

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Lygia Cristine Soares da Silva

**CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SARS-COV-2 E ASPECTOS DA PATOGENIA E DO
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19: REVISÃO DA LITERATURA
CIENTÍFICA**

Rio de Janeiro

2021

Lygia Cristine Soares da Silva

**CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SARS-COV-2 E ASPECTOS DA PATOGENIA E DO
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19: REVISÃO DA LITERATURA
CIENTÍFICA**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio –
Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como
requisito parcial para aprovação no Curso Técnico
em Análises Clínicas.**

Orientador (a): Fernanda de Oliveira Bottino

Coorientador (a): Arthur Daniel Rocha Alves

Rio de Janeiro

2021

*Dedico esse trabalho àquele
que me fez chegar até aqui,
derramando sobre minha vida o
entendimento e a sabedoria: Deus.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu Deus, que me presenteou com esse trabalho e me sustentou para terminá-lo. Em Tiago 1:17 diz que “Toda a boa dádiva e todo o dom perfeito vem do alto, descendo do Pai das luzes, em quem não há mudança nem sombra de variação”. Paizinho, obrigada por sempre cuidar tão bem de mim e por abrir portas que só o Senhor o faria;

Agradeço à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) pelo apoio institucional e pela contribuição na minha formação. Sou extremamente grata pela oportunidade de ter cursado o Ensino Médio integrado ao técnico em Análises Clínicas em uma instituição como esta;

Agradeço aos meus orientadores, Fernanda de Oliveira Bottino e Arthur Daniel Rocha Alves, por todo o compartilhamento de ideias, por estarem sempre tão disponíveis e pela amizade. Com vocês aprendi coisas que levarei para o resto da minha formação e da minha vida. Como diria Isaac Newton, se eu pude ver mais longe, foi por estar sobre os ombros de gigantes como vocês;

Agradeço e honro a vida dos meus pais, Cosme e Luzineide. Obrigada por serem a base para que eu conseguisse alcançar todas as conquistas que hoje posso usufruir. Sem vocês, eu simplesmente não estaria aqui;

Agradeço a minha família que sempre me incentivou. Tios, primos e especialmente a meus irmãos, Liliane, por me dar o apoio em todas as vezes que precisei e Luciano, por sonhar e investir em meus sonhos junto a mim. Será impossível retribuir todo o cuidado de vocês comigo. Estendo esse agradecimento a minha cunhada, Thaisy, obrigada por todo amor e carinho;

Agradeço aos amigos da turma de Análises Clínicas do ano de 2017 e aos amigos que fiz na EPSJV. Amigos, a rotina só ficou mais leve por vocês estarem lá. Os dias tensos, os trabalhos cansativos e noites mal dormidas só foram amenizadas pela amizade de vocês. Em especial, à Ana Carolina da Silva Sá, à Laura do Nascimento Farias e à Rachel de Oliveira, muito obrigada;

Agradeço às professoras de Metodologia Científica, Tainah Silva Galdino de Paula, Carla Cabral Carneiro e Fernanda de Oliveira Bottino pelo conhecimento compartilhado nas aulas de PTCC. Graças à ele, este estudo tomou forma;

Agradeço às professoras Flávia Coelho Ribeiro Mendonça e Tainah Silva Galdino de Paula por terem feito parte da banca de avaliação da defesa desta monografia. O conhecimento e contribuição de mentes brilhantes como a de vocês fará com que este trabalho vá mais longe;

Agradeço à professora Simone Goulart Ribeiro por ter feito parte da banca de avaliação da qualificação do projeto e pelos apontamentos importantes que fez para a evolução do mesmo;

Agradeço a todos os professores do Laboratório de Educação Profissional em Técnicas Laboratoriais em Saúde - LATEC e a todos do Laboratório de Formação Geral na Educação Básica - LABFORM. Os ensinamentos de vocês também contribuíram para minha formação e para este trabalho;

Agradeço a todos os trabalhadores e servidores da EPSJV, que de alguma forma faziam a escola funcionar. Aos auxiliares de serviços gerais, aos cozinheiros, aos secretários, aos administradores etc;

Enfim, à todos que de alguma forma contribuíram para que este estudo fosse realizado;

Muito obrigada!

*“A vida só pode ser compreendida,
olhando-se para trás: mas só pode ser
vivida, olhando-se para frente.”
(Soren Kierkgaard)*

RESUMO

Um surto de Síndrome Respiratória Aguda Grave foi identificado em Wuhan, China, em dezembro de 2019. Pesquisas foram desenvolvidas para a identificação do microorganismo causador da doença e então foi descoberto um novo coronavírus. Em março de 2020, a OMS decretou a pandemia pelo SARS-CoV-2, agente etiológico da Covid-19. O objetivo do presente trabalho foi estudar as características gerais do SARS-CoV-2 e os aspectos da patogenia e do diagnóstico laboratorial da Covid-19. Para tal, foi realizada uma revisão de literatura atual, através de fontes de informação como o Google Acadêmico e bases de dados como PubMed, Scielo e BVS. O SARS-CoV-2 pertence ao gênero *Betacoronavirus* da família *Coronaviridae* e possui um genoma RNA de fita simples com polaridade positiva. O pulmão é considerado o órgão alvo de replicação deste vírus no organismo, devido a alta concentração da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2), receptor celular que interage com a partícula viral. Sinais e sintomas clínicos importantes na Covid-19 são: tosse seca, febre alta, dor de garganta, cefaleia, mialgia, diarreia, náuseas, vômitos, ageusia e anosmia. Nos casos graves, há insuficiência respiratória. Para diagnosticar essa infecção, são utilizadas técnicas de biologia molecular e sorológicas, principalmente a Reação em Cadeia da Polimerase precedida de Transcrição Reversa em tempo real (RT-qPCR), o Teste Imunocromatográfico para a Pesquisa de Antígeno Viral, a Imunocromatografia para Detecção de Anticorpos (teste rápido) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). Os estudos sobre o SARS-CoV-2, sobre sua patogenia e sobre os métodos diagnósticos da Covid-19 são necessários para que haja o combate à essa doença.

Palavras-chave: Covid-19; Diagnóstico; SARS-CoV-2; Sinais Clínicos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Hospedeiros dos coronavírus humanos -----	16
Figura 2 – Estrutura dos coronavírus -----	17
Figura 3 – Estrutura do genoma dos coronavírus SARS-CoV e MERS-CoV -----	18
Figura 4 – Ciclo replicativo do SARS-CoV-2 -----	19
Figura 5 – Curva da resposta imunológica por anticorpos específicos anti-SARS-CoV-2 -----	22
Figura 6 – Esquema demonstrativo do princípio da PCR -----	27
Figura 7 – Exemplo de cassete de plástico para teste imunocromatográfico -----	30
Figura 8 – Esquema demonstrativo do teste imunocromatográfico para pesquisa de antígeno viral --- -----	31
Figura 9 – Esquema demonstrativo da Imunocromatografia para detecção de anticorpos -----	33
Figura 10 – Esquema demonstrativo do mecanismo de funcionamento do ELISA -----	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADE	Aumento Dependente de Anticorpos / <i>Antibody-Dependent Enhancement</i>
APCs	Células Apresentadoras de Antígeno / <i>Antigen-presenting Cells</i>
Covid-19	<i>Coronavirus disease 2019</i> / Doença do coronavírus 2019
CSG	Grupo de Estudo de Coronavírus
ECA2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
ECMO	Oxigenação por membrana extracorpórea / <i>Extracorporeal Membrane Oxygenation</i>
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática / <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia Viral
IFN- γ	Interferon Gama
IL	Interleucina
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio / <i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
MIS-C	Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica / <i>Multisystem Inflammatory Syndrome In Children</i>
mRNAs	RNAs mensageiros
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
ORF	Fase de leitura aberta
RT-PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase precedida de Transcrição Reversa
RT-qPCR	Reação em Cadeia pela Polimerase em Tempo Real precedida de Transcrição Reversa
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SG	Síndrome Gripal
SRAG/ SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave / <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
ssRNA+	RNA fita simples com senso positivo
TCD8	Linfócitos T citotóxicos
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
WIV	Instituto de Virologia de Wuhan

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. JUSTIFICATIVA	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. METODOLOGIA	14
4. REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SARS-COV-2	15
4.1.1. <i>CLASSIFICAÇÃO DA FAMÍLIA CORONAVIRIDAE</i>	15
4.1.2. <i>ESTRUTURA DOS CORONAVÍRUS</i>	16
4.1.3. <i>CICLO DE REPLICAÇÃO</i>	17
4.1.4. <i>FORMAS DE TRANSMISSÃO</i>	19
4.2. IMUNOPATOGENIA DA COVID-19	21
4.2.1. <i>ASPECTOS CLÍNICOS</i>	23
4.3. DIAGNÓSTICO DA COVID-19	26
4.3.1. <i>RT-PCR EM TEMPO REAL (RT-qPCR)</i>	26
4.3.2. <i>TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA PESQUISA DE ANTÍGENO VIRAL</i> ...	29
4.3.3. <i>TESTES IMUNOLÓGICOS</i>	32
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

Em apenas duas décadas, o mundo sofreu com três grandes epidemias causadas por vírus pertencentes ao gênero *Betacoronavírus* da família *Coronaviridae* (PAULES; MARSTON; FAUCI, 2020). De novembro de 2002 à julho de 2003 a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG ou SARS, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome*) atingiu países Asiáticos, Europeus e a América do Norte, resultando em 8.439 casos notificados, com 812 fatais. A doença emergiu da China, na província de Guangdong e o SARS-CoV foi identificado como o agente etiológico (KUIKEN *et al.*, 2003). Uma década depois, no período de 2012 e 2013, surgiu o MERS-CoV, causador da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS, do inglês *Middle East Respiratory Syndrome*), ficando isolado em regiões na Arábia Saudita e com poucos casos em outros países (DE GROOT *et al.*, 2013).

A partir de 12 de dezembro de 2019, foram relatados casos de pneumonia grave e SRAG com etiologia não definida em Wuhan, cidade localizada na província de Hubei, no centro da China. Foram testadas amostras de sete pacientes com sintomas graves da infecção, que estavam admitidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Wuhan Jin Yin-Tan, para investigação do agente etiológico da doença. Tais amostras foram enviadas para o Instituto de Virologia de Wuhan (WIV) e, através de testes moleculares como a Reação em Cadeia pela Polimerase em Tempo Real precedida de Transcrição Reversa (RT-qPCR) e testes sorológicos como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), foi confirmada a infecção viral dos pacientes por um vírus similar ao SARS-CoV e desconhecido até então. O mercado de frutos do mar de Huanan foi considerado o local de origem dessa infecção, pois seis destes pacientes tinham vínculo com o mesmo, sendo entregadores ou vendedores (ZHOU *et al.*, 2020).

Inicialmente, esse novo vírus era denominado como 2019-nCoV. Diante da percepção das semelhanças de sua estrutura com o agente etiológico da epidemia da SRAG, o Grupo de Estudos de Coronavírus (CSG) do Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), que estuda a família *Coronaviridae*, nomeou o atual vírus como SARS-CoV-2 (GORBALENYA *et al.*, 2020). Sendo assim, o SARS-CoV-2 é o agente etiológico da Covid-19 (do inglês, *Coronavirus disease* ou “*Doença do coronavírus*”), tendo o número 19 como uma referência ao ano dos primeiros casos desta doença (FIOCRUZ, 2020). Em 11 de março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) decretou a pandemia pelo SARS-CoV-2 (OMS, 2020).

1.1. JUSTIFICATIVA

Em 30 de janeiro de 2020, a Covid-19 foi caracterizada como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional: o mais alto nível de alerta da OMS, conforme previsto no Regulamento Sanitário Internacional (TANG *et al.*, 2020). Em 11 de março de 2020, foi caracterizada como uma pandemia, atingindo praticamente todos os países do mundo, gerando muitos casos fatais (OMS, 2020).

