata (AgNP) e partículas híbridas Quitosano-AgNP em células VeroE6. Adaptado de:¹⁸²

No caso das formulações híbridas polimérico-metálicas, destaca-se um trabalho em que nanopartículas de prata foram revestidas com quitosano, combinando a atividade antiviral intrínseca da prata com a estabilidade e mucoadesividade conferidas pelo polímero. Estas partículas (~150 nm), com eficiência de encapsulação >90 %, demonstraram libertação intracelular eficiente e redução da replicação viral em células epiteliais humanas Calu-3 infetadas com SARS-CoV-2.¹⁸²

8.1.5. Terapias inaláveis

As terapias inaláveis têm sido investigadas como uma via promissora para o tratamento da COVID-19, permitindo a veiculação direta de agentes antivirais para o trato respiratório, que é o local primário de infeção e replicação do SARS-CoV-2. Este tipo de administração aumenta a concentração do fármaco nos pulmões e reduz potenciais efeitos adversos sistémicos.^{183,184}

Um exemplo notável é o uso do *nanobody* inalável PiN-21, um fragmento de anticorpo de camédeos (domínio VHH), avaliado em hamsters infetados com SARS-CoV-2. A administração por aerossol preveniu a perda de peso nos animais e reduziu em cerca de 6 logs os títulos virais nos pulmões em comparação com o grupo controlo, além de diminuir a carga viral no trato respiratório superior.¹⁸⁵

A **Figura 8.14** apresenta de forma detalhada os principais resultados deste estudo. No painel (A), observa-se a variação do peso corporal: enquanto os animais do grupo controle (infetado com SARS-COV-2) perderam peso progressivamente, os que foram infetados e posteriormente tratados com PiN-21 mantiveram-se estáveis, indicando proteção clínica. O painel (B) mostra a carga viral no trato respiratório superior (lavagens nasais), evidenciando reduções significativas nos animais tratados. Já o painel (C) apresenta os títulos virais nos pulmões (PFU/mL), onde se verificou uma redução drástica de aproximadamente 6 logs em comparação com o grupo controle, praticamente eliminando o vírus deste tecido. Finalmente, o painel (D) demonstra, por qRT-PCR, que também o número de cópias de RNA viral nos pulmões foi significativamente menor nos animais tratados, confirmando o forte efeito antiviral local.¹⁸⁵

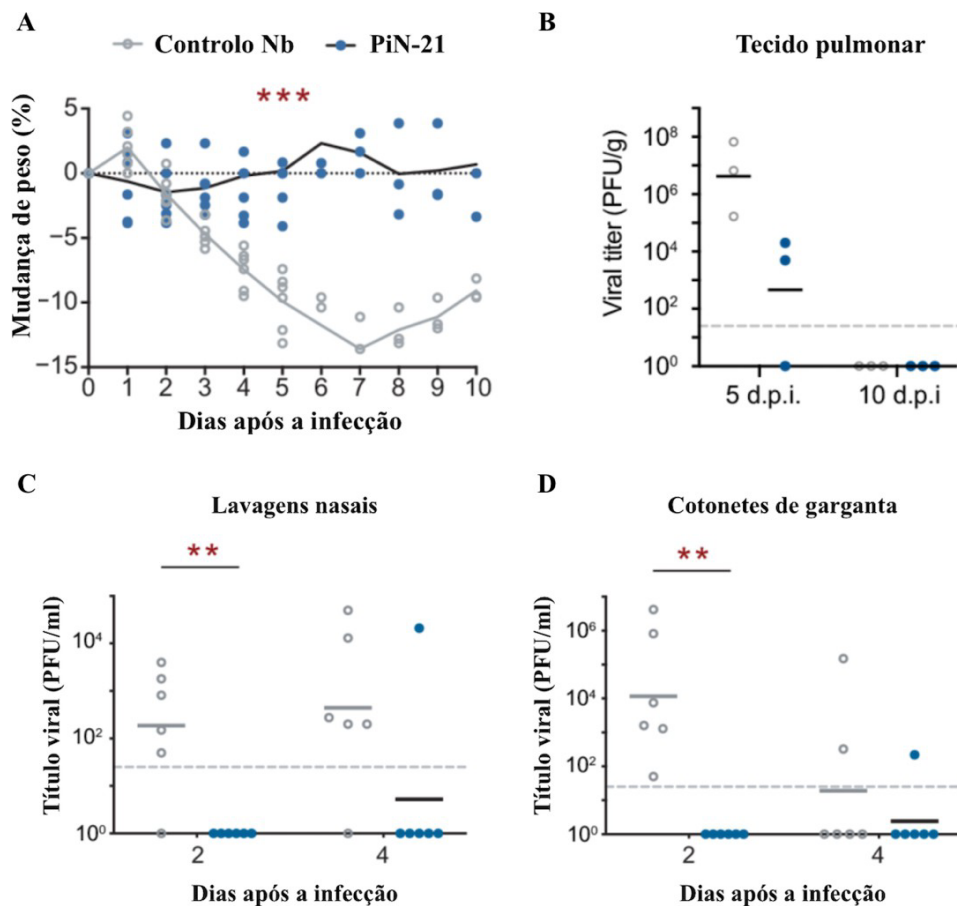


Figura 8.14. Efeito do nanobody inalável PiN-21 em hamsters sírios infetados com SARS-CoV-2. (A) Variação do peso corporal; (B) carga viral no trato respiratório superior (lavagens nasais); (C) títulos virais nos pulmões (PFU/mL); (D) cópias de RNA viral nos pulmões por qRT-PCR. O tratamento por aerossol com PiN-21 preveniu a perda de peso e reduziu significativamente a replicação viral no trato respiratório superior e inferior, com queda de ~6 logs nos pulmões face ao grupo controle. Adaptado de:¹⁸⁵

8.2. *Nanopartículas para modulação da resposta inflamatória*

A COVID-19 grave é marcada por uma resposta inflamatória exacerbada, vulgarmente acompanhada por produção excessiva de *neutrophil extracellular traps* (NETs), stress oxidativo e ativação desregulada de macrófagos e linfócitos, culminando em lesão pulmonar aguda (ALI) e ARDS.¹⁸⁶ Neste cenário, NPs têm emergido como plataformas promissoras para modular seletivamente a inflamação sem comprometer a defesa antiviral, explorando mecanismos que incluem a captura de citocinas, a veiculação direcionada de fármacos anti-inflamatórios, a degradação de NETs e a regulação de vias pró-inflamatórias.¹⁸⁷

Uma das primeiras abordagens foi a dos *nanodecoys* biomiméticos, partículas derivadas de membranas celulares que mimetizam recetores humanos. Combinaram vesículas de células 293T modificadas para ter uma expressão exacerbada de ACE2 com vesículas de monócitos THP-1 ricos em recetores de citocinas, criando assim nanopartículas híbridas capazes de capturar simultaneamente SARS-CoV-2 e mediadores inflamatórios.¹⁸⁸ Como ilustrado na **Figura 8.15**, o processo consistiu na modificação genética de células 293T para sobre-expressar ACE2, cujas membranas foram subsequentemente isoladas para gerar vesículas (ACE2-Ves). Em paralelo, células THP-1 foram utilizadas como fonte de vesículas enriquecidas em recetores de citocinas (IL-6R e recetor do fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSFR)). A fusão destas duas populações de vesículas resultou nos denominados *nanodecoys*, que apresentam na sua superfície tanto o recetor ACE2 (capaz de ligar-se ao vírus) como recetores inflamatórios (com capacidade de neutralizar citocinas), constituindo assim uma estratégia biomimética para bloquear a infeção viral e atenuar a tempestade de citocinas.¹⁸⁸ o que mostra é a estratégia de produção, com uma base teórica.

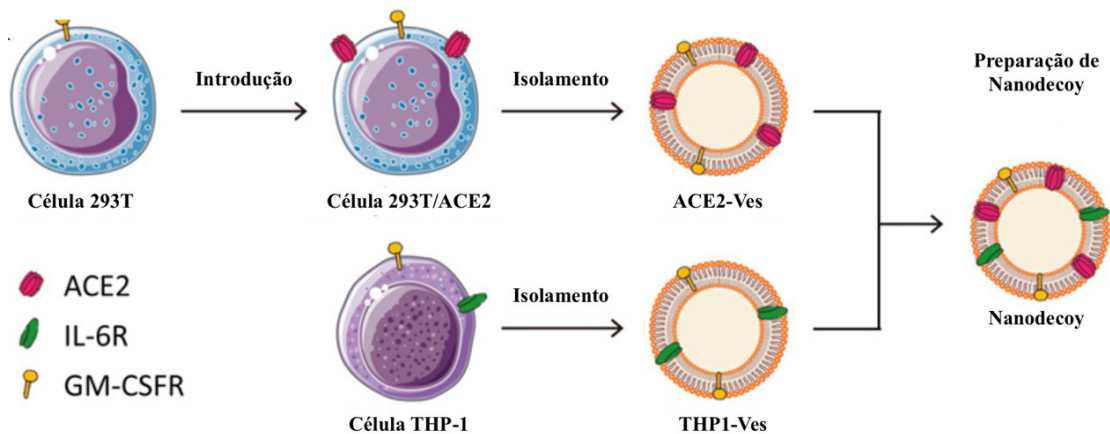


Figura 8.15. Representação esquemática dos *nanodecoys* biomiméticos desenvolvidos. Adaptado de:¹⁸⁸

