



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

FELIPE GONÇALVES BEZERRA

**AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO MEIO DE DETECÇÃO DO
SARS-COV-2**

JOÃO PESSOA - PB

2022

FELIPE GONÇALVES BEZERRA

**AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO MEIO DE DETECÇÃO DO
SARS-COV-2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Ciências Exatas e da Natureza, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientadora: Profa. Dra. M^a Soraya Pereira Franco Adriano

Coorientador: Prof. Dr. João Felipe Bezerra

JOÃO PESSOA – PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B574a Bezerra, Felipe Gonçalves.

Avaliação molecular da saliva como meio de detecção do SARS-CoV-2 / Felipe Gonçalves Bezerra. - João Pessoa, 2022.

94 f. : il.

Orientação: Maria Soraya Pereira Franco Adriano.

Coorientação: João Felipe Bezerra.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Biologia celular e molecular. 2. Covid-19. 3. Infecção por SARS-CoV-2. 4. Saliva. 5. Teste molecular. I. Adriano, Maria Soraya Pereira Franco. II. Bezerra, João Felipe. III. Título.

UFPB/BC

CDU 576+577.2(043)

FELIPE GONÇALVES BEZERRA

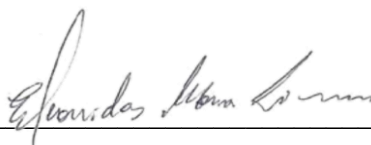
Dissertação de Mestrado avaliada em 10/03/2022

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Mª Soraya Pereira Franco Adriano

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (UFPB)
Orientadora



Prof. Dr. Eleonidas Moura Lima

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (UFPB)
Membro Interno (Titular)



Prof. Dr. Raul Hernandes Bortolin

Boston Children's Hospital/ Harvard Medical School
Membro Externo (Titular)

*À Deus;
A todos aqueles que acreditaram na
minha capacidade, mesmo perante os
maiores desafios.*

DEDICO

“Eu acredito, não porque eu quero acreditar, acredito porque as evidências científicas são irrefutáveis, elas não mentem”.

Cello Vieira

AGRADECIMENTOS

À Deus que me concedeu a vida, a saúde e a permissão para seguir firme nessa jornada.

À minha mãe Maria de Fátima que, sempre esteve ao meu lado, me incentivado e apoiando em cada escolha.

A todos os meus professores da PGBCM/UFPB, e em especial ao Prof. Dr. Eleonidas Moura Lima pelo aprendizado nas aulas ministradas.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Soraya que acreditou nos meus sonhos. Seu carinho, apoio e condução tornaram o percurso mais fácil e prazeroso.

Ao meu coorientador Prof. Dr. João Felipe que, com sua sabedoria e experiência, conduziu-me para a construção dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Romero, pela sua imensa simpatia, experiência e auxílio. Sem sua ajuda não teríamos conseguido.

A todos do grupo de pesquisa LAVIMAP pelo acolhimento e contribuição na pesquisa. Todos vocês estão dentro do meu coração.

À Regina Emy e a todos da coordenação do PGBCM/UFPB, pelo apoio prestado.

À equipe de enfermagem do HU/UFPB, pela recepção e contribuição nas coletas.

Aos funcionários da ETS/UFPB, pelo auxílio e apoio.

A todos os familiares e amigos que tanto torceram por mim.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Meu muito obrigado a todos!

RESUMO

O SARS-CoV-2, causador da Covid-19 foi identificado pela primeira vez em Wuhan, província de Hubei, China, e agora se propaga em escala global. O diagnóstico é realizado através da reação em cadeia da polimerase em tempo real de transcrição reversa (RT-qPCR) por coleta Swab nasofaríngea (SNF). Devido à alta demanda exames e os baixos suprimentos de materiais de coleta destacam a necessidade de métodos alternativos para facilitar a triagem universal precisa da Covid-19 e controle da pandemia. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência molecular da saliva como meio de detecção do SARS-CoV-2 em profissionais de saúde e pacientes do circuito cirúrgico do Hospital Universitário Lauro Wanderley. Para isso, foram realizadas 365 coletas de amostras SNF e saliva que foram extraídas e quantificadas em concentração. A identificação foi realizada através da RT-qPCR. Os resultados mostraram que das 365 amostras analisadas, 45 (12,3%) tiveram detecção em pelo menos um tipo de amostra e a maioria era 27 (60%) assintomáticos. Em SNF e saliva foram positivos em 21 (46,7%) amostras, enquanto 14 (31,1%) foram positivos apenas para amostras SNF e 10 (22,2%) positivo apenas em amostras de saliva. A concentração das amostras de saliva foi de 28,6 e 30,4 $\pm$ DP para 7,6 e 8,38 $\pm$ DP de SNF. A pureza foi de 1,81 e 0,3 $\pm$ DP em saliva para 1,82 e 0,25 $\pm$ DP em SNF. Usando amostras SNF como padrão ouro de referência a sensibilidade e especificidade da saliva foram de 60% 97%, enquanto os valores preditivos positivos e negativos foram de 68% e 96%, respectivamente. A acurácia foi de 93,0% e o coeficiente Kappa foi de 0,596. Em conclusão, os resultados obtidos na auto-coletada da saliva pura é semelhante em comparação com amostras SNF, sendo viável para ser usado na detecção do SARS-CoV-2.