A importância deste trabalho está em relatar as características gerais do SARS-CoV-2 e compreender como estas estão relacionadas com o processo de imunopatogenia do vírus, bem como, descrever as principais formas de diagnosticar a Covid-19, levando em consideração as informações disponíveis nas principais bases de literatura científica até o presente momento da atual pandemia.

Todos os esforços em pesquisa tem sido direcionados para o combate do vírus. Isso reflete em uma produção constante e em larga escala de estudos, sendo estes publicados diariamente. Logo, é importante também que haja revisão de literatura para a seleção de artigos de maior relevância e prestígio científico, executados através de metodologias consistentes e que esta revisão perpassasse por conteúdos sobre um determinado tema, abordado por vários estudos simultaneamente, para que exista um entendimento geral deste assunto.

Por fim, a minha motivação pessoal para a escolha desta temática surgiu da possibilidade de escrever um trabalho que contenha conhecimentos referentes à área da medicina, relacionados com o desenvolvimento de uma patologia no corpo humano, juntamente com o desejo de abordar um tema atual e de grande impacto para a sociedade, de maneira a reunir os tópicos mais importantes discutidos nos artigos de grande relevância científica que vêm surgindo desde o desencadear da pandemia. Portanto, espero que o conhecimento aqui contido ajude de alguma forma a saúde da população.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar as características gerais do SARS-CoV-2 e os aspectos da patogenia e do diagnóstico laboratorial da Covid-19.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Abordar as características gerais do SARS-CoV-2;
- 2) Descrever a imunopatogenia da Covid-19, caracterizando os aspectos clínicos dessa doença.
- 3) Identificar as diferentes metodologias empregadas na rotina do diagnóstico laboratorial da Covid-19, descrevendo o funcionamento e o momento adequado para a sua utilização.

3. METODOLOGIA

Este estudo foi executado a partir de uma revisão da literatura durante o período de abril de 2020 a março de 2021, consultando artigos científicos e livros contidos em bases de dados como PubMed, Scielo e BVS, páginas eletrônicas de agências e autoridades na área da saúde, como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e em fontes de informação como o Google Acadêmico. Como palavras-chaves foram usadas: Covid-19; Diagnóstico; SARS-CoV-2; Sinais Clínicos.

Esta monografia é composta por três capítulos: o primeiro capítulo foi destinado à abordar os aspectos gerais do SARS-CoV-2; enquanto o segundo abordou a imunopatogenia da infecção pelo novo coronavírus, relacionando aos aspectos clínicos da Covid-19 e, por fim, o terceiro capítulo tratou sobre o diagnóstico da Covid-19, através de um levantamento dos testes e exames utilizados na rotina laboratorial, discorrendo sobre o funcionamento da técnica, o momento ideal para a sua utilização e alguns de seus parâmetros de acurácia.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SARS-COV-2

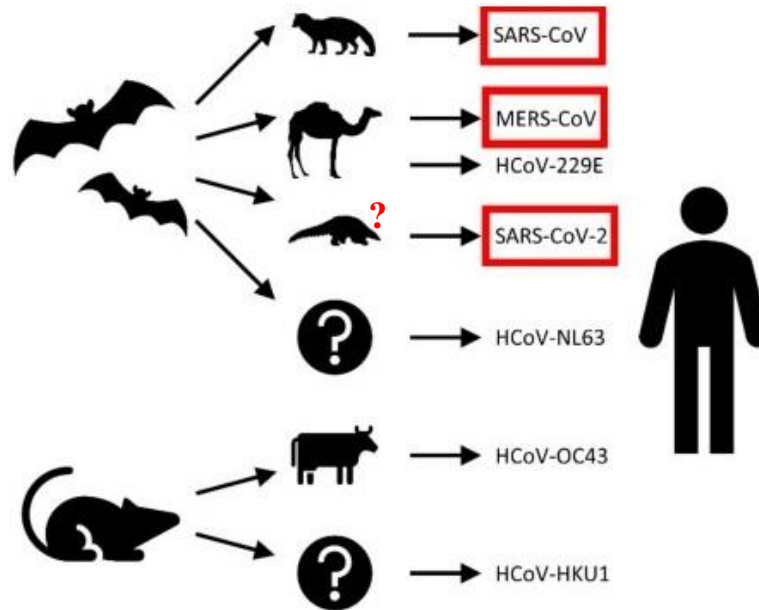
4.1.1. CLASSIFICAÇÃO DA FAMÍLIA CORONAVIRIDAE

Em 2019, o ICTV divulgou uma nova classificação para os coronavírus que passaram a pertencer ao domínio *Riboviria*, reino *Orthornavirae*, filo *Pisuviricota*, classe *Pisoniviricetes*, ordem *Nidovirales*, subordem *Cornidovirineae*, família *Coronaviridae*. Esta família foi dividida em duas novas subfamílias, sendo elas: *Letovirinae* (gênero *Alphaletovirus*) e *Orthocoronavirinae*, sendo esta, dividida em quatro gêneros: *Alphacoronavírus*, *Betacoronavírus*, *Deltacoronavírus* e *Gammacoronavírus* (ICTV, 2019). Os gêneros *Alphacoronavírus* e *Betacoronavírus* são conhecidos por infectar mamíferos, incluindo o homem; enquanto que os *Deltacoronavírus* e *Gammacoronavírus* infectam espécies de aves (ICTV, 2019; PAULES; MARSTON; FAUCI, 2020).

As sete principais espécies conhecidas que infectam humanos são: HCoV-229E, HCoV-NL63 (pertencentes ao gênero *Alphacoronavírus*), HCoV-OC43, HCoV-HKU1 (gênero *Betacoronavírus*), sendo estas responsáveis principalmente por infecções respiratórias brandas, SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV, pertencentes ao gênero *Betacoronavírus*, que são responsáveis pelas: Covid-19, SRAG e MERS (SU *et al.*, 2016; BULUT E KATO, 2020).

Considerando que todos os coronavírus que causaram doenças em humanos provêm de origem animal, estima-se que o morcego seja o hospedeiro primário de SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 (destacados em vermelho na Figura 1), HCoV-229E e HCoV-NL63. A civeta é o hospedeiro intermediário do SARS-CoV (2002), o dromedário é o hospedeiro intermediário do MERS-CoV (2012) e o pangolim malaio é o possível hospedeiro intermediário do SARS-CoV-2 (2019). HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 têm o rato como hospedeiro primário (Figura 1) (LAM *et al.*, 2020; RABI *et al.*, 2020).

Figura 1 – Hospedeiros dos coronavírus humanos



Legenda: Demonstração da transmissão zoonótica dos Coronavírus. Em vermelho estão destacados os principais coronavírus epidêmicos cujo hospedeiro primário estima-se ser o morcego. A interrogação na imagem indica que mais estudos são necessários para confirmar o hospedeiro intermediário do SARS-CoV-2. (Fonte: adaptado de RABI *et al.*, 2020)

4.1.2. ESTRUTURA DOS CORONAVÍRUS

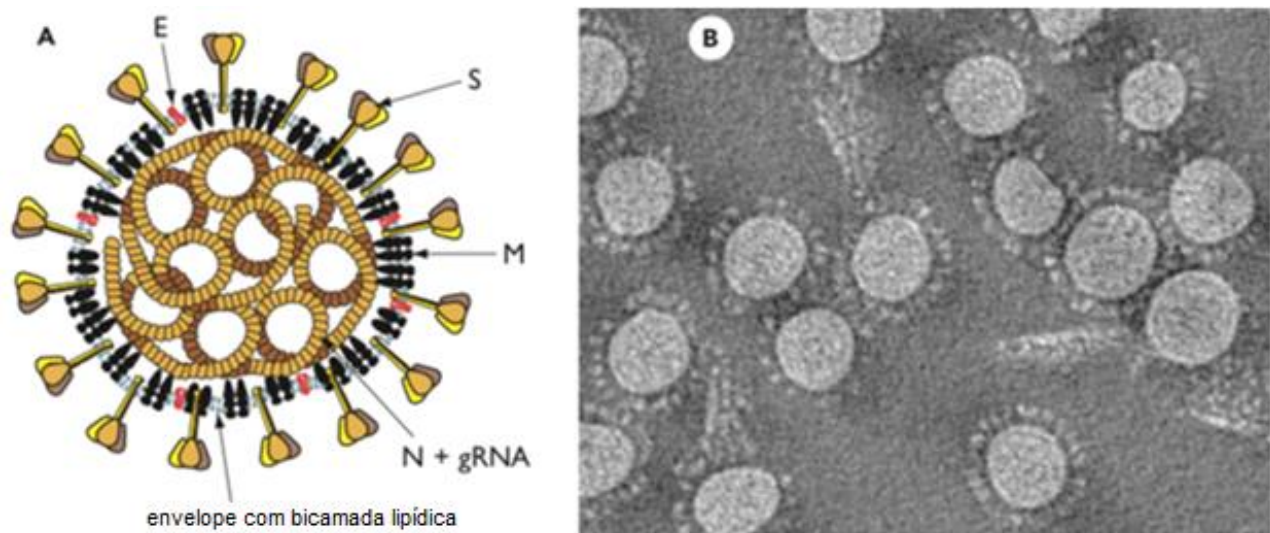
Os coronavírus possuem um genoma RNA de fita simples, não segmentado, com senso positivo (ssRNA+) (PAULES; MARSTON; FAUCI, 2020; FUNG *et al.*, 2019). O RNA dos coronavírus apresentam um tamanho de cerca de 30kb, podendo ser considerado grande e de tradução complexa. Esse genoma possui uma organização policistrônica¹ e são produzidos vários RNAs mensageiros (mRNAs) subgenômicos para tradução em proteínas com diversas finalidades (DE WILDE *et al.*, 2017).

Estruturalmente, apresentam a morfologia esférica, com diâmetro variando entre 80 e 120 nm, são vírus envelopados e com um capsídeo de simetria helicoidal. Em seu envoltório externo (envelope) existem diversos componentes glicoprotéicos ou protéicos, que estão integrados na partícula viral em

¹ Um RNA com organização policistrônica é aquele que codifica para diversas proteínas. Enquanto, na maioria dos casos, o RNA de seres eucariontes codifica apenas para uma proteína, o RNA de procariontes e de vírus contém instrução para síntese de diversas cadeias polipeptídicas (USP, 2017)

uma membrana lipídica, como: as glicoproteínas Spikes (S) que formam projeções em trímeros; a glicoproteína da membrana (M), sendo esta a mais abundante; a proteína Hemaglutinina Esterase (HE), encontrada somente em alguns *Betacoronavírus*; e a proteína do Envelope (E), que é altamente hidrofóbica. No interior deste envelope, há um nucleocapsídeo helicoidal formado pela junção da proteína do Nucleocapsídeo (N) com o material genético do vírus (ssRNA+), para proteção do genoma (Figura 2A) (CRUZ *et al.*, 2020).

Figura 2 – Estrutura dos coronavírus



Legenda: **A** - Esquema demonstrando o nucleocapsídeo helicoidal e as principais proteínas estruturais: proteína Spike (S), proteína de Membrana (M), proteína do Envelope (E) e proteína do Nucleocapsídeo (N); **B** - Eletromicrografia de vírions purificados de coronavírus murino evidenciando o formato de 'coroa'. (Fonte: adaptado de MASTERS E PERLMAN., 2013)

O termo coronavírus tem origem na palavra em Latim *corona* e significa coroa ou auréola, fazendo referência à estrutura da sua superfície, visualizada a partir de microscopia eletrônica, com projeções que fazem o vírus parecer com uma coroa solar (Figura 2B) (RICHMAN *et al.*, 2016).