Uma estratégia mais simplista, mas tida como eficaz, consistiu na veiculação de dexametasona por via inalatória. Apesar de comprovadamente eficaz, a administração sistêmica deste corticosteróide pode induzir efeitos adversos. Para superar essa limitação, foi desenvolvido o sistema *iSEND*, baseado em vesículas derivadas de neutrófilos carregadas com dexametasona (*nanoDEX*). Nos modelos murinos e em primatas não humanos, verificou-se que a administração inalatória de *nanoDEX* em doses dez vezes inferiores às da via intravenosa resultou numa maior eficácia anti-inflamatória e menor toxicidade sistêmica.¹⁸⁹ A **Figura 8.16** ilustra de forma esquemática a aplicação deste sistema. No painel A, observa-se a administração por aerossol de nanopartículas carregadas com dexametasona (*nanoDEX*), que se depositam nos pulmões infetados por SARS-CoV-2. O painel B representa o microambiente pulmonar, com alvéolos infetados, infiltração celular inflamatória e fibrose nos vasos sanguíneos adjacentes, mostrando como as nanopartículas atuam diretamente no local da inflamação. O painel C detalha o mecanismo molecular de ação: as nanopartículas neutralizam citocinas pró-inflamatórias no espaço extracelular e, simultaneamente, regulam negativamente a expressão destas moléculas a nível nuclear, via modulação da transcrição. Este duplo efeito traduz-se numa supressão mais eficaz da tempestade de citocinas com menor risco de toxicidade sistêmica.¹⁸⁹

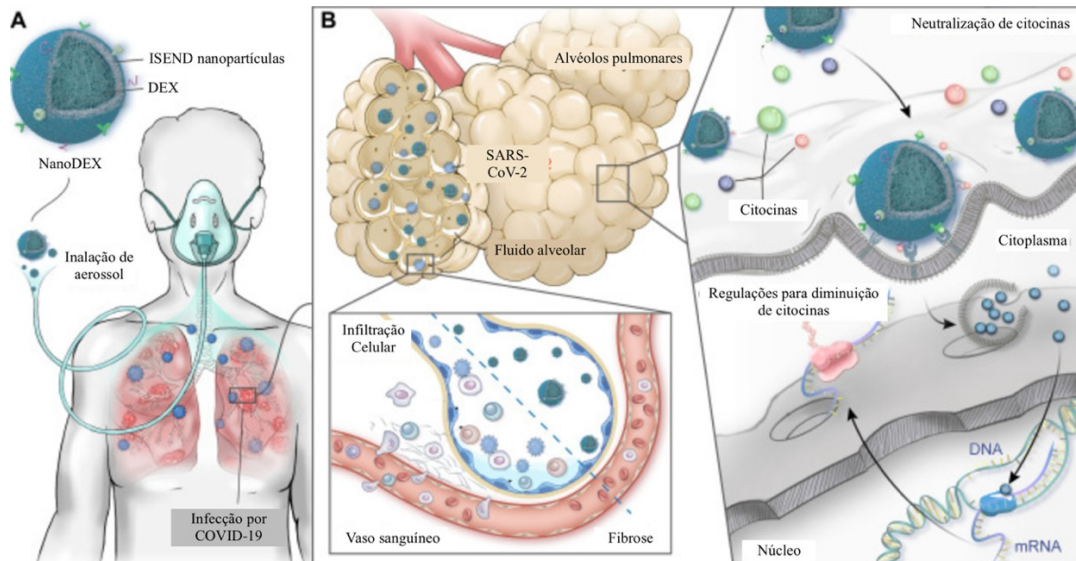


Figura 8.16. Efeitos do tratamento com nanoDEX inalável (sistema iSEND) em modelos murinos e primatas não humanos. Adaptado de:¹⁸⁹

Por último, a literatura reporta ainda o desenvolvimento de nanopartículas biomiméticas de PLGA, que associam lopinavir (LPV) e são revestidas por membranas de macrófagos (PLGA-LPV@M). Esta formulação combina efeito antiviral com capacidade de neutralizar citocinas inflamatórias, graças ao revestimento celular. Como descrito na **Figura 8.17**, as nanopartículas são esféricas, apresentam diâmetros de aproximadamente 80–90 nm e potencial zeta negativo, que para a formulação final é de cerca de -20 mV (~ -35 mV para as nanopartículas de PLGA não modificadas).

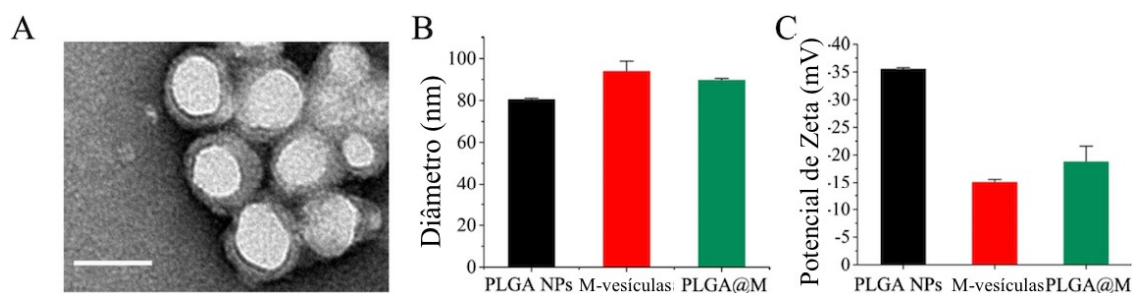


Figura 8.17. Caracterização das nanopartículas biomiméticas PLGA-LPV@M. (A) Microfotografias das nanopartículas revestidas com membrana de macrófago obtidas por microscopia eletrônica de transmissão; (B) Diâmetro médio (nm) das diferentes formulações: PLGA NPs, vesículas de membrana de macrófago (M-vesicles) e nanopartículas híbridas PLGA@M; (C) Potencial zeta (mV) das diferentes formulações. **Adaptado de:**¹⁸⁹

Os valores de potencial zeta comprovam a modificação da superfície após o revestimento, posicionando as PLGA@M num estado intermédio entre as PLGA NPs e as vesículas de membrana, validando o sucesso da biomimética.

Em modelos murinos de infeção por coronavírus, estas nanopartículas reduziram a formação de NETs induzidas por plasma de doentes com COVID-19, diminuíram a produção de IL-6 e TNF- α , e atenuaram a inflamação pulmonar.¹⁸⁹

Em conjunto, estas evidências pré-clínicas reforçam o potencial da nanotecnologia na modulação da resposta inflamatória na COVID-19. As estratégias inaláveis, como os nanodecoys e o nanoDEX, destacam-se pelo seu potencial translacional, tendo já demonstrado eficácia em primatas não humanos. Contudo, a transição para ensaios clínicos exige avaliação rigorosa da segurança imunológica, da biodistribuição e do metabolismo das nanopartículas, de forma a garantir a viabilidade destas terapias em contexto clínico.

8.3. Vacinação baseada em nanotecnologia

A pandemia da COVID-19 marcou um ponto de viragem na história da imunização, ao consolidar a nanotecnologia como base central no desenvolvimento de vacinas. As plataformas mais inovadoras e eficazes foram as LNPs, responsáveis pela viabilização das primeiras vacinas de mRNA aprovadas para uso humano. A BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) e a mRNA-1273 (Moderna) demonstraram eficácia superior a 90% na prevenção da infeção sintomática em ensaios clínicos de fase III, com perfis de segurança robustos e imunogenicidade elevada.^{9,10}

A **Figura 8.18** descreve a composição das LNPs utilizadas nesta área. No contexto da veiculação de mRNA, as LNPs desempenham funções críticas: protegem o mRNA da degradação enzimática, facilitam a internalização celular via endocitose e promovem a expressão transitória da proteína Spike, desencadeando respostas humorais e celulares. Esta versatilidade, aliada à rapidez de produção, permitiu respostas em tempo recorde à emergência sanitária.¹⁹⁰

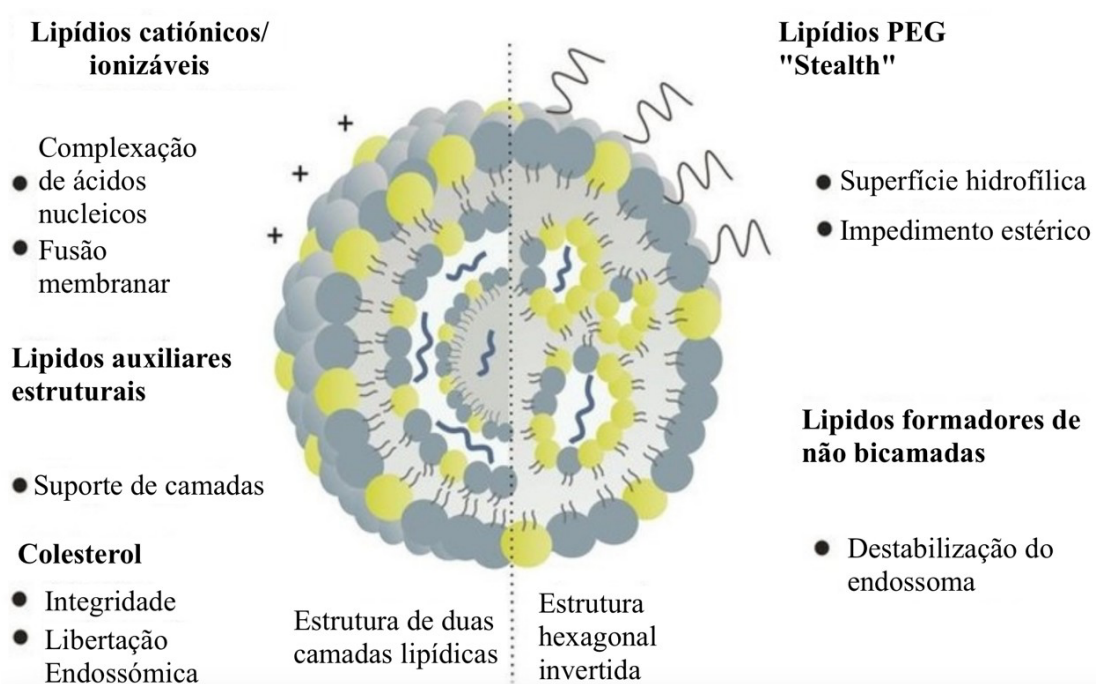


Figura 8.18. Estrutura esquemática de LNPs para veiculação de mRNA.

