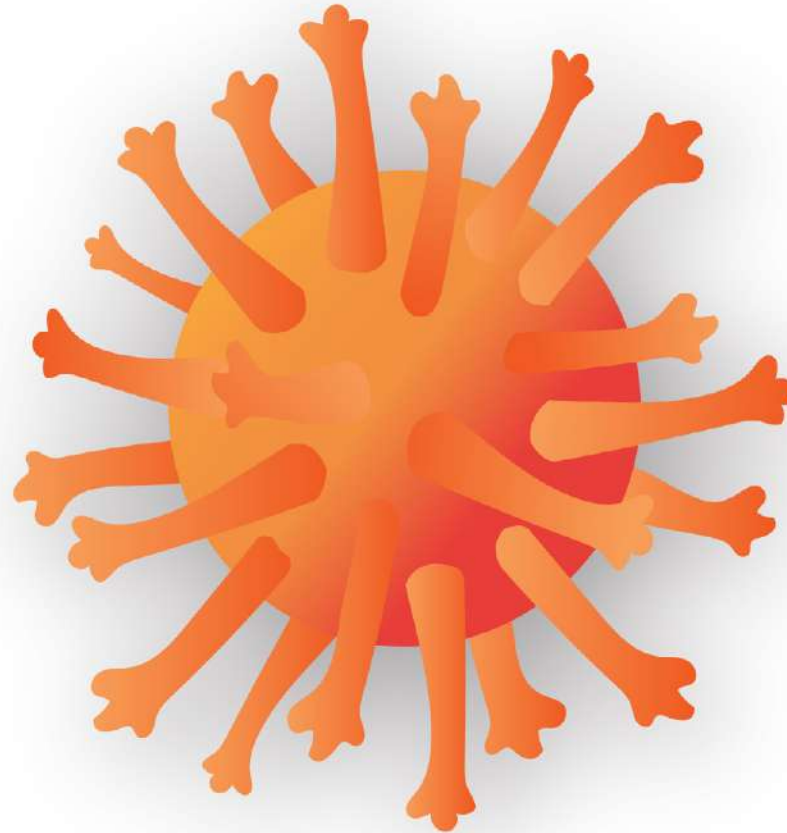
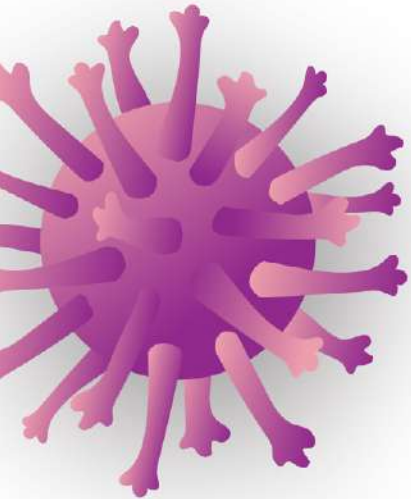
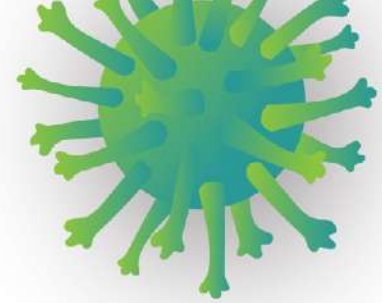


KORONAVIRUSI

životinja i ljudi



EVOLUCIJA I PATOGENOST VIRUSA I PREVENCIJA BOLESTI

Koordinacija izdanja: Margarida Duarte / Teresa Nogueira

LISTA PODATAKA:

Prvobitno objavljeno na portugalskom kao „Coronavirus dos animais e do Homem: evolução e patogenia do vírus e prevenção de doença, 2020“, sponzorisano od APBE - Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva (Portugalsko udruženje za evoluciju biologiju), Ingreme Post Production, Lda i INIAV - National Institute for Agrarian and Veterinarian Research (Nacionalni Institut za poljoprivredna i veterinarska istraživanja).

<https://projects.inia.pt/coronavirus/>

Prevod i adaptacija engleske verzije:: Sara Portela, Margarida Duarte, Teresa Nogueira, Ana Botelho, Sandra Cavaco, Ana Duarte, Patrícia Tavares, Rita Sousa.

Prevod i lektura srpske verzije: Bojan Kenig, Živana Rašković

Naučna revizija srpske verzije: Bojan Kenig, Tanja Adnađević, Sanja Vasić

KOORDINACIJA IZDANJA:

Margarida Duarte (INIAV - Nacionalni institut za poljoprivredna i veterinarska istraživanja, I.P.; Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA-FMV) (Centar za interdisciplinarna istraživanja zdravlja životinja), Medicinski fakultet, Uni-verzitet u Lisabonu);

Teresa Nogueira (INIAV - Nacionalni institut za poljoprivredna i veterinarska istraživanja, I.P.; ce3c, Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes (Centar za ekologiju, evoluciju i promene životne sredine), Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Lisabonu, Portugal).

AUTORI:

Margarida Duarte (INIAV I.P., CIISA-FMV); Teresa Nogueira (INIAV I.P., ce3c-FCUL); Ana Botelho, Sandra Cavaco (INIAV I.P.); Ana Duarte (FMV, ULisboa, CIISA-FMV); Patrícia T. Santos (General Directorate of Food and Veterinary (DGAV)); Rita de Sousa (National Institute of Health Dr Ricardo Jorge (INSA)); Sara Portela (NHS, Harrogate and District NHS Foundation Trust, UK)

GRAFIČKI DIZAJN I ILUSTRACIJA:

Celina Botelho

PREDGOVOR

Ovo je zaista sjajna knjiga! Dobro je napisana, naučno precizna, dobro organizovana i sa prelepim ilustracijama. Ali ono što je najupečatljivije jeste holistički pogled na patogenezu i ekologiju koronavirusa, koji veterinari, biolozi i lekari tako dobro uočavaju, jer je to u njihovoj prirodi: da razumeju zaraznu bolest kod različitih životinja, kao i njen dinamičan odnos sa ljudima.

Virusi su obligatni unutarćelijski paraziti, i kao takvi su koevoluirali sa drugim živim bićima od samih početaka života. Kada se pojave u novoj vrsti domaćinu, to nije rezultat spontane generacije, već toga što su preskočili barijeru vrsta sa drugog domaćina. Upravo se to dogodilo u trenutnoj pandemiji SARS-CoV-2, kada je virus, koji je verovatno potekao sa još uvek neidentifikovane vrste slepih miševa, prešao barijeru između vrsta. A sada je taj isti virus, SARS-CoV-2, prešao sa ljudi na nerčeve, kod kojih je još virulentniji. I tu se priča ne završava, jer je sa nerčeva ponovo zarazio ljude, i mi ne znamo da li će nerčevi omogućiti da se virus proširi na druge životinjske vrste. Sve je to priroda koja ide svojim tokom, sve je direktno ili indirektno povezano. Jedna od najvažnijih lekcija ove pandemije jeste da ljudska vrsta mora da poštuje prirodu.

Vratimo se na knjigu. U svetu u kojem je moguće putovanje kroz vreme mogu da zamislim sebe kako se oduševljam ovom knjigom kao srednjoškolac ili student, na isti način kao što sam se oduševio kao zreo naučnik i akademik. Ovo je knjiga za sve uzraste i za one koji su zainteresovani za pitanja zaraznih bolesti. Sigurno će profesori i akademici sa oduševljenjem preporučiti ovu knjigu kao što ja to činim sada.

Pedro Simas

ZAHVALNOST

Na razumevanju važnosti ovog projekta i poverenju u njega, veliko hvala sledećim organizacijama / telima koje su finansirale uređivanje ove knjige i koje su omogućile ovaj projekat: APBE - Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva (Portugalsko udruženje za evolucionu biologiju); INGREME Post Production, Lda.; INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (Nacionalni institut za poljoprivredna i veterinarska istraživanja), I.P.



Ova publikacija je zasnovana na radu COST akcije EuroScitizen - Nadogradnja naučne pismenosti u evoluciji ka naučno odgovornim Evropljanima (Building on scientific literacy in Evolution towards scientifically responsible Europeans), podržane od strane COST (European Cooperation in Science and Technology).

COST (European Cooperation in Science and Technology) je agencija za finansiranje istraživanja i inovacionih mreža. Njihove akcije pomažu povezivanju istraživačkih inicijativa širom Evrope i omogućavaju naučnicima da razviju svoje ideje deleći ih sa svojim kolegama. Ove akcije osnažuju njihovo istraživanje, karijeru i inovacije.

www.cost.eu



Funded by the Horizon 2020 Framework Programme of the European Union



Ovo delo se deli pod licencom Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

UVOD

Najnoviji otkriveni humani koronavirus, teški akutni respiratorni sindrom - koronavirus (SARS-CoV-2), zasigurno je najpoznatiji koronavirus od svih, jer se smatra uspešnim osvajačem. Prvi put identifikovan krajem 2019. godine, stvorio je trenutnu pandemiju koronavirusne bolesti kovid 19 (COVID-19) kada se proširio po celoj planeti za samo nekoliko meseci. Kao i neki drugi članovi iste porodice virusa, SARS-CoV-2 mogu da zaraze različite tipove ljudskih ćelija, međutim, epitel pluća i grkljan su glavne mete, i zbog toga pre svega izaziva respiratorne infekcije. Smrtnost povezana sa kovidom 19 i njegov uticaj na zdravlje, obrazovanje, ekonomiju i individualno i društveno blagostanje, trenutno su razlog zabrinutosti celog sveta. Zabrinutost nije izazvana samo direktnim uticajima samog oboljenja, već i merama kontrole pandemije nametnutim od strane vlada zemalja čitavog sveta, kao što je obavezna izolacija. Još uvek tražimo način za prilagođavanje novom načinu života sa do sada nepoznatim virusom. Međutim, čovek i različite životinjske vrste već dugo žive sa drugim koronavirusima, od kojih su mnogi nepoznati većini ljudi, neki prilično bezopasni, dok su drugi potencijalno smrtonosni. U tom smislu, ova situacija nije ništa drugačija.

Ova knjiga ima za cilj da na jednostavan i pristupačan način prikupi i proširi informacije o poreklu, evoluciji i patogenezi životinjskih i ljudskih koronavirusa, i da na taj način razjasni sumnje i strahove čitalaca kao i da pruži obrazloženja koja su u osnovi aktivnosti sprečavanja prenosa.

Glavni tekst praćen je dvema vrstama dodatnih informacija za neobavezno informisanje: detaljnijim informacijama o nekima od pomenutih koncepata (saznajte više), kao i setom pitanja i odgovora, koji pružaju čitaocu priliku da razjasni nedoumice u vezi sa sadržajem svakog odeljka. Za pripremu ove knjige računali smo na saradnju tehničara, istraživača i akademskih radnika u oblastima mikrobiologije, epidemiologije, zdravlja životinja i javnog zdravlja. Tokom procesa produkcije i uređivanja knjige, stvorena je i društvena igra s kartama (Beat Corona – Pobedite koronu). Ona dalje istražuje neke koncepte pomenute ovoj knjizi, ponašanja povezana sa životom u društvu i njihove implikacije na prenos bolesti izazvanih koronavirusima, uključujući kovid 19. Ova igra se može koristiti kao pedagoški resurs u školskom kontekstu ili kao puka aktivnost koja povezuje razonodu i učenje.

CILJNA PUBLIKA

Ova knjiga može da se koristi kao pomoćni materijal za srednje obrazovanje u oblastima prirodnih nauka i biologije. Obuhvata sledeće teme: ćelijska biologija, genetika, evolucija, mikrobiologija, patogeni, principi imunologije, prenos bolesti i kontrola infekcije.

Takođe se može koristiti na višim nivoima obrazovanja u oblastima medicine, veterine, biologije, zoologije, biomedicinskih nauka, farmacije, stomatologije, bolničke službe, fizioterapije, pedagogije, itd.

SADRŽAJ

1. KORONAVIRUSI	7
1.1 OTKRIVANJE KORONAVIRUSA	7
1.2. ZAŠTO SU IH NAZVALI KORONAVIRUSIMA? MORFOLOGIJA I TAKSONOMIJA KORONAVIRUSA	7
1.3. OD ČEGA SE SASTOJE KORONAVIRUSI?	9
1.4. GDE I KAKO SE KORONAVIRUSI UMNOŽAVAJU?	10
2. INFEKCIJA KORONAVIRUSOM	13
2.1. SPOSOBNOST KORONAVIRUSA DA EVOLUIRA	13
2.2. SPOSOBNOST KORONAVIRUSA DA ZARAZI NOVU VRSTU - PRESKAKANJE BARIJERE VRSTA	16
2.3. BOLESTI ŽIVOTINJA I LJUDI POVEZANE S KORONAVIRUSIMA	17
2.4. KORONAVIRUSI I ZDRAVSTVENI PRISTUP JEDNO ZDRAVLJE	24
2.5. PRENOS SARS-CoV-2	24
2.6. KLINIČKI ZNACI I SIMPTOMI INFEKCIJE SARS-CoV-2	26
2.7. UTICAJ KOVIDA 19 NA JAVNO ZDRAVLJE	27
3. DIJAGNOSTIKA I PREVENTIVNE MERE VEZANE ZA BOLESTI IZAZVANE KORONAVIRUSOM	31
3.1. MOLEKULARNA DIJAGNOZA INFEKCIJA KORONAVIRUSOM	32
3.2. SEROLOŠKA ISPITIVANJA KORONAVIRUSA	33
3.3. MERE ZA SPREČAVANJE BOLESTI KOJE UZROKUJU KORONAVIRUSI	36
3.3.1. Društveno distanciranje, respiratorni bonton i karantin	36
3.3.2. Vakcine	40
4. KORONAVIRUSI U SVETU	44
5. ŠTA SADA?	45
6. REČNIK	48
7. REFERENCE	50
8. PREPORUČENA BIBLIOGRAFIJA	54



1. KORONAVIRUSI

1.1. OTKRIVANJE KORONAVIRUSA

Na osnovu nedavnih studija molekularne evolucije procenjuje se da se zajednički predak svih sadašnjih koronavirusa pojavio pre 293 miliona godina¹. Međutim, prvi zabeleženi klinički slučaj infekcije koronavirusom datira s početka 20. veka. Taj slučaj uključuje mačku kod koje su se javile groznica i izražena nadutost stomaka, dok je mnogo kasnije kao uzročnik identifikovan mačji koronavirus. Veza određenih enzootskih bolesti (tj. onih koje se održavaju u životinjskoj populaciji u određenom geografskom regionu) i koronavirusa utvrđena je tek 1930-ih, identifikovanjem respiratorne bolesti ptičjeg infektivnog bronhitisa kod domaćih kokošaka².

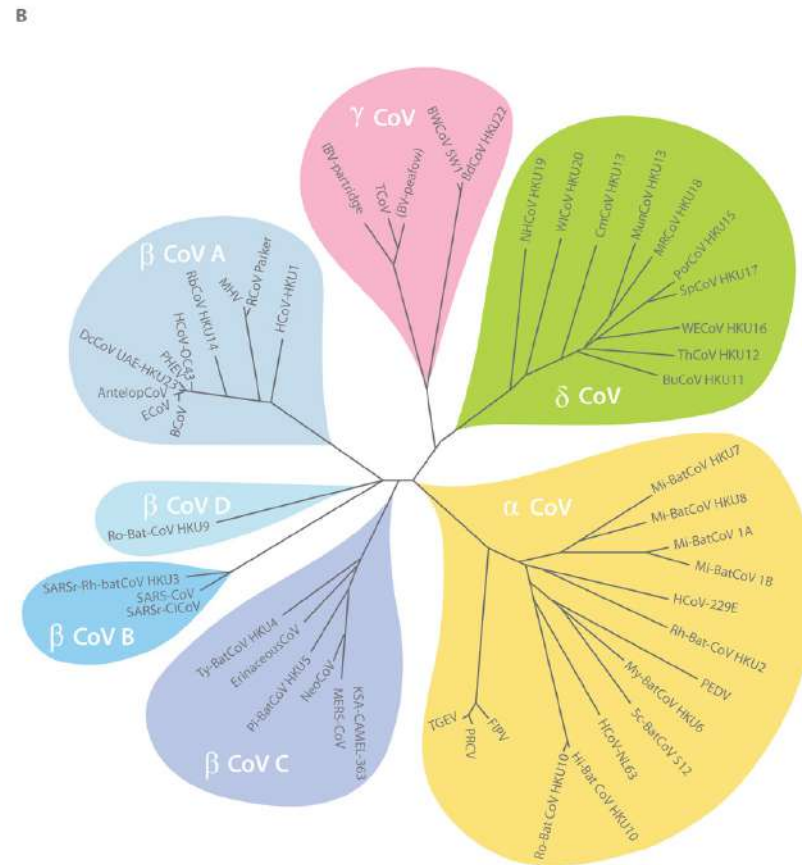
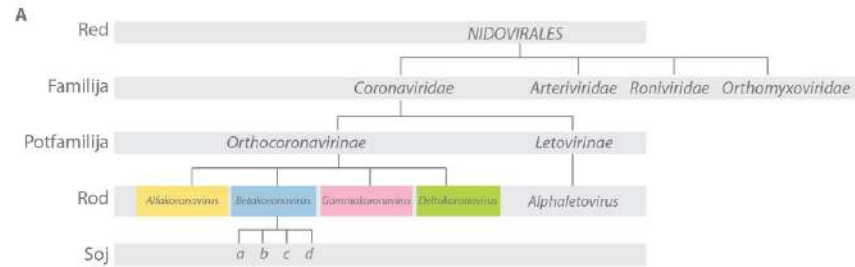
Dakle, koronavirusi su samo u početku bili povezani sa enzootskim infekcijama ograničenim na njihove prirodne životinjske domaćine (npr. prenosivi gastroenteritis kod svinja ili infektivni peritonitis kod mačaka). Koronavirusi koji zaraze samo životinjske vrste cirkulišu u odgovarajućim domaćim ili divljim populacijama i prenose se sa zaraženih na životinje podložne infekciji. Mnogi od ovih koronavirusa ne predstavljaju nikakvu pretnju za čoveka. Uprkos činjenici da su koronavirusi uvek koegzistirali sa životinjama i ljudima, tek šezdesetih godina dvadesetog veka su bili povezani sa prehladama i blagom dijarejom koji svake godine pogađaju milione ljudi širom sveta. U to vreme su ih prepoznali i okarakterisali elektronskom mikroskopijom^{3,4}.

1.2. ZAŠTO SU IH NAZVALI KORONAVIRUSIMA? MORFOLOGIJA I TAKSONOMIJA KORONAVIRUSA

Razvoj tehnika elektronske mikroskopije omogućio je posmatranje strukture koronavirusa prvi put 1965. godine. Slike su otkrile vrlo prepoznatljivu morfologiju nalik kruni (*corona* = kruna) i zbog toga su ih često nazivali koronavirusi. Šiljci koji im daju ovaj jedinstveni izgled formiraju virusni proteini nazvani S proteini (S je od engl. *spikes* - šiljci), a koji imaju presudnu ulogu u prepoznavanju i vezivanju virusa za ćelije domaćina, bilo životinjskih ili ljudskih. Različiti koronavirusi variraju u veličini, između 80 i 220 nm, čime spadaju u neke od najvećih poznatih virusa sa omotačem. Oni su, bez obzira na to, oko hiljadu puta manji od debljine ljudske dlake.

Prema pravilima taksonomije (naučna oblast koja organizuje i klasifikuje žive organizme), familija *Coronaviridae* je svrstana u red Nidovirales⁵.

Familija *Coronaviridae* uključuje potfamilije *Letovirinae* i *Orthocoronavirinae*. Prva uključuje rod *Alphaletovirus*, a druga rodove *Alphacoronavirus*, *Beta-coronavirus*, *Deltacoronavirus* i *Gammacoronavirus*. Svi koronavirusi su identifikovani i klasifikovani prema genetičkim i antigenskim kriterijumima. Samo za sedam je poznato da zaražavaju ljude. Slika 1 prikazuje filogenetske odnose između alfa, beta, gama i delta koronavirusa.



Slika 1 - Filogenetska klasifikacija koronavirusa (filogenetsko stablo zasnovano na delimičnim sekvencama RNK-zavisne RNK polimeraze (RdRP) 50 koronavirusa). Prilagođeno iz Fenner i White 2012¹⁰.



Familija *Coronaviridae* (koja pripada redu *Nidovirales*, podred *Cornidovirineae*) jedna je od oko 170 familija virusa koje trenutno priznaje Međunarodni komitet za taksonomiju virusa (Izdanje 2019) i uključuje potfamilije *Orthocoronavirinae* i *Letovirinae*¹.



Genetički materijal koronavirusa sastoji se od nesegmentirane ribonukleinske kiseline (RNK) (tj. sastoji se od samo jednog molekula RNK po virusnoj čestici). Virusna RNK je jednolančana i pozitivna, što znači da je sama po sebi potencijalno zarazna. RNK na svom 5' kraju ima strukturu kapice, a na 3' kraju poli A rep, što joj daje stabilnost i produžava životni vek. Koronavirusi imaju jedan od najvećih poznatih virusnih RNK genoma, dužine od 27.000 do 32.000 nukleotida (revidirano od strane Modrow et al., 2013²). Ovaj genom je tri puta veći od genoma virusa humane imunodeficijencije (HIV) i virusa hepatitisa C, i dva puta od genoma virusa gripa. Proteini S i HE, koji su na površini virusne čestice, glavna su meta imunološkog sistema vrste domaćina. U stvari, ovi proteini su imunogeni, odnosno oni indukuju imunološki odgovor domaćina, pri čemu je protein S dominantni antigen i glavni induktor proizvodnje neutralizujućih antitela (koja inaktiviraju virus)



Kako se virusi vide i mere?

Većina virusa, poput koronavirusa, može se videti samo pod elektronskim mikroskopom sa uvećanjem snage 10.000.000 puta. Virusi se mere u nanometrima (nm), pri čemu je 1 nm jednak 0,000000001 metra (m). SARS-CoV-2, virus koji izaziva kovid 19, ima prečnik oko 100 nm (0,0000001 m).

Šta su RNK i DNK?

Ribonukleinska kiselina (RNK) i deoksiribonukleinska kiselina (DNK) su makromolekuli koji nose genetička uputstva. U svakom živom organizmu ovaj genetički materijal skladišti informacije koje ga karakterišu. U organizmima koji se polno razmnožavaju, deo ovih informacija prenosi se na potomstvo, dok se u organizmima koji se bespolno razmnožavaju, poput bakterija i virusa, na potomstvo prenosi čitava informacija. Za razliku od životinja i biljaka, čiji se genetički materijal sastoji od dvolančane DNK (dsDNA), postoji velika raznolikost u tipu virusnih genoma, uključujući dvolančanu (dsDNA), jednolančanu (ssDNA), linearnu ili kružnu DNK, kao i dvolančanu (dsRNA) ili jednolančanu (ssRNA) RNK, jer virusi takođe mogu kao genetički materijal imati i ribonukleinsku kiselinu (RNA). Virusi mogu imati jedinstveni ili segmentirani genom.

1.3. OD ČEGA SE SASTOJE KORONAVIRUSI?

Virusi se u osnovi sastoje od genetičkog materijala - nukleinskih kiselina koje mogu biti DNK (dezoksiribonukleinska kiselina) ili RNK (ribonukleinska kiselina), koje sadrže sve informacije o stvaranju novih virusa, okružene zaštitnom štitom visoko otpornog proteina, koji se naziva kapsid. Nukleinska kiselina i kapsid čine nukleokapsid. Virusi sa samo ove dve komponente smatraju se „golim“ i mogu dugo ostati netaknuti u životnoj sredini s obzirom na otpornost kapsida na spoljne uticaje. Genetički materijal koronavirusa sastoji se od jednolančane RNK (ssRNA). Takođe, oni imaju dodatnu spoljašnju strukturu sastavljenu od lipida - omotač, što ih čini osjetljivijim na spoljašnje sredinske faktore. Ovaj spoljašnji omotač potiče iz ćelije domaćina u kojoj se virusi repliciraju (Slika 2).