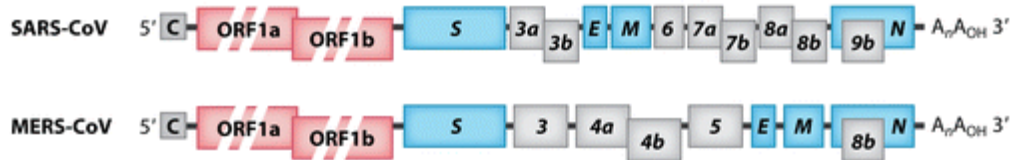
4.1.3. CICLO DE REPLICAÇÃO

Assim como o SARS-CoV, as proteínas Spikes (S) do SARS-CoV-2 têm grande afinidade pela Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2), uma proteína que está presente em tecidos humanos como o pulmão, o coração, o rim, o endotélio e na superfície luminal das células epiteliais

intestinais. A interação da proteína S do envelope viral com a ECA2 permite a entrada do vírus na célula, através de endocitose (DE WILDE *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020).

Após a entrada do vírus na célula, tem-se a liberação do material genético e a produção de poliproteínas. O genoma dos coronavírus é constituído por uma molécula de RNA fita simples de polaridade positiva, com a presença de uma “cap” 7-metilguanossina na extremidade 5’ e uma cauda poliadenilada (poli-A) na extremidade 3’. A replicase dos coronavírus é codificada por duas fases de leitura aberta (ORFs) que se sobrepõem (ORF1a e ORF1b), ocupando dois terços do genoma e sendo diretamente traduzidas do RNA genômico. Além disso, o genoma possui um grande número de pequenas ORFs espalhadas entre os genes que codificam as proteínas estruturais (S, E, M, N e HE). Independente da espécie de coronavírus, a ordem codificante do genoma é: 5’–Replicase–S–E–M–N–3’ (Figura 3) (FUNG *et al.*, 2019).

Figura 3 – Estrutura do genoma dos coronavírus SARS-CoV e MERS-CoV

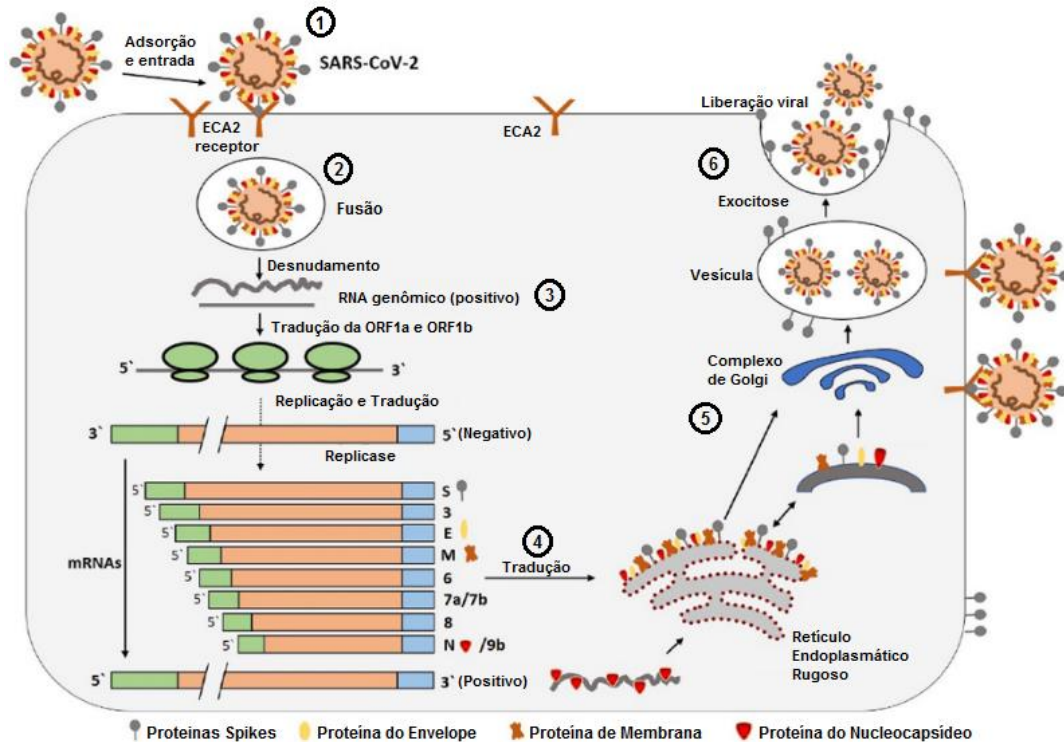


Legenda: Diagrama esquemático demonstrando a estrutura do genoma dos vírus SARS-CoV e MERS-CoV, na seguinte ordem: 5’–Replicase–S–E–M–N–3’, com pequenas ORFs espalhadas ao longo dos genes estruturais. As ORFs 1a e 1b são responsáveis pela codificação da replicase e estão representadas de vermelho. Os genes que codificam as proteínas estruturais (S, E, M, N e HE) estão representados de azul e os genes que codificam as proteínas acessórias de cinza. (Fonte: adaptado de FUNG *et al.*, 2019)

Após a síntese da replicase nas ORFs, o RNA viral positivo serve de molde para um RNA negativo, que por sua vez, vira base para novos RNAs genômicos. Além desse mecanismo, há outro para a produção de RNAs subgenômicos, responsáveis pela tradução dos genes acessórios e estruturais durante o processo de transcrição e replicação viral (FUNG *et al.*, 2019).

Depois da produção das proteínas estruturais traduzidas a partir da ORF 5’ (ORF1a e ORF1b), a partícula viral é sintetizada com todos seus componentes no Complexo de Golgi, transportada pela via secretora dentro de vesículas e excretada para o meio extra celular por exocitose (Figura 4) (FUNG *et al.*, 2019).

Figura 4 - Ciclo replicativo do SARS-CoV-2



Legenda: (1) adsorção do vírus ao receptor ECA2 e entrada nas células por endocitose, (2) fusão do vírion com a membrana da vesícula e liberação do genoma viral, (3) codificação da replicase a partir das ORFs 1a e 1b, (4) tradução de proteínas estruturais e acessórias, (5) montagem dos vírions no Complexo de Golgi e (6) transporte das novas partículas virais pela via secretora para saída da célula por exocitose. (Fonte: SHEREEN *et al.*, 2020)

4.1.4. FORMAS DE TRANSMISSÃO

O SARS-CoV-2 tem a transmissão respiratória como única forma confirmada. A transmissão ocorre de humano para humano, através de gotículas, aerossóis e contato direto com o indivíduo infectado (ROTHAN E BYRAREDDY, 2020). Portadores do vírus que estejam assintomáticos também são uma fonte de transmissão, ainda que esses pacientes possam ter uma carga viral menor em relação aos que desenvolveram a doença. Esse vírus tem alta transmissibilidade e, aliado às viagens globais, constatou-se o seu grande potencial para o desenvolvimento da pandemia (LAI *et al.*, 2020).

Sobre a transmissão vertical, que se caracteriza pela passagem do vírus da mãe para o feto durante o período gestacional, ainda não existem comprovações científicas. Entretanto, ela não pode ser descartada. Há relatos de fetos que apresentaram sofrimento intra-uterino, resultando em cesárea de emergência, e de neonatos que ficaram na UTI neonatal com falta de ar, apresentando radiografia

de tórax com turvação difusa, incluindo um caso fatal. Em ambos os casos relatados, as gestantes testaram positivo para o SARS-CoV-2 (ZAIGHAM E ANDERSSON, 2020).

A transmissão fecal-oral também não foi confirmada cientificamente. Amostras fecais de indivíduos com Covid-19 mostraram-se positivas para SARS-CoV-2 através da Reação em Cadeia pela Polimerase precedida de Transcrição Reversa (RT-PCR). Entretanto, é importante ressaltar que esta técnica detecta apenas o material genético do vírus, não a partícula viral infecciosa (BULUT e KATO, 2020; LI *et al.*, 2020). Outros estudos mostram que o vírus viável foi cultivado em cultura celular a partir de fezes contaminadas (WANG *et al.*, 2020), porém mais estudos sobre o tema se fazem necessários para confirmar esse tipo de transmissão.

SHI e colaboradores (2020) verificaram um potencial de transmissão e replicação do SARS-CoV-2 através de inoculação do vírus em animais que têm contato próximo com humanos. Segundo os autores, porcos, galinhas e patos não são suscetíveis ao vírus. Cães possuem baixa suscetibilidade. Furões apresentam alta suscetibilidade e replicação viral localizada no trato respiratório superior. Os gatos possuem além da alta suscetibilidade ao vírus, a replicação viral no trato respiratório inferior e a transmissibilidade para outros gatos, o que os torna potenciais transmissores para humanos e alvo de atenção para controle da Covid-19 na população. Mesmo que estes animais não tenham sido identificados como transmissores da doença para o homem, é importante evitar seu contato com pessoas infectadas, pois eles podem carrear o vírus, agindo como fômites.

Não se sabe se o SARS-CoV-2 pode ser transmitido por transfusão sanguínea. Essa informação é fundamental para evitar a transmissão do vírus pela doação de sangue por portadores assintomáticos do vírus. Até o momento, foi encontrado apenas o RNA viral no plasma ou soro (CHANG *et al.*, 2020; CHO *et al.*, 2020).

4.2. IMUNOPATOGENIA DA COVID-19

O SARS-CoV-2, agente etiológico da Covid-19, tem como principal porta de entrada o trato respiratório superior do organismo, através do contato com a mucosa nasal e a mucosa da laringe. O vírus começa a se replicar nesses tecidos e, em seguida, vai em direção ao pulmão e ao trato respiratório inferior (LIN *et al.*, 2020). EMPARAN e colaboradores (2020) evidenciaram que a entrada do vírus por mucosa conjuntival pode ser possível, entretanto ainda há necessidade de maiores estudos científicos a fim de se corroborar essa evidência.

O pulmão pode ser considerado o órgão alvo para a replicação do SARS-CoV-2, pois nele contém os pneumócitos tipo II, células que expressam em sua superfície a maior concentração da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2). Como falado anteriormente, ECA2 é o receptor que interage com as proteínas Spikes presentes no envelope do vírus e possibilita a entrada deste nas células hospedeiras. Além dos pneumócitos tipo II, o receptor ECA2 também está presente em outros órgãos e tecidos humanos, como: rins, trato gastrointestinal, coração, células do sistema nervoso, células endoteliais de artérias e de veias. Por conseguinte, estes outros órgãos podem ser infectados após a viremia (JAFARZADEH *et al.*, 2020; LIN *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020).

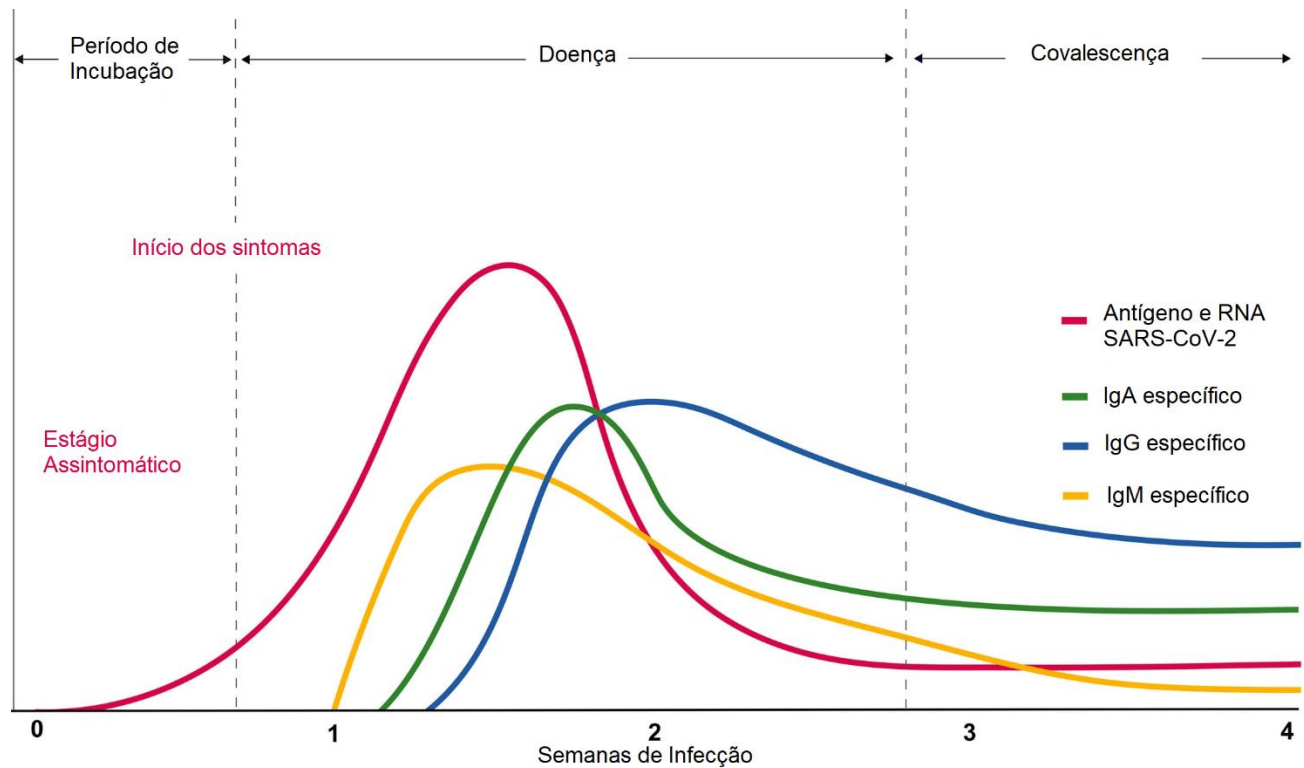
Após a entrada do vírus nas células do hospedeiro, ocorre a liberação de peptídeos antigênicos (ou antígenos). Os antígenos são reconhecidos pelas Células Apresentadoras de Antígeno (APCs, do inglês *Antigen-presenting cells*) que evidenciam essas moléculas através do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), estimulando a imunidade celular (linfócitos TCD4+ e TCD8+) e a imunidade humoral (linfócitos B de memória e anticorpos) (SARZI-PUTTINI *et al.*, 2020).