Palavras-chave: Covid-19. Infecção por SARS-CoV-2. Saliva. Teste molecular.

ABSTRACT

SARS-CoV-2, which causes Covid-19, was first identified in Wuhan, Hubei Province, China, and is now spreading on a global scale. Diagnosis is performed by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) by nasopharyngeal swab collection (NFS). Due to high testing demand and low supplies of collection materials, the need for alternative methods to facilitate accurate universal Covid-19 screening and pandemic control is highlighted. Thus, this study aimed to evaluate the molecular efficiency of saliva as a means of detecting SARS-CoV-2 in health professionals and patients in the surgical circuit of Hospital Universitário Lauro Wanderley. For this, 365 collections of SNF and saliva samples were performed, which were extracted and quantified in concentration. Identification was performed by RT-qPCR. The results showed that of the 365 samples analyzed, 45 (12.3%) had detection in at least one type of sample and the majority were 27 (60%) asymptomatic. 21 (46.7%) samples were positive for SNF and saliva, while 14 (31.1%) were positive for SNF samples only and 10 (22.2%) were positive for saliva samples only. The concentration of saliva samples was 28.6 and $30.4 \pm \text{SD}$ for 7.6 and $8.38 \pm \text{SD}$ of SNF. Purity ranged from 1.81 and $0.3 \pm \text{SD}$ in saliva to 1.82 and $0.25 \pm \text{SD}$ in SNF. Using SNF samples as the gold standard of reference, the sensitivity and specificity of saliva were 60% 97%, while positive and negative predictive values were 68% and 96%, respectively. The accuracy was 93.0% and the Kappa coefficient was 0.596. In conclusion, the results obtained in the self-collection of pure saliva are similar compared to SNF samples, being viable to be used in the detection of SARS-CoV-2.

Keywords: Covid-19. SARS-CoV-2 infection. Spittle. Molecular test.

LISTA DE ABREVIATURAS

Beta-CoVs – Betacoronavírus
CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
CNS - Conselho Nacional de Saúde
CoVs - Coronavírus
CRTV - Complexo da Replicase Transcriptase Viral
Ct - Limiar de Ciclos
DP - Desvio Padrão
ECA2 - Enzima Conversora de Angiotensina 2
EPC - Equipamento de Proteção Coletivo
EPI - Equipamentos de Proteção Individual
ETS - Escola Técnica de Saúde
EUA - Estados Unidos da América
HULW-UFPB - Hospital Universitário Lauro Wanderley
IC - Controle Interno
ICTV - Comissão Internacional de Classificação de Vírus
IgA - Imunoglobulina A
IgG - Imunoglobulina G
IgM - Imunoglobulina M
LAVIMAP - Laboratório de Vigilância Molecular Aplicada
MERS-CoV - Síndrome Respiratória no Oriente Médio
mRNA - RNA Mensageiro
MS - Ministério da Saúde
ORF - Open Reading Frames
OMS - Organização Mundial da Saúde
OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde
RdRp - RNA polimerase dependente de RNA
RE - Retículo Endoplasmático
RNA - Ácido Ribonucleico
RNAv - RNA viral
RT-qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real de Transcrição Reversa
SARS-CoV - Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2 - Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