Adaptado de:¹⁹¹

Esta organização estrutural garante que o mRNA seja protegido contra degradação enzimática até à sua chegada ao citoplasma, onde será traduzido na proteína Spike, desencadeando a resposta imunitária. Assim, as LNPs representam não apenas um sistema de transporte, mas um componente crítico para a eficácia e segurança das vacinas de mRNA contra a COVID-19.¹⁹¹

Além das LNPs, surgiram vacinas baseadas em nanopartículas proteicas recombinantes, como a NVX-CoV2373 (Novavax), composta por trómeros da proteína Spike estabilizados, em associação ao adjuvante Matrix-M. Em ensaios clínicos de fase III, demonstrou eficácia de 89,7% contra COVID-19 sintomática, incluindo proteção contra variantes Alfa e Beta.¹⁹¹

Outra abordagem inovadora é a das nanopartículas proteicas auto-organizáveis, que exibem múltiplas cópias do domínio de ligação ao recetor (RBD) da proteína Spike. Esta estratégia potencia a densidade antigénica apresentada às células B, promovendo uma ativação mais robusta e sustentada da resposta imunitária. Enquanto o RBD isolado é reconhecido em número limitado, a formulação em nanopartículas multivalentes aumenta

significativamente a probabilidade de ligação cruzada entre recetores de células B e, consequentemente, a magnitude da resposta imunitária (**Figura 8.19**).¹⁹²

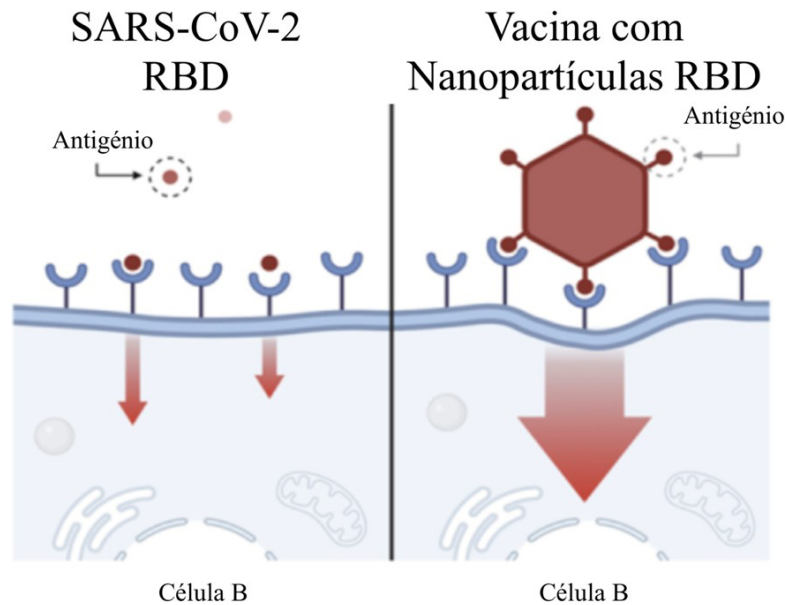


Figura 8.19. Comparação entre a apresentação antigénica do RBD isolado e em nanopartículas auto-organizáveis. Adaptado de:¹⁹²

Este desenho inovador demonstrou em modelos pré-clínicos (ratinhos e primatas não humanos) a indução de títulos de anticorpos neutralizantes mais elevados e respostas imunitárias mais duradouras, posicionando as nanopartículas auto-organizáveis como uma das plataformas mais promissoras para vacinas de nova geração contra SARS-CoV-2.¹⁹²

Do ponto de vista comparativo, os ensaios clínicos de fase III demonstraram que as vacinas de mRNA encapsulado em LNPs apresentaram eficácia superior a 90%, ligeiramente acima da vacina proteica recombinante NVX-CoV2373. Estes resultados estão representados na **Figura 8.20**, onde se observa que tanto a BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) como a mRNA-1273 (Moderna) atingiram valores próximos de 95% de eficácia inicial, enquanto a NVX-CoV2373 (Novavax) registou 89,7%.^{8,10}

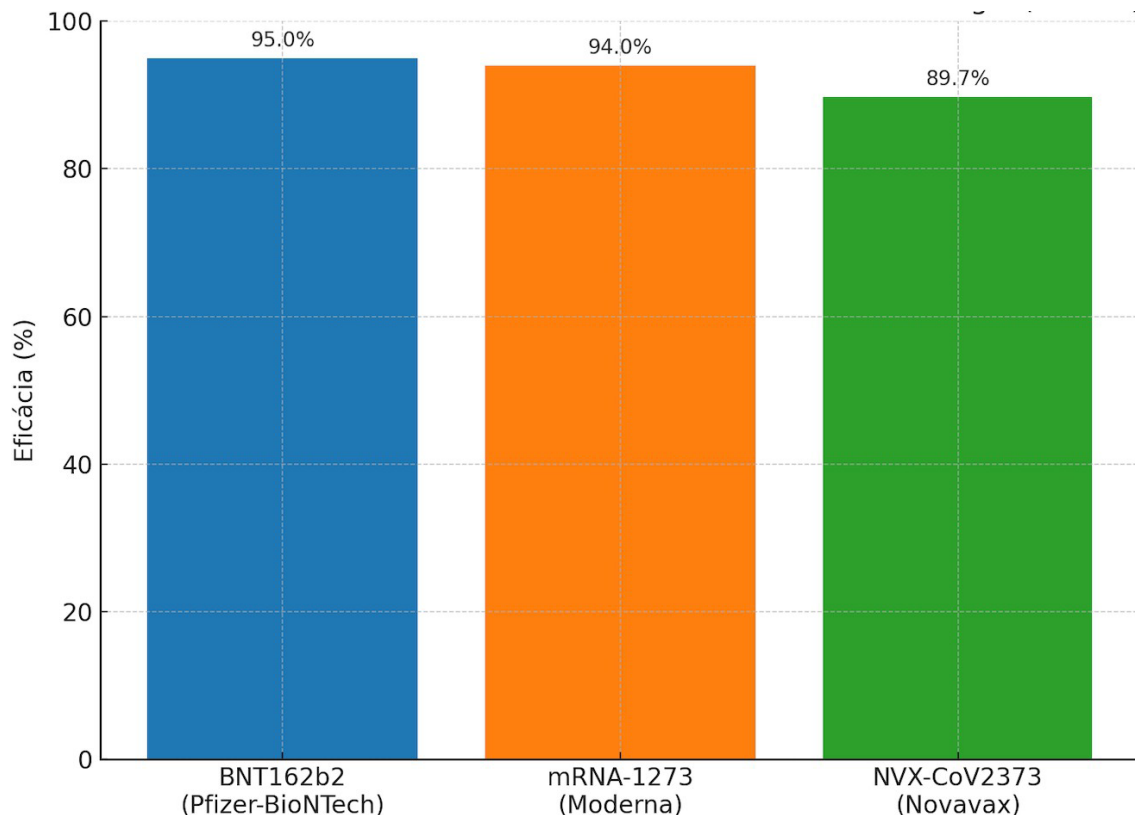


Figura 8.20. Eficácia das vacinas baseadas em nanotecnologia (Fase III).

No que respeita à resposta humoral, estudos longitudinais mostraram que as vacinas de mRNA induzem títulos iniciais de anticorpos neutralizantes mais elevados do que a NVX-CoV2373, embora todas apresentem declínio ao longo do tempo. A **Figura 8.21** evidencia esta dinâmica: tanto BNT162b2 como mRNA-1273 atingem picos de produção de anticorpos nas primeiras 4 semanas após a segunda dose, seguidos de uma queda gradual até aos 3 meses; já a NVX-CoV2373 mostra um pico mais baixo, mas uma manutenção ligeiramente mais estável ao longo do tempo.^{8,10,192}

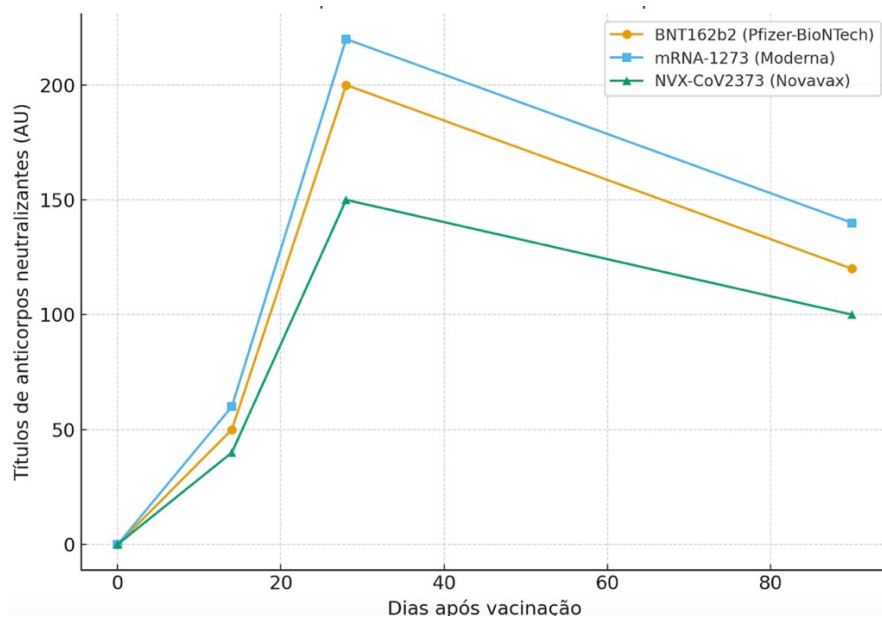


Figura 8.21. Anticorpos neutralizantes induzidos por diferentes vacinas. Evolução dos títulos médios ao longo do tempo para BNT162b2, mRNA-1273 e NVX-CoV2373.