Os linfócitos T auxiliares (TCD4+) reconhecem o vírus e auxiliam na ativação da produção de anticorpos, por meio dos linfócitos B. Já os linfócitos T citotóxicos (TCD8+) têm como mecanismo de ação a morte da célula infectada. Os linfócitos TCD8+ representam 80% das células inflamatórias que atingem o interstício pulmonar quando ocorre a infecção pelo SARS-CoV-2, ocasionando uma lesão imunológica no local (MADABHAVI *et al.*, 2020).

Em se tratando de infecções virais, três classes de anticorpos (ou imunoglobulinas) são fundamentais para debelar a infecção: imunoglobulina M (IgM), imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG). Para o SARS-CoV-2, a IgM atua como primeira resposta humoral, podendo ser detectada a partir de 7 dias após a infecção e permanecendo no organismo enquanto a fase aguda da doença continuar. Já a IgA trata-se da imunoglobulina que provê imunidade às superfícies das

mucosas, neutralizando o vírus ou prevenindo a ligação do mesmo nestes locais. Essa classe de anticorpo é detectada por volta da primeira semana após a infecção, assim como IgM. Por se tratar de uma doença ainda pouco conhecida, não se sabe ao certo por quanto tempo IgA permanece detectável no organismo (AZKUR *et al.*, 2020; GARCÍA, 2020). Por fim, a IgG é a imunoglobulina relacionada a memória imunológica e, na maioria dos casos, sua detecção é possível no décimo dia após a infecção, atingindo o pico no décimo quarto dia (SAGHAZADEH e REZAEI, 2020). CAMPOS e colaboradores (2020) comprovaram que IgG possui duração de no mínimo seis meses, através de um estudo feito para monitoramento imunológico durante a pandemia de Covid-19. Ambos os anticorpos são específicos para as proteínas S do envelope viral e para as proteínas N do nucleocapsídeo (Figura 5) (PACES *et al.*, 2020).

Figura 5 – Curva da resposta imunológica por anticorpos específicos anti-SARS-CoV-2



(Fonte: adaptado de AZKUR *et al.*, 2020)

Estudos demonstraram que o aumento da ativação e da proliferação de células B (que produzem imunoglobulinas) em pacientes com Covid-19 está relacionada a um prognóstico ruim e a uma menor chance de sobrevivência dos pacientes, especialmente nos casos graves (YANG *et al.*,

2020). GARCÍA (2020) também aponta em seu estudo um fenômeno chamado de Aumento Dependente de Anticorpos (ADE, do inglês *Antibody-Dependent Enhancement*), caracterizado pela adsorção e entrada de SARS-CoV-2 em células que possuem afinidade pela porção Fc do anticorpo IgG específico para a proteína S. Desta forma, o vírus infecta células B e macrófagos mediado pelo anticorpo IgG anti-S, podendo agravar o curso da doença.

Em conjunto com a resposta imunológica humoral (anticorpos) e resposta imunológica celular (linfócitos T), existe um fenômeno denominado de tempestade de citocinas². Este fenômeno ocorre na infecção causada por SARS-CoV-2, mas também em outras infecções, como Ebola e sepsis bacteriana (AZKUR *et al.*, 2020). Sendo assim, após a apresentação dos antígenos virais do SARS-CoV-2 aos linfócitos efetores e à outras células, através das APCs, são liberadas diferentes citocinas pró-inflamatórias que aumentam de forma exacerbada a resposta imune do hospedeiro no local da infecção, podendo gerar danos teciduais. Dentre as citocinas relacionadas a essa infecção, estão: as Interleucinas (IL), como a IL-6, o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), o Interferon Gama (IFN- γ) e diversas quimiocinas (MADABHAVI; MALAIO; KADAKOL, 2020; SARZI-PUTTINI *et al.*, 2020).

4.2.1. ASPECTOS CLÍNICOS

O período de incubação compreende o tempo decorrido entre a exposição ao agente infeccioso e o início da manifestação da doença (LAI *et al.*, 2020). Para a Covid-19, esse período dura em média 5 dias, podendo variar entre 2 a 14 dias até que surjam os primeiros sinais e sintomas (MADABHAVI *et al.*, 2020).

A Covid-19 pode apresentar um amplo espectro de manifestações clínicas. Em resumo, essa patologia se manifesta das seguintes formas: (1) pacientes assintomáticos; (2) indivíduos com sintomas leves ou moderados, apresentando a chamada Síndrome Gripal (SG); e (3) pacientes graves, que desenvolvem Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG). Cerca de 20% do total de pacientes são casos moderados a graves que requerem hospitalização (AZKUR *et al.*, 2020; BRASIL, 2020).

Em relação aos pacientes assintomáticos, é importante ressaltar o comprovado potencial de transmissão pessoa a pessoa que estes possuem. Por consequência, faz-se necessário a identificação

² Segundo ABBAS e colaboradores (2015), as citocinas são um grupo de proteínas, com estruturas e funções diversas, que regulam e ordenam as atividades das células do sistema imunológico. Todas as células desse sistema secretam ou apresentam receptores específicos para várias dessas moléculas.

destes, a fim de melhorar o controle da propagação viral (LAI *et al.*, 2020). No geral, as crianças têm uma predisposição a serem assintomáticas, logo, o curso agravado da Covid-19 nos pacientes pediátricos está relacionado com suas doenças de base (LU *et al.*, 2020). Entretanto, foi relatado um acometimento em uma pequena parcela de crianças infectadas com o SARS-CoV-2, chamado de Síndrome Inflamatória Multissistêmica Pediátrica (MIS-C, do inglês *Multisystem Inflammatory Syndrome In Children*). Esse quadro caracteriza-se por febre, hipotensão, dor abdominal intensa, disfunção cardíaca, miocardite e síndrome do choque tóxico, com sintomas aproximados aos da Síndrome de Kawasaki. Percebe-se também uma elevada taxa de Interleucina 6 (IL-6) nesses pacientes (DUFORT *et al.*, 2020; ROWLEY, 2020).

Os sintomas e sinais clínicos mais comuns entre os que desenvolvem a SG incluem: tosse seca, febre alta, fadiga, coriza e dor de garganta. Foram relatados sintomas além dos referentes ao trato respiratório, como cefaleia, calafrios, mialgia; acometimentos gastrointestinais, como dor abdominal, diarreia, náuseas e vômitos. A anosmia e a ageusia, que são distúrbios olfativos e distúrbios do paladar, respectivamente, também se apresentam como condições muito características (BRASIL, 2020; LOTFI *et al.*, 2020).

A Síndrome Gripal pode evoluir de grau moderado para um caso grave, resultando em Síndrome Respiratória Aguda Grave. Este acometimento caracteriza-se pela insuficiência respiratória hipoxêmica aguda. Sinais e sintomas que diferenciam um quadro do outro podem incluir: saturação de oxigênio menor ou igual a 95% ($SpO_2 \leq 95\%$), pressão torácica, lábios de cor azulada e radiografia de tórax com opacidades alveolares bilaterais (AZKUR *et al.*, 2020; BRASIL, 2020).

A Síndrome Respiratória Aguda Grave pode manifestar-se de 8 a 9 dias após o início da doença nos pacientes em estado crítico. Em sua grande maioria, esses pacientes necessitam de tratamento em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) com oxigenoterapia, ventilação mecânica ou, dependendo da gravidade, Oxigenação por Membrana Extracorpórea (ECMO, do inglês *Extracorporeal Membrane Oxygenation*). Nos casos de Síndrome Gripal em nível moderado, faz-se necessária a internação apenas para observação e acompanhamento clínico do doente, principalmente se houver comorbidades ou fatores de risco envolvidos (AZKUR *et al.*, 2020; BRASIL, 2020; LAI *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que a Covid-19 se manifesta de maneiras distintas em diferentes organismos. Esta doença confere alto risco a indivíduos idosos e a indivíduos que contenham comorbidades e doenças de base, como: hipertensão arterial, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, doenças endócrinas, doença renal crônica, doença hepática crônica e doenças

respiratórias, sendo a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) um exemplo (LAI *et al.*, 2020; LOTFI *et al.*, 2020).

O período de transmissibilidade da Covid-19 varia conforme a gravidade da doença. Indivíduos assintomáticos permanecem contagiosos durante aproximadamente quatorze dias (período mínimo estabelecido para a quarentena). Pacientes com sintomas leves a moderados podem transmitir o vírus no mínimo vinte dias depois da sua contaminação. Aqueles que se encontram em estado grave ou crítico podem transmitir o vírus até os momentos de sua respectiva cura ou do seu óbito (XAVIER *et al.*, 2020).