sgRNA - RNAs guias

SNF - Swabs Nasofaringes

+ ssRNA - RNA de Fita Simples Positiva

TC - Tomografia Computadorizada

TCAR - Tomografia Computadorizada de Alta Resolução

TCLE - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

TMPRSS2 - Protease Transmembrana do Tipo II

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

VPN - Valor Preditivo Negativo

VPP - Valor Preditivo Positivo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da partícula viral e do genoma do β -Coronavírus. (A) Partícula viral. (B) Genoma viral.	20
Figura 2 - SARS-CoV-2 se liga inicialmente ao receptor de ACE2. Principais proteínas envolvidas na entrada do vírus por endocitose.	22
Figura 3 - Correlação entre carga viral e infecção por SARS-CoV-2, sintomas clínicos e positividade da RT-qPCR.	25
Figura 4 - Ilustração do período de detecção de RNA viral e anticorpos em indivíduos infectados com SARS-CoV-2.	26
Figura 5 - Reconstrução de uma TC do tórax em paciente acometido de Covid-19. As áreas em branco representam o grau de comprometimento do órgão. O paciente teve 75% de comprometimento pulmonar.	27
Figura 6 - Biomarcadores usados no diagnóstico da Covid-19. ECA2 presente na saliva, atuam como receptores celulares para SARS-CoV-2.	29
Figura 7 - (a) Amostra SNF. (b) Amostra de saliva.	33
Figura 8 - Isolamento das amostras em cabine de biossegurança classe II A2 do modelo Becnarmed™.	34
Figura 9 - (a) Isolamento das amostras SNF. (b) Isolamento das amostras de saliva.	34
Figura 10 - (a) Extrator e purificador de DNA e RNA viral (MVXA-P016 e FAST) Extracta 32 Locus™. (b) Preparo das amostras e reagentes para extração.	35
Figura 11 - (a) NanoDrop Lite Spectrophotometer da Thermo Scientific™. (b) Tela de medição de amostra.	36
Figura 12 - Equipamento de DNA Workstation do modelo Locus™.	36
Figura 13 - Equipamento de RT-qPCR do modelo Quantstudio™ 3.	37
Figura 14 - Esquema teste kit Bio-Manguinhos.	38
Figura 15 - Curva de amplificação aumentada em amostras positivas e ausência em amostras negativas.	39
Figura 16 - (a) Amostra de saliva. (b) Amostra de SNF.	44

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição dos participantes por faixa etária (n = 45).....	40
Gráfico 2 - Distribuição dos participantes por gênero (n = 45)	41
Gráfico 3 - Perfil dos participantes quanto à sintomatologia (n = 45)	41
Gráfico 4 - Perfil dos participantes quanto à comorbidade (n = 45).....	41
Gráfico 5 - Distribuição em n (%) dos sintomas relatados pelos participantes sintomáticos (n =18).	42
Gráfico 6 - Distribuição de acordo com a comorbidade (n = 8).....	42
Gráfico 7 - Dispersão das amostras de acordo com a concentração da saliva.....	43
Gráfico 8 - Dispersão das amostras de acordo com a concentração do SNF.....	43
Gráfico 9 - Valores de limiar de ciclos (Ct) por RT-qPCR para gene alvo E em participantes com amostras positivas pareadas.....	45

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Permanência do vírus em diferentes superfícies.....	23
Quadro 2 - Condições de ciclo para SARS-CoV-2 em RT-qPCR modelo Quanstudio™.....	37
Quadro 3 - Resultado da análise estatística do método de amostragem de saliva (n = 45).....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros para detecção do RNA por RT-qPCR.....	38
Tabela 2 - Detecção de SARS-CoV-2 em amostras SNF e saliva (n =45).....	40
Tabela 3 - Comparação entre as concentrações e pureza de amostras de saliva e SNF.....	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1. 1. Coronavírus	18
1. 2. MERS-CoV e SARS-CoV	18
1. 3. SARS-CoV-2	19
1. 3. 1. Genoma viral de SARS-CoV-2	19
1. 4. Entrada do SARS-CoV-2 na célula por meio da ligação entre ECA2 e proteína S	20
1. 5. Meio de transmissão	22
1. 6. Tempo de permanência do vírus em superfícies	23
1. 7. Métodos profiláticos	23
1. 8. Manifestações clínicas	23
1. 9. Diagnóstico laboratorial	24
1. 9. 1. Detecção de ácidos nucleicos (RT-qPCR)	24
1. 9. 2. Detecção de anticorpos (IgA, IgM e IgG)	26
1. 9. 3. Exames por imagem (TC)	27
1. 10. Saliva como amostra biológica alternativa para detecção do SARS-CoV-2	28
2. OBJETIVOS	30
2. 1. Objetivos gerais	30
2. 2. Objetivos específicos	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3. 1. Delineamento do estudo	31
3. 2. Considerações éticas	31
3. 3. Local da pesquisa	31
3. 4. Amostra biológica	31
3. 5. Critérios de inclusão e exclusão	32
3. 6. Instrumento de pesquisa	32
3. 7. Limitações do estudo	32
3. 8. Coleta das amostras	32
3. 9. Isolamento das amostras	33
3. 10. Extração das amostras	35
3. 11. Avaliação da concentração e pureza das amostras	35
3. 12. Preparo da placa para amplificação (master mix)	36
3. 13. Método RT-qPCR para identificação do SARS-CoV-2	37