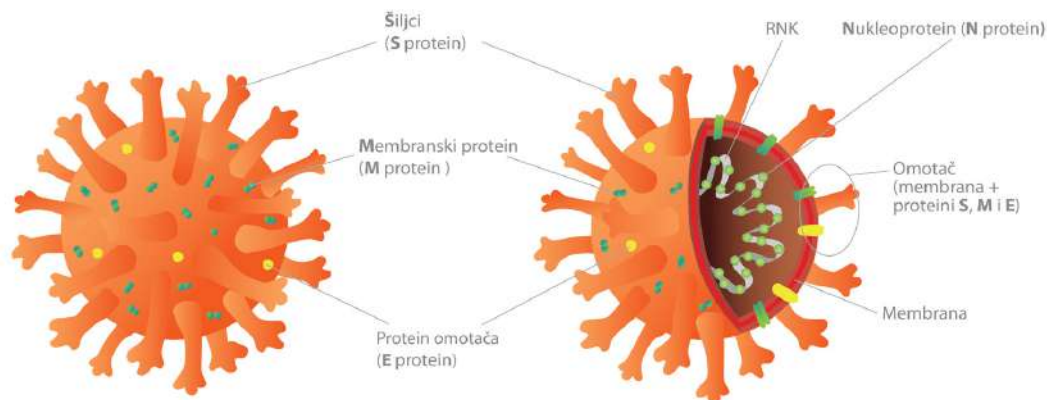
U koronavirusu se na površinu omotača ugrađuje nekoliko virusnih proteina, uključujući S proteine (od engl. *spike* - šiljak), M proteine (od engl. *matrix* - milje, medijum) i E proteine (od engl. *envelope* - omotač). Ovi proteini su uključeni u različite faze replikativnog ciklusa virusa, naime u sakupljanju viriona (slobodnih virusnih čestica), u formiranju omotača i u virusnoj patogeneziji⁷.

Neki koronavirusi, poput HCoV-HKU19 i HCoV-OC43, takođe imaju HE protein (od hemaglutinin esteraza) koji nije prisutan u SARS-CoV-2, kovid 19 (bolest koronavirusa 2019). Proteini S i HE su neophodni za vezivanje virusa za ciljnu ćeliju domaćina (Slika 3), što je osnovni korak za pojavu infekcije. Kada se osetljivi virusni omotač ošteti dejstvom sredstava koja rastvaraju masti, receptori ciljnih ćelija više ne prepoznaju koronavirus i ne dolazi do fuzije sa ćelijskom membranom, čime se sprečava unutarćelijska replikacija virusa.

Osetljivost virusa sa omotačem, uključujući i koronavirus, može se iskoristiti za efikasno neutralisanje virusa upotrebom deterdženata i 70% alkoholnih rastvora, kao što su sredstva za dezinfekciju ruku i površina.

1.4. GDE I KAKO SE KORONAVIRUSI UMNOŽAVAJU?

Kao i svi drugi virusi, i koronavirusi su unutarćelijski paraziti koji zavise od domaćina da bi se umnožavali. Po ulasku u ciljnu ćeliju, oni koriste ćelijsku mašineriju za proizvodnju novih virusnih čestica koje se oslobađaju i koje zatim mogu da zaraze druge zdrave ćelije, čime ponovo pokreću ciklus umnožavanja. Generalno, domaćin nema koristi od ove infekcije, već trpi oštećenja sa razvojem novonastalog virusnog oboljenja. Tokom trajanja infekcije, obim fizioloških povreda i prezentacija simptoma zavise od nekoliko faktora, uklju-



Slika 2 - Šematski prikaz koronavirusa.



Kada se nađe u ćeliji, virusni genom se replicira i virusni geni se ekspimiraju (transkribuju i prevode) pomoću molekularne mašinerije žive ćelije. Tada mogu započeti biološki procesi neophodni za proizvodnju virusnog potomstva. U koronavirusima se sinteza novih viriona (ili virusnih čestica) odvija unutar membranskog sistema ćelije – endoplazmatičnog retikuluma i Goldžijevog aparata - a zatim se prosleđuje ka spoljašnjosti ćelije (Slika 2)³.



Virusna RNK koronavirusa je jednonlačana sa pozitivnim polaritetom. Stoga, ako se pomoću veštačkih fizičkih ili hemijskih procesa (što se naziva transfekcija) virusna nukleinska kiselina stavi u osetljivu ćeliju, replikativni ciklus započinje proizvodnjom zaraznih virusa (revidirano od strane Modrow et al, 2013²).



S proteini se skupljaju u trimere, formirajući strukturu nalik cvetu lile. Osnova stabljike cveta ubacuje se u omotač virusa, a cvet se izbacuje ka spoljašnjosti. Nedavno je otkriveno postojanje 3 zglobne zone duž trimera (stopalo, koleno i kuk). To daje S proteinu veću fleksibilnost što favorizuje prepoznavanje ćelijskih receptora⁴.

čujući odgovor domaćina na infekciju virusom. Međutim, virus može da nastavi replikaciju i da se održi isključivo u živom domaćinu i, prema tome, takođe zavisi od njegovog preživljavanja. Stoga je potencijal za prenos uglavnom povezan sa niskom virulencijom. Zbog toga virusi nisu naročito smrtonosni, već uzrokuju blage ili supkliničke infekcije (bez simptoma, tj. asimptomatske), kao što je slučaj sa prehladom. Niska virulencija je sama po sebi adaptivna prednost koronavirusa: parazit ne žrtvuje svog domaćina, promovišući na taj način replikaciju i umnožavanje velikih razmera. Međutim, novi SARS-CoV-2 koronavirus pokazao se agresivnijim od ostalih poznatih koronavirusa, verovatno zato što još uvek nije prilagođen svom novom ljudskom domaćinu. Isto se dogodilo sa SARS-CoV (koronavirus povezan sa teškim akutnim respiratornim sindromom) i MERS-CoV (koronavirus povezan sa respiratornim sindromom Bliskog istoka).

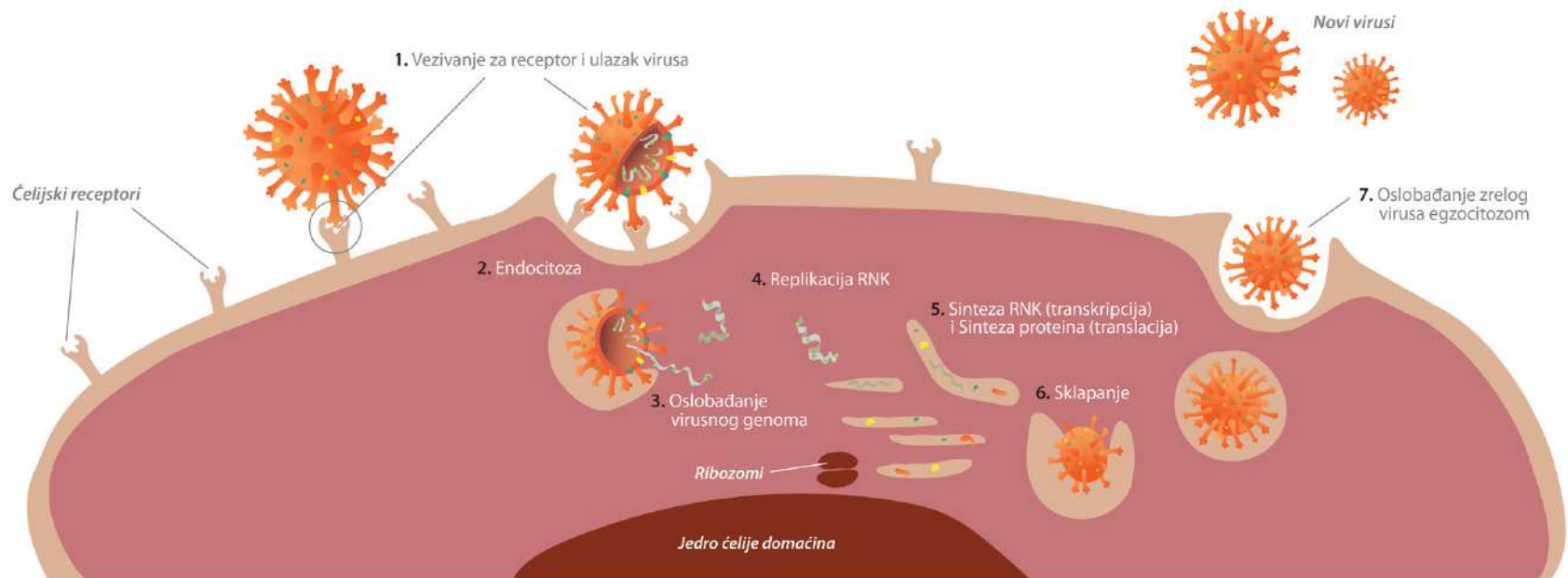
Ciklus replikacije virusa započinje kada specifični receptori na površini ćelije domaćina prepoznaju S i HE proteine virusnog omotača (ukoliko su prisutni, kao u slučaju nekih beta koronavirusa, ali ne i kod SARS-CoV-2) (Slika 3).

Na primer, virus SARS-CoV-2 prepoznaje kompatibilni ćelijski receptor koji se nalazi u plućima, krvnim sudovima, srcu i bubrezima. Ovaj receptor, angiotenzin konvertujući enzim 2 (ACE-2), deluje kao „brava“ ćelije, koju prepoznaje „ključ“ virusa, S protein. Ne postoje „vrata“ za ulazak u ćeliju, pa se virus gura u spoljnu ćelijsku membranu, koja na kraju obavija virus dok ne bude „progutan“ i ubačen u ćeliju. Ovaj proces se naziva endocitoza. Unutar vezikula formiranog od membrane ćelijske površine, virusni omotač i nukleokapsid se razdvajaju, oslobađajući genetički materijal, virusnu RNK, direktno u ćeliju. Virusna RNK služi zatim kao obrazac za sintezu komponenata koje će činiti nove viruse kroz dva različita biohemijska procesa: sintezu novih virusnih proteina i novih RNK molekula⁸. Ova dva procesa nazivaju se transkripcija i translacija virusnih proteina, odnosno replikacija virusne RNK.

Ribozomi ćelije, male supćelijske strukture (ćelijske organele), koje virusima nedostaju bivaju „otete“ od strane virusne RNK kako bi se informacije sadržane u virusnom genomu prevodile u proteine.

Replikacija virusnog genetičkog materijala jedan je od prvih zadataka koji će sprovedi novosintetisani virusni proteini, kao što je RNK zavisna RNK polimeraza (RdRP), sposobna da promoviše sintezu RNK iz virusnog RNK obrasca. Sinteza RNK molekula iz RNK obrasca je proces jedinstven za pojedine viruse, jer ne sledi logiku centralne dogme molekularne biologije, koja kaže da genetička informacija prelazi iz DNK u RNK, a iz RNK u proteine.

Virusni proteini koji će formirati kapsid, strukturni proteinski omotač koja obuhvata genetički materijal, okružuju novi virusni molekul RNK čineći zajedno nukleokapsid (jezgro) nove virusne čestice. Sklapanje i sazrevanje virusnih čestica dešava se u unutarćelijskom membranskom sistemu i podrazumeva stvaranje omotača i naknadno vezivanje virusnih transmembranskih proteina (S i HE). Tada se virusne čestice dovode do ćelijske površine unutar vezikula gde se izbacuju iz ćelije procesom egzocitoze, čime se proizvodi veoma veliki broj novih virusa sa omotačem. Zbog ove zavisnosti od ćelijskog sistema, virusi se nazivaju „obligatnim unutarćelijskim parazitima“ jer otimaju ćeliju koju zaraze, pretvarajući je u fabriku za masovnu proizvodnju novih virusa i na taj način prekidaju procese svojstvene funkcionisanju normalne ćelije. Pojedinačni virus može za samo 10 sati da zarazi ćeliju, a za samo 24 sata može proizvesti na hiljade novih virusnih čestica. Otuda je i nastao izraz „postati viralan“ – odnosi se na nešto što se brzo širi svuda.



Slika 3- Faze replikacionog ciklusa koronavirusa: 1-Vezivanje virusa za ćelijske receptore. 2-Endocitoza. 3-Digestija virusnih proteina i oslobađanje virusne RNK. 4-RNK replikacija. 5- Sinteza virusnih proteina. 6- Sklapanje viriona. 7-Oslobađanje virusa egzocitozom.



Koliko se virusnih čestica stvara u jednoj ćeliji?

Procenjuje se da je, poput ostalih koronavirusa, kao što je virus hepatitisa koji zaražava miševe (MHV), prosečan broj novosintetisanih čestica virusa oslobođenih iz jedne zaražene ćelije oko 10.000¹.



Enzim ACE2 (angiotenzin konvertujući enzim 2), homologan je ACE koji je odgovoran za regulaciju krvnog pritiska kroz sistem Renin-Angiotenzin. Pored epitelnih ćelija pluća, creva, bubrega i krvnih sudova, ACE2 je prisutan i na površini ćelija u seminifernim tubulama testisa. Virusna infekcija zato može da ošteti tkivo testisa pacijenata i ugrozi plodnost. SARS-CoV-2 koristi ovaj ćelijski receptor da zarazi ćelije. Međutim, drugi koronavirusi koriste različite receptore, poput MERS-CoV koji koristi DPP4 (dipeptidilpeptidazu 4) i HCoV-229E, TGEV, PEDV, CCoV koji koriste APN (aminopeptidazu N) kao ćelijski receptor, posredujući ulazak virusa u ćelije domaćina⁵. Vezivanje S proteina za ćelijski receptor vođeno je elektrostatičkim interakcijama.

2. INFEKCIJA KORONAVIRUSOM

2.1. SPOSOBNOST KORONAVIRUSA DA EVOLUIRA

Kao što smo videli, infekcija izazvana većinom koronavirusa zavisi od specifičnog prepoznavanja receptora ciljnih ćelija određene vrste (životinja ili čoveka) (Slika 4). Koronavirusi se, prema tome, smatraju specifičnim za svog domaćina.

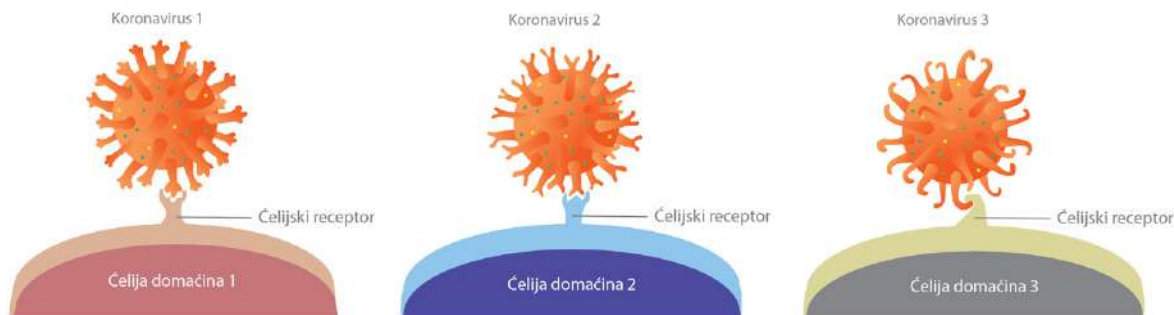


Koje ćelije su zaražene koronavirusima?

Različiti koronavirusi su sposobni da zaraze različite ćelije, iako su to obično ćelije respiratornog ili digestivnog trakta. U slučaju kovid 19, SARS-CoV-2 inficira ćelije koje imaju receptore za enzim ACE-2, koji su kompatibilni sa virusnim S proteinom. Ove ćelije se nalaze u crevnom i respiratornom epitelu, vaskularnom endotelu, srcu, bubrezima i testisima. ACE-2 receptor prisutan je na plazma membrani svih ovih ćelija. U plućima se njegova koncentracija povećava s godinama, što doprinosi težoj kliničkoj slici kod starijih osoba.

Šta određuje tropizam ćelija i spektar domaćina?

Varijacije u tropizmu ćelija i opsegu pogođenih domaćina uglavnom se pripisuju karakteristikama S proteina, odgovornog za vezivanje za ćeliju domaćina.



Slika 4 - Specifičnost vezivanja između S proteina koronavirusa i receptora ćelije domaćina.



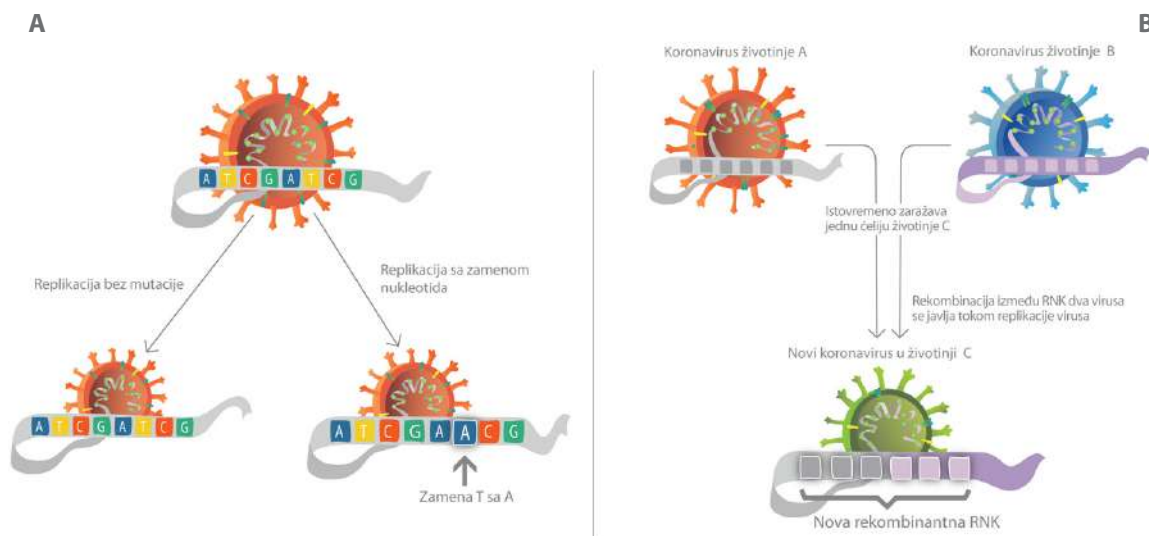
Koja je stopa mutacija i evolucije SARS-COV-2?

Procenjena stopa evolucije za SARS-CoV-2 je 0,001 nukleotid godišnje, a stopa mutacija je 0,000001 nukleotid po ciklusu replikacije virusa.

Zašto se novi koronavirusi periodično pojavljuju i šta pogoduje ovim pojavama?

Koronavirusi, poput ostalih virusa, brzo evoluiraju u neizbežnom procesu koji čovek ne može da kontroliše. Neposredna blizina ljudi i životinjskih vrsta iz udaljenih prirodnih staništa, veštačko približavanje životinjskih vrsta, konzumiranje egzotičnih vrsta i odsustvo sanitarne kontrole pospešuju kontakt između životinja i ljudi, što može rezultirati pojavom novih potencijalno patogenih virusa.

Dugi RNK genom koronavirusa, u kombinaciji sa smanjenom sposobnošću ispravljanja grešaka u sintezi novih molekula RNK, što rezultira genetičkim mutacijama, doprinosi diverzifikaciji i evoluciji njihovih genoma tokom vremena (Slika 5A). Virusi sa nepovoljnim mutacijama su u adaptivnom nedostatku te nestaju iz populacije virusa. Oni čije mutacije ih čine prilagođenijim će imati tendenciju povećanja broja i naseljavanja u populaciji domaćina. Na taj način se nastavlja stalno održavanje varijanti koje ostaju u evolucionoj prednosti.



Slika 5 - Genetička varijabilnost u replikaciji virusnog genoma (A- genetička mutacija zamenom baze; B- rekombinacija razmenom fragmenata RNK iz dva različita virusa koja se nalaze u istoj ćeliji).

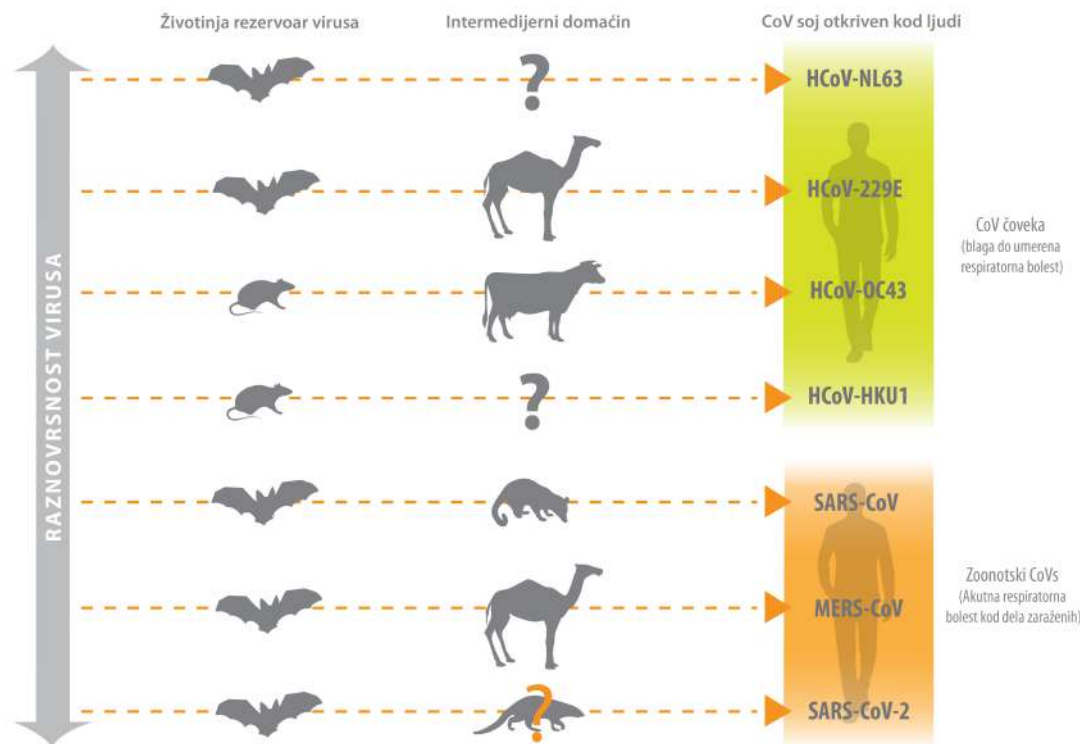


Enzim virusne RNK-zavisne RNK polimeraze (RdRP) odgovoran je za sintezu novih molekula RNK i, za razliku od homolognog enzima životinjskih i biljnih ćelija (DNK polimeraza), skloniji je greškama tokom replikacije virusnog genoma. Virusnoj RdRP nedostaje sposobnost da pregleda i ispravi greške u ugradnji nukleotida u komplementarni lanac molekula RNK, omogućavajući pojavu genetičkih mutacija sa veoma visokom stopom. Niska stopa ispravki grešaka tokom procesa replikacije genoma koronavirusa rezultat je dugog evolucionog procesa koji favorizuje diverzifikaciju virusnog genoma, što je neophodno za njegovu adaptaciju i evoluciju. Zbog velike dužine genoma koronavirusa, gomilanje grešaka dovodi do sve veće raznovrsnosti proteina koje oni kodiraju, i shodno tome do ubrzane stope evolucije⁶⁷.

Ako su dva različita koronavirusa istovremeno prisutna u jednoj ćeliji, tokom sinteze novog molekula RNK iz molekula matrice, može da dođe do disocijacije kompleksa RNK-RNK, praćeno ponovnim spajanjem sa homolognim molekulom matrice drugog genoma koronavirusa, nastavljajući sopstvenu sintezu, generišući na taj način rekombinantni molekul RNK⁸. Ovaj proces rezultira rekombinantnim virusom.

S druge strane, genetički različiti koronavirusi mogu se takođe pojaviti kroz proces koji se naziva rekombinacija, a koji se dešava kada se ćelija istovremeno zarazi sa dva različita koronavirusa. Kombinacija genetičkih segmenata različitih virusa rezultira novim sekvencama virusne RNK (Slika 5B). Proces molekularne rekombinacije može dovesti do stvaranja novih virusa sa potencijalom zaraze novih domaćina. Sticanje ovog kapaciteta se dešava kada strukturne promene u proteinu S („ključ“) omogućuje koronavirusima da se prilagode i počnu prepoznavati nove receptore („brave“), prisutne u ćelijama novih domaćina sa kojima dolaze u kontakt.

Kada virus stekne sposobnost zaraze nove životinjske vrste, to se opisuje kao „preskakanje barijere vrsta“. U nekim vrstama domaćina rezervoara (životinjske vrste koje imaju virus bez pokazatelja oboljenja), kao što su slepi miševi, rekombinacija između različitih koronavirusa se dešava često⁹ i eventualno može dovesti do stvaranja nove virusne varijante sposobne da zarazi nove domaćine, pa i ljude.



Slika 6 - Prenos koronavirusa između životinjskih vrsta i čoveka. Većina humanih koronavirusa potiče od koronavirusa slepih miševa. Prilagođeno iz Cui, 2019.

Jednom kada stekne sposobnost zaraze različitih vrsta, nova virusna varijanta može ostati u cirkulaciji unutar osetljivih populacija domaćina (slika 6). U zavisnosti od stepena zaraznosti virusa i mobilnosti stanovništva, virus može da se širi na različite geografske regije veoma brzo.