Um exemplo inovador de vacinação baseada em nanotecnologia foi descrito por Zhang et al. (2023), que desenvolveram uma nanovacina mosaico inalável baseada em quitosano para apresentação simultânea de domínios de ligação ao recetor (RBDs) da proteína Spike de diferentes variantes do SARS-CoV-2. As nanopartículas obtidas apresentaram diâmetro médio entre 100–200 nm, índice de polidispersão $\approx 0,2$ e potencial zeta positivo moderado ($\sim +24$ mV), características associadas a boa estabilidade coloidal e interação com o muco e tecidos.^{193,194} A vacina foi administrada por via intranasal em ratinhos BALB/c, seguindo um regime de duas doses (*priming* seguido de *booster* ao dia 14). Os ensaios mostraram que a formulação mosaico induziu níveis elevados de IgA no lavado broncoalveolar e IgG sérica, além de títulos neutralizantes significativamente superiores contra várias variantes em comparação com vacinas monovalentes. Após desafio experimental com SARS-CoV-2, os animais vacinados apresentaram redução acentuada da carga viral nos pulmões e trato respiratório superior, confirmando a eficácia da abordagem mosaico.¹⁹⁴

Conforme ilustrado na **Figura 8.22**, a estratégia mosaico diferencia-se das vacinas em cocktail: enquanto na formulação “cocktail” cada nanopartícula transporta um único antígeno, a nanopartícula mosaico exibe RBDs múltiplos na mesma estrutura, permitindo a indução de resposta imunitária mais ampla e neutralização cruzada eficaz contra variantes emergentes do vírus.¹⁹⁴

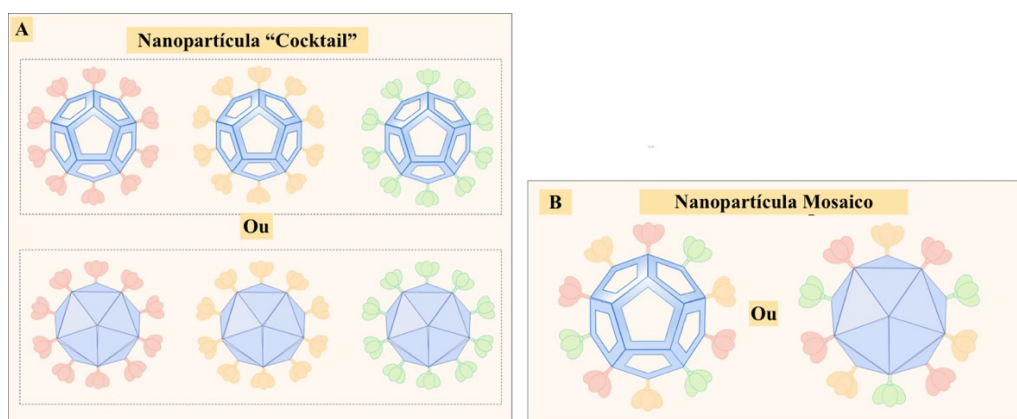


Figura 8.22. Estratégias de vacinação baseada em nanopartículas. (A) abordagem “cocktail”, em que diferentes nanopartículas transportam individualmente um único antígeno; (B) nanopartícula mosaico, que exibe múltiplos RBDs de diferentes variantes na mesma estrutura. Adaptado de: ¹⁹⁴

Para consolidar estas observações, a **Tabela 8.4** resume as principais vacinas baseadas em nanotecnologia, incluindo a sua plataforma, antígeno, estágio clínico e eficácia.

Tabela 8.4. Exemplos de vacinas contra COVID-19 baseadas em nanotecnologia. ^{192,195,196}

Plataforma	Exemplo	Tipo de antígeno	Estágio clínico	Eficácia reportada
LNPs (mRNA)	BNT162b2 (Pfizer-BioNTech)	mRNA da proteína Spike	Aprovada (Fase III concluída)	~95% eficácia inicial
LNPs (mRNA)	mRNA-1273 (Moderna)	mRNA da proteína Spike	Aprovada (Fase III concluída)	~94% eficácia inicial
Nanopartículas proteicas recombinantes	NVX-CoV2373 (Novavax)	Proteína Spike recombinante	Aprovada (Fase III concluída)	~89,7%
Nanopartículas proteicas auto-organizáveis	Spike-RBD NP (Walls et al.)	RBD multivalente	Pré-clínico	Potente neutralização
Nanopartículas mosaico	Mosaic-RBD NP	RBD de várias variantes	Pré-clínico	Anticorpos de largo espectro

LNPs – nanopartículas lipídicas (Lipid Nanoparticles); mRNA – RNA mensageiro (messenger Ribonucleic Acid); Spike – proteína de espícula do SARS-CoV-2; NP – nanopartícula (Nanoparticle); RBD – domínio de ligação ao recetor da proteína Spike (Receptor-Binding Domain).

As vacinas baseadas em nanotecnologia inauguraram uma nova era na imunização, com impacto histórico no combate à COVID-19. Para além das vacinas de mRNA, que mostraram elevada eficácia e escalabilidade, emergem vacinas recombinantes, auto-organizáveis e mosaico, que prometem superar a limitação da evasão imunológica das variantes. Os dados clínicos e pré-clínicos disponíveis confirmam que estas plataformas não só foram determinantes para o controlo da pandemia, como representam um caminho sólido para futuras vacinas universais.¹⁸³

9. Conclusão

Ao longo desta dissertação, foi explorado o papel multifacetado da nanotecnologia no desenvolvimento de soluções terapêuticas e profiláticas contra infecções virais, com particular foco na infecção provocada pelo SARS-CoV-2. A análise integrada permitiu evidenciar que a nanotecnologia, ao cruzar os domínios da ciência dos materiais, da biomedicina e da bioengenharia, oferece soluções inovadoras para alguns dos maiores desafios da medicina moderna.

Um dos contributos mais significativos da nanotecnologia reside na capacidade de reformular paradigmas farmacêuticos tradicionais. Com a ajuda de sistemas nanoestruturados, podemos criar formulações que permitam a libertação dos fármacos de forma controlada no organismo, aumentando a sua eficácia e reduzindo o risco de efeitos adversos. Isso permite que a terapêutica seja mais precisa e eficaz, especialmente em casos onde obter uma dose certa é fundamental. Além disso, a nanotecnologia proporciona maior estabilidade às substâncias ativas, reduzindo a necessidade de reformulações e melhorando a segurança geral. Em resumo, a nanotecnologia é uma extensão natural da evolução das formas farmacêuticas clássicas, que oferece soluções mais eficazes e seguras para o tratamento de doenças.

Durante o desenvolvimento deste trabalho, foram analisadas diversas plataformas nanotecnológicas com aplicação antiviral, cada uma com vantagens específicas. As nanopartículas lipídicas e poliméricas são capazes de encapsular moléculas hidrofóbicas ou hidrofílicas, o que é fundamental para o desenvolvimento de formulações eficazes. Além disso, essas nanopartículas podem atravessar barreiras biológicas complexas, como a mucosa pulmonar ou a barreira hematoencefálica, o que é crucial para o tratamento de doenças que afetam esses sistemas. Os peptídeos auto-organizáveis, por sua vez, permitem uma interação seletiva com alvos moleculares intracelulares, o que é essencial para o desenvolvimento de terapias específicas.

No campo da vacinação, a nanotecnologia permitiu um avanço disruptivo. As vacinas de mRNA contra a COVID-19, baseadas num nanossistema correspondente a nanopartículas lipídicas, demonstraram que é possível desenvolver e aprovar vacinas em tempo recorde,

mantendo elevados padrões de segurança e eficácia. Esta abordagem inovadora abriu caminho para uma nova era da imunoprofilaxia, onde vacinas podem ser rapidamente adaptadas a novas variantes virais, reforçando a capacidade de resposta global a pandemias.

A dimensão farmacêutica-regulatória também merece destaque. Embora as promessas tecnológicas sejam notórias, a tradução clínica dessas nanopartículas enfrenta desafios importantes, como a escalabilidade industrial, a validação reprodutível das formulações e o controlo rigoroso da farmacocinética e farmacodinâmica em humanos. Além disso, é necessário estabelecer marcos regulatórios específicos para produtos nanotecnológicos. Portanto, é essencial que haja um esforço conjunto entre centros de investigação, entidades reguladoras e indústria para garantir padrões de qualidade, eficácia e segurança.

Importa também sublinhar o impacto estratégico da nanotecnologia em países com menor acesso a tecnologias avançadas. As plataformas de produção modular e armazenamento mais eficiente das vacinas e terapias baseadas em nanotecnologia podem ser uma solução para este problema, permitindo que mais pessoas tenham acesso a tratamentos eficazes e seguros. Isso pode ajudar a reduzir as desigualdades em saúde pública e promover uma maior igualdade em termos de acesso a cuidados de saúde.

Esta dissertação procura também destacar o carácter transversal da nanotecnologia, que vai além de ser apenas uma ferramenta terapêutica. Ela é uma plataforma integradora que une diagnóstico, tratamento, monitorização e prevenção numa única abordagem. Os sistemas teranósticos, que conjugam agentes terapêuticos e de imagem, representam esse potencial unificador. Isso abre caminho para uma medicina personalizada baseada em dados em tempo real, onde a informação é recolhida e analisada em tempo real para informar as decisões de tratamento.

Ainda assim, é importante reconhecer que o avanço da nanotecnologia terapêutica e farmacêutica depende não só do progresso científico, mas também de uma visão ética e estratégica que promova o seu desenvolvimento responsável e acessível.

Assim, a nanotecnologia, ao permitir respostas terapêuticas mais eficazes, precisas e seguras, poderá redefinir os padrões da farmacoterapia antiviral e inaugurar uma nova era

de intervenções médicas inteligentes. O futuro da medicina será nano, e é importante que a próxima geração de investigadores, clínicos e farmacêuticos garanta que esse futuro seja não apenas tecnicamente exequível, mas verdadeiramente transformador para a saúde global.

Entre os sistemas abordados, é possível concluir que as nanopartículas lipídicas (LNPs) se encontram no estado mais avançado de desenvolvimento e avaliação clínica, uma vez que sustentam as vacinas de mRNA contra a COVID-19 já aprovadas e administradas a milhões de pessoas em todo o mundo. Em contraste, as nanopartículas poliméricas (como PLGA e quitosano) e as formulações baseadas em peptídeos auto-organizáveis encontram-se em fases pré-clínicas ou em ensaios clínicos iniciais, com resultados encorajadores, mas ainda longe de uma aprovação regulatória alargada.