3. 14. Kit molecular utilizado para RT-qPCR	37
3. 15. Detecção dos resultados.....	38
3. 16. Análise estatística	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
APÊNDICES	58
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	58
APÊNDICE B - Termo de Compromisso do Pesquisador	60
ANEXOS	61
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP	61
ANEXO B - Ficha de Investigação de Síndrome Gripal Suspeito de Doença pelo Coronavírus 2019	65
ANEXO C – Artigo científico: Revisão narrativa de literatura Síndrome Respiratória Aguda Grave e a Covid-19 (SARS-CoV-2).....	66
ANEXO D – Capítulo de livro: Avaliação molecular da saliva como biomarcador para detecção do SARS-CoV-2.....	77

1 INTRODUÇÃO

1. 1. Coronavírus

Os coronavírus (CoVs) são vírus envelopados não segmentados, com genoma de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples positiva (+ ssRNA), variando de 60nm a 140nm de diâmetro junto com “Spikes” de 8nm a 12nm de longitude aproximadamente. Apresentam projeções semelhantes a espinhos em sua superfície dando um aspecto de coroa na visualização em microscopia eletrônica (NOBRE, et al., 2014; CESPEDDES; SOUZA, 2020). São vírus pertencentes a família Coronaviridae e a ordem Nidovirales (vírus que usa um conjunto de mRNA para replicação). A família Coronaviridae é subdividida em duas subfamílias Torovirinae e Coronavirinae que se manifestam em mamíferos e aves, causando problemas respiratórios, entéricos, hepáticos neurológicos e neurológicos de gravidade variável (RAJ, et al., 2013; ZUMLA, et al., 2016; SINGHAL, 2020; LU, et al., 2020). A subfamília dos Coronavirinae contém quatro gêneros: *alphacoronavírus* (α) e *betacoronavírus* (β) que infectam os mamíferos e os *gamacoronavírus* (γ) e *deltacoronavírus* (δ) que infectam as aves. Acredita-se que até o presente momento exista apenas sete coronavírus que causam doenças em seres humanos. Sendo que quatro deles (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1) causam sintomas leves, semelhante a um resfriado comum, e as epidemias dos demais vírus apresentam sintomas mais graves (MERS-CoV - Síndrome Respiratória no Oriente Médio, SARS-CoV - Síndrome Respiratória Aguda Grave e SARS-CoV-2) (BELOUZARD; CHU; WHITTAKER, 2009; FAM, et al., 2020; SAGREDO, et al., 2020; MOITINHO, et al., 2020; RABAAN, et al., 2020).

1. 2. MERS-CoV e SARS-CoV

Segundo os estudos de Huang et al (2020) a duas décadas atrás, o MERS-CoV e SARS-CoV causaram mais de 10.000 casos cumulativos, com taxas de mortalidade de 10% para SARS-CoV e 37% para MERS-CoV. O primeiro caso relatado da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) ocorreu no Sul da China e se propagou em escala global entre 2002 a 2003 (BARLAN, et al., 2014). Em novembro de 2002, uma epidemia anormal de pneumonia com elevada taxa de transmissão e complicações aos profissionais de saúde, ocorreu em Foshan, Guangdong, China. Em março de 2003, um novo CoV foi identificado como agente causador da SARS chamado de SARS-CoV. Após 10 anos do primeiro caso de SARS-CoV,

em setembro de 2012 na Jeddah, Arábia Saudita, um homem de 60 anos padecendo de pneumonia aguda e insuficiência renal, foi relatado como primeiro caso da Síndrome Respiratória no Oriente Médio (MERS). Inicialmente identificado como ‘Erasmuns Medical Center’ o vírus posteriormente chamado de MERS-CoV pelo consenso internacional (WIT, et al., 2016; MEYERHOLZ; LAMBERTZ; JR, 2016; FERREIRA, et al., 2020; SOTO, 2020; SAGREDO, et al., 2020; WEBER, et al., 2020).