2.2. SPOSOBNOST KORONAVIRUSA DA ZARAZI NOVU VRSTU - PRESKAKANJE BARIJERE VRSTA

Životinje imaju ključnu ulogu u prenošenju zaraznih bolesti na ljude. Ovakve bolesti, koje nazivamo zoonotske bolesti ili zoonoze, čine oko 60% ljudskih zaraznih bolesti otkrivenih širom sveta, a mogu biti uzrokovane bakterijama, parazitima, gljivicama ili virusima. Pojava sve većeg broja zoonoza ukazala je na postojanje rizičnih praksi koje favorizuju neograničen kontakt između životinja i ljudi. U prirodi je preskakanje barijere vrsta redak događaj, jer zahteva bliski, a ponekad i kontinuirani kontakt između zaražene životinjske vrste i jedinki druge osetljive vrste. Kod virusa, za skok na ljudskog domaćina često je potrebna treća vrsta domaćina, koja se naziva „vrsta posrednik“, u kojoj virus verovatno stiče „nove sposobnosti“ kako bi mogao da izvrši skok. U mnogim slučajevima, međutim, prava veza između životinje i čoveka nikada nije poznata.

Bez obzira na to, sigurno je da povećanje interakcija ljudi i divljih životinja eksponencijalno povećava rizik od novih zoonoza. Ove interakcije mogu proizaći iz ljudske invazije na prethodno neistražene i očuvane ekološke niše ili iz prisilnog približavanja različitih divljih životinjskih vrsta i ljudi usled gubitka prirodnih staništa. Naučnici procenjuju da u šumama, močvarama, pećinama i drugim neistraženim delovima sveta može da bude oko 800.000 nepoznatih vrsta virusa koji mogu da imaju potencijal da se šire i zaraze ljude ako dođe do poremećaja u ekosistemima.

Pijace sa živim mesom poznate su po tome što okupljaju širok spektar živih životinjskih vrsta i ljudi, pružajući i podržavajući veću blizinu životinjskih vrsta koje u prirodnim staništima nikada ne bi došle u međusobni kontakt. Ovo, pored konzumacije egzotičnih ili domaćih životinja bez adekvatnih sanitarnih uslova i provere bezbednosti hrane, favorizuje prenos virusa između vrsta i stoga događaje rekombinacije između različitih virusa u domaćinu. Životinje koje se drže, žrtvuju i prodaju na takvim pijacama često uključuju vrste slepih miševa¹⁰ kod kojih se otkrivaju koronavirusi sa izuzetnom genetičkom raznolikošću, što znatno povećava rizik od uspešne genetičke rekombinacije i pojave novih virusa, povećavajući mogućnost prenosa među vrstama.

Prepoznavanje koronavirusa sposobnih da izazovu ozbiljne infekcije kod ljudi dogodilo se tek 2003. godine, kada se izbijanje teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS) prvi put pojavilo u Aziji i pripisano je SARS-CoV. Prilagođavanje virusa SARS-CoV (poreklom od slepih miševa roda *Rhinolophus*) u smislu mogućnosti zaražavanja ljudi podrazumevalo je cirkulaciju kroz posredničku vrstu, cibetku (*Paradoxurus hermaphroditus*). Isto se dogodilo kasnije, 2012. godine, identifikacijom drugog respiratornog sindroma, Bliskoistočnog respiratornog sindroma (MERS), ovog puta izazvanog koronavirusom MERS-CoV, koji je takođe potekao od koronavirusa pronađenih kod slepih miševa (rod *Pipistrellus*). U ovom slučaju, identifikovana posrednička vrsta je dromedar (*Camelus dromedarius*). Vrste posrednici za SARS-CoV-2, koji je uzročnik trenutne pandemije kovida 19, još uvek nisu jasno identifikovane, iako se smatra da je moguća vrsta u ovom slučaju malezijski pangolin (*Manis javanica*), sisar koji pripada rodu Pholidota iz familije *Manidae*¹¹.

Generalno, početna virulencija patogena u nastajanju ima tendenciju da se vremenom smanjuje zbog imunološkog odgovora domaćina i selekcije koja favorizuje manje agresivne (manje virulentne) sojeve. S obzirom na visoku genetičku varijabilnost respiratornih koronavirusa, imunitet stečen prethodnim kontaktima ne štiti domaćine od novih koronavirusa. Ovo pruža virusu adaptivnu prednost, omogućavajući mu da pobegne iz imunološkog sistema domaćina, što garantuje trajnu dostupnost osetljivih domaćina i održavanje virusa u populaciji.

Ovaj mehanizam primer je koevolucije virusa i njegovog domaćina. Prirodna selekcija favorizuje viruse sa različitim površinskim antigenima (S i HE proteini), dok je imunološki sistem domaćina pod selektivnim pritiskom da proizvede specifičan zaštitni imunološki odgovor efikasan za određeni virus prisutan tokom infekcije. Akumulacija mutacija i genetičke varijabilnosti sa obe strane „podgreva“ ovu evolucionu trku u naoružanju.

2.3. BOLESTI ŽIVOTINJA I LJUDI POVEZANE S KORONAVIRUSIMA

Koronavirusi prvenstveno inficiraju ptice i sisare, uzrokujući razne bolesti, što ima ozbiljan ekonomski uticaj na farme goveda, svinja, konja, zečeva, kokošaka, pataka i ćurki. Oni takođe pogađaju kućne ljubimce kao što su psi i mačke i razne divlje vrste, uključujući feretke i nerčeve. Alfa koronavirusi i beta koronavirusi se uglavnom nalaze kod sisara, kao što su slepi miševi, glodari, cibetke i ljudi. Gama koronavirusi i delta koronavirusi uglavnom inficiraju ptice, mada neki mogu da inficiraju i sisare.



Šta su posredničke vrste?

Posredničke ili intermedijerne vrste su vrste koje omogućavaju virusu da se adaptira iz jednog organizma domaćina na drugog domaćina. Upravo se kod ovih vrsta različiti virusni genomi podvrgavaju rekombinaciji, stvarajući nove viruse koji se zatim prenose na ljude kontaktom ili konzumacijom.

Koji su izvori infekcije koronavirusima?

Zaraznost koronavirusa koji se nalaze u životnoj sredini (izvan živog organizma) vrlo je mala zbog osetljivosti virusnih čestica, tačnije njihovog spoljnog omotača, koji se u osnovi sastoji od lipida. Iz tog razloga najveći izvor zaraze su zaražene životinje ili ljudi.

Gde se SARS-CoV-2 prvi put pojavio?

Prvi klinički slučajevi infekcije SARS-CoV-2 zabeleženi su u decembru 2019. godine, kod stanovnika provincije Vuhan u Kini. Međutim, retrospektivne serološke studije sugerišu da je virus bio u opticaju pre toga².

Kakvo je poreklo SARS-CoV-2?

Poreklo SARS-CoV-2 još uvek nije potpuno razjašnjeno. Iako je virus pokazao veliku genomsku sličnost (96,3%) sa koronavirusom slepog miša *Rhinolophus affinis*, prisutnog na jugozapadu Kine, ovaj virus (Bat-CoV-RaTG13) nema isti ligand (protein omotača) kao SARS-CoV-2. Istrage sprovedene od pojave ove pandemije omogućile su identifikaciju pangolin-mal ajskog koronavirusa (*Manis javanica*), sa proteinom vrlo sličnim proteinu SARS-CoV-2. Međutim, genom koronavirusa pangolina nije toliko sličan genomu SARS-CoV-2 (91,02%). Stoga se pretpostavlja da su pangolini možda posrednička vrsta u kojoj je možda došlo do prirodne genetičke rekombinacije koronavirusa slepih miševa i pangolina, što je rezultiralo novim koronavirusom sa sposobnošću da zarazi ljudske ćelije. Tada je ovaj virus možda stupio u kontakt sa ljudima konzumiranjem zaražene životinje. Alternativno, možda se dogodila infekcija čoveka virusnim sojem koronavirusa slepih miševa koji nije postojao u prirodi. Prvobitno bezopasna virusna varijanta možda se prenosila među ljudima sa progresivnim porastom virulencije virusa.



Kakva je važnost slepih miševa u prenosu SARS-CoV-2 u poređenju sa drugim vrstama?

Prirodno ponašanje slepih miševa nema neku posebnu osobinu zbog koje je verovatnije da oni prenose patogene na ljude nego druge vrste. Međutim, brojnost i velika raznolikost vrsta, pored veće genetičke bliskosti sa ljudima, čine ih ključnim potencijalnim generatorima bolesti i vektorima infekcije.

Slepi miševi dele isti taksonomski poredak kao i glodari (poput miševa, pacova, dabrova, morskih svinja i veverica), koji čine drugi najveći broj sisara. Postoji oko 1400 različitih vrsta slepih miševa, od kojih sve imaju potencijal za prenos virusa. U stvari, jedna u pet od svih vrsta sisara na Zemlji su slepi miševi. Osim na Antarktiku, ima ih širom sveta, u urbanim područjima i u prirodi. Dok se neke vrste nalaze samo na određenim lokacijama, druge su široko rasprostranjene na velikim geografskim područjima. Kao sisari, slepi miševi imaju bliži evolutivni odnos sa ljudima, zato je veća verovatnoća da budu zoonotski agensi u odnosu na ptice ili gmizavce. Zbog velike brojnosti u okviru vrsta, slepi miševi imaju tendenciju da ugoste veći broj virusa i virusnih sojeva, te je shodno tome veća verovatnoća da neke od njih imaju zoonotski potencijal. Usled velike raznolikosti i geografske rasprostranjenosti slepih miševa, veoma je teško otkriti grupu slepih miševa kod kojih je nastao SARS-CoV-2.

Zašto tako mnogo bolesti nastaje kod slepih miševa?

Slepi miševi su domaćini / rezervoari, ne samo koronavirusa, već i mnogih drugih virusa, uključujući virus ebole, besnila i virus hemoragične groznice Marburg. Svi ovi virusi, uključujući koronavirus, suočavaju se sa slepim miševima u evolucionoj trci. Virusi kontinuirano evoluiraju kako bi izbegli imunološki sistem slepih miševa, a slepi miševi evoluiraju da bi se oduprli infekcijama izazvanim virusima. Sa koronavirusima, ovaj bilateralni ratni napor pretvara se u stvaranje mnoštva različitih virusa, povećavajući verovatnoću da će neki od njih moći da zaraze drugu vrstu, naime ljude. Slepi miševi su takođe jedini sisari koji mogu da lete, olakšavajući širenje bolesti kroz fekalije, što predstavlja glavni put izlučivanja većine virusa, koje pritom mogu da izbače tokom letenja. Tolerancija slepih miševa prema virusima daleko premašuje toleranciju kod drugih sisara, čineći ih glavnim rezervoarom domaćinom mnogih virusa. Iako slepi miševi ne razvijaju simptomatske infekcije, ipak prenose infekcije. Smatra se da je prirodna otpornost slepih miševa na infekcije povezana sa oslobađanjem velike količine energije tokom letenja, kada im telesna temperatura poraste na 38 do 41°C, što je više od temperature većine sisara. Patogeni koji su evoluirali kod slepih miševa zato su sposobni da izdrže ove visoke temperature, čime se lako odupiru groznici - povećanju telesne temperature koje naš imuni sistem koristi kao mehanizam za onemogućavanje patogena.

Stoka i domaće životinje prirodni su domaćini brojnim koronavirusima. Među njima su i koronavirusi specifični za pse, mačke, feretke, goveda, svinje i kokoške i ćurke.

Psi se zaražavaju sa dva različita koronavirusa: pseći enterički koronavirus (CCoV) i pseći respiratorni koronavirus (CRCoV). CCoV, koji je genetički povezan sa mačjim koronavirusom (FCoV) i svinjskim koronavirusom (TGEV), zaražava životinje, posebno štenad (*Canis lupus familiaris*) mlađu od 1,5 meseci, uzrokujući blagi gastroenteritis. Lisice (*Vulpes vulpes*), rakuni (*Nyctereutes procyonoides*) i divlje mačke (*Felis silvestris silvestris*) takođe su podložni ovom koronavirusu⁹. Postoje dva genotipa CCoV, tip I i II. CCoV-II nastao je usled različitih događaja rekombinacije između virusa prenosnog gastroenteritisa svinja (TGEV) i jednog ili više neidentifikovanih koronavirusa¹². Taksonomija sadašnje varijante CCoV-II razlikuje CCoV-IIa od CCoV-IIb prema udelu genetičkog učešća TGEV u genomu virusa. CCoV-IIa se takođe naziva i pantropni CCoV, zbog njegove sposobnosti da izazove sistemsku bolest kod pasa koja nije ograničena na gastrointestinalni trakt.

Korisnost CCoV vakcinacije je kontroverzna, jer je bolest uglavnom blaga i javlja se pre preporučenog perioda vakcinacije.

Drugi pseći koronavirus (CRCoV) ima respiratorni tropizam i, kada je povezan sa drugim virusnim ili bakterijskim patogenima, izaziva visoko infektivnu zaraznu bolest kod pasa poznatu kao „uzgajivački kašalj“¹³. Ova bolest je identifikovana u Evropi, Severnoj Americi i Aziji. CRCoV je usko povezan sa goveđim koronavirusom (BCoV) i humanim HCoV-OC43. Ne postoji vakcina za CRCoV.



Brza evolucija genoma koronavirusa može dovesti do specifičnih strukturnih promena u S proteinu, omogućavajući infekciju treće vrste domaćina novonastalim virusom. S protein SARS-CoV-2 veoma je sličan S proteinu koronavirusa otkrivenog kod malezijskog pangolina, malog sisara koji pripada redu Pholidota i koji nastanjuje tropske predele Azije. Preostali genom SARS-CoV-2, međutim, ima manju ukupnu sličnost od samo 90%. RNK virusa SARS-CoV-2 sličnija je (96%) RNK koronavirusa za koji je poznato da zaražava slepog miša (*Rhinolophus*) koji naseljava pećine u Junanu u Kini, iako nje gov S protein (ključ) nije kompatibilan sa receptori ma ljudskih ćelija (brava) i zbog toga nije u stanju da zarazi ljude⁹.



Čini se da je razvoj mačjeg zaraznog peritonitisa (FIP) povezan sa promenom tropizma FCoV ćelija iz enterocita (ćelije koje oblažu crevni trakt) u monocite / makrofage (vrste belih krvnih zrnaca). Inficirani monociti pokazuju poseban afinitet za venski endotel različitih seroznih membrana (omentum, pleura, moždane ovojnice). Iako je imunološki odgovor na FCoV infekcije prvenstveno ćelijski, kada se izazove intenzivan humoralni odgovor, to uzrokuje preteranu inflamatornu reakciju i stvaranje edema (efuzivni oblik FIP). Do toga dolazi zbog reakcije preosetljivosti tipa III koja, kada se pokrene, rezultira stvaranjem kompleksa antigen-antitelo koji se akumuliraju u vaskularnom endotelu. Razvoj ascitisa (edema trbušne duplje) karakterističan je za FIP. Međutim, mačke koje su sposobne da razviju pretežno ćelijski imuni odgovor otpornije su na razvoj efuzivnog oblika FIP. U ovom „suvom“ obliku FIP-a, životinje ostvaruju delimično efikasan ćelijski odgovor u sprečavanju organskog širenja virusa, pa su zato sposobne da ograniče virusnu replikaciju na pojedine organe^{10,11}.

Mačke su podložne infekciji od strane nekoliko koronavirusa, pored mačjih, uključujući pseće koronavirus, svinjske koronavirus (TGEV) i humani koronavirus (HCoV-229E i SARS-CoV-2). Mačji koronavirus (FCoV) je veoma zarazan i njegova prevalencija u populacijama velike gustine (npr. u odgajivačnicama i skloništim za mačke) je povećana. Postoje dva serotipa, tip I i tip II, od kojih je drugi rezultat rekombinacionog događaja unutar gena koji kodira S protein između FCoV serotipa I i CCoV. Velika većina infekcija izazvanih mačjim koronavirusom (FCoV) kod mačaka je relativno bezopasna, u rasponu od supkliničkih oblika do blage dijareje. Međutim, oko 5% do 10% mačaka zaraženih FCoVs razvija ozbiljnije infekcije, usled promene virusnog tropizma ka makrofagima (ćelije diferencirane od monocita, subpopulacija belih krvnih zrnaca) unutar crevnog epitela. U takvim slučajevima mačke razvijaju često fatalnu sistemsku bolest, koju karakteriše peritonitis, nazvan mačji infektivni peritonitis (FIP). Ozbiljnost FIP povezana je sa preteranim imunološkim odgovorom s obzirom na to da proizvodnja antitela, umesto da daje zaštitu, povećava težinu bolesti. Promena u tropizmu ćelija FCoV prvenstveno je posledica virusnih faktora, poput genetičkih mutacija, ali i faktora povezanih sa domaćinom, poput nemogućnosti uspostavljanja odgovarajućeg ćelijskog imunog odgovora. Ova dva patološka tipa razlikuju se u ćelijskom tropizmu, kliničkoj prezentaciji i prognozi¹⁴. Pošto su vakcine za indukovanje antitela kontraproduktivne za FIP, proizvedena je vakcina za nazalnu primenu koja stimuliše IgA sluzokože. Međutim, ova vakcina je bila zaštitna samo kada je primenjena pre kontakta sa FCoV, što je izuzetno teško u područjima gde je bolest endemska.

Koronavirus nerca (MCoV-1) i koronavirus feretki (FRCoV) su genetički povezani. MCoV-1 je odgovoran za katarhalni gastroenteritis nerca koji pogađa mlađe životinje, uzrokujući visok morbiditet, ali nizak mortalitet. FRCoV je etiološki agens kataralnog epizootskog enteritisa, ispoljavajući, poput FeCoV, dva biotipa: i) enterotični feretni koronavirus (FRECV), povezan sa zaraznom dijarejnom bolešću i ii) sistemski feretni virus (FRSCV) odgovoran za sistemsku bolest feretki sličnu FIP kod mačaka.

Govedi koronavirus (BCoV) identifikovan je 1973. godine u SAD i odgovoran je za tri klinička sindroma različite težine kod goveda, a to su teleća dijareja, zimska dizenterija (oba gastrointestinalne bolesti) i respiratorna bolest goveda. Oni mogu ali ne moraju biti povezani sa drugim bakterijskim ili virusnim infektivnim agensima. Pošto telad mogu da se zaraze u prvim danima života, imunološka zaštita se postiže ili vakcinisanjem majki tokom trudnoće, omogućavanjem prenosa pasivnog imuniteta tokom uzimanja kolostruma, ili intranazalnom vakcinacijom teladi oslabljenim vakcinama u prvom danu života.

BCoV je stoga paradigmatički primer sposobnosti koronavirusa da zaraze različite domaćine. Velika genomska sličnost (96%) BCoV sa humanim koronavirusom HCoV-OC43, sugerira udaljenu epizodu BCoV zoonotskog prenosa na ljude. Analizom molekularnog sata ova dva virusa, procenjeno je da se njihov poslednji zajednički predak pojavio oko 1890. godine¹⁵ poklapajući se sa pandemijom respiratornih bolesti kod ljudi.

BCoV nije povezan samo sa HCoV-OC43, koji uzrokuje digestivne i respiratorne bolesti kod ljudi, već i sa PHEV (svinjski hemaglutinirajući virus encefalo-lomijelitisa), konjskim koronavirusom (ECoV) i psećim respiratornim koronavirusom (CRCoV).

Svinje su domaćini osetljivi na šest različitih koronavirusa koji uzrokuju crevna i respiratorna oboljenja. Od njih, virus sindroma transmisivnog gastroenteritisa (TGEV), virus svinjske epidemijske dijareje (PEDV), virus sindroma svinjske akutne dijareje (SADSV) i svinjski deltakoronavirus (PDCoV) izazivaju crevne bolesti različite težine kod svinja. Otkrivanje antitela protiv TGEV u nekoliko vrsta divljih i domaćih mesoždera, uključujući pse i mačke, sugerira da su i oni podložni infekciji ovim koronavirusom. PEDV izaziva vodeni proliv, povraćanje, anoreksiju i dehidraciju kod prasadi mlađe od 2 nedelje. Iz tog razloga se vakcinacija široko primenjuje na trudnim krmačama radi imunizacije prasadi putem kolostruma. Svinjski respiratorni koronavirus (PRCoV) pojavio se nakon TGEV, nakon genetičkih delecija u genu koji kodira S protein u enteričkom virusu, što je rezultiralo prelaskom sa enteričkog tropizma na gotovo isključivo respiratorni tropizam i obrazac prenošenja¹⁶. PRCoV takođe ima visoku genetičku sličnost sa CCoV i FCoV¹⁷. Svinjski delta koronavirus (PDCoV), poput PEDV i SADSV, agensi su novih bolesti. Virus hemaglutinirajućeg encefalomijelitisa (PHEV) obično uzrokuje povraćanje i iscrpljujuću bolest i / ili encefalitis kod novorođene prasadi.

Iako nekoliko vrsta divljih ptica mogu da doprinesu održavanju virusa u životnoj sredini, prirodni domaćin virusa infektivnog bronhitisa (IBV, prvi identifikovani životinjski koronavirus) su kokoške. Infektivni bronhitis se smatra jednom od najzabrinjavajućih bolesti ptica zbog svog uticaja na smrtnost, rast životinja i nacionalnu i međunarodnu trgovinu. Ovaj koronavirus uzrokuje respiratorne i bubrežne bolesti, mada može da utiče na reproduktivni trakt kokošaka. Kao i drugi koronavirusi, IBV ima brz kapacitet za širenje i genetičke promene zbog čestih epizoda mutacija i rekombinacija. Trenutno su dostupne inaktivirane, oslabljene i rekombinantne vakcine za IBV. Inaktivirane vakcine, kao i kod mnogih drugih bolesti, indukuju slab imunološki odgovor posredovan antitelima, što zahteva više doza vakcine. Modifikovane žive vakcine koje sadrže najčešće sojeve daju se u vodi za piće ili putem prskalica, u tom slučaju se gutanje dešava tokom čišćenja (nege) perja. Ove vakcine se daju se prvih dana do prve nedelje života. Revakcinacija zavisi od prosečnog životnog veka životinja. Koronavirus ćurki (TCoV) genetički je vrlo sličan IBV-u, iako se smatra novom virusnom vrstom¹⁸.