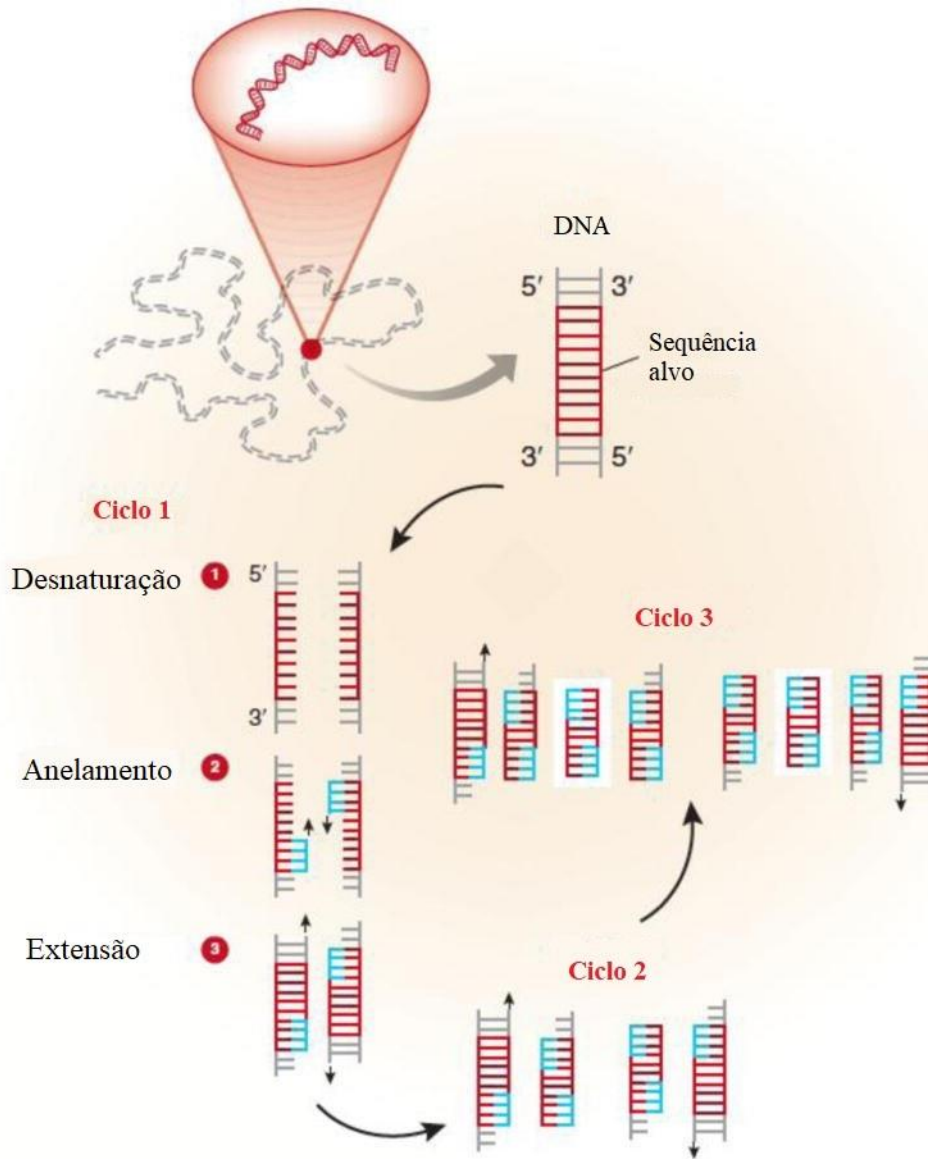
4.3. DIAGNÓSTICO DA COVID-19

4.3.1. RT-PCR EM TEMPO REAL (RT-qPCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) consiste em uma técnica de biologia molecular para amplificação de fragmentos específicos de DNA *in vitro* pela enzima DNA polimerase. Essa reação ocorre em um equipamento chamado de termociclador que executa variações nas temperaturas de forma cíclica, e permite o aumento exponencial de uma pequena quantidade inicial de material genético. Foi desenvolvida por Kary Mullis em 1983 que, posteriormente em 1993, ganhou o Prêmio Nobel de Química devido a sua descoberta (RAHMAN *et al.*, 2013).

Para a reação acontecer são necessários alguns componentes: DNA ou DNA complementar (cDNA), dois iniciadores ou oligonucleotídeos (*primers*), enzima DNA polimerase, nucleotídeos (dNTPs), incluindo as quatro bases nitrogenadas adenina, timina, citosina e guanina, solução tampão da reação, água DNase/RNase *free* e cloreto de magnésio (MgCl₂). Esses componentes são colocados em um tubo de ensaio ou em uma placa de 96 poços estéreis e, em seguida, inseridos no termociclador. O termociclador irá operar em ciclos de aumento e diminuição da temperatura, divididos em três etapas precisas e pré-programadas, que consistem em: (1) desnaturação, onde as fitas de DNA são separadas através de um aquecimento acima de suas temperaturas de fusão; (2) anelamento, onde há a diminuição da temperatura para que ocorra a ligação dos iniciadores nas fitas, delimitando as regiões específicas a serem amplificadas; e (3) extensão, que consiste em uma nova elevação da temperatura, para que a DNA Polimerase insira os nucleotídeos formando nova fita complementar, que será formada dando continuidade aos iniciadores. Dessa maneira, formam-se várias cópias do genoma (Figura 6) (GARIBYAN e AVASHIA, 2013; CORMAN *et al.*, 2020).

Figura 6 – Esquema demonstrativo do princípio da PCR



(Fonte: adaptado de GARIBYAN e AVASHIA, 2013)

Há uma ampla gama de variações da técnica de PCR (RAHMAN *et al.*, 2013). Para o diagnóstico da Covid-19, é comumente utilizada a Reação em Cadeia da Polimerase precedida de Transcrição Reversa em tempo real (RT-qPCR, do inglês *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction in real time*). Esta técnica consiste na detecção e quantificação do RNA do SARS-CoV-2 em uma determinada amostra, a partir da conversão do RNA viral em cDNA por meio de transcrição reversa (utilizando a enzima transcriptase reversa). Nesta técnica, o resultado aparece em tempo real através de um gráfico de quantificação do RNA viral, a partir da marcação com sondas fluorescentes

ou corantes que se intercalam com as fitas de RNA (GARIBYAN e AVASHIA, 2013; PINILLA *et al.*, 2020).

Cada kit ou protocolo de RT-qPCR para SARS-CoV-2 possui como foco uma área específica do gene a ser amplificada. Para entender cada tipo de protocolo, é necessário compreender o material genético do vírus (LÓPEZ *et al.*, 2020). De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), a detecção de um alvo é suficiente para confirmar o diagnóstico nos países e nas regiões em que o vírus está estabelecido, entretanto, a recomendação inicial baseia-se na detecção de dois alvos positivos para confirmar um caso de Covid-19 (OPAS, 2020).

Para esta análise, devem ser coletadas amostras clínicas do trato respiratório superior e inferior, como o swab orofaríngeo, o swab nasal, o swab nasofaríngeo, expectoração, fluido de lavagem broncoaveolar e aspirado endotraqueal, sendo o swab nasofaríngeo a amostra padrão-ouro (LÓPEZ *et al.*, 2020). Para fins de pesquisa, outras amostras clínicas também podem ser utilizadas, como saliva, sangue, urina e fezes (RATRE *et al.*, 2021).

O período adequado para a coleta depende do período em que o SARS-CoV-2 está replicando no organismo. O Ministério da Saúde recomenda que a coleta da amostra deve ser, preferencialmente, entre os dias 3 e 7 após o início dos sintomas, podendo ser realizada até o dia 8 (Figura 5) (BRASIL, 2020a). PAN e colaboradores (2020) demonstraram, através de RT-qPCR, que o pico da carga viral está entre 5 e 6 dias após o início dos sintomas. Contudo, LÓPEZ e colaboradores (2020) observaram que o RNA viral pode ser detectado, em alguns casos, a partir de 1 a 2 dias antes do início dos sintomas e, em casos moderados, o limite de detecção do material genético do vírus, por esta técnica, varia entre 7 e 12 dias, podendo inclusive, ser detectado até 20 dias, dependendo do curso clínico da doença.

Para determinar a qualidade de uma técnica de diagnóstico, são analisados diversos parâmetros de acurácia, dentre os quais, sensibilidade e especificidade. A sensibilidade é a capacidade de um resultado ser positivo frente a presença real do agente, enquanto a especificidade é a capacidade de um resultado ser negativo frente a ausência real do agente. No geral, as metodologias de RT-qPCR para diagnóstico da Covid-19 possuem parâmetros bons de sensibilidade e excelentes de especificidade (LÓPEZ *et al.*, 2020). DIAS e colaboradores (2020) apontaram que a sensibilidade da RT-qPCR varia de 63% a 93%, enquanto a especificidade pode chegar a 100%. LONG e colaboradores (2020) demonstraram uma sensibilidade da mesma técnica de 83,3% em indivíduos diagnosticados com Covid-19. Já MILLER e colaboradores (2020) identificaram uma especificidade

de 99% e uma sensibilidade maior ou igual a 90% no dia 5 após os sintomas, 70 a 71% nos dias 9 a 11 e 30% no dia 21.

Entretanto, WALLER e colaboradores (2020) demonstraram que os estudos que apontam uma baixa sensibilidade da RT-qPCR podem apresentar uma abordagem enviesada devido a erros metodológicos e situações que podem interferir na realização da técnica, como: o tipo e a qualidade da amostra clínica coletada; a coleta de amostra de forma muito precoce ou muito tardia em relação ao estágio da Covid-19; o transporte, armazenamento e processamento inadequado da amostra, levando em consideração que o RNA está sujeito a maior degradação, por ser uma molécula menos estável que o DNA (REN *et al.*, 2020). Outras questões envolvidas a serem consideradas nesse aspecto: o protocolo utilizado para efetuar a técnica (KASTAREN *et al.*, 2020); procedimento com alto risco de contaminação (RATRE *et al.*, 2021); e, por fim, apesar de raro, a ocorrência de mutações virais nos sítios alvos (LÓPEZ *et al.*, 2020).

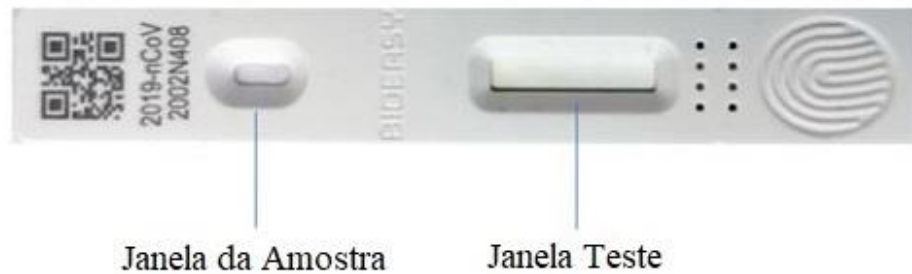
A RT-qPCR é uma técnica suficientemente confiável que produz resultados com alto rendimento e em poucas horas. Por isso é considerada padrão ouro para o diagnóstico de Covid-19 diante de resultados já validados (YUCE; FILIZTEKIN; OZKAYA, 2021). Há outros testes disponíveis, tanto para detecção de antígenos virais quanto para detecção de anticorpos no soro, entretanto os métodos sorológicos servem para indicar o estado imunológico do indivíduo, não detectando o vírus. Dessa forma, a RT-qPCR é indispensável para verificar a presença de SARS-CoV-2 em pacientes atingidos na pandemia de Covid-19 durante a fase aguda (RATRE *et al.*, 2021; LÓPEZ *et al.*, 2020).

4.3.2. *TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO PARA PESQUISA DE ANTÍGENO VIRAL*

O teste imunocromatográfico para a pesquisa de antígeno viral, também conhecido como teste rápido, consiste em uma técnica imunológica de diagnóstico direto, pois visa detectar a presença dos antígenos do vírus em uma amostra. Neste caso, antígenos são moléculas que funcionam como marcadores específicos do vírus e precedem a produção de anticorpos (YUCE; FILIZTEKIN; OZKAYA, 2021).

O princípio de funcionamento desta técnica é a reação específica antígeno-anticorpo. Para tal, é utilizada uma membrana porosa de nitrocelulose acoplada em um cassete de plástico com duas janelas: uma para inserir a amostra e outra para a leitura da reação (Figura 7) (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009).