1. 3. SARS-CoV-2

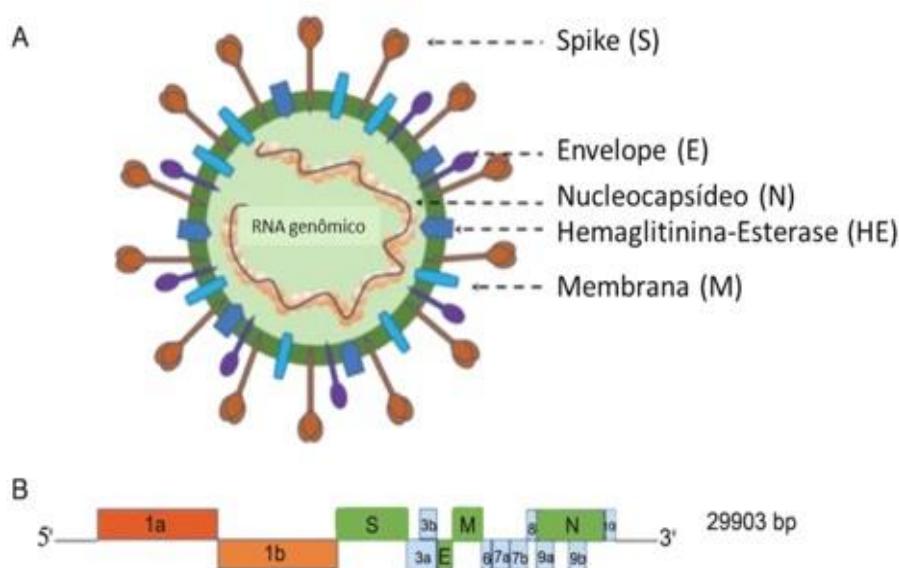
No final de dezembro de 2019, foi relatada uma sequência de casos de pneumonia de origem desconhecida em Wuhan, província de Hubei, China, com aspectos clínicos semelhantes a um vírus MERS (HUYUT, 2020; SCHMIDT, et al., 2020; MORRELL, et al., 2020; SHOJI, et al., 2020; VIEIRA; EMERY; ANDRIOLO, 2020). A análise de uma sequência de genoma em amostra do trato respiratório em cinco pacientes com pneumonia, hospitalizados desde do dia 18 de dezembro a 29 de dezembro de 2019, revelou a presença de um novo coronavírus, que foi nomeado como Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), agente causal da doença do Coronavírus – Covid-19 (coroa “co”, vírus “vi”, doença “d” e 19 indicando o ano de seu aparecimento) pela Comissão Internacional de Classificação de Vírus (ICTV) (CASTRO, et al., 2020; CHATE, et al., 2020; CESPEDES; SOUZA, 2020; PERON; NAKAYA, 2020). O vírus SARS-CoV-2 em humanos é desconhecido. Os indícios de outras zoonoses virais surgem um romance entre dois coronavírus graves SARS-CoV, derivada dos morcegos ferradura chineses (*Rhinolophus sp.*) como hospedeiro intermediário e MERS-CoV. O SARS-CoV-2 é um novo *betacoronavírus* (Beta-CoVs) que apresenta semelhança genética de 79% com SARS-CoV e de 50% com MERS-CoV (SHEHAWIA; ALOTAIBIA; ELSEEHYB, 2020; YAN, et al., 2020; SOTO, 2020; CARVALHO, et al., 2020; SAGREDO, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020).

1. 3. 1. Genoma viral de SARS-CoV-2

O genoma de SARS-CoV-2 é similar ao de CoVs e contém no mínimo dez quadros de leitura abertos *Open Reading Frames* (ORFs). Os primeiros ORFs (ORF1a/b) representam aproximadamente dois terços do RNA viral, sendo traduzidos em dois grandes poliproteínas replicase (pp1a e pp1ab) e processadas em 16 proteínas não estruturais (nsp1-nsp16), incluindo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que formam o Complexo da

Replicase Transcriptase Viral (CRTV). Esses nsps reorganizam as membranas originárias do Retículo Endoplasmático (RE) em vesículas de membrana dupla onde replicação e transcrição viral ocorrem (MENEZES; LIMA; MARTINELLO, 2020; REHMAN, et al., 2021). O outro ORFs de SARS-CoV2 em um terço do genoma codifica quatro principais proteínas estruturais que estão relacionadas com a regulação de função e estrutura viral: envelope (proteína E), membrana (proteína M), Spike (proteína S), nucleocapsídeo (proteína N) e hemaglutinina-esterase (proteína HE) como mostra na Figura 1. A proteína N contribui na formação do capsídeo e de toda a estrutura viral, a proteína S está relacionada ao processo de infecção viral e a proteína HE permite a entrada e a infecção da célula hospedeira. (KNOOPS, et al., 2008; KUMAR, et al., 2020; MASTERS, 2006; SOTO, 2020; VIEIRA; EMERY; ANDRIOLO, 2020; LEE, et al., 2020; THOMAS, 2020).