VIRUS	Skraćenica	Grupa	Vrsta bolesti
DOMAĆI ŽIVOTINJSKI VIRUSI			
Virus prenosivog gastroenteritisa	TGEV	α -CoV	Gastrointestinalna
Svinjski respiratorni koronavirus	PRCoV	α -CoV	Respiratorna
Virus svinjske epidemijske dijareje	PEDV	α -CoV	Gastrointestinalna
Virus svinjskog hemaglutinirajućeg encefalomijelitisa	HEV	β -CoV	Gastrointestinalna i neurološka
Goveđi koronavirus	BCoV	β -CoV	Gastrointestinalna i respiratorna
Konjski koronavirus	ECoV	β -CoV	Gastrointestinalna
Virus zaraznog bronhitisa	IBV	γ -CoV	Respiratorna
Koronavirus ćurki	TCoV	γ -CoV	Gastrointestinalna
Svinjski koronavirus HKU15	PorCoV HKU15	δ -CoV	Gastrointestinalna
Pseći koronavirus	CCoV	δ -CoV	Gastrointestinalna
Pseći respiratorni koronavirus	CRCoV	β -CoV	Respiratorna
Mačji koronavirus	FeCoV	α -CoV	Gastrointestinalna i sistemska (peritonitis)
VIRUSI DIVLJIH ŽIVOTINJA			
Koronavirus <i>Hipposideros</i> slepih miševa HKU10	Hi-BatCoV HKU10	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Miniopterus</i> slepih miševa 1A	Mi-BatCoV 1A	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Miniopterus</i> slepih miševa 1B	Mi-BatCoV 1B	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Miniopterus</i> slepih miševa HKU	Mi-BatCoV HK	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Miniopterus</i> slepih miševa HKU8	Mi-BatCoV HKU8	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Myotis</i> slepih miševa HKU6	Mi-BatCoV HKU6	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Rhinolophus</i> slepih miševa HKU2	Rh-BatCoV HKU2	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Rousettus</i> slepih miševa HKU10	Ro-BatCoV HKU10	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Scotophilus</i> slepih miševa 512	Sc-BatCoV 512	α -CoV	Asimptomatska
Koronavirus <i>Rousettus</i> slepih miševa HKU9	Ro-BatCoV HKU9	β -CoV	Asimptomatska
Virus mišjeg hepatitisa	MHV	β -CoV	Hepatička; Gastrointestinalna; renalna; CNS

Koronavirus cibetke palmašice povezan sa SARS-om	SARSr-CiCoV	β -CoV	Nepoznata
Koronavirus <i>Rhinolophus</i> slepih miševa povezan sa SARS-om	SARSr-Rh-BatCoV HKU3	β -CoV	Asimptomatska
Koronavirus sabla antilope	Antelope CoV	β -CoV	Nepoznata
Koronavirus <i>Neoromicia capensis</i> slepih miševa	NeoCoV	β -CoV	Nepoznata
Koronavirus dromedari kamila UAE- HKU23	DcCoV UAE-HKU23	β -CoV	Nepoznata
Koronavirus evropskog ježa	ErinaceousCoV	β -CoV	Nepoznata
Koronavirus nerca 1	MCoV-1	α -CoV	Gastrointestinalna
Koronavirus cibetki *	FRCoV	α -CoV	Gastrointestinalna
CoV kljunastog delfina (BdCoV) HKU22	BdCoV HKU22	γ -CoV	Nepoznata
Koronavirus belih kitova SV1	BVCoV SV1	γ -CoV	Nepoznata
Koronavirus bulbul HKU11	BuCoV HKU11	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus barske kokice HKU21	CMCoV HKU21	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus drozda HKU18	MRCoV HKU18	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus <i>Munia</i> HKU13	MuCoV HKU13	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus čaplji	NH HKU19	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus vrapca HKU17	SpCoV HKU17	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus drozda KHU12	ThCoV HKU12	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus belog oka HKU16	VECoV HKU16	δ -CoV	Nepoznata
Koronavirus plovki HKU20	ViCoV HKU20	δ -CoV	Nepoznata
LJUDSKI VIRUSI			
Humani koronavirus NL63	HCoV-NL63	α -CoV	Blago respiratorno oboljenje gornjih disajnih puteva. Kod starijih osoba može se javiti upala pluća sa oslabljenim imunitetom
Humani koronavirus 229E	HCoV-229E	α -CoV	Blaga respiratorna bolest gornjih disajnih puteva. Kod starijih osoba može se javiti upala pluća sa oslabljenim imunitetom
Humani enterički koronavirus 4408	HCoV-4408	β -CoV	Lako do umereno gastrointestinalno oboljenje kod većine zaraženih ljudi

Humani koronavirus OC43	HCoV-OC43	β -CoV	Blago respiratorno oboljenje gornjih disajnih puteva. Kod starijih osoba može se javiti upala pluća sa oslabljenim imunitetom
Humani koronavirus HKU1	HCoV-HKU1	β -CoV	Blago respiratorno oboljenje gornjih disajnih puteva. Kod starijih osoba može se javiti upala pluća sa oslabljenim imunitetom
Teški akutni respiratorni sindrom koronavirusa	SARS-CoV	β -CoV	Akutno respiratorno oboljenje kod dela zaraženih
Bliskoistočni respiratorni sindrom koronavirusa	MERS-CoV	β -CoV	Akutno respiratorno oboljenje kod dela zaraženih
Teški akutni respiratorni sindrom koronavirusa 2	SARS-CoV-2	β -CoV	Akutno respiratorno oboljenje kod dela zaraženih

α -CoV - alfa koronavirus; β -CoV - beta koronavirus; δ -CoV - delta koronavirus; γ - CoV - gama koronavirus

* Takođe se smatra domaćom životinjom

Bliska genetička veza između koronavirusa različitih životinjskih vrsta ne samo da oblikuje njihove evolucione istorije (uzimajući u obzir na primer, da je BCoV evoluirao od koronavirusa miša), već takođe otkriva sposobnost nekih koronavirusa (kao što je TGEV) da prevaziđu barijeru vrsta i zaraze nekoliko vrsta (Slika 7). Do ovoga verovatno dolazi usled dinamike interakcija koronavirusa sa domaćinima i njegove efikasnosti. Otkrivanje vrsta rezervoara koronavirusa aktivno je porasla od identifikacije SARS-CoV i MERS-CoV¹⁹, posebno kada su u pitanju različite vrste slepih miševa. Nedavno, 2020. godine, identifikovano je šest novih koronavirusa kod slepih miševa uhvaćenih u Mjanmaru (Jugoistočna Azija) koji nisu povezani sa SARS, MERS ili kovidom 19.

Iako su identifikovani brojni koronavirusi domaćih i divljih životinjskih vrsta, mnoge infekcije koje oni izazivaju su su pkliničke, tj. odvijaju se bez pojave kliničkih simptoma ili znakova, i stoga prolaze nezapaženo.

Najčešća oboljenja izazvana koronavirusom kod ljudi su obične prehlade²⁰. Nekoliko koronavirusa cirkuliše u svetskoj populaciji uzrokujući blage infekcije gornjih disajnih puteva (HCoV-229E²¹, HCoV-HKU1²², HCoV-NL63 i HCoV-OC43²³). Ređe, isti ti koronavirusi mogu da zaraze donji respiratorni trakt uzrokujući bronhopneumoniju i upalu pluća.

Nasuprot tome, drugi koronavirusi poput SARS, MERS i COVID-19 izazivaju akutni respiratorni sindrom kod ljudi.

Iako infekcije koronavirusom najčešće uzrokuju respiratorne i / ili gastrointestinalne bolesti, neki koronavirusi takođe mogu da izazovu reproduktivne bolesti, poliserozitis (zapaljenje seroznih membrana), sialodakrioadenitis (zapaljenje pljuvačnih i suznih žlezda), hepatitis (zapaljenje jetre), encefalomijelitis i nefritis (zapaljenje bubrega), i kod ljudi i kod životinja.

2.4. KORONAVIRUSI I ZDRAVSTVENI PRISTUP JEDNO ZDRAVLJE

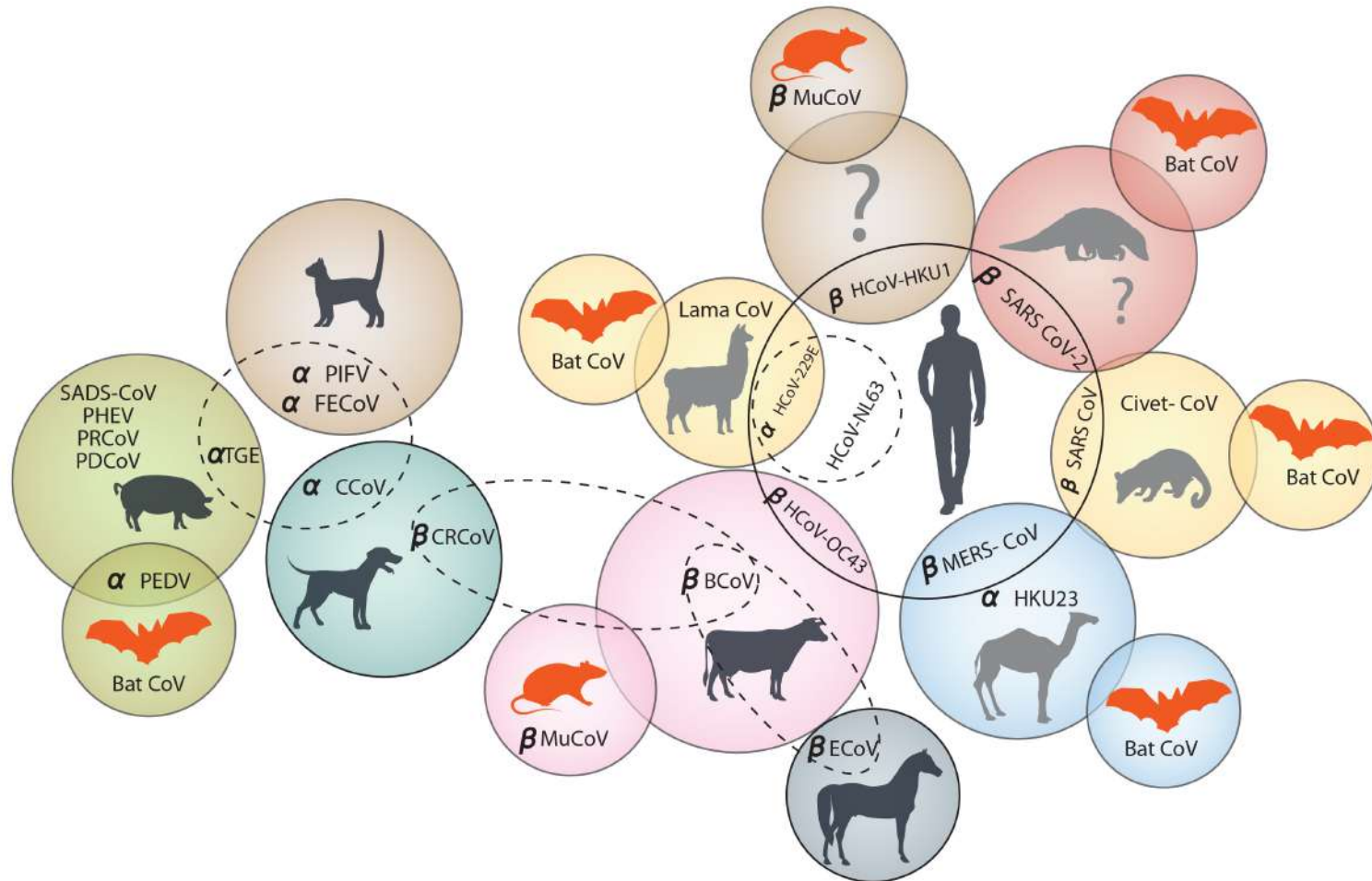
Koncept Jedno zdravlje (*One Health*) prepoznaje postojanje bliske veze između zdravlja životinja, zdravlja ljudi i životne sredine. Zasnovan je na multisektorskoj i transdisciplinarnoj saradnji između profesionalaca iz različitih, ali međusobno povezanih oblasti koje se odnose na zdravlje ljudi, životinja i životne sredine, sa ciljem kontrole i sprečavanja zoonotskih zaraznih bolesti. Potreba za usvajanjem ovog pristupa široko je naglašena u kontekstu pandemije kovida 19 zbog izazova koje je postavila pred javno zdravlje i svetsku ekonomiju. Situacija, za koju se smatra da je potekla sa pijace u Vuhanu u Kini, krajem 2019. godine, bila je primer toga kako se zoonotske bolesti mogu lako pojaviti i brzo proširiti na globalnom nivou.

Bliski kontakt između ljudi i egzotičnih životinjskih vrsta i posledični prenos bolesti među vrstama imali su katastrofalne posledice. Ovo je prava prilika za promenu odnosa između ljudi i prirode kako bi se umanjio rizik od budućih izbijanja bolesti i daljih smrtnih slučajeva. Procena potencijalnog prenosa virusa među vrstama (zoonotski rizik) i razvoj modela predviđanja novih virusnih bolesti, zajedno sa određenim programima nadzora i praćenja, mogu nam omogućiti da predviđamo nove epidemije i primenimo brzu preventivnu ili nepredviđenu akciju.

2.5. PRENOS SARS-COV-2

Prenos SARS-CoV-2 se vrši širenjem respiratornih kapljica koje sadrže virus, a proizvode se kašljanjem, kihanjem, čak i govorom. Ove kapljice mogu se udisati ili sleteti na sluzokožu (u usta, nos ili oči) ljudi u okolini, šireći virus i samim tim i infekciju²⁵. Pored toga, kada virusi slete na obližnje inertne površine, one postaju kontaminirane. Potencijal prenosa fomita (materijali koji mogu da nose infekciju) je neizvestan jer nije jasno koliko dugo virus ostaje aktivan na različitim površinama. S obzirom na njihovu veličinu, kapljice trpe brzo dejstvo gravitacije, pa je njihov domet relativno kratak (2 metra). Međutim, pod određenim uslovima kao što su pritisak, visoka temperatura i smanjena vlažnost vazduha, kapljice se mogu podeliti u mnogo manje čestice, nazvane „aerosoli“. Zbog njihove manje veličine, pogonska sila (poput kašlja ili kihanja) veća je od sile gravitacije, omogućavajući aerosolima da duže ostanu suspendovani u vazduhu i da prelaze veće razdaljine. U okruženjima u kojima postoji bliski i produženi kontakt sa pacijentima pozitivnim na kovid 19 koji se podvrgavaju postupku stvaranja aerosola (npr. invazivni ili neinvazivni ventilatori, bronhoskopija), rizik od prenošenja i infekcije je posebno visok.

Kao i kod gripa, prenos SARS-CoV-2 od osobe do osobe često se dešava pre nego što se pojave simptomi. Međutim, asimptomatski period kod gripa je kraći i traje samo jedan ili dva dana. Period inkubacije infekcije SARS-CoV-2 trenutno se procenjuje na oko 5 do 6 dana, u proseku²⁶. Vreme maksimalnog prenosa još uvek je neizvesno, jer većina studija meri virusna opterećenja (količina virusa, u ovom konkretnom slučaju prisutna u tkivima) tek nakon pojave simptoma, i procenjuje vrhunac zaraze ekstrapolacijom pomoću matematičkih modela. Međutim, znamo da se veliki deo infekcija dešava tokom faze inkubacije, pre nego što se simptomi razviju i, prema tome, pre nego što osoba postane svesna da je zaražena. Pored toga, značajan broj ljudi zaraženih SARS-CoV-2 zapravo nikada ne razvije simptome. Oni se obično nazivaju „asimptomatskim prenosiocima“ koji, ako nisu identifikovani i stavljeni u karantin, mogu prenositi virus tokom sve vreme trajanja infekcije.



Slika 7 - Ilustrativni dijagram lanaca prenosa koronavirusa slepih miševa i glodara (domaćini rezervoari, predstavljeni narandžastom bojom) na osetljive domaćine (predstavljeni crnom bojom), preko posredničkih vrsta (predstavljeni sivom bojom). Isprekidani krugovi grupišu koronavirusе različitih životinjskih vrsta na osnovu blizine genetičkih odnosa. Prilagođeno iz Duarte i sar. 2020²⁴.

2.6. KLINIČKI ZNACI I SIMPTOMI INFEKCIJE SARS-COV-2

SARS-CoV-2 karakteristično inficira ćelije gornjeg i donjeg respiratornog trakta. Međutim, takođe inficira i druge ćelije, što rezultira razvojem različitih kliničkih slika.

Klinička progresija kovid 19 zavisi od nekoliko faktora, uključujući količinu udahnutih virusnih čestica, odnosno infektivne doze kojoj je osoba izložena. Ako je domaćin izložen malom broju virusnih čestica (tj. pri maloj zaraznoj dozi), ćelije u ćelijama nazalnih i larinksnih jama će možda moći da ih „uhvate“ i okruže sluzi. Inaktiviranjem virusa i njegovim uklanjanjem, infekcija ostaje lokalizovana i kontrolisana, što rezultira samo razvojem kašlja i / ili poremećajem mirisa i ukusa, bez širenja na donji respiratorni trakt. Međutim, ako je zarazna doza velika²⁷, ili ako se infekcija proširi na susedna tkiva, virus može doći do pluća i izazvati ozbiljnu intersticijalnu upalu pluća, ugrožavajući respiratornu funkciju. Dalje širenje izvan pluća može rezultirati sistemskom infekcijom koja može dovesti do otkazivanja više organa.

Raznolikost kliničke slike infekcije SARS-CoV-2 nastaje usled različitih faktora (Slika 8): infektivna doza kojoj je pojedinac izložen; jačina imunološkog odgovora (smanjena starenjem i postojanjem komorbiditeta); izloženost u prošlosti drugim infektivnim agensima koji su ojačali nespecifičnu imunološku odbranu²⁸.

Mnogi simptomi i znaci povezani sa kovidom 19 uključuju povišenu temperaturu, kašalj, otežano disanje (dispneja), glavobolju, bolove u mišićima i telu (mijalgija), drhtavicu, promenu ili gubitak čula mirisa i ukusa, gušobolju, promuklost, zapašenost nosa, mučninu ili povraćanje, dijareju i neurološke komplikacije.

Prekomerni imunološki odgovor povezan je sa teškim slučajevima SARS-CoV-2. Citokinska oluja izazvana infekcijom uzrok je ozbiljne upale koja može dovesti do akutnog respiratornog distress sindroma, poremećaja i disfunkcije više organa. Takođe povezan je sa fibroznim odgovorima koji rezultiraju dugotrajnim oštećenjem pluća.

Deca su generalno otpornija na bolest od odraslih, razvijajući često asimptomatske infekcije. Međutim, identifikovani su slučajevi multisistemskog sindroma kod dece (MIS-C) u vezi sa SARS-CoV-2²⁹.



Kod pacijenata sa kovidom 19, infekcija donjih disajnih puteva može da se razvije u intersticijalnu pneumoniju. U tim slučajevima tkivo i prostor oko plućnih alveola (intersticijski prostor), koji uključuje alveolarni epitel, endotel plućnih kapilara, bazalnu membranu i perivaskularna i perilimfatična tkiva) zaraženi su SARS-CoV-2. Upala izazvana imunološkim odgovorom domaćina, zajedno sa apoptozom ćelija (koja se javlja kada se virusne čestice oslobađaju iz alveolarnih ćelija) rezultiraju difuznim oštećenjem alveola. Pokušaji izlječenja oštećenja rezultiraju vlaknastim ožiljcima unutar alveolarnog i intersticijalnog prostora. Ovo ugrožava efikasnost razmene gasova i elastičnost pluća¹².



Odložena neregulirana oluja citokina može da bude odgovorna za naglo pogoršanje kliničke slike kod pacijenata sa kovidom 19 za koje se čini da se dobro oporavljaju. To se često dešava između 7. i 10. dana, kada je imunološki odgovor na infekciju veći^{13, 14}.

2.7. UTICAJ KOVIDA 19 NA JAVNO ZDRAVLJE

Uticao kovid 19 u prvih 19 meseci od kako je identifikovan bio je izrazen kroz vise od 4 miliona smrtnih slucajeva širom sveta^{31,32}. Kod osoba koje su se oporavile od infekcije, čiji je broj procenjen na više od 107 miliona u junu 2021. godine, identifikovane su različite posledice (npr. neurološke, plućne, endokrine).

Brzina kojom se SARS-CoV-2 proširio u 213 zemalja posledica je globalizacije i intenziteta međunarodnog saobraćaja. Međutim, u nedavnoj prošlosti bilo je i drugih epidemija koje su takođe imale ogroman globalni uticaj, poput virusa gripa H1N1. Tokom prve godine cirkulacije od prve pojave 2009. godine u Meksiku, virus H1N1 prouzrokovao je smrt oko 151.700 do 575.400 ljudi širom sveta i, prema CDC-u (Centri za kontrolu i prevenciju bolesti), pogodio više od 60 miliona ljudi samo u SAD.

Uticao narednih talasa kovid 19 na prirodnu imunizaciju svetske populacije još uvek nije poznat. Mali udeo seropozitivnih ljudi (2-6%) u prvom talasu bolesti^{33,34} pobio je početno očekivanje da se grupni imunitet može brzo uspostaviti, što bi rezultiralo progresivnim smanjenjem cirkulacije virusa i samim tim njegovim uklanjanjem. S obzirom na nizak udeo seropozitivnih ljudi nakon prvog talasa, nepoznato trajanje prirodno stečenog imuniteta i veoma veliki broj žrtava koje bi proizašle iz nekontrolisane masovne infekcije, napori su sada usmereni na programe vakcinacije za kontrolu pandemije.

Virusni S protein, najimunogeniji zbog izloženosti na omotaču virusa, jedan je od proteina koji je korišćen za razvoj vakcine protiv SARS-CoV-2. Međutim, zbog svoje podložnosti genetičkim variranjima, što rezultira promenama u strukturi i ponašanju proteina³⁵, biće potrebno vakcine prilagoditi novim sojevima, kao što je slučaj sa godišnjim vakcinama protiv gripa.

Zapravo, od njegovog nastanka krajem 2019. godine, u svetu je identifikovan sve veći broj SARS-CoV-2 sojeva. Neki su vrlo brzo zamenili početne sojeve, pokazujući svoju jasnu genetičku prednost u pogledu prenosa. Ovi novi sojevi takođe su doprineli ozbiljnosti pandemije kovid 19 s obzirom na to da povećanje prenosivosti dovodi do povećanja broja smrtnih slučajeva, u odsustvu masovnog imuniteta. Još uvek nije jasno da li su ti sojevi povezani sa težom kliničkom slikom.

Alfa soj (B.1.1.7) poznat i kao Kent soj, prvi put je otkriven u Velikoj Britaniji krajem 2020. godine. Nosio je veliki broj mutacija, od kojih mnoge u genu koji kodira S protein. Ovaj soj je znatno zarazniji od ostalih sojeva (sa 50% većom stopom prenosivosti^{30,31}) verovatno zbog mutacije N501Y (što znači da je aminokiselina N (asparagin) na položaju 501 zamenjena sa Y (tirozin)). Ova zamena aminokiselina pojačava vezivanje za ACE2 humani receptor. Lakšim i snažnijim vezivanjem, broj virusnih čestica neophodnih da se zarazi nova osoba mnogo je manji. Ostale mutacije uključuju deleciju H69 / V70³⁶, deleciju 144Y i zamene aminokiselina N501Y, A570D, D614G i P681H. Iako u početku ovaj soj nije bio povezan sa ozbiljnijim simptomima kovid 19, noviji podaci otvaraju mogućnost da infekcija alfa sojem može da bude povezana sa povećanim rizikom od smrti u poređenju sa drugim sojevima^{37,38}. Alfa soj se brzo proširio širom Velike Britanije, a do sredine februara 2021. već je bio otkriven u 70 zemalja.



Kolika je brzina prenosa kovida 19?

Brzina prenosa virusa meri se pomoću „R0“ ili „osnovnog broja reprodukcije“. To je prosečan broj ljudi na koje će zaražena osoba preneti zarazu, u scenariju u kojem su svi podložni virusu, a nisu primenjene nikakve mere kontrole.

U matematičkom smislu, $R_0 = 1$ znači da će svaki zaraženi pojedinac zaraziti još jednu osobu. Kada je R_0 veći od 1 ($R_0 > 1$), dolazi do eksponencijalnog povećanja broja zaraženih jedinki, što kulminira epidemijom.

Tokom pandemije kovida 19 razumevanje trendova i putanja R_0 korisnije je od samog gledanja na R_0 kao statičku meru. Ovo je poznato kao R_t (R_0 u vremenu ili brzina zaraze u vremenu). Nacionalne zdravstvene službe nastoje da saznaju kako se ova brzina menja nedeljno, kako bi procenile efikasnost lokalnih ili nacionalnih mera za sprečavanje infekcije i da bi procenile uticaj opuštanja takvih mera, iako može biti potrebno najmanje dve nedelje^{3, 4} da bi se uočile bilo kakve promene vrednosti R_t .

Koji su najčešći znaci i simptomi kovida 19?

Groznica, kašalj i umor su najčešći simptomi. Međutim, postoje značajne razlike u prisustvu ovih simptoma između pojedinaca i u različitim zemljama. Na primer, meta analiza 148 studija iz 9 zemalja otkrila je da je groznica, iako u celini najrasprostranjeniji simptom, prijavljena kod 78% svih pacijenata zaraženih kovidom 19 uključenih u ovu studiju, kod samo u 32% pacijenata u Koreji, dok je u Singapuru 83% pacijenata opisalo ove simptome. Ovo se ogleda u varijacijama u „glavnim“ simptomima kovida 19 objavljenim u različitim zemljama. Dok su u Portugaliji znakovi upozorenja groznica, kašalj i poteškoće sa disanjem, u Velikoj Britaniji su to groznica, kašalj i izmenjeni ukus i miris. Takođe se očekuje da se najčešći znaci i simptomi menjaju kako virus inficira različite starosne grupe i kako oni razvijaju određeni imunitet. Masovni imunitet stvorice selektivni pritisak na virus, što će rezultirati pojavom sojeva sa različitim karakteristikama.

Da li kovid 19 takođe utiče na različite starosne grupe?

Deca su manje pogođena od odraslih i obično ili imaju blaga stanja ili su asimptomatska. Starije osobe su posebno osetljive, često se razvijaju ozbiljnija klinička stanja. To se pripisuje većem broju ACE2 receptora, čiji se broj povećava s godinama, češćim prisustvom komorbiditeta i slabijim imunološkim sistemom. Stopa smrtnosti je takođe direktno proporcionalna starosti. Međutim, multisistemski inflamatorni sindrom dece (MIS-C)5 identifikovan je kod dece koja su ili zaražena SARS-CoV2 ili koja su bila u kontaktu sa nekim ko je zaražen. Potencijalno smrtonosan, ovaj sindrom karakteriše opšta upala više organa (uključujući srce, pluća, bubrege, mozak, kožu, oči ili gastrointestinalne organe). Prezentacija i simptomi se preklapaju sa simptomima drugih retkih dečijih bolesti, kao što je sindrom šoka Kavasakijeve bolesti (KDSS)6

Zašto je bolest kod nekih ljudi ozbiljna, a kod drugih blaga?