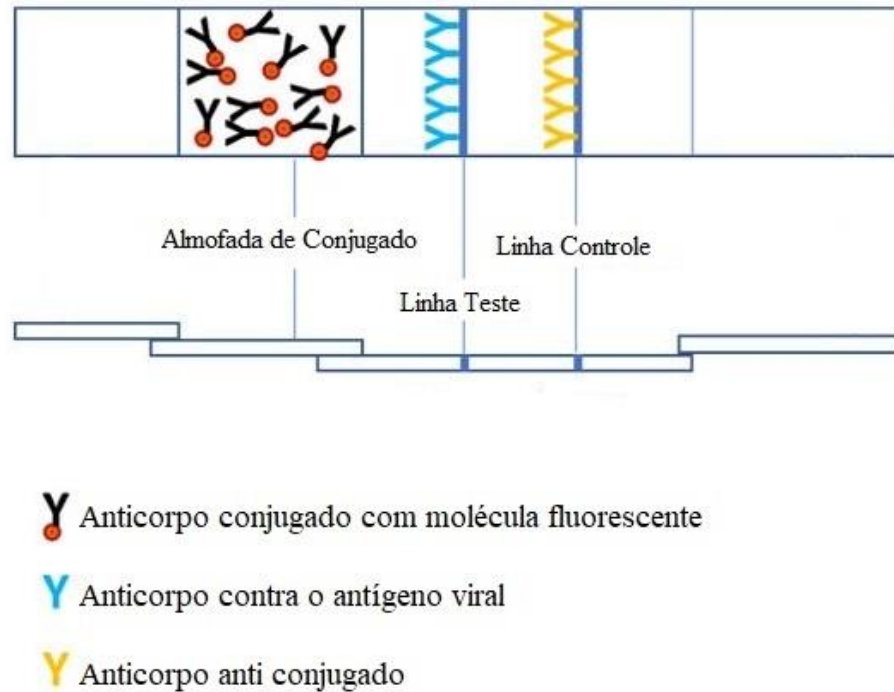
Figura 7 – Exemplo de cassete de plástico para teste imunocromatográfico



Legenda: A janela da amostra consiste no local onde será inserida a amostra com a presença ou a ausência da partícula viral e, conseqüentemente, do antígeno viral. A reação ocorre por meio de capilaridade, movendo os componentes da primeira janela até a segunda, denominada janela teste. (Fonte: adaptado de DIAO *et al.*, 2020)

O princípio desta técnica baseia-se na presença de elementos de captura imobilizados na membrana de nitrocelulose, que consiste na fase sólida. Esses elementos estão dispostos da seguinte forma: na “Janela da Amostra” estão presentes anticorpos conjugados com moléculas fluorescentes que têm o objetivo de conferir a cor para o aparecimento da tira teste e da tira controle na segunda janela, que é denominada “Janela Teste”. Estes elementos se moverão através de uma fase móvel por meio da reação de capilaridade. Em se tratando da linha teste, esta contém anticorpos que reagirão com os antígenos possivelmente presentes na amostra como, por exemplo, o antígeno da proteína do Nucleocapsídeo (N), para que apareça um resultado positivo. Já a linha controle contém anticorpos que irão reagir com os anticorpos conjugados fluorescentes, podendo ser visualizada independente do resultado negativo ou positivo da amostra e que servirá como uma linha de referência para o funcionamento do teste (Figura 8) (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009; DIAO *et al.*, 2020; DIAO *et al.*, 2021).

Figura 8 – Esquema demonstrativo do teste imunocromatográfico para pesquisa de antígeno viral



(Fonte: adaptado de DIAO *et al.*, 2020)

Para este procedimento podem ser utilizadas amostras oriundas do trato respiratório, sendo o swab de nasofaringe o principal (CHAIMAYO *et al.*, 2020). Um estudo apontou que a urina também pode ser uma amostra viável (DIAO *et al.*, 2020).

Como os alvos do teste rápido para pesquisa de antígeno viral são os biomarcadores virais do SARS-CoV-2, como as glicoproteínas Spikes (S), a proteína do envelope (E), a glicoproteína da membrana (M) e a proteína do Nucleocapsídeo (N), esta técnica detecta apenas a infecção viral ativa, bem como ocorre com a PCR, não sendo capaz de detectar a infecção em indivíduos que estejam em recuperação (YUCE; FILIZTEKIN; OZKAYA, 2021). Portanto, o período considerado adequado para coleta para este tipo de teste abrange do 2º ao 7º dia do início dos sintomas (BRASIL, 2020a).

Alguns estudos que contemplem a discussão sobre a funcionalidade e os padrões de acurácia de testes imunocromatográficos para pesquisa de antígeno viral foram desenvolvidos. CHAYMAIO e colaboradores (2020) estudaram um teste rápido comparando os resultados com a RT-qPCR e chegaram a valores altos de sensibilidade e especificidade, respectivamente 98,33% e 98,73%. ALBERT e colaboradores (2021) avaliaram outro teste para detecção de antígenos, onde acharam uma especificidade de 100% e uma sensibilidade e 79,6%. Alguns interferentes na técnica de pesquisa de

antígeno viral que podem afetar a sensibilidade e a especificidade são: baixa carga viral contida em uma amostra, a variabilidade do tipo de amostras utilizadas e erros na coleta (LA MARCA *et al.*, 2020). DIAO e colaboradores (2021) afirmam que a sensibilidade e especificidade nesta técnica estão relacionadas com a testagem na fase inicial e aguda da infecção.

É importante ressaltar que até o momento atual do desenvolvimento deste trabalho, estudos ainda estão sendo desenvolvidos para aperfeiçoar este tipo de diagnóstico que ainda não é muito difundido. Entretanto, algumas vantagens como a facilidade de interpretação dos resultados, a facilidade de execução do teste e a não necessidade de infraestrutura especializada reforçam o quanto este método diagnóstico é promissor (LA MARCA *et al.*, 2020; YUCE; FILIZTEKIN; OZKAYA, 2021). Faz-se necessário também a existência de testes rápidos para triagem da doença, uma vez que a RT-qPCR é uma técnica mais demorada e que necessita de pessoal capacitado (CHAIMAYO *et al.*, 2020).

4.3.3. TESTES IMUNOLÓGICOS

Os testes imunológicos (ou sorológicos), por sua vez, consistem na detecção indireta do alvo que está sendo estudado, por meio da detecção de anticorpos (proteínas do sistema imunológico produzidas em resposta aos antígenos). No diagnóstico da Covid-19, apesar de estas técnicas não detectarem a presença do vírus em si, elas possuem relevância no monitoramento da resposta imunológica de indivíduos expostos ao SARS-CoV-2, para fins de diagnóstico, pesquisa e levantamento epidemiológico (YUCE; FILIZTEKIN; OZKAYA, 2021).

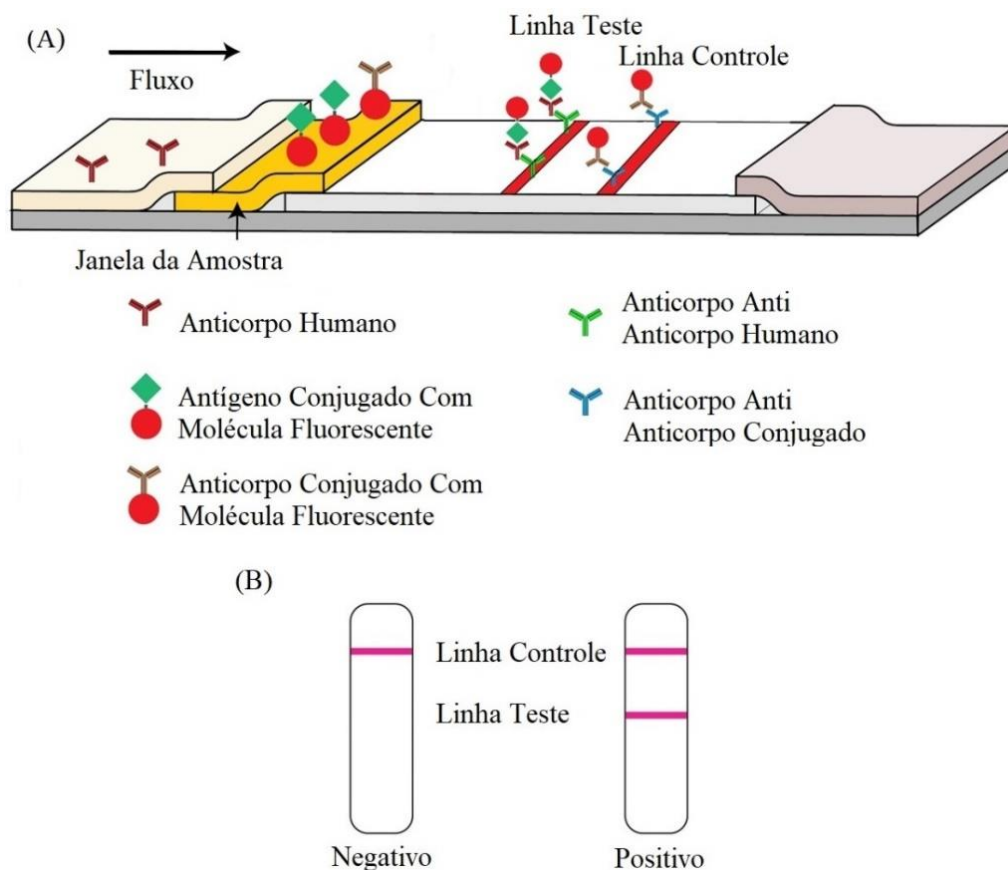
Existem dois testes principais que possuem o objetivo de detectar anticorpos IgM, IgA e/ou IgG, sendo eles: a Imunocromatografia para detecção de anticorpos (teste rápido) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (LÓPEZ *et al.*, 2020). Para realização destas técnicas, as possíveis amostras utilizadas são o sangue ou o soro. O período adequado para a coleta é a partir do 8^a dia da manifestação dos sintomas em indivíduos que sejam sintomáticos e que estejam na fase convalescente da doença (BRASIL, 2020a).

4.3.3.1. Imunocromatografia para detecção de anticorpos

A Imunocromatografia para detecção de anticorpos, ou teste rápido, consiste em uma técnica baseada na reação antígeno-anticorpo que contém o mesmo mecanismo de funcionamento do teste

imunocromatográfico para pesquisa de antígeno viral (LA MARCA *et al.*, 2020). Entretanto, diferentemente do teste descrito no tópico 4.3.2, a Imunocromatografia para detecção de anticorpos possui na “Janela da Amostra” uma região na qual encontram-se antígenos imobilizados e conjugados com moléculas coradas (Figura 8). Caso haja anticorpos contra o SARS-CoV-2 na amostra, eles se ligarão primeiramente ao conjugado corado, em seguida, se moverão por meio de capilaridade para que se liguem ao anticorpo secundário anti-anticorpo humano, conferindo assim um resultado positivo a partir do aparecimento da linha teste. Independentemente do resultado, há uma linha controle que aparecerá a partir da reação entre outros anticorpos secundários e anticorpos conjugados com molécula fluorescente (Figura 9) (LI *et al.*, 2020).

Figura 9 – Esquema demonstrativo da Imunocromatografia para detecção de anticorpos



Legenda: (A) Demonstração da reação que ocorre na imunocromatografia para detecção de anticorpos e dos elementos que pertencem ao teste. A amostra percorre o sentido do fluxo através de capilaridade. Se houver anticorpos humano anti-SARS-CoV-2, eles se ligarão ao antígeno conjugado com molécula fluorescente que confere cor para o aparecimento da

linha teste; (B) Demonstração do resultado do exame. Se o resultado for positivo, aparecerão a linha teste e a linha controle. Se negativo, aparecerá apenas a linha controle (Fonte: adaptado de LI *et al.*, 2020).

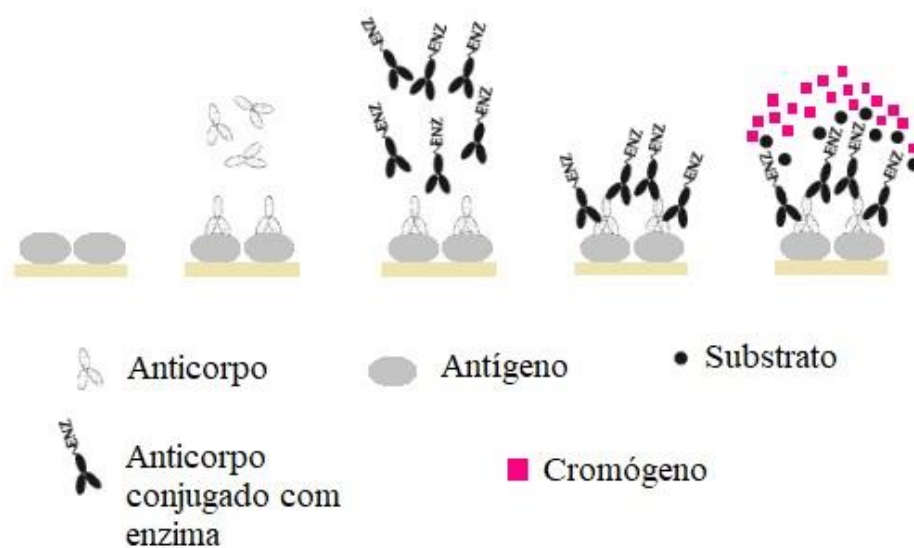
Um estudo que desenvolveu um teste rápido apontou uma sensibilidade de 88,66% e uma especificidade de 90,63% para este teste ao avaliar amostras de pacientes suspeitos para Covid-19 (LI *et al.*, 2020). Outro estudo que avaliou amostras de pacientes com Covid-19, por meio de testes rápidos, demonstrou uma sensibilidade de 87,9% para detecção de IgM, 97,2% para detecção de IgG e uma especificidade de 100% para ambos, sendo as amostras analisadas previamente confirmadas como positivas através de RT-qPCR (HOFFMAN *et al.*, 2020). Um estudo comparativo entre diversos testes imunológicos afirmou que o diagnóstico por imunocromatografia depende fortemente da carga de anticorpos na amostra e que o teste rápido para Covid-19 pode apresentar alta especificidade, mas a sensibilidade é moderada (GAO; QUAN, 2020).