Figura 1 - Representação esquemática da partícula viral e do genoma do β -Coronavírus. (A) Partícula viral. (B) Genoma viral.



Fonte: Jin, et al. 2020; adaptado.

1. 4. Entrada do SARS-CoV-2 na célula por meio da ligação entre ECA2 e proteína S

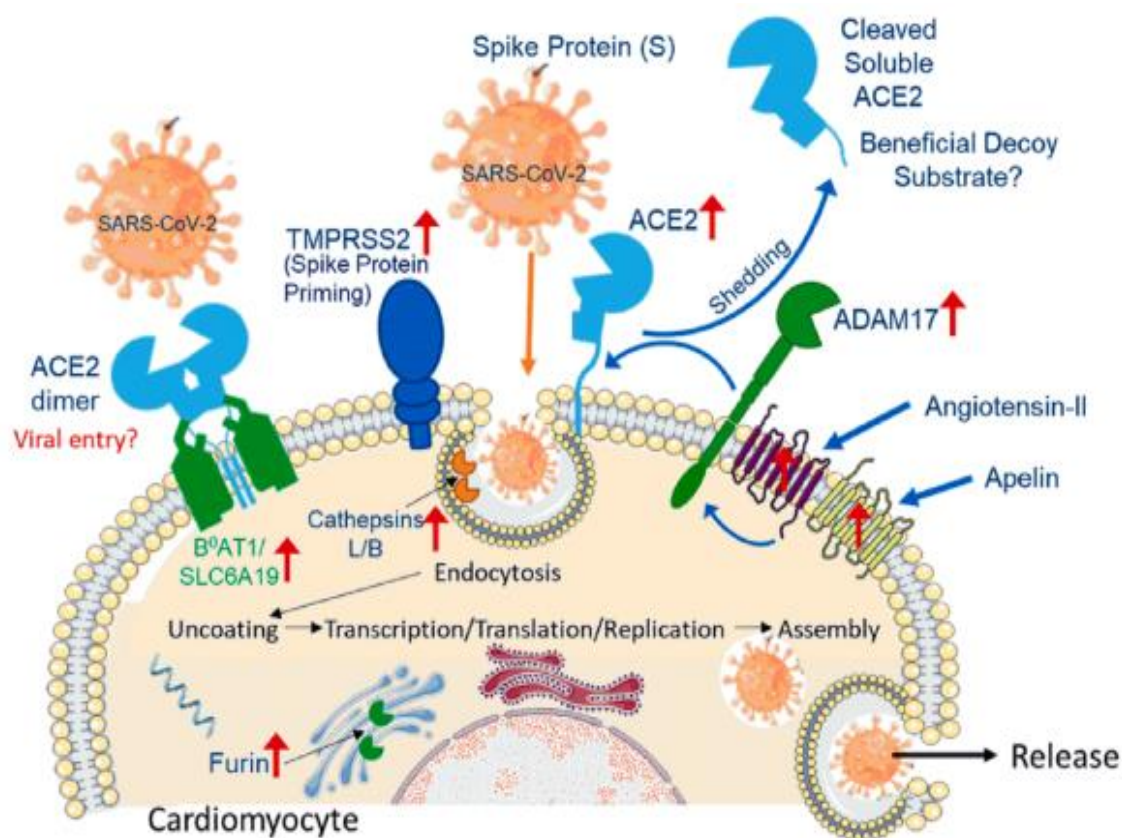
A enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) é uma proteína de membrana tipo I expressa no pulmão, coração, rim e intestino (MUTHIAH, et al., 2020). O comprimento total da ECA2 consiste em um domínio N-terminal (PD) e um domínio C-terminal que termina com uma única hélice transmembrana e um segmento intracelular (JIN, et al., 2020; LU, et al., 2020). Os níveis solúveis dessa enzima geralmente são baixos no sangue. Por isso, o receptor

de angiotensina II tipo1 (AT1), ativa a metaloprotease 17 (ADAM17) que cliva o ectodomínio da ECA2, aumentando os níveis de ECA2 solúveis (CESPEDES; SOUZA, 2020; AUN, et al., 2020; DANSER; EPSTEIN; BATLLE, 2020). A clivagem da angiotensina I para II fornece um local de ligação para proteína S do SARS-CoV que tem sido relatada como elemento chave para entrada do vírus na célula (JEFFERS, et al., 2004; RAJ, et al., 2013; SCHOLZ, et al., 2020).