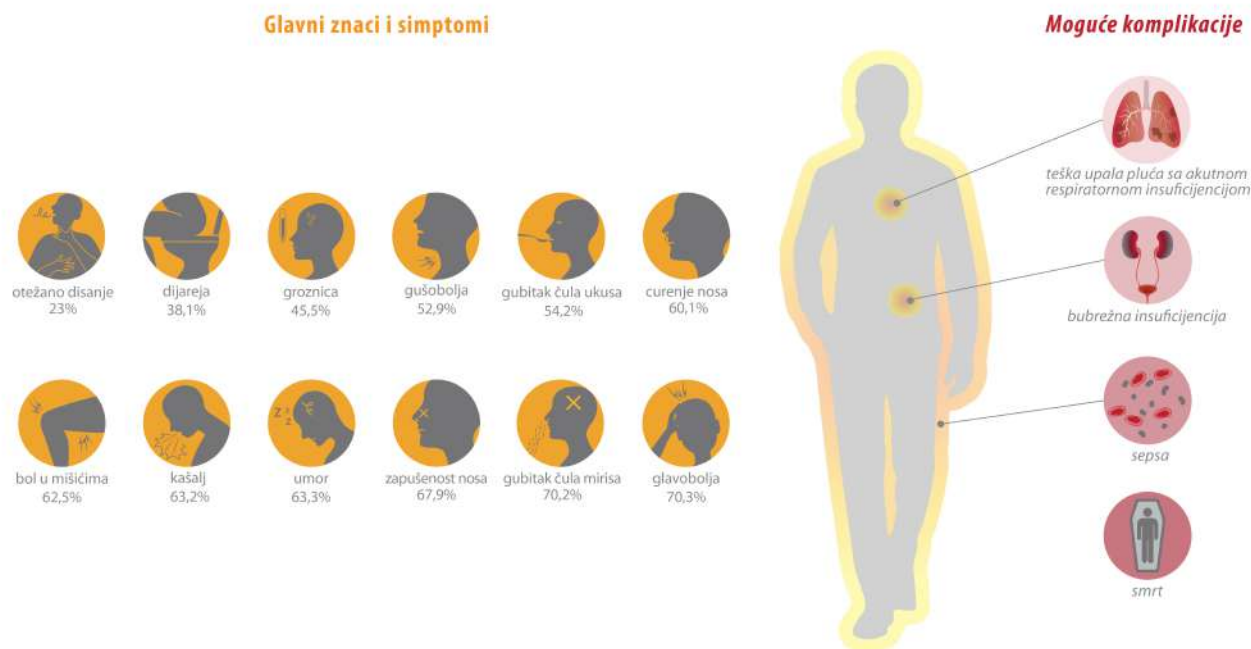
Nekoliko faktora doprinosi ozbiljnosti kliničkog stanja osobe. Pored starosti, neki od dodatnih faktora rizika su i postojanje plućne patologije poput hronične opstruktivne bolesti, astme ili emfizema koji oslabljuju pluća i favorizuju napredovanje infekcije, zatim dijabetes, kardiovaskularna patologija, hipertenzija i gojaznost. Identifikovani su i drugi pojedinačni faktori kao što su varijacije gena ACE2, TMPRSS2, HLA, CD147, MIF, IFNG i IL6, koji mogu da objasne smrtnost naizgled zdravih mladih osoba kao i poznate slučajeve otpornosti kod pojedinih starijih osoba7



Upozoravajući znaci multisistemskog inflamatornog sindroma dece (MIS-C) uključuju: povišenu temperaturu ($> 38^{\circ}\text{C}$) tokom 24 sata ili duže, bolove u stomaku, dijareju ili povraćanje, bol u vratu, osip ili promene boje kože, crvenilo očiju, umor, otežano disanje, bol ili pritisak u grudima, zbunjenost, nemogućnost da ostanu budni ili se probude, plavičaste usne ili lice¹⁵.



Nedavno je studija sprovedena u Velikoj Britaniji uporedila genom više od 2.000 ljudi koji su razvili teške oblike kovida 19 sa respiratornom insuficijencijom, sa genomom ljudi koji su razvili blaže oblike bolesti. Shodno tome, identifikovane su genetičke varijante u populaciji povezane sa teškim oblicima bolesti. Ove varijante su mapirane na hromozomima 12, 19 i 21, sa uticajem na ekspresiju gena tirozin kinaze 2 (TYK2), gena dipeptidil peptidaze 9 (DPP9), gena IFNAR2 koji kodira interferon i seta gena koji kodiraju aktivatore antivirusnog restrikcionog enzima (OAS1, OAS2, OAS3). Pronađena je uzročno-posledična veza između niske ekspresije IFNAR2 i visoke ekspresije TYK2 i oblika kovid pneumonije kod pacijenata sa kovidom 19 opasnih po život. Ovi nalazi su ukazali na nove mogućnosti za razvoj personalizovanih terapija usmerenih na genetički kod pacijenata kako bi se njihov imunološki odgovor prilagodio i kako bi se sprečilo napredovanje bolesti¹².



Slika 8 - Prezentacija i komplikacije kovida19 kod 24.410 pacijenata. Prilagođeno iz Grant i sar. 2020³⁰



Koliki je period inkubacije (između infekcije i pojave simptoma) kovida 19?

Prosečno vreme između izloženosti virusu i razvoja simptoma je 5 dana, ali može trajati i 14 dana⁸. Iz tog razloga, trenutni period karantina ili izolacije je 14 dana (vreme potrebno da proteknu period inkubacije i simptomska faza bolesti). Međutim, neke studije opisuju duži period inkubacije kod nekih ljudi.

U kojoj fazi infekcije SARS-CoV-2 može doći do prenosa na druge?

Većina prenosa javlja se pre pojave simptoma (60%)⁹. Potencijal za prenos se nastavlja tokom bolesti. Prisustvo virusne RNK otkriveno je posle više od 20 dana od pojave simptoma, posebno u crevnom traktu. Ovo može nagovestiti potencijalni prenos čak i nakon prestanka simptoma. Međutim, nije sigurno da li je prisustvo RNK u korelaciji sa infekcijom¹⁰, s obzirom na ograničenja navedena u odeljku 2.2.

Koliko je kovid 19 agresivan za opštu populaciju?

Podaci sugerišu da je 80% infekcija SARS-CoV-2 asimptomatsko ili blago (i zbog toga se može lečiti kod kuće), 15% su teške infekcije (zahteva hospitalizaciju radi davanja kiseonika), a 5% su kritične infekcije (koje zahtevaju mehaničku ventilaciju).

Kako se pojavljuju varijante SARS-CoV-2?

Neke mutacije mogu oslabiti sposobnost virusa da se repliciraju i / ili prenose sa domaćina na domaćina, ali virusne varijante sa tako štetnim mutacijama brzo se uklanjaju iz virusne populacije. Povremeno se javljaju povoljne mutacije, dajući novoj varijanti veći kapacitet za replikaciju, prenos i izbegavanje iz imunološkog sistema domaćina. Ove varijante prolaze kroz pozitivnu selekciju i, prema tome, postaju dominantne u odnosu na ostale varijante.

Beta soj (B.1.351) poznat i kao južnoafrički soj, otkriven je u oktobru 2020. godine u opštini Nelson Mandela Bej, Južna Afrika, i pojavio se nezavisno od alfa soja. Od tada je otkriven u više od 30 zemalja. Slično onome što se dogodilo sa sojem iz Velike Britanije, beta soj je brzo zamenio druge sojeve SARS-CoV-2 u Južnoj Africi. On deli neke mutacije sa alfa sojem³⁹, naime mutaciju N501Y u S proteinu, ali takođe nosi i mutacije E484K i K417N, što može smanjiti vezivanje antitela za virus. Preliminarni dokazi ukazuju na to da je vakcina Moderna mRNA-1273 možda manje efikasna u borbi protiv ovog soja⁴⁰. Međutim, nema dokaza da je on smrtonosniji od originalnih sojeva.

Gama soj (B.1.671.2 ili P.1), poznat i kao brazilski soj, prvi put je otkriven u januaru 2021 u Japanu kod grupe putnika iz Brazila. Ovaj soj ima 17 jedinstvenih mutacija, uključujući tri u receptor vezujućem domenu S proteina (N501Y, E484K i K417N)^{41,42}. Trenutno je veoma rasprostranjena u brazilskoj državi Amazonas. Postoje dokazi koji ukazuju na to da neke od mutacija kod gama soja mogu uticati na sposobnost antitela (bilo da su poreklom od prirodne infekcije ili vakcinacije) da prepoznaju i neutrališu virus 43, ali su potrebne dodatne studije da bi se to potvrdilo.

Delta soj (B.1.617.2), poznat i kao indijski soj, prvi put je identifikovan u državi Maharaštra u Indiji, u oktobru 2020. Ovaj soj se od tada proširio širom Indije u više od 96 drugih zemalja. Pored alfa, beta i gama soja, SZO ga smatra zabrinjavajućim sojem (VOC). Delta soj ima više mutacija povezanih sa poboljšanjem sposobnosti virusa da se veže za ljudske ćelije i da izbegne neke imunološke odgovore. Nedavno se pojavila mutacija te varijante, nazvana „delta plus“, koja zabrinjava svetske stručnjake.

Otkriveno je još nekoliko sojeva koronavirusa, kao što su, između ostalih, soj Kapa (iz Indije) i Eta (iz Velike Britanije). Očekuje se da će SARS-CoV-2 nastaviti brzo da evoluiru prirodnom selekcijom sojeva koji izbegavaju imunološki odgovor stečen kontaktom sa prethodnim sojevima i sa vakcinama.



Šta je zajedničko varijantama SARS-CoV-2 u Velikoj Britaniji, Južnoj Africi i Brazilu?

Jedna mutacija, koja dovodi do zamene aminokiselina D (aspartat) u G (glicin) u položaju 614 unutar proteina šiljka (D614G), deljena je između UK, južnoafričke i brazilske varijante. Ova mutacija daje varijantama mogućnost bržeg širenja od dominantnih virusa¹¹ jačanjem vezivanja za humane ACE2 receptore. To rezultira povećanom replikacijom virusa u primarnim kulturama epitela bronhijalnih i nosnih disajnih puteva kod čoveka i znatno povećava replikaciju i prenosivost na modelima SARS-CoV-2 infekcije kod hrčaka i feretki¹⁰.

Kakve su implikacije pojave nove varijante na uspeh vakcinacije?

Proizvođači vakcina stalno procenjuju efikasnost svojih vakcina protiv novih varijanti SARS-CoV-2. Izgleda da trenutno licencirane vakcine nude relativno dobru zaštitu protiv UK varijante, međutim, čini se da vakcine Novavax, Johnson & Johnson i Oxford / AstraZeneca imaju smanjenu zaštitu protiv južnoafričke varijante^{12, 13}

Važnost praćenja novih varijanti?

Potpuno sekvenciranje genoma kontinuirano nastajućih verzija SARS-CoV-2 najvažnije je za praćenje njihovog širenja, ažuriranje dijagnostičkih tehnika, prilagođavanje vakcina i dizajniranje efikasnih antivirusnih lekova.

Kako se imunitet grupe razvija protiv SARS-CoV-2 širom sveta?

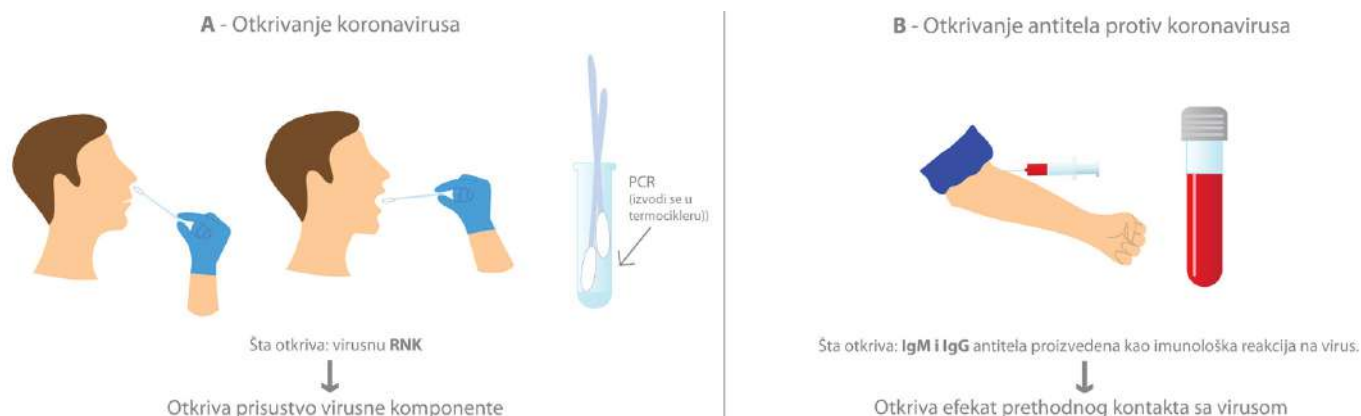
Imunitet grupe (ili krda) razvija se vrlo sporo, na šta ukazuju rezultati seroloških studija sprovedenih u nekoliko zemalja. U Portugaliji, u studiji koju je između 21. maja i 8. jula 2020. godine sproveo Nacionalni institut za zdravlje (INSA I.P.), prisustvo antitela pronađeno je kod oko 3% od 2.302 osobe u reprezentativnom uzorku stanovništva; u Španiji je 9,3% od 578 zdravstvenih radnika testiranih u periodu od 28. marta do 9. aprila 2020. bilo seropozitivno; 4,8% od 2.766 učesnika iz Ženeve testiranih između 6. i 9. maja 2020. imalo je antitela; 3,8% od 2.857 davalaca krvi u Brazilu testiranih između 14. i 27. aprila 2020. bilo je seropozitivno. Kontinuirana ili periodična procena imuniteta populacije je od suštinskog značaja za bolje razumevanje imuniteta krda. Međutim, još uvek je nejasno koliko traje ovaj imunitet i da li će biti efikasan protiv novih sojeva virusa.

3. DIJAGNOSTIKA I PREVENTIVNE MERE VEZANE ZA BOLESTI IZAZVANE KORONAVIRUSOM

Kao i kod većine ostalih zaraznih bolesti izazvanih životinjskim koronavirusima, znaci i simptomi infekcije kovidom 19 nisu specifični i stoga klinički slučajevi zahtevaju potvrdu dijagnostičkim testovima.

Laboratorijska dijagnoza može se izvršiti direktnim i indirektnim metodama. Prvi se zasniva na otkrivanju nekih komponenti virusa (npr. virusne RNK) molekularnim metodama kao što je lančana reakcija polimeraze sa reverznom transkripcijom (RT-PCR) (Slika 9A) ili drugim metodama kao što su DNK mikročipovi, izotermičke amplifikacije posredovane petljom (LAMP) i grupisani ravnomerno raspoređeni kratki palindromski ponovci (CRISPR).

Za detekciju drugih virusnih komponenata, kao što su proteini, takođe se mogu koristiti ELISA i tehnike imunofluorescencije. Na tržištu su dostupni i brzi antigen testovi za SARS-CoV2. Studije sprovedene u nekoliko zemalja pokazale su da postoje razlike u osetljivosti i specifičnosti ovih testova. Direktno posmatranje virusa elektronskom mikroskopijom ili u kulturi ćelija, posmatranjem morfologije zaraženih ćelija (citopatogeni efekat) predstavljaju tehnike koje se takođe mogu koristiti. Međutim, ove dve tehnike mogu biti izuzetno naporne, dugotrajne i zahtevaju specijalizovane laboratorije (npr. Laboratorije biološke bezbednosti nivoa 3).



Slika 9 A - Otkrivanje virusnog genoma se vrši uz pomoć *real-time* ili konvencionalnog PCR-a, jer se radi o RNK virusu. Otkrivanje virusne RNK, ili jedne od komponenti virusa, ukazuje na aktivnu ili nedavnu SARS-CoV-2 infekciju. **B**- Otkrivanje antitela može biti izvedeno brzim imunoesejima (ELISA, CLIA). Otkrivanje entitela ukazuje na prethodni kontakt sa virusom.

Indirektne metode detekcije zasnivaju se na otkrivanju antitela koja se proizvode kao odgovor na virusnu infekciju, kroz proces koji se naziva humoralni imunološki odgovor (Slika 9B). Izbor molekularnih i / ili seroloških dijagnostičkih testova zavisi od stadijuma bolesti i statusa vakcinacije. Na primer, serološki testovi se ne preporučuju za dijagnozu akutnih infekcija.

3.1. MOLEKULARNA DIJAGNOZA INFEKCIJA KORONAVIRUSOM

Molekularne metode zasnovane na RT-PCR izuzetno su osetljive i specifične (tj. otkrivaju samo patogen za koji su razvijene). Mogu se lako automatizovati, omogućavajući istovremenu analizu velikog broja uzoraka. Visoka osetljivost molekularnih metoda omogućava otkrivanje malih količina virusa u uzorku (1 do 10 kopija virusne RNK), što je slučaj na početku infekcije i zbog toga druge metode ne bi mogle da ga otkriju. Amplifikacija jednog ciljnog molekula koji je inicijalno prisutan u uzorku na hiljadu identičnih kopija u reakcionoj cevi daje specifičnu, osetljivu i brzu detekciju za nekoliko sati. Da bi se izvršio molekularni test, uzimaju se biološki uzorci u zavisnosti od tropizma virusa za različita tkiva domaćina. Kod infekcija koronavirusom koje karakteriše enteritis (FCoV, SuCoV, CCoV, BCoV), feces je odabrani uzorak za laboratorijsku dijagnozu. Kod respiratornih bolesti nastalih usled koronavirusa, kao što su PRCoV, TCoV i SARS-CoV-2, uzorci za analizu se uzimaju u obliku briseva eksudata (korišćenjem dugog štapića sa pamučnim vrhom) iz zadnjih delova nosnih šupljina (nazofarinksa) i grla (orofarinksa). Ove tečnosti sadrže mnogo ćelija domaćina koje sadrže virusne čestice ukoliko je osoba zaražena. Zatim se genetički materijal (domaćina i virusa) prisutan u ovim ćelijama izoluje da bi se testirao pomoću RT-qPCR. Ekstrakcija genetičkog materijala vrši se ručno ili automatski.

Pozitivan rezultat u RT-qPCR ukazuje na prisustvo virusne RNK CoV-SARS-2, ali ne pravi razliku između aktivne infekcije i infekcije koja se nedavno završila (kada je virus neutralizovan antitelima domaćina). Međutim, pošto je ova metoda kvantitativna, longitudinalna procena virusnih opterećenja, određena sekvencijalnim testovima, može otkriti napredovanje bolesti.



Koja je razlika između PCR i RT-PCR?

PCR (lančana reakcija polimeraze) umnožava genomsku metu iz molekula DNK, dok RT-PCR (reverzna transkripcija - lančana reakcija polimeraze) koristi molekule RNK kao predloške za komplementarnu sekvencu DNK, generisanu reverznom transkripcijom, nakon čega ciljni region može biti pojačan kao kod običnog PCR-a.

Šta znači pozitivan RT-PCR test za SARS-CoV-2?

Pozitivan test ukazuje na to da je osoba zaražena (ili je nedavno bila) zaražena SARS-CoV-2. RT-PCR detektuje virusnu RNK umesto živog zaraznog virusa (što bi zahtevalo naporne pokušaje izolovanja virusa u ćelijskoj kulturi), i stoga ne može da razlikuje prisustvo živog replicirajućeg virusa, koji predstavlja aktivnu infekciju, i neaktivnih ili neživih virusa ili virusnih čestica, koji mogu biti prisutni u organizmu neko vreme i nakon prestanka infekcija. Međutim, kao kvantitativni test, rezultati mogu nagovestiti koja je od ovih situacija verovatnija (očekivano je da će se otkriti velike količine virusne RNK ako postoji aktivna infekcija).

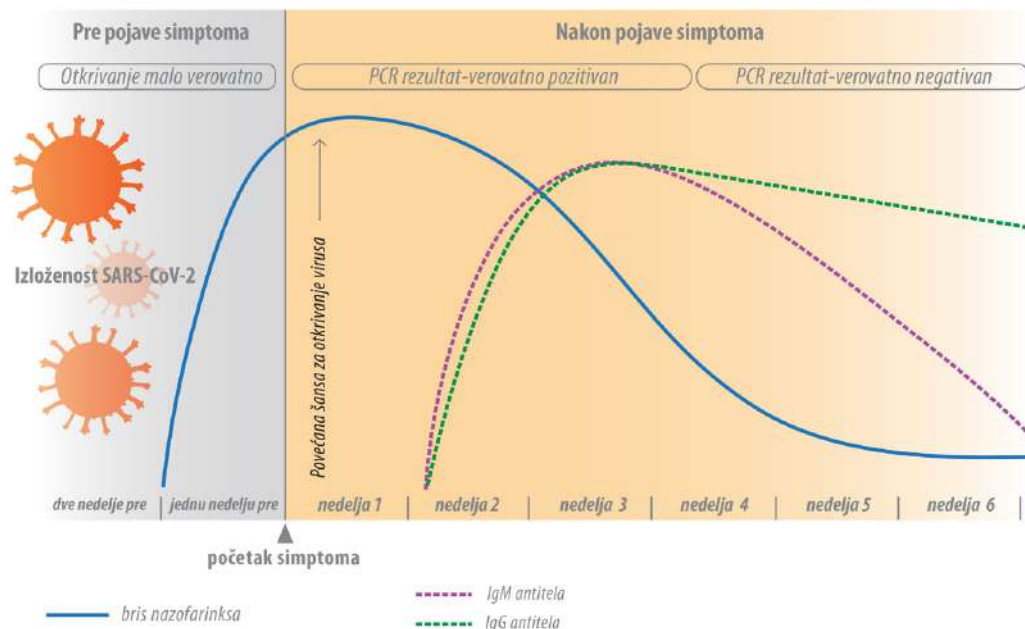


Da li je negativan RT-PCR test pouzdan?

Procenjuje se da je do 20% pacijenata sa negativnim rezultatima imalo lažno negativne rezultate¹⁴. Vreme testiranja tokom infekcije, kvalitet uzimanja uzoraka i osetljivost i specifičnost testa presudni su faktori koji osiguravaju pouzdan rezultat. Tamo gde postoji velika klinička i epidemiološka sumnja na infekciju, jedan negativni test, čak i onaj visoke osetljivosti, ne bi trebalo da kategorički isključi infekciju. U tim slučajevima test treba ponoviti.

3.2. SEROLOŠKA ISPITIVANJA KORONAVIRUSA

Serološki testovi mogu otkriti specifična antitela (imunoglobulini) protiv koronavirusa prisutnih u uzorcima krvi. Trenutno su komercijalno dostupni ELISA testovi koji otkrivaju antitela protiv koronavirusa povezanih sa infekcijama kod mačaka, pasa, svinja, goveda i ptica.



Slika 10 - Efikasnost dijagnostičkih metoda u otkrivanju SARS-CoV-2 infekcije od kontakta do pojave i progresije simptoma. Krive predstavljaju verovatnoću otkrivanja virusne RNK (RT-PCR) i antitela (IgM i IgG, ELISA) tokom vremena. Preuzeto iz Sethuraman i sar. 2020⁴⁴.



Šta znači pozitivan serološki test?

To znači da je osoba bila u kontaktu sa virusom i razvila je humoralni imunitet (tj. proizvela je antitela). Većina ljudi zaraženih SARS-CoV-2, bilo da je zaraza simptomatska ili asimptomatska, proizvodi antitela između 10. i 21. dana nakon infekcije. Međutim, u nekim slučajevima pojedincima je potrebno više vremena da razviju antitela, a čak možda uopšte i ne dođe do razvoja antitela.

Da li posedovanje antitela znači da je osoba zaštićena od naknadnih infekcija?

Zaštita koju daju antitela zavisi od njihovog neutrališućeg kapaciteta i koncentracije (tj. titra antitela u krvi). Međutim, postoje dokazi da su se neki ljudi koji su se oporavili od kovida 19 i razvili antitela ponovo zarazili infekcijom nakon nekoliko meseci. Ovo postavlja pitanje da li razvijeni imunitet pruža bilo kakvu zaštitu za naknadne infekcije. Velika stopa mutacije virusa može biti razlog neuspeha imunog odgovora.

Koliko dugo antitela mogu da postoje u krvi?

Dugotrajnost humoralnog odgovora i dalje se ispituje. Kanadsko istraživanje ukazuje da se nakon pojave simptoma antitela IgA i IgM brzo razgrađuju, dok antitela IgG ostaju relativno stabilna i do 150 dana u krvi i pljuvački¹⁵. To sugeriše da postoji mogućnost ponovne infekcije istim virusom.