Por outro lado, as nanopartículas metálicas e as nanopartículas mosaico representam abordagens altamente promissoras, sobretudo pelo seu potencial antiviral direto e pela capacidade de induzir imunidade cruzada contra variantes, respetivamente, mas permanecem numa fase essencialmente experimental. Assim, pode afirmar-se que, enquanto as LNPs já demonstraram impacto clínico e regulatório inequívoco, os restantes sistemas configuram plataformas emergentes que necessitam de validação translacional para consolidarem o seu papel na prática médica.

Referências Bibliográficas

1. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. Mar 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7
2. Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. May 16 2020;395(10236):1569-1578. doi:10.1016/s0140-6736(20)31022-9
3. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. Mar 2020;579(7798):265-269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3
4. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in china. *N Engl J Med*. Apr 30 2020;382(18):1708-1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032
5. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. Jun 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8
6. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of Covid-19 - final report. *N Engl J Med*. Nov 5 2020;383(19):1813-1826. doi:10.1056/NEJMoa2007764
7. Horby P, Lim WS, Emberson JR, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med*. Feb 25 2021;384(8):693-704. doi:10.1056/NEJMoa2021436
8. Prabhakar PK, Khurana N, Vyas M, et al. Aspects of nanotechnology for COVID-19 vaccine development and Its delivery applications. *Pharmaceutics*. Jan 30 2023;15(2)doi:10.3390/pharmaceutics15020451
9. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med*. Dec 31 2020;383(27):2603-2615. doi:10.1056/NEJMoa2034577
10. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med*. Feb 4 2021;384(5):403-416. doi:10.1056/NEJMoa2035389
11. Castellino F, Galli G, Del Giudice G, Rappuoli R. Generating memory with vaccination. *Eur J Immunol*. Aug 2009;39(8):2100-5. doi:10.1002/eji.200939550
12. Soares SR, da Silva Torres MK, Lima SS, et al. Antibody response to the SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in patients with different COVID-19 clinical profiles. *Viruses*. Mar 31 2023;15(4)doi:10.3390/v15040898
13. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. 2020/02/22/ 2020;395(10224):565-574. doi:https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8
14. V'Kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. Mar 2021;19(3):155-170. doi:10.1038/s41579-020-00468-6
15. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
16. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife*. Apr 2 2020;9doi:10.7554/eLife.57309

17. Neuman BW, Adair BD, Yoshioka C, et al. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *J Virol.* Aug 2006;80(16):7918-28. doi:10.1128/jvi.00645-06
18. Velozo A, Peixoto F. A importância da biologia molecular no diagnóstico do SARS-CoV-2 The importance of biology molecular on diagnosis of SARS-CoV-2. *RCMOS - Revista Científica Multidisciplinar O Saber.* 01/22 2024;1:157-164. doi:10.51473/rcmos.v1i1.2023.46
19. Velozo A, Peixoto F. A importância da Biologia Molecular no diagnóstico do SARS-CoV-2: The importance of Biology Molecular on diagnosis of SARS-CoV-2. *RCMOS - Revista Científica Multidisciplinar O Saber.* 03/22 2021;1:157-164. doi:10.51473/rcmos.v1i1.2023.46
20. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* Mar 13 2020;367(6483):1260-1263. doi:10.1126/science.abb2507
21. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J.* May 27 2019;16(1):69. doi:10.1186/s12985-019-1182-0
22. Nal B, Chan C, Kien F, et al. Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. *J Gen Virol.* May 2005;86(Pt 5):1423-1434. doi:10.1099/vir.0.80671-0
23. Zeng W, Liu G, Ma H, et al. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochem Biophys Res Commun.* Jun 30 2020;527(3):618-623. doi:10.1016/j.bbrc.2020.04.136
24. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, Function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell.* Apr 16 2020;181(2):281-292.e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058
25. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol.* Jul 2021;19(7):409-424. doi:10.1038/s41579-021-00573-0
26. Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, et al. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies. *Cell Host Microbe.* Mar 10 2021;29(3):463-476.e6. doi:10.1016/j.chom.2021.02.003
27. Shang J, Wan Y, Luo C, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* May 26 2020;117(21):11727-11734. doi:10.1073/pnas.2003138117
28. Safiabadi Tali SH, LeBlanc J, Sadiq Z, et al. Tools and techniques for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 detection. *Clinical Microbiology Reviews.* 05/12 2021;34doi:10.1128/CMR.00228-20
29. Romano M, Ruggiero A, Squeglia F, Maga G, Berisio R. A structural view of SARS-CoV-2 RNA replication machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. *Cells.* May 20 2020;9(5)doi:10.3390/cells9051267
30. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature.* Apr 2021;592(7854):438-443. doi:10.1038/s41586-021-03402-9
31. Plante JA, Liu Y, Liu J, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature.* Apr 2021;592(7852):116-121. doi:10.1038/s41586-020-2895-3
32. McCallum M, De Marco A, Lempp FA, et al. N-terminal domain antigenic mapping reveals a site of vulnerability for SARS-CoV-2. *Cell.* Apr 29 2021;184(9):2332-2347.e16. doi:10.1016/j.cell.2021.03.028

33. Liu Y, Rocklöv J. The reproductive number of the Delta variant of SARS-CoV-2 is far higher compared to the ancestral SARS-CoV-2 virus. *J Travel Med.* Oct 11 2021;28(7)doi:10.1093/jtm/taab124
34. Millet JK, Whittaker GR. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* Apr 16 2015;202:120-34. doi:10.1016/j.virusres.2014.11.021
35. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* Apr 16 2020;181(2):271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052
36. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *cell.* May 14 2020;181(4):914-921.e10. doi:10.1016/j.cell.2020.04.011
37. Klein S, Cortese M, Winter SL, et al. SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography. *Nat Commun.* Nov 18 2020;11(1):5885. doi:10.1038/s41467-020-19619-7
38. Snijder EJ, Limpens R, de Wilde AH, et al. A unifying structural and functional model of the coronavirus replication organelle: Tracking down RNA synthesis. *PLoS Biol.* Jun 2020;18(6):e3000715. doi:10.1371/journal.pbio.3000715
39. de Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host factors in Coronavirus replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2018;419:1-42. doi:10.1007/82_2017_25
40. Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nature Reviews Microbiology.* 2021/11/01 2021;19(11):685-700. doi:10.1038/s41579-021-00630-8
41. Morawska L, Milton DK. It Is Time to address airborne transmission of Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis.* Dec 3 2020;71(9):2311-2313. doi:10.1093/cid/ciaa939
42. Prather KA, Wang CC, Schooley RT. Reducing transmission of SARS-CoV-2. *science.* Jun 26 2020;368(6498):1422-1424. doi:10.1126/science.abc6197
43. Leung NHL, Chu DKW, Shiu EYC, et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med.* May 2020;26(5):676-680. doi:10.1038/s41591-020-0843-2
44. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* Apr 16 2020;382(16):1564-1567. doi:10.1056/NEJMc2004973
45. Aboubakr HA, Sharafeldin TA, Goyal SM. Stability of SARS-CoV-2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: A review. *Transbound Emerg Dis.* Mar 2021;68(2):296-312. doi:10.1111/tbed.13707
46. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, et al. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* Jan 2021;224(1):35-53.e3. doi:10.1016/j.ajog.2020.07.049
47. Zeng H, Xu C, Fan J, et al. Antibodies in infants born to mothers with COVID-19 pneumonia. *Jama.* May 12 2020;323(18):1848-1849. doi:10.1001/jama.2020.4861
48. Bertoglio F, Fühner V, Ruschig M, et al. A SARS-CoV-2 neutralizing antibody selected from COVID-19 patients binds to the ACE2-RBD interface and is tolerant to most known RBD mutations. *Cell Reports.* 2021/07/27/ 2021;36(4):109433. doi:https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109433
49. Wang C, Li W, Drabek D, et al. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* May 4 2020;11(1):2251. doi:10.1038/s41467-020-16256-y

50. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A Review. *Jama*. Aug 25 2020;324(8):782-793. doi:10.1001/jama.2020.12839
51. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science. *Immunity*. Jun 16 2020;52(6):910-941. doi:10.1016/j.immuni.2020.05.002
52. Louis TJ, Qasem A, Abdelli LS, Naser SA. Extra-Pulmonary complications in SARS-CoV-2 infection: a comprehensive multi organ-system review. *Microorganisms*. Jan 12 2022;10(1)doi:10.3390/microorganisms10010153
53. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell*. May 28 2020;181(5):1036-1045.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.04.026
54. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. Mar 28 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/s0140-6736(20)30566-3
55. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis*. Oct 2020;20(10):1135-1140. doi:10.1016/s1473-3099(20)30434-5
56. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. Feb 15 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/s0140-6736(20)30183-5
57. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. Aug 2020;277(8):2251-2261. doi:10.1007/s00405-020-05965-1
58. Ludvigsson JF. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr*. Jun 2020;109(6):1088-1095. doi:10.1111/apa.15270
59. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *Bmj*. May 22 2020;369:m1985. doi:10.1136/bmj.m1985
60. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. Apr 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/jth.14768
61. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *Bmj*. May 22 2020;369:m1966. doi:10.1136/bmj.m1966
62. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. Aug 2020;584(7821):430-436. doi:10.1038/s41586-020-2521-4
63. Sze S, Pan D, Nevill CR, et al. Ethnicity and clinical outcomes in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*. Dec 2020;29:100630. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100630
64. Millett GA, Jones AT, Benkeser D, et al. Assessing differential impacts of COVID-19 on black communities. *Ann Epidemiol*. Jul 2020;47:37-44. doi:10.1016/j.annepidem.2020.05.003
65. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. Jan 2020;25(3)doi:10.2807/1560-7917.Es.2020.25.3.2000045

66. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *Jama*. May 12 2020;323(18):1843-1844. doi:10.1001/jama.2020.3786
67. Sajal SMSA, Islam DZ, Khandker SS, et al. Strategies to overcome erroneous outcomes in reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) testing: insights from the COVID-19 pandemic. *Cureus*. 2024/11/03 2024;16(11):e72954. doi:10.7759/cureus.72954
68. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in false-negative rate of reverse transcriptase polymerase chain reaction-based SARS-CoV-2 tests by time since exposure. *Ann Intern Med*. Aug 18 2020;173(4):262-267. doi:10.7326/m20-1495
69. Lowe CF, Matic N, Ritchie G, et al. Detection of low levels of SARS-CoV-2 RNA from nasopharyngeal swabs using three commercial molecular assays. *J Clin Virol*. Jul 2020;128:104387. doi:10.1016/j.jcv.2020.104387
70. de Castilhos J, Zamir E, Hippchen T, et al. Severe dysbiosis and specific haemophilus and neisseria signatures as hallmarks of the oropharyngeal microbiome in critically ill coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. *Clin Infect Dis*. Aug 24 2022;75(1):e1063-e1071. doi:10.1093/cid/ciab902
71. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev*. Aug 26 2020;8(8):Cd013705. doi:10.1002/14651858.Cd013705
72. World Health O. *Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: interim guidance, 6 October 2021*. 2021. 2021. <https://iris.who.int/handle/10665/345948>
73. Murk W, Gierada M, Fralick M, Weckstein A, Klesh R, Rassen JA. Diagnosis-wide analysis of COVID-19 complications: an exposure-crossover study. *Cmaj*. Jan 4 2021;193(1):E10-e18. doi:10.1503/cmaj.201686
74. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect*. Dec 2020;9(1):747-756. doi:10.1080/22221751.2020.1745095
75. Kiltz U, Sfikakis PP, Gaffney K, et al. Secukinumab use in patients with moderate to severe psoriasis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis in real-world setting in europe: baseline data from SERENA study. *Adv Ther*. Jun 2020;37(6):2865-2883. doi:10.1007/s12325-020-01352-8
76. Rubin GD, Ryerson CJ, Haramati LB, et al. The role of chest imaging in patient management during the COVID-19 pandemic: a multinational consensus statement from the fleischner society. *Chest*. Jul 2020;158(1):106-116. doi:10.1016/j.chest.2020.04.003
77. Bernheim A, Mei X, Huang M, et al. Chest ct findings in coronavirus disease-19 (covid-19): relationship to duration of infection. *radiology*. Jun 2020;295(3):200463. doi:10.1148/radiol.2020200463
78. Prokop M, van Everdingen W, van Rees Vellinga T, et al. CO-RADS: a categorical ct assessment scheme for patients suspected of having covid-19-definition and evaluation. *Radiology*. Aug 2020;296(2):E97-e104. doi:10.1148/radiol.2020201473
79. Grillet F, Behr J, Calame P, Aubry S, Delabrousse E. Acute pulmonary embolism associated with covid-19 pneumonia detected with pulmonary ct angiography. *Radiology*. Sep 2020;296(3):E186-e188. doi:10.1148/radiol.2020201544
80. Volpicelli G, Elbarbary M, Blaivas M, et al. International evidence-based recommendations for point-of-care lung ultrasound. *Intensive Care Med*. Apr 2012;38(4):577-91. doi:10.1007/s00134-012-2513-4

81. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, et al. Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from coronavirus disease 2019 (covid-19). *JAMA Cardiol.* Nov 1 2020;5(11):1265-1273. doi:10.1001/jamacardio.2020.3557
82. Rodríguez-Alfonso B, Ruiz Solís S, Silva-Hernández L, Pintos Pascual I, Aguado Ibáñez S, Salas Antón C. (18)F-FDG-PET/CT in SARS-CoV-2 infection and its sequelae. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol (Engl Ed).* Sep-Oct 2021;40(5):299-309. doi:10.1016/j.remnie.2021.07.005
83. Revel MP, Parkar AP, Prosch H, et al. covid-19 patients and the radiology department - advice from the european society of radiology (esr) and the european society of thoracic imaging (esti). *Eur Radiol.* Sep 2020;30(9):4903-4909. doi:10.1007/s00330-020-06865-y
84. Han Q, Zheng B, Daines L, Sheikh A. long-term sequelae of covid-19: a systematic review and meta-analysis of one-year follow-up studies on post-covid symptoms. *pathogens.* Feb 19 2022;11(2)doi:10.3390/pathogens11020269
85. Caruso D, Zerunian M, Polici M, et al. chest ct features of covid-19 in rome, italy. *Radiology.* Aug 2020;296(2):E79-e85. doi:10.1148/radiol.2020201237
86. Harmon SA, Sanford TH, Xu S, et al. Artificial intelligence for the detection of COVID-19 pneumonia on chest CT using multinational datasets. *Nat Commun.* Aug 14 2020;11(1):4080. doi:10.1038/s41467-020-17971-2
87. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature.* May 2020;581(7807):221-224. doi:10.1038/s41586-020-2179-y
88. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2022/01/01 2022;23(1):3-20. doi:10.1038/s41580-021-00418-x
89. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science.* Aug 7 2020;369(6504):718-724. doi:10.1126/science.abc6027
90. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* Mar 28 2020;395(10229):1033-1034. doi:10.1016/s0140-6736(20)30628-0
91. Totura AL, Baric RS. SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol.* Jun 2012;2(3):264-75. doi:10.1016/j.coviro.2012.04.004
92. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* May 2 2020;395(10234):1417-1418. doi:10.1016/s0140-6736(20)30937-5
93. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in covid-19. *N Engl J Med.* Jul 9 2020;383(2):120-128. doi:10.1056/NEJMoa2015432
94. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med.* Oct 2020;26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9
95. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. targets of t cell responses to sars-cov-2 coronavirus in humans with covid-19 disease and unexposed individuals. *Cell.* Jun 25 2020;181(7):1489-1501.e15. doi:10.1016/j.cell.2020.05.015
96. Codo AC, Davanzo GG, Monteiro LB, et al. elevated glucose levels favor sars-cov-2 infection and monocyte response through a hif-1 α /glycolysis-dependent axis. *Cell Metab.* Sep 1 2020;32(3):437-446.e5. doi:10.1016/j.cmet.2020.07.007

97. Vellas C, Trémeaux P, Del Bello A, et al. Resistance mutations in SARS-CoV-2 omicron variant in patients treated with sotrovimab. *Clin Microbiol Infect.* Sep 2022;28(9):1297-1299. doi:10.1016/j.cmi.2022.05.002
98. Hammond J, Leister-Tebbe H, Gardner A, et al. oral nirmatrelvir for high-risk, nonhospitalized adults with covid-19. *N Engl J Med.* Apr 14 2022;386(15):1397-1408. doi:10.1056/NEJMoa2118542
99. Dryden-Peterson S, Kim A, Kim AY, et al. nirmatrelvir plus ritonavir for early covid-19 in a large u.s. health system : a population-based cohort study. *ann intern med.* Jan 2023;176(1):77-84. doi:10.7326/m22-2141
100. Marzolini C, Kuritzkes DR, Marra F, et al. recommendations for the management of drug-drug interactions between the covid-19 antiviral nirmatrelvir/ritonavir (paxlovid) and comedication. *Clin Pharmacol Ther.* Dec 2022;112(6):1191-1200. doi:10.1002/cpt.2646
101. Jayk Bernal A, Gomes da Silva MM, Musungaie DB, et al. molnupiravir for oral treatment of covid-19 in nonhospitalized patients. *N Engl J Med.* Feb 10 2022;386(6):509-520. doi:10.1056/NEJMoa2116044
102. Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, et al. Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol.* Sep 2021;28(9):740-746. doi:10.1038/s41594-021-00651-0
103. Spinner CD, Gottlieb RL, Criner GJ, et al. effect of remdesivir vs standard care on clinical status at 11 days in patients with moderate covid-19: a randomized clinical trial. *Jama.* Sep 15 2020;324(11):1048-1057. doi:10.1001/jama.2020.16349
104. Adamsick ML, Gandhi RG, Bidell MR, et al. Remdesivir in patients with acute or chronic kidney disease and covid-19. *J Am Soc Nephrol.* Jul 2020;31(7):1384-1386. doi:10.1681/asn.2020050589
105. Nobori H, Fukao K, Kuroda T, et al. Efficacy of ensitrelvir against SARS-CoV-2 in a delayed-treatment mouse model. *J Antimicrob Chemother.* Oct 28 2022;77(11):2984-2991. doi:10.1093/jac/dkac257
106. Cao Z, Gao W, Bao H, et al. Vv116 versus nirmatrelvir-ritonavir for oral treatment of covid-19. *N Engl J Med.* Feb 2 2023;388(5):406-417. doi:10.1056/NEJMoa2208822
107. Yotsuyanagi H, Ohmagari N, Doi Y, et al. Efficacy and safety of 5-day oral ensitrelvir for patients with mild to moderate covid-19: the scorpio-sr randomized clinical trial. *JAMA Netw Open.* Feb 5 2024;7(2):e2354991. doi:10.1001/jamanetworkopen.2023.54991
108. O'Brien MP, Forleo-Neto E, Musser BJ, et al. Subcutaneous regen-cov antibody combination to prevent covid-19. *N Engl J Med.* Sep 23 2021;385(13):1184-1195. doi:10.1056/NEJMoa2109682
109. Cameroni E, Bowen JE, Rosen LE, et al. Broadly neutralizing antibodies overcome SARS-CoV-2 Omicron antigenic shift. *Nature.* Feb 2022;602(7898):664-670. doi:10.1038/s41586-021-04386-2
110. Levin MJ, Ustianowski A, De Wit S, et al. intramuscular azd7442 (tixagevimab-cilgavimab) for prevention of covid-19. *N Engl J Med.* Jun 9 2022;386(23):2188-2200. doi:10.1056/NEJMoa2116620
111. Russell CD, Millar JE, Baillie JK. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *Lancet.* Feb 15 2020;395(10223):473-475. doi:10.1016/s0140-6736(20)30317-2
112. Salama C, Han J, Yau L, et al. Tocilizumab in patients hospitalized with covid-19 pneumonia. *N Engl J Med.* Jan 7 2021;384(1):20-30. doi:10.1056/NEJMoa2030340