4.3.3.2. *Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)*

O Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) consiste em um método de detecção de anticorpos baseado na reação de uma enzima³ com um substrato. Esta técnica é realizada em uma placa de microdiluição de 96 poços, onde haverá a ligação antígeno-anticorpo por meio de antígenos previamente fixados na placa com os anticorpos presentes na amostra. O resultado dessa reação é evidenciado por meio de anticorpos secundários (anti-anticorpos humanos) conjugados com uma enzima, que reagirão com um substrato e com uma substância que confere cor à reação, denominada cromógeno (Figura 10) (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009).

³ Enzimas são proteínas que interagem apenas com um substrato específico, com o intuito de acelerar reações químicas (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009).

Figura 10 – Esquema demonstrativo do mecanismo de funcionamento do ELISA



(Fonte: Adaptado de CROWTHER, 2001)

Esse processo ocorre da seguinte maneira: (1) Primeiramente, ocorre a sensibilização, onde os antígenos do SARS-CoV-2 são inseridos na placa de microdiluição de 96 poços. Eles são fixados por meio da diferença de carga elétrica entre o material da placa, que é positivo e o antígeno, que adquire carga negativa ao ser tratado previamente com solução alcalina. Para que esse processo ocorra, é necessário que a placa e os reagentes fiquem incubados durante toda a noite; (2) como há a possibilidade de toda a superfície da placa não estar coberta com os antígenos, é realizado o bloqueio destes locais com uma substância proteicas, que não reagem com outras presentes no teste; (3) a amostra é inserida na reação; (4) anticorpos secundários conjugados com a enzima são incluídos na reação para que se liguem aos anticorpos humanos presentes na amostra; (5) por fim, é inserido um tampão de revelação que contém um substrato associado com um cromógeno, para que o resultado seja revelado gerando uma cor (Figura 10). Entre cada fase tem-se uma etapa de lavagem, que consiste na utilização de um tampão de lavagem, a fim de que sejam retirados os excessos dos antígenos e/ou conjugados não ligados. O resultado da reação será obtido por meio de um aparelho denominado espectrofotômetro, que realizará a leitura da reação por meio de quantificação de luz (radiação eletromagnética) absorvida, transmitida ou refletida na amostra, ou seja, a densidade optica (TEVA; FERNANDEZ; SILVA, 2009; ZHAO, 2020; MAHALAWI, 2021).

De maneira geral, os parâmetros de a sensibilidade e a especificidade do ELISA são considerados seguros (BRASIL, 2020a). ZHAO e colaboradores (2020) desenvolveram um kit ELISA com sensibilidade de 97,1% e especificidade de 97,5%. Já ZHONG e colaboradores (2020) desenvolveram outro teste que obteve sensibilidade de 95,7% e especificidade de 85,7% para IgG e sensibilidade de 97,9% e especificidade de 99,7% para IgM.

É importante citar ainda que existem o Imunoensaio por Quimioluminescência (CLIA) e o Imunoensaio por Eletroquimioluminescência (ECLIA) (BRASIL, 2020a; JAHRSDOFER *et al.*, 2021). Esses testes têm o mecanismo de reação enzimática parecidos com o ELISA, entretanto geram um produto luminoso através de excitação eletrônica causada por transferência de elétrons. Isso ocorre por meio da presença de marcadores luminosos como luciferina ou luciferase na reação (SANTOS; SANTOS; COSTA, 1992).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente trabalho foi possível observar que o SARS-CoV-2 pertence ao gênero *Betacoronavirus* da família *Coronaviridae*, possui um genoma RNA de fita simples com polaridade positiva. A presença das glicoproteínas Spikes no envelope viral é uma característica importante deste vírus, agente causador da Covid-19. Essa doença tem como principais aspectos clínicos a Síndrome Gripal e, em casos mais graves, a Síndrome Respiratória Aguda Grave, podendo haver sintomas como: tosse seca, febre alta, dor de garganta, cefaleia, mialgia, diarreia, náuseas, vômitos e, principalmente, ageusia e anosmia. Nos casos graves, há insuficiência respiratória, sendo preocupante a saturação de oxigênio menor ou igual a 95% ($SpO_2 \leq 95\%$). Para diagnosticar laboratorialmente essa doença as principais metodologias são a Reação em Cadeia pela Polimerase precedida de Transcrição Reversa em Tempo Real, a Imunocromatografia para Pesquisa de Antígeno Viral, que detectam a presença do vírus nas amostras em torno do 3º ao 7º dia a partir do início dos sintomas; a Imunocromatografia para Detecção de Anticorpos e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, que detectam a resposta imunológica frente ao SARS-CoV-2, a partir do surgimento de anticorpos contra o vírus, sendo a detecção de IgM e de IgA a partir do 7º dia após o início dos sintomas e de IgG a partir do 10º dia após os início dos sintomas, apresentando uma melhor detecção a partir do 14º dia, considerado o pico do surgimento deste anticorpo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K., LITCHMAN, A. H., PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 8. ed. Tradução: Tatiana Ferreira Robaina *et al.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

ALBERT, E. *et al.* Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 3, p. 472e7-472e10, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X20306972>. Acesso em: 30 mar. 2021.

AZKUR, A. K. *et al.* Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. **European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 75, n. 7, p. 1564-1681, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.14364>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica: Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional pela Doença pelo Coronavírus 2019**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 05 ago. 2020a. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/guia-de-vigilancia-epidemiologica-covid-19>. Acesso em: 31 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações para manejo de pacientes com Covid-19**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2020b. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/index.php/manejo-clinico-e-tratamento>. Acesso em: 31 mar. 2021.

BULUT, C.; KATO, Y. Epidemiology of COVID-19. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 50, n. 3, p. 563–570, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195982/>. Acesso em: 18 mai. 2020.

CAMPOS, P. F. *et al.* Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to six months post disease onset. **European Journal of Immunology**, v. 50, n. 12, p. 2025-2040, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.202048970>. Acesso em: 11 nov. 2020.

CHAIMAYO, C. *et al.* Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. **Virology Journal**, v. 17, n. 177, p. 1-7, 2020. Disponível em: <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-020-01452-5>. Acesso em: 09 mar. 2021.

CHANG, L.; YAN, Y.; WANG, L. Coronavirus Disease 2019: Coronaviruses and Blood Safety. **Transfusion Medicine Review**, v. 34, n. 2, p. 75-80, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887796320300146?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jun. 2020.

CHO, H. J. *et al.* COVID-19 transmission and blood transfusion: A case report. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 11, p. 1678-1679, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034120304676?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jun. 2020.

CORMAN, V. M. *et al.* Hosts and sources of endemic human coronaviruses. **Advances in Virus Research**, v. 100, p. 163–188, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112090/>. Acesso em: 07 jan. 2021.

CORMAN, V. M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. **Euro Surveillance**, v. 25, n. 3, p. 23-30, 2020. Disponível em: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045?crawler=true>. Acesso em: 20 fev. 2021.

CROWTHER, J. R. The ELISA guidebook. *In: Methods in molecular biology: volume 149.* 2001. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=e39weLL_FL8C&oi=fnd&pg=PR5&dq=elisa&ots=TCVuiqAL0g&sig=VG-7dHPwyZyvPkTetnIsCHFY2-U#v=onepage&q=elisa&f=false. Acesso em: 24 mar. 2021.

CRUZ, M. P. *et al.* COVID-19, una emergencia de salud pública mundial. **Revista Clínica Española**, v. 221, n. 1, p. 55-61, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014256520300928#bib0230>. Acesso em: 04 mai. 2020.

DE GROOT, R. J. *et al.* Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): Announcement of the Coronavirus Study Group. **Journal of Virology**, v. 87, n. 14, p. 7790-7792, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3700179/>. Acesso em: 04 mai. 2020.

DE WILDE, A. H. *et al.* Host factors in coronavirus replication. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 419, p. 1-42, 2017. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/82_2017_25. Acesso em: 04 mai. 2020.

DIAO, B. *et al.* Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 2, 289.e1-289.e4, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7534827/>. Acesso em: 11 mar. 2021.

DIAO, B. *et al.* Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. **MedRxiv**, 2020. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.07.20032524v2.full>. Acesso em 03 mar. 2021.

DIAS, V. M. C. H. *et al.* Orientações sobre Diagnóstico, Tratamento e Isolamento de Pacientes com COVID-19. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 2, p. 1-20, 2020. Disponível em: http://www.abennacional.org.br/site/wp-content/uploads/2020/05/Journal_Infection_Control.pdf. Acesso em: 30 mar. 2021.

DUFORT, E. M. *et al.* Multisystem Inflammatory Syndrome in Children in New York State. **The New England Journal Of Medicine**, v. 383, n. 4, p. 347-358, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7346766/>. Acesso em: 31 mar. 2021.

EMPARAN, J. P. O. *et al.* COVID-19 and the eye: how much do we really know? A best evidence review. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 83, n. 3, p. 250-261, 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27492020000300016&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 20 ago. 2020.

FIOCRUZ. **Por que a doença causada pelo novo vírus recebeu o nome de Covid-19?** Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/por-que-doenca-causada-pelo-novo-virus-recebeu-o-nome-de-covid-19#:~:text=COVID%20significa%20Corona%20Virus%20Disease,chin%C3%AAs%20no%20final%20de%20dezembro>. Acesso em: 20 nov. 2020.

FUNG, T. S.; LIU, D. X. Human coronavirus: host-pathogen interaction. **Annual Review of Microbiology**, v. 73, p. 529-557, 2019. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-micro-020518-115759>. Acesso em: 04 mai. 2020.

GAO, J.; QUAN, L. Current status of diagnostic testing for SARS-CoV-2 infection and future developments: a review. **Medical Science Monitor**, v. 26, n. 928552, p. 1-7, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7754691/>. Acesso em: 21 mar. 2021.

GARCÍA, L. F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. 1441, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01441/full>. Acesso em: 10 fev. 2021.

GARIBYAN, L.; AVASHIA, N. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 3, p. 1-4, 2013. Disponível em: [https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)36139-X/fulltext](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)36139-X/fulltext). Acesso em: 16 fev. 2021.

GORBALENYA, A. *et al.* The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature Microbiology**, v. 5, p. 536-544, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41564-020-0695-z>. Acesso em: 04 mai. 2020.

HOFFMAN, T. *et al.* Evaluation of a Covid-19 IgM and IgG rapid test; an efficient tool for assessment of past exposure to SARS-CoV-2. **Infection Ecology and Epidemiology**, v. 10, n. 1, p. 1-5, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7178815/>. Acesso em 31 mar. 2021.

ICTV. Virus Taxonomy: 2019, Release. EC 51, Berlin, Germany, July 2019; Email ratification March 2020 (MSL #35); 2019. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae. Acesso em: 11 mai. 2020.