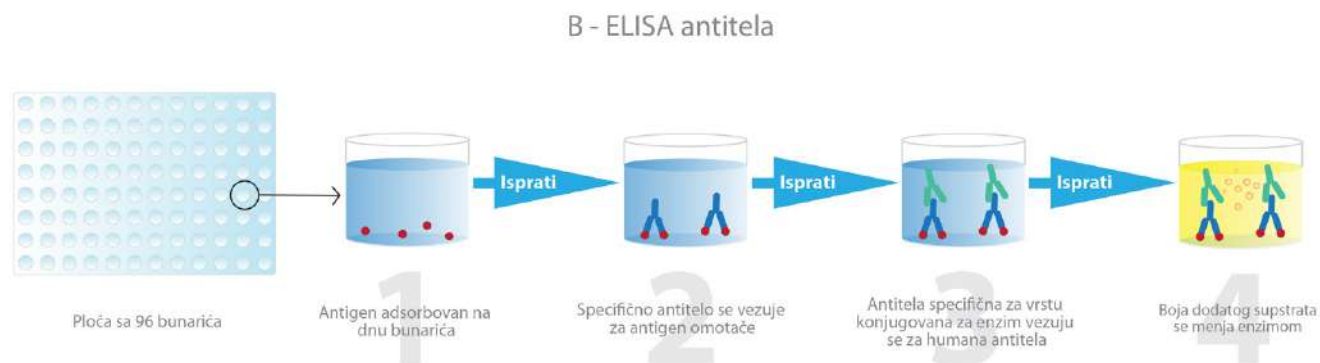
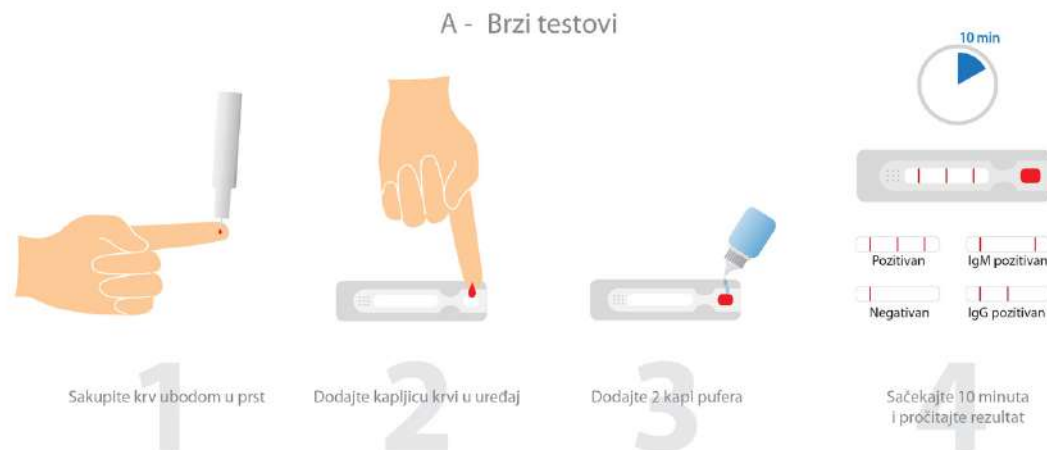
Za SARS-CoV-2 već su razvijeni i široko dostupni mnogi testovi koji se baziraju na različitim metodologijama (Slika 10).

Izloženost virusu kod imunokompetentnih osoba dovodi do stimulacije imunološkog odgovora, što uključuje proizvodnju specifičnih antitela protiv antigena prisutnih na površini virusa, posebno S proteina. Antigeni su virusne čestice (npr. proteini) koje stimulišu proizvodnju antitela.

Prva vrsta antitela (ili imunoglobulina (Ig)) koja se proizvodi u prvom kontaktu sa virusom su IgM (Slika 10), i ova antitela mogu trajati duže od mesec dana. Prisustvo IgM-a ukazuje na nedavnu infekciju. IgG antitela protiv SARS-CoV-2-obično se javljaju 6 do 15 dana nakon početka bolesti. Proizvodnja IgG se obično otkriva kasnije i na duži period. Nivoi antitela u serumu (npr. u krvi) mogu dostići svoj vrhunac jednu do dve nedelje nakon infekcije, a zatim polako opadaju. Takođe je poznato i kod drugih infekcija koronavirusom, kao što je MERS, da su nivoi antitela povezani i sa težinom kliničke slike. Nivo antitela može da bude niži i da brže nestane kod asimptomatskih osoba. Još uvek nije poznato koliko dugo je ovaj imunitet zaštitni, ali procenjuje se da bi mogao biti oko 6 do 12 meseci³⁹. Svetska zdravstvena organizacija (SZO) ističe da još uvek nema jasnih dokaza da su ljudi oporavljeni od kovida 19 trajno imuni i zaštićeni od ponovne infekcije. Posle drugog kontakta sa SARS-CoV-2, titri IgG se mogu znatno povećati.

Antitela (ukupni imunoglobulini ili njihove klase IgG, IgM i IgA) razvijena protiv SARS-CoV-2 antigena mogu se otkriti u celokupnoj krvi, serumu ili plazmi konvencionalnim testovima, uključujući imunoenzimske testove (npr. ELISA), hemiluminescentne testove (CLIA) ili brze imunohromatografske testove antitela (slika 11).

Brzi testovi za koje je potrebno sakupiti samo kap periferne krvi su brži i omogućavaju dobijanje rezultata za nekoliko minuta, ali su manje osetljivi i specifični. Imunohromatografski testovi koji koriste S protein kao antigen za otkrivanje antitela deluju osetljiviji od onih koji koriste nukleoprotein (N).



Slika 11- Primer testova koji otkrivaju antitela protiv SARS-CoV-2. A - Brzi test koji zahteva kap krvi koja se koristi u određenom uređaju. B-ELISA test, imunoenzimski test koji se izvodi u laboratoriji, koji zahteva specifičnu opremu (inkubator, podloška za pločice, spektrofotometar).



Da li je imunitet na druge humane koronavirusse takođe kratak?

Imunitet stečen zarazom je promenljiv. Pokazalo se da oko 90% pacijenata zaraženih SARS-CoV održava IgG antitela tokom dve godine, mada taj broj pada na 50% za tri godine¹⁶. Imunitet na MERS-CoV je kraći. Nakon infekcije sezonskim koronavirusom HCoV-229E IgA antitela se otkrivaju u krvi do godinu dana kasnije¹⁷. IgA antitela učestvuju u lokalnom imunitetu sluzokože u nosnoj šupljini braneći sluznicu koja je prolaz za mnoge viruse¹⁷.

3.3. MERE ZA SPREČAVANJE BOLESTI KOJE UZROKUJU KORONAVIRUSI

Kao i kod svih ostalih bolesti životinja, efikasni načini za prevenciju infekcije uključuju zdravstveni nadzor i sprovođenje mera biološke sigurnosti, posebno u životinjskoj industriji, kao i vakcinaciju.

3.3.1. Društveno distanciranje, respiratorni bonton i karantin

Preporučene mere za smanjenje stope prenosa SARS-CoV-2 uključuju često pranje / dezinfekciju ruku, poštovanje određenog socijalnog ponašanja (kijanje i kašljanje u lakat ili maramicu), nošenje maske za lice, fizičko distanciranje i samoizolacija ako se simptomi razviju ili ako je nedavno došlo do bliskog kontakta sa nekim ko je oboleo ili za koga se sumnja da je oboleo od kovida 19. Pregledom dokaza objavljenih u junu 2020. zaključeno je da je karantin važan kako za smanjenje broja slučajeva, tako i za smanjenje broja umrlih⁴⁵. Rezultati nekoliko studija modeliranja sugerišu da je karantin bio efikasniji i da je koštao manje kada je ranije primenjen. Smatra se da je poštovanje karantina od strane osoba koje su bile u kontaktu sa potvrđenim ili sumnjivim slučajevima obolelih od kovida 19 sprečilo 44-96% incidentnih slučajeva i 31-76% smrtnih slučajeva⁴⁶. Slično tome, postoje koristi i od stavljanja u karantin osoba koje putuju iz zemalja u kojima je došlo do izbijanja zaraze kovida 19 ili sa znatno većim brojem slučajeva kovida 19. Neke studije su pokazale da može doći do smanjenja Rt (pokazatelja koji definiše stepen prenosivosti infekcije) za 37-88% zahvaljujući primeni karantina⁴⁷. Studija takođe zaključuje da je efekat karantina veći u kombinaciji sa drugim merama prevencije i kontrole (Slika 12).

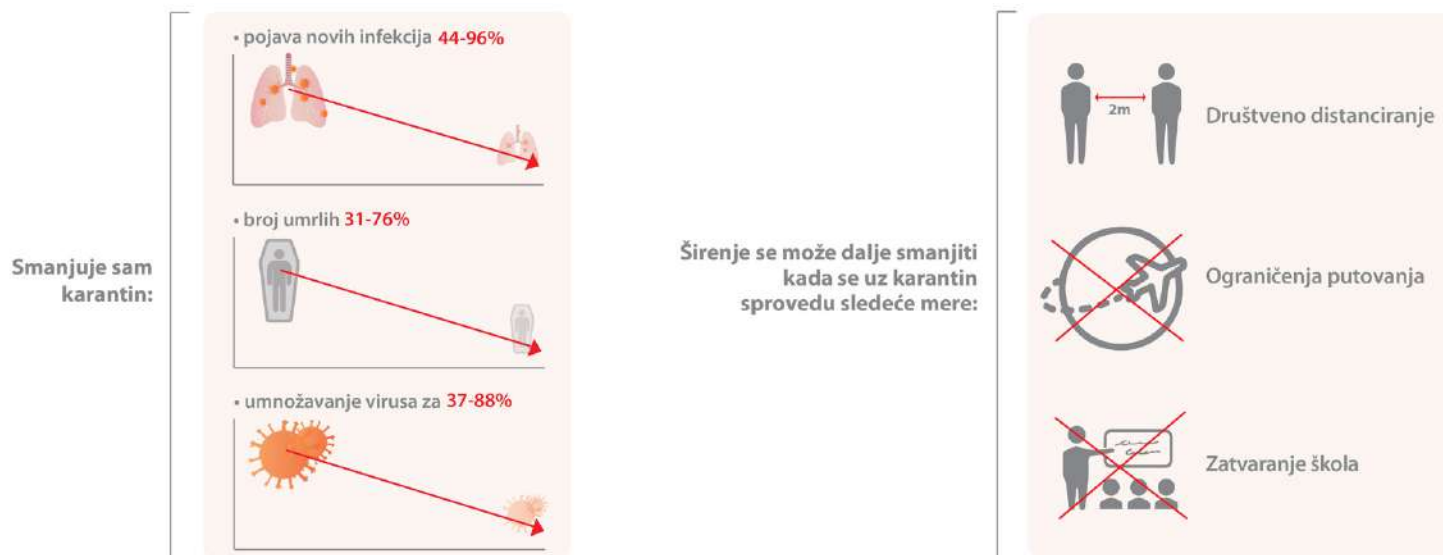
Postoje naučni dokazi koji podržavaju pranje ruku. Mehaničko dejstvo pranja je samo po sebi važno za uklanjanje znatnog broja virusa i pospešuje naknadno dejstvo deterdženata i dezinfekcionih sredstava koji deluju na spoljni omotač virusa. Koronavirusi zahtevaju netaknuti virusni omotač da bi mogli da zaraze osetljive ćelije domaćina i započnu svoj replikativni ciklus. S obzirom na osetljivu lipidnu prirodu ovog omotača, on se lako uništava deterdžentima koji emulgiraju masti ili rastvorima za dezinfekciju na bazi alkohola, koji je oštećuju i dovode do brze i nepovratne denaturacije proteina (promena u strukturi proteina, poput onoga što se događa sa belancima kada se skuvaju) (Slika 13).



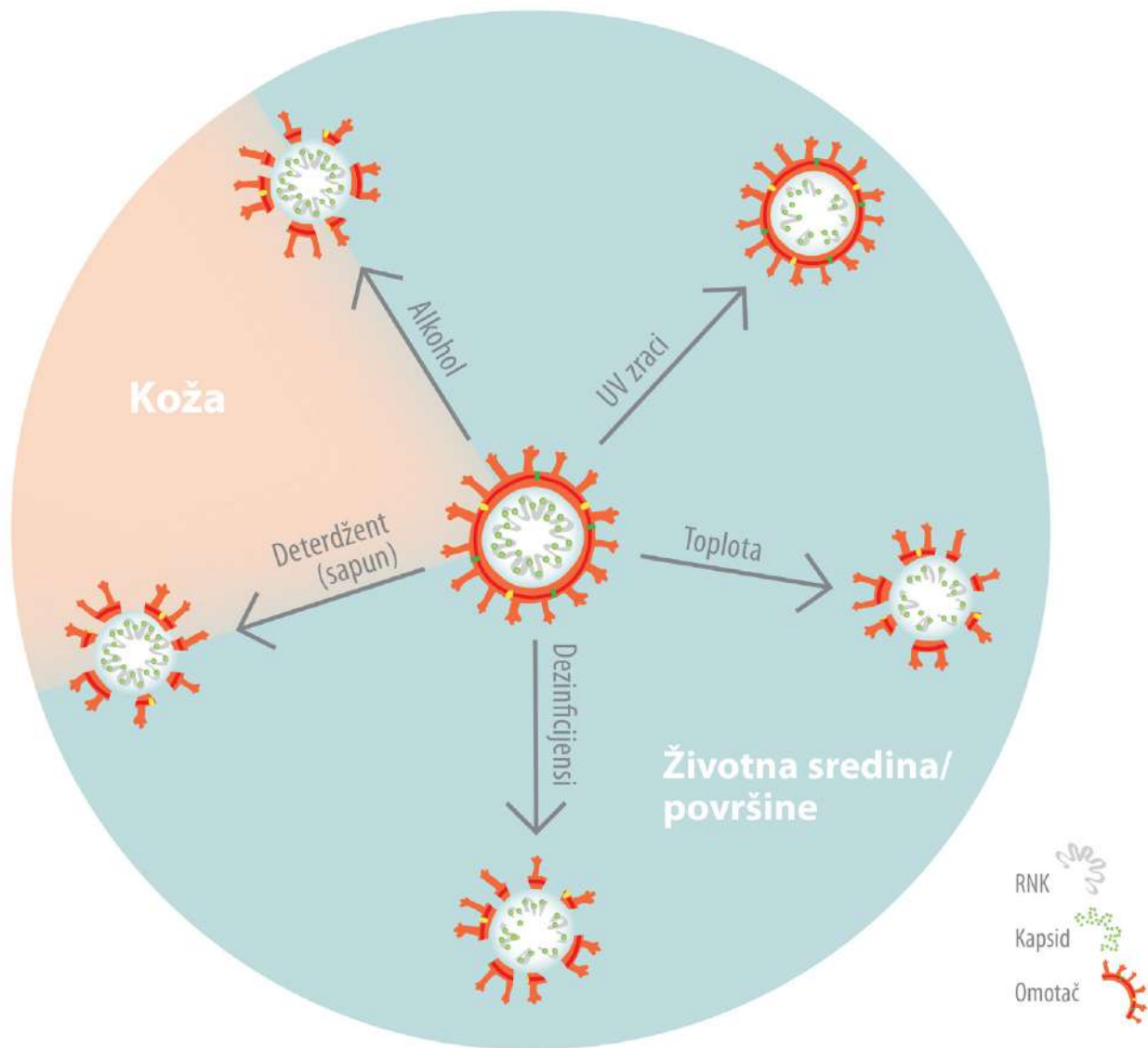
Imunski odgovor na patogen karakteriše humoralni celijski odgovor. Humoralni odgovor uključuje proizvodnju imunoglobulina (antitela) različitih klasa (IgM, IgG, IgA, IgD i IgE, koji se razlikuju po tipu teškog lanca), čija je funkcija signaliziranje i borba protiv infekcije. Zbog razlika u polipeptidima teškog lanca, ovi imunoglobulini su uključeni u različite vrste imunoloških odgovora i u različitim fazama infekcije. IgM, IgG i IgA su posebno važni u borbi protiv virusnih i bakterijskih infekcija. IgM se proizvode na početku infekcije, što je vrlo efikasno u početnoj fazi zaraznih procesa; IgG se pojavljuju nakon IgM, obično u većoj koncentraciji i duže ostaju u krvi. IgA igraju važnu ulogu u zaštiti crevnih, respiratornih, i urogenitalnih epitela sluznice koj i odvajaju spoljašnju sredinu od unutrašnjosti tela. Celijski imunitet povezan je sa aktivacijom specifičnih imunih ćelija (T limfocita), sposobnih da identifikuju i eliminišu patogen iz zaraženih ćelija domaćin a. Dva odgovora (celijski i humoralni) zajedno rade na uklanjanju infekcije. Ponekad pogoršanje procesa imunog odgovora samo po sebi može biti izuzetno štetno za domaćina¹⁶.

Kao i kod ostalih koronavirusa, termička obrada i ultraljubičasto (UV) zračenje primenjeno na nežive predmete i površine uzrokuju nepopravljivo oštećenje virusne RNK, izazivajući strukturne promene u virusnim proteinima i na taj način ugrožavajući replikaciju. SARS-CoV-2 može da podnese opseg temperatura od ispod 0°C do nešto ispod 60°C, što se smatra temperaturom inaktivacije⁴⁶. Bez svog omotača, koronavirusi nisu zarazni, jer ne mogu prirodno da uđu u ćelije domaćina i da započnu svoj replikacioni ciklus. Iz svih ovih razloga, higijena ruku lipidnim rastvaračima, poput deterdženata ili 70% alkoholnih rastvora, i dezinfekcija svih dodirnutih površina proizvodima koji sadrže hlor, persirčetnu kiselinu i hloroform su efikasne mere za suzbijanje zaraze.

Pokazalo se da su napori da se pandemije obuzdaju merama biološke bezbednosti nedovoljni zbog toga što je primena tih mera teška i zbog nepoštovanja mera od strane javnosti. Povratak normalnom društvenom i ekonomskom životu oslanja se na uspešnu vakcinaciju u cilju sprečavanja bolesti (naročito teških oblika bolesti) i ograničavanja širenja virusa. Razvoj imuniteta vakcinacijom smanjuje rizik od obolevanja i dugoročnih posledica. Imunitet takođe štiti druge, jer su kod vakcinisane osobe koja se zarazi virusom manje izlučivanje i prenošenje virusa. Stoga je vakcinacija posebno važna za zaštitu ljudi sa povećanim rizikom od teške bolesti usled kovida 19, kao što su starije osobe i osobe sa ugroženim zdravstvenim stanjem.



Slika 12 - Značaj karantina u smanjenju prenosa SARS-CoV-2



Slika 13- Metode inaktivacije virusa i njihova efikasnost. Prilagođeno iz Pfaender i sar. 2015⁶³.



Koje su preporuke Svetske zdravstvene organizacije (SZO) za sprečavanje širenja kovida 19 sa osobe na osobu?

- 1 - Ograničite bliski kontakt između zaraženih ljudi i drugih;
- 2 - Osigurajte fizičku udaljenost od najmanje 1 metar između ljudi koji ne pripadaju istom domaćinstvu, na radnom mestu i u javnim prostorima;
- 3 - Nosite masku kada društveno udaljevanje ne može biti zagarantovano;
- 4 - Brzo identifikujte zaražene ljude, obezbedite njihovu izolaciju i, tamo gde je potrebno, olakšajte lečenje. Izolujte sve njihove nedavne bliske kontakte;
- 5 - Često dezinfikujte ruke (aktivnost koja smanjuje mikrobiološko opterećenje ruku i direktno deaktivira virus);
- 6 - Izbegavajte gužvu i zatvorene prostore sa lošom ventilacijom;
- 7 - Osigurajte dobru ventilaciju u zatvorenom, uključujući domove i kancelarije;
- 8 - Ostanite kod kuće kada se osećate loše i što pre kontaktirajte svog lekara da biste utvrdili da li vam je potrebna medicinska pomoć;
- 9 - U zemljama ili oblastima u kojima cirkuliše kovid 19, zdravstveni radnici bi trebalo da nose medicinske maske neprekidno tokom svih rutinskih aktivnosti u kliničkim oblastima u zdravstvenim ustanovama;
- 10 - Zdravstveni radnici takođe treba da koriste ličnu zaštitnu opremu i dodatne mere predostrožnosti kada neguju pacijente sa kovidom 19;
- 11 - Radna mesta moraju biti u skladu sa postojećim merama zaštite.

Kakva je važnost dezinfekcije ruku u prevenciji kovida 19?

Do infekcije SARS-CoV-2 dolazi udisanjem i gutanjem virusnih čestica. Međutim, očna konjunktiva takođe predstavlja mesto infekcije ovim virusom. Čak i kada nosimo masku, ako rukama dodirujemo kontaminirani predmet, a zatim usta ili oči¹⁸ to dovodi do kontakta između virusa i sluzokože, što kasnije može dovesti do infekcije.

Zašto koristiti sapun i 70% alkohol za dezinfekciju ruku?

Pranje ruku sapunom je najefikasnija mehanička metoda eliminacije većine mikroorganizama prisutnih na koži. Upotreba 70% alkohola (7 delova alkohola, 3 dela vode) osigurava inaktivaciju šireg spektra mikroorganizama, uključujući viruse sa omotačem, poput SARS-CoV-2. Važno je napomenuti da ruke moraju biti dobro oprane pre upotrebe alkoholnog rastvora ako su vidljivo zaprljane, jer višak nečistoće (organske materije) narušava antimikrobno delovanje alkoholnih jedinjenja. Sapun i alkohol rastvaraju i, prema tome, menjaju lipide virusnog omotača, sprečavajući na taj način virus da se veže za ćelijske receptore domaćina i izazove infekciju.

Zašto je 70% alkoholni rastvor efikasniji od čistog alkohola?

Kapacitet dezinfekcije alkohola razblaženog vodom na 50-80% veći je od nerazređenog alkohola. Alkohol denaturiši proteine i rastvara masti u bakterijama, gljivicama i nekim virusima. Međutim, kada se nanese čist, alkohol brzo denaturiši samo njihove najudaljenije slojeve, zatvarajući i štiteći njihovu unutrašnjost, omogućavajući njihov opstanak. Da bi alkohol bio efikasniji u dubljem prodiranju u mikroorganizme, mora da se meša sa vodom koja služi kao nosač, tako da može doći do direktnog kontakta između molekula.

Zašto bi trebalo koristiti razblaženi izbeljivač za dezinfekciju površine?

Izbeljivač razblažen vodom (0,5% do 1%) efikasniji je u ubijanju mikroorganizama. Pored toga, izbeljivač u visokim koncentracijama iritira sluznicu (oči, nos, usta), kožu i disajne puteve. Nerazređen, izbeljivač se razlaže toplotom i svetlošću i brzo reaguje sa ostalim hemikalijama, pa ga treba koristiti sa oprezom u dezinfekciji površina i uvek razblaženog.

Da li je upotreba maski efikasna u sprečavanju prenosa?

Maska je suštinska prepreka za ograničavanje kontaminacije i mora da se koristi zajedno sa ostalim merama za sprečavanje prenosa virusa. Nošenje maske vam u osnovi omogućava da zaštitite druge i zato je gest poštovanja i društvene svesti. Maske su fizičke i elektrostatičke barijere koje blokiraju kapljice koje izbacujemo kroz usta i nos, a koje mogu sadržati zarazne koronaviruse. Maska pomaže u smanjenju širenja čestica SARS-CoV-2 u atmosferu, koje ispuštaju zaraženi ljudi (čak i asimptomatski)¹⁹, i zato je posebno važna za smanjenje prisustva virusa u životnoj sredini. Maska takođe štiti one koji je koriste, jer filtrira vazduh koji udišemo i na taj način smanjuje zaraznu dozu (tj. koncentraciju virusa koji nas mogu zaraziti), što zauzvrat takođe smanjuje težinu infekcije. Treba napomenuti da maska ne pruža nikakvu dodatnu zaštitu od rizika od indirektnog prenosa rukama. Sastav maske i njen pečat su veoma važni faktori koji utiču na njenu efikasnost. Upotreba platnenih maski (ručno izrađenih, perivih) i hirurških (za jednokratnu upotrebu) znatno smanjuje emisiju kapljica i aerosola kod zaraženih ljudi koji ih nose, pružajući tako određeni stepen zaštite okolnim ljudima i doprinoseći efikasnom smanjenju prisustva virusa. Međutim, ni zaštitne maske za lice ni hirurške maske ne filtriraju efikasno aerosole iz vazduha koji okružuje korisnika maske. Samo maske ili respiratori kategorije N95 / FFP2 imaju sposobnost filtriranja oko 95% aerosola u životnoj sredini (štiteći korisnike i one oko njih) i savetuju se zdravstvenim radnicima koji rade u sredinama sa velikim prisustvom virusa ili ljudima koji rade u sredinama i prostorima sa velikom popunjenošću i lošom aeracijom.



Da li je korišćenje rukavica važno u sprečavanju prenosa?