113. Gordon AC, Mouncey PR, Al-Beidh F, et al. Interleukin-6 receptor antagonists in critically ill patients with covid-19. *N Engl J Med*. Apr 22 2021;384(16):1491-1502. doi:10.1056/NEJMoa2100433
114. Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, et al. Baricitinib plus remdesivir for hospitalized adults with covid-19. *N Engl J Med*. Mar 4 2021;384(9):795-807. doi:10.1056/NEJMoa2031994
115. Monk PD, Marsden RJ, Tear VJ, et al. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. Feb 2021;9(2):196-206. doi:10.1016/s2213-2600(20)30511-7
116. Lenze EJ, Mattar C, Zorumski CF, et al. Fluvoxamine vs placebo and clinical deterioration in outpatients with symptomatic covid-19: a randomized clinical trial. *Jama*. Dec 8 2020;324(22):2292-2300. doi:10.1001/jama.2020.22760
117. Reis G, Dos Santos Moreira-Silva EA, Silva DCM, et al. Effect of early treatment with fluvoxamine on risk of emergency care and hospitalisation among patients with COVID-19: the TOGETHER randomised, platform clinical trial. *Lancet Glob Health*. Jan 2022;10(1):e42-e51. doi:10.1016/s2214-109x(21)00448-4
118. Kim H, Manzi S, Gonzelez-Heydrich J, Picker J. Fluvoxamine for the treatment of COVID-19. *The Lancet Global Health*. 2022;10(3):e330. doi:10.1016/S2214-109X(22)00003-1
119. Zhao Q, Dai H, Liu X, et al. Helper t cells in idiopathic membranous nephropathy. *Front Immunol*. 2021;12:665629. doi:10.3389/fimmu.2021.665629
120. World Health O. *From emergency response to long-term COVID-19 disease management: sustaining gains made during the COVID-19 pandemic*. 2023. 2023. <https://iris.who.int/handle/10665/367420>
121. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, et al. Safety and efficacy of the chAdOx1 nCoV-19 vaccine (azd1222) against sars-cov-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in brazil, south africa, and the uk. *The Lancet*. 2021;397(10269):99-111. doi:10.1016/S0140-6736(20)32661-1
122. Andrews N, Stowe J, Kirsebom F, et al. Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *N Engl J Med*. Apr 21 2022;386(16):1532-1546. doi:10.1056/NEJMoa2119451
123. van Doremalen N, Purushotham JN, Schulz JE, et al. Intranasal ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 vaccination reduces viral shedding after SARS-CoV-2 D614G challenge in preclinical models. *Sci Transl Med*. Aug 18 2021;13(607)doi:10.1126/scitranslmed.abh0755
124. Larson HJ, Broniatowski DA. Volatility of vaccine confidence. *Science*. Mar 26 2021;371(6536):1289. doi:10.1126/science.abi6488
125. Haug N, Geyrhofer L, Londei A, et al. Ranking the effectiveness of worldwide COVID-19 government interventions. *Nat Hum Behav*. Dec 2020;4(12):1303-1312. doi:10.1038/s41562-020-01009-0
126. Brauner JM, Mindermann S, Sharma M, et al. Inferring the effectiveness of government interventions against COVID-19. *Science*. Feb 19 2021;371(6531)doi:10.1126/science.abd9338
127. Quilty BJ, Clifford S, Hellewell J, et al. Quarantine and testing strategies in contact tracing for SARS-CoV-2: a modelling study. *Lancet Public Health*. Mar 2021;6(3):e175-e183. doi:10.1016/s2468-2667(20)30308-x
128. Russell WA, Buckeridge DL. Effectiveness of quarantine and testing to prevent COVID-19 transmission from arriving travelers. *medRxiv*. 2021:2020.11.02.20224568. doi:10.1101/2020.11.02.20224568

129. Paltiel AD, Zheng A, Walensky RP. Assessment of SARS-CoV-2 Screening Strategies to Permit the Safe Reopening of College Campuses in the United States. *JAMA Netw Open*. Jul 1 2020;3(7):e2016818. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.16818
130. van der Linden S, Roozenbeek J, Compton J. Inoculating against fake news about covid-19. *Front Psychol*. 2020;11:566790. doi:10.3389/fpsyg.2020.566790
131. Viana R, Moyo S, Amoako DG, et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. *Nature*. Mar 2022;603(7902):679-686. doi:10.1038/s41586-022-04411-y
132. McMichael TM, Currie DW, Clark S, et al. Epidemiology of covid-19 in a long-term care facility in king county, washington. *N Engl J Med*. May 21 2020;382(21):2005-2011. doi:10.1056/NEJMoa2005412
133. Collie S, Champion J, Moultrie H, Bekker LG, Gray G. Effectiveness of bnt162b2 vaccine against omicron variant in south africa. *N Engl J Med*. Feb 3 2022;386(5):494-496. doi:10.1056/NEJMc2119270
134. Tartof SY, Slezak JM, Puzniak L, et al. Immunocompromise and durability of BNT162b2 vaccine against severe outcomes due to omicron and delta variants. *Lancet Respir Med*. Jul 2022;10(7):e61-e62. doi:10.1016/s2213-2600(22)00170-9
135. Tenforde MW, Self WH, Adams K, et al. Association between mrna vaccination and covid-19 hospitalization and disease severity. *Jama*. Nov 23 2021;326(20):2043-2054. doi:10.1001/jama.2021.19499
136. Chalkias S, Harper C, Vrbicky K, et al. A Bivalent Omicron-Containing Booster Vaccine against Covid-19. *N Engl J Med*. Oct 6 2022;387(14):1279-1291. doi:10.1056/NEJMoa2208343
137. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Rethinking next-generation vaccines for coronaviruses, influenzaviruses, and other respiratory viruses. *Cell Host Microbe*. Jan 11 2023;31(1):146-157. doi:10.1016/j.chom.2022.11.016
138. Sunagar R, Singh A, Kumar S. Sars-cov-2: immunity, challenges with current vaccines, and a novel perspective on mucosal vaccines. *vaccines (basel)*. Apr 15 2023;11(4)doi:10.3390/vaccines11040849
139. Boyoglu-Barnum S, Ellis D, Gillespie RA, et al. Quadrivalent influenza nanoparticle vaccines induce broad protection. *Nature*. Apr 2021;592(7855):623-628. doi:10.1038/s41586-021-03365-x
140. Deng S, Liang H, Chen P, et al. Viral vector vaccine development and application during the covid-19 pandemic. *Microorganisms*. 2022;10(7):1450.
141. Hou X, Zaks T, Langer R, Dong Y. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nature Reviews Materials*. 2021/12/01 2021;6(12):1078-1094. doi:10.1038/s41578-021-00358-0
142. Lavelle EC, Ward RW. Mucosal vaccines - fortifying the frontiers. *Nat Rev Immunol*. Apr 2022;22(4):236-250. doi:10.1038/s41577-021-00583-2
143. Jennewein MF, Schultz MD, Beaver S, et al. Intranasal replicon SARS-CoV-2 vaccine produces protective respiratory and systemic immunity and prevents viral transmission. *Mol Ther*. Jul 2 2025;33(7):3286-3306. doi:10.1016/j.ymthe.2025.04.007
144. Cheng M, Chai Y, Rong G, et al. Nanotechnology-based strategies for vaccine development: accelerating innovation and delivery. *Biomater Transl*. 2025;6(1):55-72. doi:10.12336/biomatertransl.2025.01.005
145. Wouters OJ, Shadlen KC, Salcher-Konrad M, et al. Challenges in ensuring global access to COVID-19 vaccines: production, affordability, allocation, and deployment. *Lancet*. Mar 13 2021;397(10278):1023-1034. doi:10.1016/s0140-6736(21)00306-8
146. Shadlen KC. technology transfer for production of covid-19 vaccines in latin america. In: Sun H, Sunder M, eds. *Intellectual Property, COVID-19 and the Next*

Pandemic: Diagnosing Problems, Developing Cures. Cambridge University Press; 2024:382-412.

147. Zhang Q, Honko A, Zhou J, et al. cellular nanosponges inhibit sars-cov-2 infectivity. *Nano Lett.* Jul 8 2020;20(7):5570-5574. doi:10.1021/acs.nanolett.0c02278

148. Weiss C, Carriere M, Fusco L, et al. Toward Nanotechnology-Enabled Approaches against the COVID-19 Pandemic. *ACS Nano.* Jun 23 2020;14(6):6383-6406. doi:10.1021/acsnano.0c03697

149. Ventola CL. The nanomedicine revolution: part 1: emerging concepts. *P t.* Sep 2012;37(9):512-25.

150. Joudeh N, Linke D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology.* 2022/06/07 2022;20(1):262. doi:10.1186/s12951-022-01477-8

151. Jackson LA, Anderson EJ, Roupheal NG, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *N Engl J Med.* Nov 12 2020;383(20):1920-1931. doi:10.1056/NEJMoa2022483

152. Kianfar E. magnetic nanoparticles in targeted drug delivery: a review. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism.* 06/17 2021;doi:10.1007/s10948-021-05932-9

153. Sportelli MC, Izzi M, Kukushkina EA, et al. can nanotechnology and materials science help the fight against sars-cov-2? *nanomaterials (basel).* Apr 21 2020;10(4)doi:10.3390/nano10040802

154. Raghunath A, Perumal E. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *Int J Antimicrob Agents.* Feb 2017;49(2):137-152. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.11.011

155. Seo G, Lee G, Kim MJ, et al. rapid detection of covid-19 causative virus (sars-cov-2) in human nasopharyngeal swab specimens using field-effect transistor-based biosensor. *ACS Nano.* Apr 28 2020;14(4):5135-5142. doi:10.1021/acsnano.0c02823

156. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* Apr 2018;17(4):261-279. doi:10.1038/nrd.2017.243