JAHRSDOFER, B. *et al.* Independent Side-by-Side Validation and Comparison of 4 Serological Platforms for SARS-CoV-2 Antibody Testing. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 223, n. 5, p. 796-801, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/jid/article/223/5/796/5926414>. Acesso em: 16 mar. 2021.

JAFARZADEH, A. *et al.* Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID-19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. **Life Sciences**, v. 257, p. 1-16, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7367812/>. Acesso em: 12 out. 2020.

JORDAN, R. E.; ADAB, P.; CHENG, K. K. Covid-19: risk factors for severe disease and death. **BMJ**, v. 368, n. 1198, p. 1-2, 2020. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/368/bmj.m1198>. Acesso em: 12 jun. 2020.

KATULANDA, P. *et al.* Prevention and management of COVID-19 among patients with diabetes: an appraisal of the literature. **Diabetologia**, v. 63, n. 8, p. 1440-1452, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7220850/>. Acesso em: 12 jun. 2020.

KUIKEN, T. *et al.* Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. **The Lancet**, v. 362, n. 9380, p. 263-270, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7112434/>. Acesso em: 04 mai. 2020.

LA MARCA, A. *et al.* Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 41, n. 3, p. 483-499, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7293848/>. Acesso em 24 mar. 2021.

LAI, C. *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. **International Journal of Microbiology Agents**, v. 55, n. 3, p. 1-9, 2020a. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7127800/>. Acesso em: 18 mai. 2020.

LAI, C. *et al.* Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Facts and myths. **Journal Of Microbiology, Immunology And Infection**, v. 53, n. 3, p. 404-412, 2020b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118220300402?via%3Dihub>. Acesso em: 11 jan. 2021.

LAM, T. T. Y. *et al.* Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. **Nature**, v. 586, p. 282-285. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2169-0>. Acesso em: 16 abr. 2021.

LI, Z. *et al.* Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 9, p. 1518-1524, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmv.25727>. Acesso em: 17 mar. 2021.

- LI, J. *et al.* An infant with a mild SARS-CoV-2 infection detected only by anal swabs: a case report. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 24, n. 3, p. 247-249, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S141386702030043X?via%3Dihub>. Acesso em 10 jun. 2020.
- LIN, L. *et al.* Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection – a review of immune changes in patients with viral pneumonia. **Emerging Microbes And Infections**, v. 9, n. 1, p. 727-732, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7170333/>. Acesso em: 14 jul. 2020.
- LONG, C. *et al.* Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? **European Journal of Radiology**, v. 126, p. 1-5, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0720048X20301509>. Acesso em: 30 mar. 2021.
- LÓPEZ, P. *et al.* Diagnóstico de laboratorio de COVID-19. **Revista Médica Del Uruguay**, v. 36, n. 4, p. 393-400, 2020. Disponível em: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902020000400131&lang=pt. Acesso em: 20 fev. 2021.
- LOTFI, M.; REZAEI, N. SARS-CoV-2: A comprehensive review from pathogenicity of the virus to clinical consequences. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 10, p. 1864-1874, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.26123#jmv26123-bib-0021>. Acesso em 12 jan. 2021.
- LU, X. *et al.* SARS-CoV-2 infection in children. **The New England Journal Of Medicine**, v. 382, p. 1663-1665, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7121177/>. Acesso em: 13 jan. 2021.
- MADABHAVI, I.; MALAIO, S.; KADAKOL, N. Covid-19: a review. **Monaldi Archives for Chest Disease**, v. 90, n. 1298, p. 248-258, 2020. Disponível em: <https://www.monaldi-archives.org/index.php/macd/article/view/1298>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- MAHALAWI, W. H. A serological assay to detect human SARS-CoV-2 antibodies. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 16, n. 1, p. 57-62, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658361220302018?via%3Dihub>. Acesso em: 16 mar. 2021.
- MASTERS, P. S. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in Virus Research**, v. 66, p. 193-292, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352706660053>. Acesso em: 04 mai. 2020.
- MASTERS, P. S.; PERLMAN, S. Coronaviridae in KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. *Fields Virology*. 6ª edição, 2013.

MILLER, T. E. *et al.* Clinical sensitivity and interpretation of PCR and serological COVID-19 diagnostics for patients presenting to the hospital. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 10, p. 13.877-13.884. Disponível em: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1096/fj.202001700RR>. Acesso em: 30 mar. 2021.

OMS. Organização Mundial da Saúde. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19--11-march-2020>. Acesso em 26 jan. 2021.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Laboratory Guidelines for the Detection and Diagnosis of COVID-19 Virus Infection. Washington, DC: 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/laboratory-guidelines-detection-and-diagnosis-covid-19-virus-infection>. Acesso em 29 mar. 2021.

PACES, J. *et al.* COVID-19 and the immune system. **Physiological Research**, v. 69, n. 3, p. 379-388, 2020. Disponível em: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/69/69_379.pdf. Acesso em: 28 out. 2020.

PAN, Y. *et al.* Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 4, p. 411-412, 2020. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(20\)30113-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(20)30113-4/fulltext). Acesso em 20 fev. 2021.

PAULES, C. I.; MARSTON, H. D.; FAUCI, A. S. Coronavirus infections - more than just the common cold. **JAMA**, v. 233, n. 8, p. 707-708, 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2759815>. Acesso em: 04 mai. 2020.

PINILLA, G.; CRUZ, C. A. C.; NAVARRETE, O. Diagnóstico molecular de SARS-CoV-2. **Nova**, v. 18, n. 35, p. 35-41, 2020. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702020000300035&lang=pt. Acesso em: 17 fev. 2021.

RABI, F. A. *et al.* SARS-COV-2 and Coronavirus Disease 2019: What we know so far. **Pathogens**, v. 9, n. 3, p. 1-14, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7157541/>. Acesso em 13 jan. 2021.

RAHMAN, M. T. *et al.* Polymerase Chain Reaction: A short review. **Anwer Khan Modern Medical College Journal**, v. 4, n. 1, p. 30-36, 2013. Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/AKMMMCJ/article/view/13682>. Acesso em: 16 fev. 2021.

RATRE, Y. K. *et al.* Molecular mechanism, diagnosis, and potential treatment for novel coronavirus (COVID-19): a current literature review and perspective. **3 Biotech**, v. 11, n. 94, p. 1-24, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-021-02657-3>. Acesso em: 20 fev. 2021.

REN, W. *et al.* Application and optimization of RT-PCR in diagnosis of SARS-CoV-2 infection (SSRN). **The Lancet Infection Diseases**. Disponível em:

https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3546086. Acesso em: 20 fev. 2021.

RICHMAN, D. D.; WHITLEY, R. J.; HAYDEN, F. G. *Clinical Virology*. 4ª edição, 2017.

Disponível em:

<https://books.google.com.br/books?id=G9zIDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=CLINICAL+VIROLOGY&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwjy88XxyZrpAhU9HbkGHaj7C3gQ6wEILTAA#v=onepage&q=CLINICAL%20VIROLOGY&f=false>. Acesso em: 04 mai. 2020.

ROWLEY, A. H. Understanding SARS-CoV-2-related multisystem inflammatory syndrome in children. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, 453-454, 2020. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/s41577-020-0367-5>. Acesso em: 11 fev. 2021.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **Journal of Autoimmunity**, v. 109, 2020. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7127067/>. Acesso em: 18 mai. 2020.

SAGHAZADEH, A.; REZAEI, N. Towards treatment planning of COVID-19: Rationale and hypothesis for the use of multiple immunosuppressive agents: Anti-antibodies, immunoglobulins, and corticosteroids. **International Immunopharmacology**, v. 84, p. 1-6, 2020. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7205724/>. Acesso em: 10 fev. 2021.

SANTOS, R. M. S.; SANTOS, M. F.; COSTA, M. F. D. Quimioluminescência e bioluminescência. **Química Nova**, v. 16, n. 3, p. 200-209, 1993. Disponível em:

[http://submission.quimicanova.sbg.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3/v16_n3_%20\(6\).pdf](http://submission.quimicanova.sbg.org.br/qn/qnol/1993/vol16n3/v16_n3_%20(6).pdf). Acesso em: 24 mar. 2021.

SARZI-PUTTINI, P. *et al.* COVID-19, cytokines and immunosuppression: what can we learn from severe acute respiratory syndrome? **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 38, p. 337-342, 2020. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=15518>. Acesso em: 10 set. 2020.

SHEREEN, M. A. *et al.* COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of Advanced Research**, v. 24, p. 91-98, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123220300540>. Acesso em: 11 mai. 2020

SHI, J. *et al.* Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. **Science**, v. 368, n. 6494, p. 1016-1020, 2020. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7164390/>. Acesso em: 11 jun. 2020.

SU, S. *et al.* Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 6, p. 490-502, 2016. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7125511/>. Acesso em: 20 nov. 2020.

SOHRABI, C. *et al.* World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). **International Journal of Surgery**, v. 76, p. 71-76, 2020.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919120301977#bib23>.

Acesso em: 18 mai. 2020.

TANG, D.; COMISH, P.; KANG, R. The hallmarks of COVID-19 disease. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 5, p. 1-24, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7244094/>.

Acesso em 11 jun. 2020.

TEVA, A.; FERNANDEZ, J. C. C.; SILVA, V. L. Imunologia. *In*: MOLINARO, E.; CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. (org). Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 4. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2009. p. 19-124.

USP. **Texto IV: Transcrição e processamento de RNA**. 2017. Disponível em:

<https://edisciplinas.usp.br/course/view.php?id=33438>. Acesso em: 05 fev. 2021.

VAN KASTEREN, P. B. *et al.* Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. **Journal of Clinical Virology**, v. 128, p. 1-5, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653220301542#tbl0010>. Acesso em: 20 fev. 2020.

WALLER, J. V. *et al.* Diagnostic Tools for Coronavirus Disease (COVID-19): Comparing CT and RT-PCR Viral Nucleic Acid Testing. **American Journal of Roentgenology**, v. 215, n. 4, p. 834-838, 2020. Disponível em: <https://www.ajronline.org/doi/full/10.2214/AJR.20.23418>. Acesso em:

20 fev. 2021.

WANG, W. *et al.* Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. **JAMA**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2762997>. Acesso em 11 jun. 2020.

XAVIER, A. R. *et al.* Covid-19: Manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, n. 1, p. 1-9, 2020.

Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442020000100302&script=sci_arttext&tlng=pt.

Acesso em: 11 jan. 2021.

YANG, L. *et al.* COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 128, p. 1-8, 2020. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/s41392-020-00243-2>. Acesso em: 10 fev. 2020.

YUCE, M.; FILIZTEKIN, E.; OZKAYA, K. G. COVID-19 diagnosis – A review of current methods. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 172, 2020. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7584564/>. Acesso em: 02 mar. 2021.

ZAIGHAM, M.; ANDERSSON, O. Maternal and perinatal outcomes with COVID-19: A systematic review of 108 pregnancies. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 99, n. 7, p. 823-829, 2020. Disponível em: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/aogs.13867>.

Acesso em: 02 jun. 2020.

ZHANG, H. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. **Intensive Care Medicine**, v. 46, p. 586-590, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00134-020-05985-9>. Acesso em 04 mai. 2020.

ZHAO, R. *et al.* Serological diagnostic kit of SARS-CoV-2 antibodies using CHO-expressed full-length SARS-CoV-2 S1 proteins. **MedRxiv**, 2020. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.26.20042184v1>. Acesso em: 24 mar. 2021.

ZHENG, Y. *et al.* COVID-19 and the cardiovascular system. **Nature Reviews Cardiology**, v. 17, p. 259-260, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41569-020-0360-5?fbclid=IwAR3TjvxiEtYQqNkpsPuEuuef94Gp2m4a89YFsubY2pw2FtOxsSpxGZ18TmI>. Acesso em: 12 jun. 2020.

ZHONG, L. *et al.* Detection of serum IgM and IgG for COVID-19 diagnosis. **MedRxiv**, p. 1-4, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140589/>. Acesso em: 24 mar. 2021.

ZHOU, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, p. 270-273, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2012-7>. Acesso em: 04 mai. 2020.