Iako SARS-CoV-2 ne može da nas zarazi transdermalno, ruke često prenose viruse do prepoznatih ulaznih mesta, uključujući sluznicu usta, nosa i očiju. Čestim pranjem i dezinfekcijom ruku znatno smanjujemo verovatnoću infekcije kada nesvesno dodirujemo usta, nos ili oči. Iako rukavice mogu efikasno da zaštite ruke, njihova spoljna površina i dalje može biti kontaminirana i preneti virus, baš kao i gole ruke. Zato upotreba rukavica može da pruži lažni osećaj sigurnosti.

Koje se druge mere preporučuju za zaustavljanje prenosa virusa?

Sama upotreba maski nije dovoljna da spreči prenos virusa. Ostale mere koje efikasno smanjuju prenos uključuju poštovanje fizičke distance, pranje ruku i dezinfekciju površina. Dalje, kada kihnemo, čak i kada koristimo masku, to bi trebalo da uradimo u lakat, a zatim da dezinfikujemo ruke.

Kako vakcinacija može da kontroliše infekciju?

Pokazalo se da vakcinacija protiv SARS-CoV-2 znatno ublažava bolest. Imunizovani ljudi i dalje mogu da se zaraze, ali, za razliku od neimunizovanih, brzo će razviti specifič-na antitela koja neutrališu virus i tako kontrolišu i uklanjaju infekciju. Ako se utvrdi da vakcine znatno smanjuju prenosivost virusa, lanac infekcije će se prekinuti, što će rezultirati smanjenjem broja virusa u opticaju. Učestalost vakcinacije zavisice od vremena kada vakcina može da pruži imunitet.

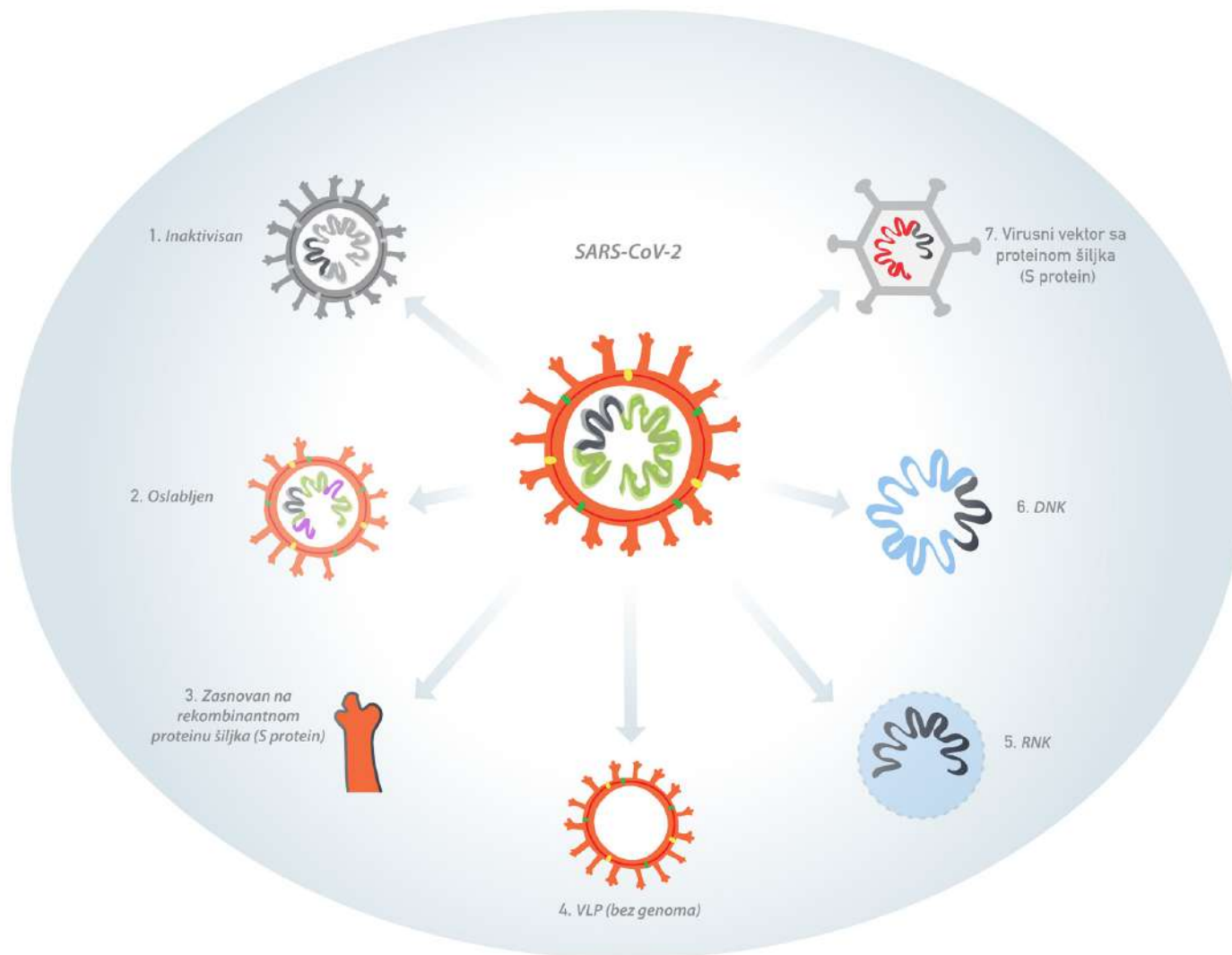
Koji je tretman za kovid 19?

Još uvek postoje terapije za kovid 19. Podržavajući tretman ima za cilj ublažavanje simptoma i uključuje antipiretike, analgetike, antiinflamatorne lekove i, ako je potrebno, dodatak kiseonika. Remdesivir je trenutno najčešće korišćeni antivirusni lek i čini se da smanjuje vreme oporavka pacijenata sa infekcijom donjih disajnih puteva sa 15 na 10 dana²⁰. Imuno-modulaciona terapija se koristi u težim slučajevima.

3.3.2. Vakcine

Više od 180 kandidata za vakcinu protiv SARS-CoV-2 razvijeno je širom sveta. Svetska zdravstvena organizacija (SZO) stara se o radnom dokumentu koji uključuje većinu vakcina u razvoju⁴⁸. Razvojni pristupi koji se koriste za SARS-CoV-2 vakcine mogu se podeliti na „tradicionalne“, koje uključuju inaktivirane ili žive virusne vakcine, „rekombinantne proteinske vakcine“, „vektorske vakcine“, „DNK“ i „RNK vakcine“ (Slika 14).

Inaktivirane vakcine se proizvode množenjem SARS-CoV-2 u VERO ćelijama ili u drugim ćelijskim linijama u laboratorijama trećeg stepena biosigurnosti (BSL-3), nakon čega sledi hemijska inaktivacija virusa, na primer sa beta-proprilaktonom (organsko denaturišuće jedinjenje)^{50, 51}. Kako je ceo virus prisutan u vakcini, razvija se imuni odgovor na sve strukturne proteine (ne samo na S proteine već i na M, N i E proteine). Ove vakcine se obično daju intramuskularno i mogu sadržati pomoćne supstance poput aluminijum hidroksida. Primeri inaktiviranih vakcina protiv kovida19 jesu vakcine BBIBP-CorV (Sinopharm), CoronaVac (SinoVac) i Covakin (Bharat Biotech).



Slika 14 - Šematski prikaz tipova vakcina protiv SARS-CoV-2 koje su trenutno dostupne. U sredini slike je prikazana čestica virusa SARS-CoV-2, okružena tipovima vakcina koje su napravljene od SARS-CoV-2 ili njegovih delova: 1- vakcine sa inaktivisanim virusom (umrtvljeni virus); 2- vakcine sa živim oslabljenim virusom (virus smanjene patogenosti); 3- rekombinantne vakcine (sadrže S protein ili domen receptora za vezivanje S proteina); 4- vakcine zasnovane na virusu sličnim proteinima (VLP), koje se sastoje od praznih kapsida; 5- vakcine zasnovane na informacionoj RNK (RNK koja kodira za S protein je u lipidnim nanočesticama); 6- DNK vakcine koje vrše ekspresiju S proteina; 7- virusne vektorske vakcine koje vrše ekspresiju S proteina. Prilagođeno iz Kramer, 2020

Žive oslabljene vakcine koriste slabiju živu verziju virusa, koja se može umnožavati samo u ograničenoj meri, uzrokujući infekciju, ali ne i bolest. Ovo izaziva imuni odgovor sličan onome koji bi se dogodio kod prirodne infekcije. Slabljenje virusa se može postići prilagođavanjem virusa na nepovoljne uslove ili genetičkim modifikacijama^{48,52}. Ove vakcine mogu da se daju intranazalnim putem, izazivajući imunološki odgovor sluznice koji može da zaštiti gornje disajne puteve, primar-ni prirodni put ulaska SARS-CoV-2 u domaćina. Kako se virus umnožava kod vakcinisane osobe, izazivaju se snažni humoralni i ćelijski odgovori na strukturne i nestrukturne virusne proteine. Zabrinutost u vezi sa sigurnošću vakcine jedan je od nedostataka ove vrste vakcine⁵³.

Rekombinantne proteinske vakcine stvorene su od virusnih proteina koji se proizvode biotehnološkim procesima. To uglavnom uključuje S protein, smešten u domenu virusa odgovornog za vezivanje za receptor, ili skup strukturnih proteina koji se spontano spajaju u česticu sličnu virusu (VLP), čija struktura oponaša prirodni virus, ali koji u sebi nema genetički materijal i samim tim ne može da se replicira. Svi ovi rekombinantni proteini mogu biti ekspimirani u različitim sistemima, uključujući ćelije sisara, kvasca, biljaka ili ćelije insekata⁵³⁻⁵⁵. Slično inaktiviranim vakcinama, ubrizgavaju se intramuskularno i ne očekuje se da rezultiraju snažnim imunitetom sluznice. Vakcina NVKS-CoV2373 (VLP, Novavaks) je rekombinantna proteinska vakcina protiv kovida 19.

Virusne vektorske vakcine se sastoje od virusa (vektor) koji je izmenjen kako bi ekspimirao specifični protein/antigen koji pripada virusu od kojeg vakcina stvara zaštitu. S obzirom na to da virusni vektori mogu da zaraze ćelije i u njih unesu antigen (S protein u slučaju SARS-CoV-2 vakcina⁴⁸) veoma efikasno, one izazivaju jak imuni odgovor. Većina ovakvih vakcina se primenjuje intramuskularno.

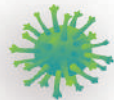
Postoje dva tipa virusnih vektora: nereplicirajući i replicirajući. Kod nereplicirajućih virusnih vektora, vektorski virus, obično adenovirus (AdV), nije u stanju da se replicira i izazove bolest⁵⁶. Prednost ovog pristupa je što postupak inaktivacije čini vektore sigurnijim, čak i kod imunokompromitovanog domaćina, sprečavajući replikaciju. Korišćenjem inaktiviranih vektorskih vakcina, količina antigena koja se daje može da se standardizuje, kao što je slučaj sa inaktiviranim ili rekombinantnim proteinskim vakcinama. Primeri kovid 19 vakcina nereplicirajućih virusnih vektora su Johnson & Johnson, Oksford-AstraZeneca i Sputnik V.

Replicirajuće vektorske vakcine koriste oslabljeni virusni vektor sposoban za replikaciju. Kako je vektor sposoban da se umnoži do neke mere kod vakcinisane osobe, očekuje se snažniji imunitet u poređenju sa inaktiviranim, rekombinantnim ili nereplicirajućim vektorskim vakcinama. Neke od ovih vakcina mogu da se primenjuju i preko površina sluzokože, što može pokrenuti snažne imunološke odgovore sluznice. Virus gripa⁴⁸, virus besnila⁴⁸, virus vezikularnog stomatitisa (VSV)⁶⁰, vakcinija virus i virus Njukasl bolesti (NDV)^{61,62} koriste se trenutno⁴⁵. Ove vakcine se proizvode korišćenjem slične tehnologije kao u slučaju proizvodnje vakcina protiv gripa⁵⁹.

Jedan od nedostataka ovih vakcina jeste mogućnost postojanja prethodnog imuniteta na vektor⁵⁷, što može da neutrališe vakcinu pre nego što ona može da izazove proizvodnju virusnih čestica. To se, međutim, može prevazići upotrebom životinjskih virusa⁵⁸ kao vektora, čime se obezbeđuje da ljudi nemaju prethodni kontakt ili imunitet na njega.

DNK vakcine se zasnivaju na plazmidnoj DNK (samoreplicirajućih molekula manjih od hromozoma) koja u velikoj meri može da se proizvede u bakterijama. Ovi plazmidi sadrže sisarske promotore ekspresije i S-gen, koji se eksprimira u vakcinisanoj osobi. Velike prednosti ove tehnologije uključuju visok stepen stabilnosti plazmidne DNK. Međutim, DNK vakcine često pokazuju nisku imunogenost i moraju da se daju putem uređaja za isporuku kako bi bile efikasnije.

RNK vakcine su najnovije vakcine, koje se sastoje od dela virusne RNK, koja se obično isporučuje putem lipidnih nanočestica (LNP), s obzirom na nestabilnost ovog molekula. U ovom slučaju, genetičke informacije koje kodiraju antigen (S protein) isporučuju se u obliku iRNK (sa određenim modifikacijama) ili samoreplicirajuće RNK, umesto samog S proteina. S protein se zatim eksprimira u ćelijama nakon vakcinacije. Korišćenjem ove tehnologije vakcina može da se potpuno proizvede *in vitro*. Međutim, ove vakcine moraju da se skladište na veoma niskim temperaturama. Pored toga, ove vakcine se daju injekcijom i stoga je malo verovatno da će izazvati jak imunitet sluzokože⁶³, Primeri ovih vakcina su BNT162b2 kompanije Pfizer BioNTech i mRNA-1273 kompanije Moderna.



4. KORONAVIRUSI U SVETU

Većina životinjskih (npr. FCoV, CCoV i TGE) i ljudskih (npr. HCoV2-229E, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 i HCoV-OC43) koronavirusa postoji širom sveta.

Prvo prijavljeno izbijanje zaraze SARS-CoV, uzročnika SARS kod ljudi, desilo se između 2002. i 2003. godine. Bilo je pogođeno oko 8096 ljudi iz 33 zemlje, sa ukupno 774 smrtna slučaja⁶⁵. Neke studije sugerišu da su se prvi slučajevi pojavili u provinciji Guangdong, gde je virus cirkulisao oko 2 meseca pre nego što je izazvao veliko izbijanje zaraze u gradu Guangđzhou⁶⁶. Međunarodni prenos dogodio se kasnije, na devetom spratu hotela Metropol u Hongkongu, nakon kontakta sa lekarom zaraženim SARS-CoV. Ostali gosti na istom spratu su zaraženi i kasnije su se vratili u zemlje porekla, na različite kontinente, izazivajući brzo širenje virusa širom sveta^{67,68}.

MERS-CoV je prvi put otkriven kod pacijenta u Saudijskoj Arabiji (Bliski istok) 2012. godine, a od 1. marta 2020. godine Svetska zdravstvena organizacija potvrdila je oko 2553 slučaja i 856 smrtnih slučajeva koji su se dogodili do danas⁶⁹. Iako se ovaj koronavirus (MERS-CoV) proširio na druge delove sveta poput Francuske, Nemačke, Italije, Tunisa, Ujedinjenog Kraljevstva, preko ljudi koji su putovali ili privremeno radili na Bliskom istoku, većina istorijskih i novih slučajeva javila se a i dalje se javlja na Arabijskom poluostrvu.

Trenutna pandemija kovida 19 dosegla je 213 zemalja i regiona, zarazivši milione ljudi. Njeno širenje je znatno veće nego kod SARS-a i MERS-a. Broj zaraženih ljudi do 10. decembra 2020. godine iznosio je 68 miliona.



Koja je stopa smrtnosti povezana sa infekcijom kovidom 19?

Iako stvarni mortalitet od kovida 19 nije tačno poznat, trenutni podaci sugerišu da je stopa mortaliteta (ukupan broj smrtnih slučajeva stanovnika određenog geografskog područja, države, okruga, itd.) podeljena ukupnom populacijom za isto geografsko područje (za određeni period, obično kalendarsku godinu) i pomnoženo sa 100.000) između 3-4%, mada se među zemljama veoma razlikuje, i kreće se od 0,1% do 25%²¹. Međutim, stvarna stopa smrtnosti biće niža zbog slučajeva koji nisu identifikovani ili evidentirani. Na stopu smrtnosti utiču pristup i kvalitet zdravstvene zaštite, infektivna doza virusa i virulencija sojeva.

Kako će se razvijati pandemija?

Budućnost pandemije još uvek nije poznata i zavisice od ravnoteže između sposobnosti virusa da evoluiru i imunog odgovora populacije. Imuni odgovor će se steći prirodno infekcijom ili veštački putem vakcine. Ishod ove zajedničke evolucije još uvek nije poznat, jer će naš imunitet podstaći virus na evoluciju.

5. ŠTA SADA?

Virusi su vrlo neobični. Ne samo zbog stalno prisutnog kontroverznog pitanja da li su živa bića ili ne. Iako zavise od živih ćelija kojima pristupaju preko površinskih receptora, oni se razmnožavaju efikasnije nego bakterije, paraziti i gljivice. Baš kada naučnici pomisle da su razvili rešenje za izazove koje predstavlja virus, često se iznenade ili novom mutacijom ili brzom pojavom novog virusa, koji ta ista rešenja poništavaju.

Ni o jednom ljudskom, životinjskom ili zoonotskom virusu nije se govorilo i izveštavalo u međunarodnim medijima u toj meri kao što je to slučaj sa SARS-CoV-2, uprkos činjenici da su virusi evoluirali paralelno sa nama i oblikovali ljude i društva. Virus malih boginja, side i sezonskog gripa i danas imaju značajan uticaj na društvo. Pojava koronavirusa kovid 19 krajem 2019. godine predstavljala je neviđen izazov za vlade i zdravstvene službe širom sveta da odgovore na smrtonosni nepoznati virus sa velikim kapacitetom širenja.

Međunarodna i multiinstitucionalna saradnja omogućila je brzo sekvenciranje genoma SARS-CoV-2. Razmena ovih informacija bila je suštinski važna za brzi razvoj dijagnostičkih testova i vakcina zasnovanih na RNK ili DNK. Međunarodno prikupljanje i objavljivanje zdravstvenih i epidemioloških podataka omogućili su praćenje broja novih slučajeva u realnom vremenu. Informacije koje razmenjuje velika većina pogođenih zemalja uključuju brojeve smrtnih slučajeva i podatke iz studija, uključujući uticaj regulisanja putovanja preko nacionalnih granica, nametanje karantina i samoizolaciju na smanjenje stope prenosa i širenja bolesti.

Učestalost ažuriranja široko dostupnih informacija je bez presedana. To je olakšano raznolikošću i sveobuhvatnošću trenutne tehnologije. Informacije podižu svest o tome kako identifikovati bolest, kao i prakse i ponašanja koje pojedinci treba da slede ako razviju simptome ili ukoliko su imali blizak kontakt sa zaraženom osobom.

Više od godinu dana nakon prve smrti od kovid 19 još uvek nema specifičnog preporučenog antivirusnog tretmana. Pacijenti se leče simptomatski antipireticima i analgeticima. U težim slučajevima, medicinska nega se fokusira na lečenje komplikacija od kovid 19, uključujući tešku upalu pluća, akutni respiratorni distress sindrom i sepsu. Kada je respiratorna funkcija ugrožena, terapija kiseonikom je prva linija delovanja. U slučajevima respiratorne insuficijencije, moguća je potreba za neinvazivnom ili invazivnom mehaničkom ventilacijom. Čini se da kortikosteroidni antiinflamatorni lekovi imaju blagotvorne efekte u ovim slučajevima, smanjujući stopu smrtnosti za 35%⁷⁰. Prednosti upotrebe nekih antivirusnih sredstava kao što su remdesivir⁷¹, lopinavir / ritonavir i arbidol, i lekovi sa imunomodulatornim efektima, kao što su hlorokin i hidroksihlorokin, još uvek se analiziraju.

Razvijaju se istraživanja kako bi se pronašli novi ciljevi za dizajn lekova. Nova studija u Portugaliji otkrila je virusnu ribonukleazu nsp14 kao obećavajući cilj za otkriće novih lekova inhibitora koji ometaju replikaciju koronavirusa i poboljšavaju prognozu teških slučajeva bolesti⁷².

Iako je ova pandemija iznenadila svet, pojava i interkontinentalno širenje novog patogenog virusa dugo su se očekivali i isticana je potreba za dubokim promenama u načinu na koji ljudi stupaju u interakciju sa planetom. Zaista, neumoljiva i podmukla invazija u divlje ekosisteme, zajedno sa uništavanjem divljih staništa, neizbežno će rezultirati pojavom novih patogena. Ovo je rezultat sve veće blizine prethodno izolovanih egzotičnih vrsta, koje su rezervoari za te patogene, olakšavajući prenos između različitih vrsta. U kombinaciji sa međunarodnim putovanjima i trgovinom, ovo pospešuje brzo širenje novih patogena, što dovodi do epidemija i pandemija.

Dugo nakon izveštaja o prvom navodnom slučaju kovida 19 u novembru 2019. još uvek postoje mnoge neizvesnosti oko porekla i njegove buduće evolucije⁷³. Međutim, ohrabrujuće je primetiti da oni koji su novozaraženi SARS-CoV-2 sada imaju veću verovatnoću preživljavanja infekcije od onih koji su bili zaraženi početkom 2020. Od tada su razjašnjene mnoge neizvesnosti oko najboljeg bolničkog lečenja i mera prevencije infekcije. Zbog toga je neophodno pridržavati se mera predostrožnosti i saveta koje je istakla SZO, a koje se temelje na naučnim saznanjima zasnovanim na dokazima, posebno na upotrebi maski, pri čestom pranju ruku i fizičkoj distanci između ljudi, posebno od onih kod kojih postoji sumnja na infekciju ili je infekcija potvrđena. Ove mere sprečavanja infekcije smanjuju prenos svih respiratornih zaraznih agenasa, kao što su drugi gorepomenuti respiratorni koronavirus i virus gripa.

Pristup ažuriranim informacijama koje se prenose na jasan i jednostavan način suštinski je važan za adekvatno razumevanje i svesno prilagođavanje ponašanja, čiji su krajnji cilj razbijanje lanaca infekcije i zaštita najugroženijih.



Remdesivir je preteča adenzin nukleotida koji se, kada se nađe u ćelijama, metaboliše u farmakološki aktivan nukleozid trifosfat. Remdesivir trifosfat deluje kao analog adenzin trifosfata koji, nadmećući se za ugradnju u RNK lanac sintetisan virusnim RpRd, indukuje preuranjeni prekid lanca tokom replikacije virusne RNK. Iako koronavirusi imaju proces ispravljanja grešaka koji otkrivaju i uklanjaju druge nukleozidne analoge tokom sinteze RNK, što rezultira rezistencijom na lekove, čini se da ovaj mehanizam ne utiče na remdesivir¹⁷.



Da li je SARS-CoV-2 mogao da se stvori u laboratoriji?

Ideja da je koronavirus stvoren u laboratoriji u Kini, odakle je pobjegao zbog nedostatka uslova za biološku sigurnost ili nemara, pojavila se kao teorija zavere koja je destabilizovala javno mnjenje. Velika većina naučnika se slaže sa tim da ovaj virus potiče od životinjske vrste, verovatno slepog miša, a da je zatim prirodno revoluirao u intermedijernoj vrsti, možda čak i u ljudima. To potkrepljuju evoluciona istorija virusa i razumevanje ekologije vrsta rezervoara²². Genom SARS-CoV-2 vrlo je sličan onom kod drugih koronavirusa slepih miševa i pangolin koronavirusa. Svi oni dele istu genomsku organizaciju / strukturu, ali njihove razlike otkrivaju njihovu diferencijaciju tokom prirodnog obrasca evolucije²³. Analiza genetičkog materijala SARS-CoV-2 pružila je dokaze da on ima prirodno zoonotsko poreklo. Pokazala je da je „okosnica“ genoma SARS-CoV-2 nova i da ne odgovara onoj već postojećeg koronavirusa, koji bi bio korišćen kao genetički obrazac za veštačko konstruisanje virusa. Pored toga, ne postoje očigledno umetnuti ili uklonjeni genetički elementi koji bi vrlo verovatno bili prisutni da je SARS-CoV-2 genetički manipulisan.



6. REČNIK

ACE2 - angiotenzin konvertujući enzim 2. Enzimski protein na površini mnogih ljudskih ćelija koji je uključen u kontrolu krvnog pritiska katalizujući hidrolizu angiotenzina II (vazokonstriktorni peptid) u angiotenzin (1–7) (vazodilatator). Neki koronavirusi ga prepoznaju i koriste kao receptore za infekciju ljudskih ćelija.

Antitelo - protein proizveden od limfocita B koji prepoznaje, kači se i neutrališe strane molekule koji predstavljaju potencijalnu pretnju za telo.