A proteína de superfície S do SARS-CoV é uma glicoproteína de membrana tipo I que consiste em um domínio de ligação ao receptor de subunidade S1 N-terminal (RBD) e um domínio de subunidade S2 C-terminal que permite fusão na membrana (YAN, et al., 2020). O RBD da S1 do SARS-CoV é ativado por uma Serina Protease Transmembrana do tipo II (TMPRSS2), que se encontra na superfície da célula hospedeira (BASSENDINE, et al., 2020). Ao ser ativado, o RBD de S1 se liga ao domínio PD da ECA2 alterando o trímero de pré-fusão, ocasionando a eliminação da S1 para uma conformação pós-fusão, enquanto a S2 é responsável pela fusão da membrana permitindo que o genoma RNA viral (RNA_v) entre na célula hospedeira (JIN, et al., 2020; LU, et al., 2020; ROBINSON, et al., 2020). Isso ocorre, porque RBD de S1 sofre movimento conformacional como uma dobradiça escondendo ou expondo temporariamente os elementos da ligação ao receptor (AUN, et al., 2020). Provavelmente, o RBD da subunidade S1 do SARS-CoV-2 liga-se ao domínio PD da ECA2 com afinidade de 10 a 20 vezes maior que SARS-CoV (KUMAR, et al., 2020; YAN; XIAO; LIN, 2020; SHEHAWIA; ALOTAIBIA; ELSEEHYB, 2020.). Enquanto isso, outra protease, a catepsina L, uma protease de cisteína expressa em todos os tipos de tecidos, atua facilitando a entrada da proteína S de SARS-CoV na membrana do endossomo por meio de endocitose. A interação da TMPRSS2 e catepsina L ocorre tanto em SARS-CoV quanto em SARS-CoV-2 (GOMES, et al., 2020; FAM, et al., 2020; VIEIRA; EMERY; ANDRIOLO, 2020).

Após o vírus entra na célula, o genoma do RNA_v é liberado no citoplasma (RABAAN, et al., 2020). Uma sequência de RNA atua através de um RNA mensageiro (mRNA), onde este transcreve o gene da replicase viral por meio de ORF1a e ORF1ab, que é traduzido dando origem a pp1a e pp1ab (YANG; WANG, 2020). Em seguida, pp1a e pp1ab sofrem ação proteolítica para gerar às 16 nsps do CRTV (THOMAS, 2021). O CRTV replica e sintetiza um conjunto de RNAs guias (sgRNA) que codificam para produção das principais proteínas estruturais (S, M, E e N) e proteínas acessórias. Essas proteínas serão montadas no nível do complexo Golgi, para formar as novas partículas virais. Por fim, as partículas virais são liberadas da célula infetada, como vemos na Figura 2 (UZUNIAN, 2020; PERON; NAKAYA, 2020; JIN, et al., 2020; REHMAN, et al., 2021; CRUZ; LIMA; PEREIRA, 2021).

Figura 2 - SARS-CoV-2 se liga inicialmente ao receptor de ACE2. Principais proteínas envolvidas na entrada do vírus por endocitose.



Fonte: Robinson, et al. 2020.

1. 5. Meio de transmissão

O SARS-CoV-2 possui um grande potencial de transmissibilidade pelo contato direto com as vias aéreas superior, principalmente, através de gotículas respiratórias e pelo contato indireto por meio das mãos, objetos ou superfícies contaminadas, de forma semelhante com que outros patógenos respiratórios se espalham (KARIA, et al., 2020; FERREIRA, et al., 2020; PIERALISI, et al., 2021; SOTO, 2020; SCHMIDT, et al., 2020). O atual estudo indica uma reprodução básica do vírus, estimada em um número de 2.2, isso significa que, em média, cada pessoa infectada espalha a infecção para mais duas pessoas (MAGALHAES, et al., 2017; FAUCI; LANE; REDFIELD, 2020; SILVA, et al., 2020).