157. Yang KC, Lin JC, Tsai HH, Hsu CY, Shih V, Hu CJ. Nanotechnology advances in pathogen- and host-targeted antiviral delivery: multipronged therapeutic intervention for pandemic control. *Drug Deliv Transl Res.* Aug 2021;11(4):1420-1437. doi:10.1007/s13346-021-00965-y

158. Rana D, Prajapati A, Karunakaran B, et al. Recent advances in antiviral drug delivery strategies. *AAPS PharmSciTech.* Mar 4 2025;26(3):73. doi:10.1208/s12249-025-03053-3

159. Mukai H, Ogawa K, Kato N, Kawakami S. Recent advances in lipid nanoparticles for delivery of nucleic acid, mRNA, and gene editing-based therapeutics. *Drug Metab Pharmacokinet.* Jun 2022;44:100450. doi:10.1016/j.dmpk.2022.100450

160. Amiri F, Ziaei Chamgordani S, Ghourchian H. An in vitro study for reducing the cytotoxicity and dose dumping risk of remdesivir via entrapment in nanostructured lipid carriers. *Scientific Reports.* 2024/08/21 2024;14(1):19360. doi:10.1038/s41598-024-70003-7

161. Tulbah AS, Lee WH. Physicochemical characteristics and in vitro toxicity/anti-sars-cov-2 activity of favipiravir solid lipid nanoparticles (slns). *Pharmaceuticals (Basel).* Oct 19 2021;14(10)doi:10.3390/ph14101059

162. Idris A, Davis A, Supramaniam A, et al. A SARS-CoV-2 targeted siRNA-nanoparticle therapy for COVID-19. *Mol Ther.* Jul 7 2021;29(7):2219-2226. doi:10.1016/j.ymthe.2021.05.004

163. Patki M, Palekar S, Reznik S, Patel K. Self-injectable extended release formulation of Remdesivir (SelfExRem): A potential formulation alternative for COVID-19 treatment. *Int J Pharm.* Mar 15 2021;597:120329. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.120329
164. Yang J, Zeng H, Luo Y, et al. Recent applications of plga in drug delivery systems. *Polymers.* 2024;16(18):2606.
165. Shao L, Shen S, Liu H. Recent advances in PLGA micro/nanoparticle delivery systems as novel therapeutic approach for drug-resistant tuberculosis. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:941077. doi:10.3389/fbioe.2022.941077
166. Gutiérrez-Ruiz SC, Cortes H, González-Torres M, et al. Optimize the parameters for the synthesis by the ionic gelation technique, purification, and freeze-drying of chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles for biomedical purposes. *Journal of Biological Engineering.* 2024/01/25 2024;18(1):12. doi:10.1186/s13036-024-00403-w
167. Tabynov K, Solomadin M, Turebekov N, et al. An intranasal vaccine comprising SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain protein entrapped in mannose-conjugated chitosan nanoparticle provides protection in hamsters. *Sci Rep.* Jul 26 2023;13(1):12115. doi:10.1038/s41598-023-39402-0
168. Zhuo S-H, Wu J-J, Zhao L, Li W-H, Zhao Y-F, Li Y-M. A chitosan-mediated inhalable nanovaccine against SARS-CoV-2. *Nano Research.* 2022/05/01 2022;15(5):4191-4200. doi:10.1007/s12274-021-4012-9
169. Ricci-Junior E, Rosa AS, do Nascimento T, et al. Nanotechnology-driven strategy against sars-cov-2: pluronic fl27-based nanomicelles with or without atazanavir reduce viral replication in calu-3 cells. *Viruses.* 2025;17(4):518.
170. Gusdon AM, Faraday N, Aita JS, et al. Dendrimer nanotherapy for severe COVID-19 attenuates inflammation and neurological injury markers and improves outcomes in a phase2a clinical trial. *Science Translational Medicine.* 2022;14(654):eabo2652. doi:doi:10.1126/scitranslmed.abo2652
171. Zannella C, Chianese A, Monti A, et al. Sars-cov-2 fusion peptide conjugated to a tetravalent dendrimer selectively inhibits viral infection. *Pharmaceutics.* Dec 17 2023;15(12)doi:10.3390/pharmaceutics15122791
172. Palmieri V, De Maio F, De Spirito M, Papi M. Face masks and nanotechnology: Keep the blue side up. *Nano Today.* Apr 2021;37:101077. doi:10.1016/j.nantod.2021.101077
173. Imani SM, Ladouceur L, Marshall T, Maclachlan R, Soleymani L, Didar TF. Antimicrobial nanomaterials and coatings: current mechanisms and future perspectives to control the spread of viruses including sars-cov-2. *acs nano.* 2020;14(10):12341.
174. Jelen Ž, Kovač J, Rudolf R. Study of gold nanoparticles conjugated with sars-cov-2 s1 spike protein fragments. *Nanomaterials (Basel).* Jul 25 2023;13(15)doi:10.3390/nano13152160
175. Jeremiah SS, Miyakawa K, Morita T, Yamaoka Y, Ryo A. Potent antiviral effect of silver nanoparticles on SARS-CoV-2. *Biochem Biophys Res Commun.* Nov 26 2020;533(1):195-200. doi:10.1016/j.bbrc.2020.09.018
176. Wolfgruber S, Rieger J, Cardozo O, et al. Antiviral activity of zinc oxide nanoparticles against sars-cov-2. *Int J Mol Sci.* May 8 2023;24(9)doi:10.3390/ijms24098425
177. Verma DK, Kapoor S, Das S, Thakur KG. Potential inhibitors of sars-cov-2 main protease (m(pro)) identified from the library of fda-approved drugs using molecular docking studies. *Biomedicines.* Dec 29 2022;11(1)doi:10.3390/biomedicines11010085
178. Chaudhary KR, Kujur S, Singh K. Recent advances of nanotechnology in COVID 19: A critical review and future perspective. *OpenNano.* Jan 2023;9:100118. doi:10.1016/j.onano.2022.100118

179. Li Z, Zhang XQ, Ho W, et al. Lipid-polymer hybrid "particle-in-particle" nanostructure gene delivery platform explored for lyophilizable dna and mrna covid-19 vaccines. *Adv Funct Mater.* Oct 5 2022;32(40):2204462. doi:10.1002/adfm.202204462
180. Kong WH, Bae KH, Jo SD, Kim JS, Park TG. Cationic lipid-coated gold nanoparticles as efficient and non-cytotoxic intracellular siRNA delivery vehicles. *Pharm Res.* Feb 2012;29(2):362-74. doi:10.1007/s11095-011-0554-y
181. Mazrad ZAI, Lee CL, Zhang T, et al. Lipid-polyhydroxyalkanoate hybrid nanoparticles as sustainable platform for mrna delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2025/08/01/ 2025;213:114755. doi:https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2025.114755
182. Mohamed ASA, Abdelaziz AA, Abo-Kamar AM, Al-Madboly LA, El-Maradny YA, El-Fakharany EM. Multifunctional efficacy of the fabricated chitosan-coated silver nanoparticles as an antiviral agent against sars-cov-2: potent and safe mechanistic insights. *int j biol macromol.* Aug 2025;320(Pt 1):145623. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.145623
183. Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA. Nanoparticles for drug delivery to the lungs. *Trends Biotechnol.* Dec 2007;25(12):563-70. doi:10.1016/j.tibtech.2007.09.005
184. Paranjpe M, Müller-Goymann CC. Nanoparticle-mediated pulmonary drug delivery: a review. *Int J Mol Sci.* Apr 8 2014;15(4):5852-73. doi:10.3390/ijms15045852
185. Aksu M, Kumar P, Güttler T, et al. Nanobodies to multiple spike variants and inhalation of nanobody-containing aerosols neutralize SARS-CoV-2 in cell culture and hamsters. *Antiviral Research.* 2024/01/01/ 2024;221:105778. doi:https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023.105778
186. Lescure FX, Honda H, Fowler RA, et al. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* May 2021;9(5):522-532. doi:10.1016/s2213-2600(21)00099-0
187. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science.* May 1 2020;368(6490):473-474. doi:10.1126/science.abb8925
188. Rao L, Xia S, Xu W, et al. Decoy nanoparticles protect against COVID-19 by concurrently adsorbing viruses and inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Nov 3 2020;117(44):27141-27147. doi:10.1073/pnas.2014352117
189. Meng QF, Tai W, Tian M, et al. Inhalation delivery of dexamethasone with iSEND nanoparticles attenuates the COVID-19 cytokine storm in mice and nonhuman primates. *Sci Adv.* Jun 16 2023;9(24):eadg3277. doi:10.1126/sciadv.adg3277
190. Hou X, Zaks T, Langer R, Dong Y. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nature Reviews Materials.* 08/10 2021;6doi:10.1038/s41578-021-00358-0
191. Heath PT, Galiza EP, Baxter DN, et al. Safety and Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med.* Sep 23 2021;385(13):1172-1183. doi:10.1056/NEJMoa2107659
192. Walls AC, Fiala B, Schäfer A, et al. Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-COV-2. *Cell.* Nov 25 2020;183(5):1367-1382.e17. doi:10.1016/j.cell.2020.10.043
193. Zhang X, Wu S, Liu J, et al. A mosaic nanoparticle vaccine elicits potent mucosal immune response with significant cross-protection activity against multiple sars-cov-2 sublineages. *Adv Sci (Weinh).* Sep 2023;10(27):e2301034. doi:10.1002/advs.202301034
194. Wang E, Cohen AA, Caldera LF, et al. Designed mosaic nanoparticles enhance cross-reactive immune responses in mice. *Cell.* 2025/02/20/ 2025;188(4):1036-1050.e11. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.12.015

195. Saunders KO, Lee E, Parks R, et al. Neutralizing antibody vaccine for pandemic and pre-emergent coronaviruses. *Nature*. Jun 2021;594(7864):553-559. doi:10.1038/s41586-021-03594-0
196. Cohen AA, Keeffe JR, Schiepers A, et al. Mosaic sarbecovirus nanoparticles elicit cross-reactive responses in pre-vaccinated animals. *Cell*. Oct 3 2024;187(20):5554-5571.e19. doi:10.1016/j.cell.2024.07.052