Antigen - molekul (obično protein ili polisaharid) koji je stran organizmu koji, kada ga jednom prepoznaju B ćelije imunološkog sistema domaćina, pokreće niz odbrambenih mehanizama, uključujući razvoj antitela.

Antivirusno sredstvo - lek koji se koristi za lečenje virusnih infekcija.

Kovid 19 - oboljenje koronavirusa 2019. Infekcija izazvana SARS-CoV-2.

CRISPR - Grupisani ravnomerno raspoređeni kratki palindromski ponovci. CRISPR / CAS9 je RNK-vođeni ciljani alat za uređivanje genoma koji omogućava istraživačima da izvrše nokaut, umetanje i brisanje gena u ćelijskim linijama i na životinjama.

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina. Makromolekul koja sadrži gene svih ćelija i oblika života, sa izuzetkom nekih virusa, koji se sastoje od nukleotida A, T, G i C.

ELISA - Imunoenzimski test.

Endemska bolest - bolest koja pogađa ljude i prisutna je u određenom regionu sa niskom i stabilnom prevalencijom (broj slučajeva); isto kao i enzooska bolest kod životinja.

Enzooska bolest ili enzootija - bolest životinja koja je prisutna u određenom regionu sa niskom i stabilnom prevalencijom (broj slučajeva); isto kao i endemska bolest kod ljudi.

Enzim - protein čija je funkcija da katalizuje hemijsku reakciju.

Epidemijska bolest - bolest koja se brzo širi, sve dok ne dostigne veliki broj ljudi na datoj teritoriji i koja izumre nakon određenog perioda ili postane endemska; kod životinja se to naziva epizootskom bolešću ili epizootijom.

Evolucija - postepene promene koje se javljaju u populacijama tokom generacija.

Eksponencijalni rast - kada se vrednost povećava stopom proporcionalnom njenoj trenutnoj veličini, odnosno kako se vrednost povećava, stopa rasta takođe raste. Kada je povezano sa bolešću, to znači da što više zaraženih jedinki postoji u ranim fazama izbijanja bolesti, više pojedinaca će se zaraziti i u većoj meri će se povećati broj slučajeva.

Geni - regioni DNK koji kodiraju za proteine.

Genom - skup gena koji čine genetički materijal živog organizma.

Infektivna doza - broj mikroorganizama sposobnih da izazovu infekciju.

LAMP – izotermalna amplifikacija posredstvom petlje - tehnika otkrivanja nukleinskih kiselina zasnovana na umnožavanju DNK na niskoj temperaturi.

Majkrorej - DNK čip - sastoji se od kolekcije mikroskopskih DNK sekvenci (specifičnih sekvenci DNK poznatih kao probe) prikačenih na čvrstu površinu koje se koriste za merenje nivoa ekspresije velikog broja gena ili za genotipiziranje više regiona genoma. Detektuje se i kvantifikuje proba - meta hibridizacije kako bi se utvrdilo relativno prisustvo sekvenci nukleinske kiseline u uzorku.

Mutacija - promena u nukleotidnoj sekvenci DNK ili RNK koja može da podrazumeva zamenu, umetanje ili uklanjanje (brisanje) nukleotida.

Nukleinska kiselina - molekul koji čuva genetičke informacije i uključen je u različite faze ekspresije gena. Sastoji se od nukleotida i može biti predstavljen u obliku DNK ili RNK.

Pandemijska bolest - prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji to je „epidemija koja se javlja širom sveta ili na vrlo širokom području, prelazeći međunarodne granice i generalno pogađajući veliki broj ljudi“; kod životinja se naziva panzootska bolest ili panzootija.

Patogen (imenica) - mikroorganizam sposoban da izazove bolest. Patogen (pridev) – koji uzrokuje povredu ili bolest.

PCR - lančana reakcija polimeraze. Omogućava sintezu više kopija određenog regiona genoma pomoću termorezistentne polimeraze.

Polimeraza - enzim koji sintetiše molekule nukleinske kiseline (polimere).

Proteini - esencijalni molekuli za sve žive sisteme. Imaju brojne funkcije kao što su formiranje struktura (strukturni proteini), upravljanje hemijskim reakcijama (katalizatori ili enzimi), slanje i primanje poruka. U osnovi ih čine dugi lanci, poput brojanice, jednostavnijih molekula - aminokiselina - koji se savijaju u sekundarne i tercijarne, trodimenzionalne, složenije strukture. Postoji 20 glavnih aminokiselina i njihova sekvenca u proteinu je kodirana genima.

RdRp - RNK-zavisna RNK polimeraza. Virusni enzim koji promoviše sintezu RNK lanca koristeći RNK lanac kao obrazac.

Rekombinacija - promena sekvence DNK ili RNK razmenom segmenata između tih molekula.

Rezervoar – populacije životinjskih vrsta podložnih infekciji, u kojima se virus replicira bez izazivanja kliničke bolesti. Domaćin rezervoara služi kao izvor virusa za zarazu drugih domaćina.

Ribozom - ćelijska organela koja se nalazi u svim živim ćelijama i prevodi uputstva sadržana u genima u proteine.

RNK - ribonukleinska kiselina.

Subklinička infekcija - infekcija bez simptoma.

Taksonomija - disciplina koja se bavi organizacijom i klasifikacijom živih organizama.

Transmembranski protein - integralni membranski protein koji prolazi kroz membranu s jedne strane na drugu.

Virusni omotač - spoljni sloj prisutan kod nekih virusa, koji se sastoji od fosfolipidne membrane, slične plazma membrani, modifikovane dodavanjem transmembranskih virusnih proteina.

Virulencija - sposobnost invazije i kolonizacije novih niša, odnosno infekcije domaćina. Stepem patogenosti mikroorganizma.

Zoonotske bolesti - bolesti koje pogađaju ljude i životinje.

7. REFERENCE (glavni tekst)

1. Wertheim JO, Chu DKW, Peiris JSM, Pond SLK, Poon LLM. A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *Journal of Virology*. 2013;87(12):7039-7045. doi:10.1128/JVI.03273-12
2. An Apparently New Respiratory Disease of Baby Chicks. Published 1931. Accessed April 15, 2021. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19312200297>
3. Tyrrell DA, Almeida JD. Direct electron-microscopy of organ culture for the detection and characterization of viruses. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1967;22(3):417-425. doi:10.1007/BF01242962
4. Almeida J, Berry D, Cunningham C, et al. Virology: Coronaviruses. *Nature*. 1968;220(5168):650-650. doi:10.1038/220650b0
5. Tyrrell DAJ, Almeida JD, Cunningham CH, et al. Coronaviridae. *Intervirology*. 1975;5(1-2):76-82. doi:10.1159/000149883
6. Burrell CJ, Howard CR, Murphy FA. Coronaviruses. In: Fenner and White's Medical Virology. Elsevier; 2017:437-446. doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X
7. Spaan W, Cavanagh D, Horzinek MC. Coronaviruses: structure and genome expression. *J Gen Virol*. 1988;69 (Pt 12):2939-2952. doi:10.1099/0022-1317-69-12-2939
8. 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
9. Banner LR, Mc Lai M. Random nature of coronavirus RNA recombination in the absence of selection pressure. *Virology*. 1991;185(1):441-445. doi:10.1016/0042-6822(91)90795-D
10. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
11. Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020;583(7815):282-285. doi:10.1038/s41586-020-2169-0
12. Decaro N, Lorusso A. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Veterinary Microbiology*. 2020;244:108693. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108693
13. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
14. Kipar A, Meli ML. Feline Infectious Peritonitis. *Veterinary Pathology*. 2014;51(2):22.
15. Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, et al. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J Virol*. 2005;79(3):1595-1604. doi:10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005
16. Saif L, Sestak K. Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus. *Diseases of Swine*. Published online January 1, 2006:489-516.
17. Decaro N, Mari V, Campolo M, et al. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *Journal of Virology*. 2009;83(3):1532-1537. doi:10.1128/JVI.01937-08
18. Guy JS. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. *Avian Pathology*. 2000;29(3):207-212. doi:10.1080/03079450050045459
19. Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *Journal of Virology*. 2012;86(7):3995-4008. doi:10.1128/JVI.06540-11
20. Gaunt ER, Hardie A, Claas EJC, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2010;48(8):2940-2947. doi:10.1128/JCM.00636-10
21. Pene F, Merlat A, Vabret A, et al. Coronavirus 229E-Related Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;37(7):929-932. doi:10.1086/377612
22. Woo PCY, Lau SKP, Chu C, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *J Virol*. 2005;79(2):884-895. doi:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005
23. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis*. 2003;36(8):985-989. doi:10.1086/374222
24. Os coronavirus dos animais e do Homem: das infeções assintomáticas às síndromes respiratórias agudas. *Veterinaria Atual*. Published April 7, 2020. Accessed April 2, 2021. <https://www.veterinaria-atual.pt/destaques/os-coronavirus-dos-animais-e-do-homem-das-infecoes-assintomaticas-as-sindromes-respiratorias-agudas/>
25. Ferrari D, Sabetta E, Ceriotti D, et al. Routine blood analysis greatly reduces the false-negative rate of RT-PCR testing for Covid-19. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
26. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*. 2020;371. doi:10.1136/bmj.m3862
27. Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. Published online April 21, 2020:m1443. doi:10.1136/bmj.m1443
28. Coronavirus Dashboard. Accessed October 1, 2020. <https://ncov2019.live/#%20africa>
29. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic | NEJM. Accessed April 3, 2021. <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMe2023158>
30. Grant MC, Geoghegan L, Arbyn M, et al. The prevalence of symptoms in 24,410 adults infected by the novel coronavirus (SARS-CoV-2; COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 148 studies from 9 countries. *Hirst JA, ed. PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234765. doi:10.1371/journal.pone.0234765
31. Mortality Risk of COVID-19 - Statistics and Research. *Our World in Data*. Accessed October 1, 2020. <https://ourworldindata.org/mortality-risk-covid>
32. Arora RK, Joseph A, Van Wyk J, et al. SeroTracker: a global SARS-CoV-2 seroprevalence dashboard. *The Lancet Infectious Diseases*. Published online August 4, 2020. doi:10.1016/S1473-3099(20)30631-9
33. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. *European Centre for Disease Prevention and Control*. Accessed October 12, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
34. GeurtsvanKessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nature Communications*. 2020;11(1):3436. doi:10.1038/s41467-020-17317-y
35. McCarthy KR, Rennick LJ, Nambulli S, et al. Recurrent Deletions in the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Drive Antibody Escape. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.11.19.389916
36. Kemp SA, Meng B, Ferriera IA, et al. Recurrent Emergence and Transmission of a SARS-CoV-2 Spike Deletion H69/V70. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.12.14.422555
37. NERVTAG Note on B.1.1.7 Severity. *Alliance for Pandemic Preparedness*. Accessed March 30, 2021. <https://depts.washington.edu/pandemicalliance/2021/01/25/nervtag-note-on-b-1-1-7-severity/>
38. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: Variant of Concern 202012/01.:19.
39. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. *medRxiv*. Published online December 22, 2020:2020.12.21.20248640. doi:10.1101/2020.12.21.20248640
40. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed March 30, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
41. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. *Virological*. Published January 12, 2021. Accessed March 30,

2021. <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manaus-preliminary-findings/586>
42. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020 - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. *Virological*. Published January 10, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/spike-e484k-mutation-in-the-first-sars-cov-2-reinfection-case-confirmed-in-brazil-2020/584>
43. SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. *Virological*. Published January 18, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/sars-cov-2-reinfection-by-the-new-variant-of-concern-voc-p-1-in-amazonas-brazil/596>
44. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259
45. Nussbaumer-Streit B, Mayr V, Dobrescu AI, et al. Quarantine alone or in combination with other public health measures to control COVID-19: a rapid review. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020;(9). doi:10.1002/14651858.CD013574.pub2
46. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology Journal*. 2019;16(1):69. doi:10.1186/s12985-019-1182-0
47. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed April 2, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
48. Draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines. Accessed April 2, 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
49. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*. 2020 Oct;586(7830):516-527. doi: 10.1038/s41586-020-2798-3. Epub 2020 Sep 23.
50. Wang H, Zhang Y, Huang B, et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;182(3):713-721.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.06.008
51. Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*. 2020;369(6499):77-81. doi:10.1126/science.abc1932
52. Talon J, Salvatore M, O'Neill RE, et al. Influenza A and B viruses expressing altered NS1 proteins: A vaccine approach. *PNAS*. 2000;97(8):4309-4314. doi:10.1073/pnas.070525997
53. Broadbent AJ, Santos CP, Anafu A, Wimmer E, Mueller S, Subbarao K. Evaluation of the attenuation, immunogenicity, and efficacy of a live virus vaccine generated by codon-pair bias de-optimization of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus, in ferrets. *Vaccine*. 2016;34(4):563-570. doi:10.1016/j.vaccine.2015.11.054
54. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nature Medicine*. 2020;26(7):1033-1036. doi:10.1038/s41591-020-0913-5
55. Chen W-H, Tao X, Agrawal A, et al. Yeast-Expressed SARS-CoV Recombinant Receptor-Binding Domain (RBD219-N1) Formulated with Aluminum Hydroxide Induces Protective Immunity and Reduces Immune Enhancement. *bioRxiv*. Published online July 5, 2020. doi:10.1101/2020.05.15.098079
56. Zhu F-C, Li Y-H, Guan X-H, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*. 2020;395(10240):1845-1854. doi:10.1016/S0140-6736(20)31208-3
57. Zhu F-C, Guan X-H, Li Y-H, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*. 2020;396(10249):479-488. doi:10.1016/S0140-6736(20)31605-6
58. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2020;396(10249):467-478. doi:10.1016/S0140-6736(20)31604-4
59. Sun W, McCroskery S, Liu W-C, et al. A Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing a Membrane-Anchored Spike as a Cost-Effective Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(4). doi:10.3390/vaccines8040771
60. Case JB, Rothlauf PW, Chen RE, et al. Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus Vaccine Vector Protects against SARS-CoV-2-Mediated Pathogenesis in Mice. *Cell Host Microbe*. 2020;28(3):465-474.e4. doi:10.1016/j.chom.2020.07.018
61. Sun W, Leist SR, McCroskery S, et al. Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing the Spike Protein of SARS-CoV-2 as Vaccine Candidate. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.07.26.221861
62. Rohaim MA, Munir M. A Scalable Topical Vectored Vaccine Candidate against SARS-CoV-2. *Vaccines*. 2020;8(3):472. doi:10.3390/vaccines8030472
63. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Molecular Therapy*. 2018;26(2):446-455. doi:10.1016/j.yjmt.2017.11.017
64. Pfaender S, Brinkmann J, Todt D, et al. Mechanisms of Methods for Hepatitis C Virus Inactivation. Griffiths MW, ed. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(5):1616. doi:10.1128/AEM.03580-14
65. WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a serial killer. WHO. Accessed April 2, 2021. https://www.who.int/csr/don/2003_07_04/en/
66. Xu R-H, He J-F, Evans MR, et al. Epidemiologic Clues to SARS Origin in China. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(6):1030-1037. doi:10.3201/eid1006.030852
67. RECOVERY Trial. Accessed April 2, 2021. https://www.recoverytrial.net/%20les/recovery_dexamethasone_statement_160620_v2%20nal.pdf
68. Threats I of M (US) F on M, Knobler S, Mahmoud A, et al. OVERVIEW OF THE SARS EPIDEMIC. National Academies Press (US); 2004. Accessed April 6, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92478/>
69. WHO | Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia. WHO. Accessed October 1, 2020. <http://www.who.int/csr/don/05-may-2020-mers-saudi-arabia/en/>
70. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *New England Journal of Medicine*. 2020;0(0):null. doi:10.1056/NEJMoa2007764
71. Arba M, Wahyudi ST, Brunt DJ, Paradis N, Wu C. Mechanistic insight on the remdesivir binding to RNA-Dependent RNA polymerase (RdRp) of SARS-cov-2. *Computers in Biology and Medicine*. 2021;129:104156. doi:10.1016/j.combiomed.2020.104156
72. Saramago M, Bárria C, Costa VG, et al. New targets for drug design: Importance of nsp14/nsp10 complex formation for the 3'-5' exonucleolytic activity on SARS-CoV-2. *FEBS J*. Published online March 11, 2021. doi:10.1111/febs.15815
73. Anand KB, Karade S, Sen S, Gupta RM. SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. *Medical Journal Armed Forces India*. 2020;76(2):136-141. doi:10.1016/j.mjafi.2020.04.008

Reference



1. 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
2. van Dorp L, Acman M, Richard D, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. Sep 2020;83:104351. doi:10.1016/j.meegid.2020.104351
3. Wang LP, Wang J, Zhao HY, et al. Modelling and assessing the effects of medical resources on transmission of novel coronavirus (COVID-19) in Wuhan, China. *Math Biosci Eng*. Mar 30 2020;17(4):2936-2949. doi:10.3934/mbe.2020165
4. Adam D. THE LIMITS OF R. What the reproduction number can and can't tell us about managing COVID-19. *Feature. Nature*. 16th July 2020 2020;583:346-348.
5. Levin M. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic. *New England Journal of Medicine*. 2020/07/23 2020;383(4):393-395. doi:10.1056/NEJMe2023158
6. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
7. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Croke SN, Poland GA, Kennedy RB. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. *Immunol Rev*. Jul 2020;296(1):205-219. doi:10.1111/imr.12897
8. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*. May 5 2020;172(9):577-582. doi:10.7326/m20-0504
9. Li H, Wang Y, Ji M, et al. Transmission Routes Analysis of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Case Report. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:618-618. doi:10.3389/fcell.2020.00618
10. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health*. Aug 2020;25(3):210-215. doi:10.1016/j.idh.2020.05.002
11. Sallam M, Mahafzah A. Molecular Analysis of SARS-CoV-2 Genetic Lineages in Jordan: Tracking the Introduction and Spread of COVID-19 UK Variant of Concern at a Country Level. *Pathogens*. Mar 5 2021;10(3)doi:10.3390/pathogens10030302
12. Mahase E. Covid-19: Novavax vaccine efficacy is 86% against UK variant and 60% against South African variant. *Bmj*. Feb 1 2021;372:n296. doi:10.1136/bmj.n296
13. Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021:S0092-8674(21)00226-9. doi:10.1016/j.cell.2021.02.037
14. Ferrari D, Sabetta E, Ceriotti D, et al. Routine blood analysis greatly reduces the false-negative rate of RT-PCR testing for Covid-19. *Acta Biomed*. Sep 7 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
15. Isho B, Abe KT, Zuo M, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. Oct 8 2020;5(52)doi:10.1126/sciimmunol.abe5511
16. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12th, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
17. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. Oct 1990;105(2):435-46. doi:10.1017/s0950268800048019
18. Lu CW, Liu XF, Jia ZF. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. *Lancet*. Feb 22 2020;395(10224):e39. doi:10.1016/s0140-6736(20)30313-5
19. Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, et al. Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *mSphere*. Oct 21 2020;5(5)doi:10.1128/mSphere.00637-20
20. 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
21. Estimating mortality from COVID-19. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>
22. Wacharapluesadee S, Tan CW, Maneeorn P, et al. Author Correction: Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nat Commun*. Feb 25 2021;12(1):1430. doi:10.1038/s41467-021-21768-2
23. Nakagawa S, Miyazawa T. Genome evolution of SARS-CoV-2 and its virological characteristics. *Inflamm Regen*. Aug 10 2020;40(1):17. doi:10.1186/s41232-020-00126-7

Reference



1. Family - Coronaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. *Virus Taxonomy*. Elsevier; 2012:806-828.
2. Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. Viruses with Single-Stranded, Positive-Sense RNA Genomes. In: Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H, eds. *Molecular Virology*. Springer Berlin Heidelberg; 2013:185-349.
3. Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ, Rottier PJ. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *Journal of Virology*. 1994;68(10):6523.
4. Turoňová B, Sikora M, Schürmann C, et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science*. Oct 9 2020;370(6513):203-208. doi:10.1126/science.abd5223
5. Millet JK, Jaimes JA, Whittaker GR. Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors. *FEMS Microbiol Rev*. Oct 28 2020;doi:10.1093/femsre/fuaa057
6. Posthuma CC, Te Velthuis AJW, Snijder EJ. Nidovirus RNA polymerases: Complex enzymes handling exceptional RNA genomes. *Virus Res*. Apr 15 2017;234:58-73. doi:10.1016/j.virusres.2017.01.023
7. Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Advances in virus research*. 2016;96:59-126. doi:10.1016/bs.aivir.2016.08.008
8. Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in virus research*. 1997;48:1-100. doi:10.1016/s0065-3527(08)60286-9
9. Liu Z, Xiao X, Wei X, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. Jun 2020;92(6):595-601. doi:10.1002/jmv.25726
10. Kipar A, Meli ML. Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Veterinary pathology*. 2014;51(2):505-526. doi:10.1177/0300985814522077
11. Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet J*. Aug 2014;201(2):123-32. doi:10.1016/j.tvjl.2014.04.017
12. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature*. Mar 2021;591(7848):92-98. doi:10.1038/s41586-020-03065-y
13. Chen LYC, Quach TTT. COVID-19 cytokine storm syndrome: a threshold concept. *The Lancet Microbe*. 2021/02/01/ 2021;2(2):e49-e50. doi:https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30223-8
14. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest*. May 1 2020;130(5):2202-2205. doi:10.1172/jci137647
15. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
16. Tomar N, De RK. A brief outline of the immune system. *Methods Mol Biol*. 2014;1184:3-12. doi:10.1007/978-1-4939-1115-8_1
17. 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

8. PREPORUČENA BIBLIOGRAFIJA

Brooks, George F., Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Ernest Jawetz, Joseph Louis Melnick, e Edward Allen Adelberg. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22. ed., intern. ed. A Lange Medical Book. New York: McGraw-Hill, 2001.

Cyranoski, David. «Profile of a Killer: The Complex Biology Powering the Coronavirus Pandemic». *Nature* 581, n. 7806 (Maio de 2020): 22–26. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01315-7>.

Decaro, Nicola, Viviana Mari, Marco Campolo, Alessio Lorusso, Michele Camero, Gabriella Elia, Vito Martella, Paolo Cordioli, Luis Enjuanes, e Canio Buonavoglia. «Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs». *Journal of Virology* 83, n. 3 (1 de Fevereiro de 2009): 1532–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.01937-08>.

«COVID-19 - Página Inicial». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://covid19.min-saude.pt/>.

Ferreira, Wanda F. Canas, e João Carlos Sousa. *Microbiologia*. Vol. 3. Lisboa: Lidel, 2002. ISBN 972-757-136-0

Groot, RJ de, SC Baker, R Baric, L Enjuanes, AE Gorbalenya, KV Holmes, S Perlman, L Poon, e PJM Rottier. «Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Family Coronaviridae», 2012.

Guy, James S. «Turkey Coronavirus Is More Closely Related to Avian Infectious Bronchitis Virus than to Mammalian Coronaviruses: A Review». *Avian Pathology* 29, n. 3 (Junho de 2000): 207–12. <https://doi.org/10.1080/03079450050045459>.

IHMT. «O que sabemos sobre a COVID-19 e como reorganizar os sistemas de saúde», 10 de Setembro de 2020. <https://www.ihmt.unl.pt/web-seminares-serie-1-o-que-sabemos-sobre-a-covid-19/>.

Kipar, A, e M L Meli. «Feline Infectious Peritonitis». *Veterinary Pathology* 51, n. 2 (2014): 505-26.

Khailany, Rozhgar A., Muhamad Safdar, e Mehmet Ozaslan. «Genomic Characterization of a Novel SARS-CoV-2». *Gene Reports* 19 (1 de Junho de 2020): 100682. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100682>.

Maclachlan, N. James, e Edward J Dubovi. «Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>.

Saif, L., e Karol Sestak. «Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus». *Diseases of Swine*, 1 de Janeiro de 2006, 489–516.

Sikkema, R. S., E. A. B. A. Farag, Mazharul Islam, Muzzamil Atta, C. B. E. M. Reusken, Mohd M. Al-Hajri, e M. P. G. Koopmans. «Global status of Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: a systematic review». *Epidemiology and Infection* 147 (21 de Fevereiro de 2019). <https://doi.org/10.1017/S095026881800345X>.

Vijgen, Leen, Els Keyaerts, Elien Moës, Inge Thoelen, Elke Wollants, Philippe Lemey, Anne-Mieke Vandamme, e Marc Van Ranst. «Complete Genomic Sequence of Human Coronavirus OC43: Molecular Clock Analysis Suggests a Relatively Recent Zoonotic Coronavirus Transmission Event». *Journal of Virology* 79, n. 3 (Fevereiro de 2005): 1595–1604. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005>.

Zimmer, Carl. «The Coronavirus Unveiled». *The New York Times*, 9 de Outubro de 2020, sec. Health. <https://www.nytimes.com/interactive/2020/health/coronavirus-unveiled.html>.