Os pacientes acometidos com SARS-CoV-2 sejam assintomáticos ou sintomáticos podem transmitir a doença, no entanto, aqueles com sintomas mais graves têm sido considerados com maior potencial de transmissão (FERREIRA, et al., 2020; MENEZES; LIMA; MARTINELLO, 2020; SANTOS; BARBOSA, 2020).

1. 6. Tempo de permanência do vírus em superfícies

O SARS-CoV-2 pode permanecer ativo e infeccioso na superfície de objetos inanimados (plástico, aço e papelão) por horas ou dias (KAMPF, et al., 2020; JIN, et al., 2020). A sua permanência é observada em um período maior tempo (72h) em plásticos e aço inoxidável do que em papelão (24h) após a sua aplicação na superfície (OLIVEIRA; LUCAS; IQUIAPAZA, 2020; XAVIER, et al., 2020), conforme o Quadro 1.

Quadro 1 - Permanência do vírus em diferentes superfícies.

Superfície	Tempo de permanência do vírus
Aço Inoxidável 72 horas	72 horas
Plástico 72 horas	72 horas
Papelão 24 horas	24 horas
Cobre 4 horas	4 horas
Partículas aerossolizadas	40 min a 2 h e 30 min

Fonte: Jin et al. 2020; adaptado.

1.7. Métodos profiláticos

Devido ao potencial de sobrevivência do SARS-CoV-2 no ambiente por vários dias, os objetos contaminados pelo vírus devem ser limpos antes de serem utilizados, com produtos que contenham agentes antimicrobianos (OLIVEIRA; LUCAS; IQUIAPAZA, 2020).

Por serem as mãos o principal veículo de contaminação cruzada do vírus, a prática da higienização das mãos pela ação de fricção com água e sabão diminui a ocorrência das infecções, sendo considerada uma medida profilática simples, de baixo custo e alta efetividade (OLIVEIRA, et al., 2016; OLIVEIRA, et al., 2020; SOARES, et al., 2021).

O uso dos raios ultravioletas, altas temperaturas acima de 56°C em um período de 30 minutos e produtos desinfetantes como éter dietílico, etanol 75%, cloro, ácido peracético e clorofórmio são considerados suficientes para inativar o vírus (YANG; WANG, 2020; KAMPF, et al., 2020; JIN, et al., 2020; OLIVEIRA; LUCAS; IQUIAPAZA, 2020; XAVIER, et al., 2020).

1. 8. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas para infecções confirmadas pelo SARS-CoV-2 se apresentam clinicamente com ou sem sintomas. Há relatos de pessoas com sintomas leves e outros com sintomas mais graves, chegando a óbito, em algumas situações. Quando presentes, os mais comuns são febre $\geq 37,8$ °C (87,9%), cansaço (38,1%) e tosse seca (67,7%), (MEYERHOLZ; LAMBERTZ; JR, 2016; CHATE, et al., 2020; MORRELL, et al., 2020). Alguns pacientes podem ter dor de cabeça (13,6%), dor no corpo (14,8%), congestão nasais (4,8%), dor de garganta (13,9%), diarreia (3,7%), produção de escarro (33,4%), perda de olfato (30,0%), dificuldade em respirar (18,6%), calafrios (11,4%) e vômitos (5%). Esses sintomas geralmente são leves e começam gradualmente podendo se recuperar em 1 a 2 semanas (ALMEIDA, et al., 2020; LEE, et al., 2020; GOUVEIA; KANAI, 2020).

Uma em cada seis pessoas com Covid-19 fica gravemente doente e desenvolve dificuldade respiratória. As lesões graves não incluem apenas lesões pulmonares, mas também lesões cardíacas e renal, independente do paciente ter histórico de hipertensão ou não (BASSENDINE, et al., 2020). As pessoas idosas e as que têm outras condições de saúde como pressão alta, problemas cardíacos ou diabetes, têm maior probabilidade de desenvolver doenças graves. A maioria das pessoas (cerca de 80%) se recupera da doença sem precisar de tratamento especial (SINGHAL, 2020; HUANG, et al., 2020).

1. 9. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico para SARS-CoV-2 consiste principalmente alguns exames auxiliares, como detecção de ácidos nucleicos (RT-qPCR), detecção de anticorpos (IgA, IgM e IgG) e exames por imagem (TC) (CASTRO, et al., 2020; RIVAS, et al., 2020).

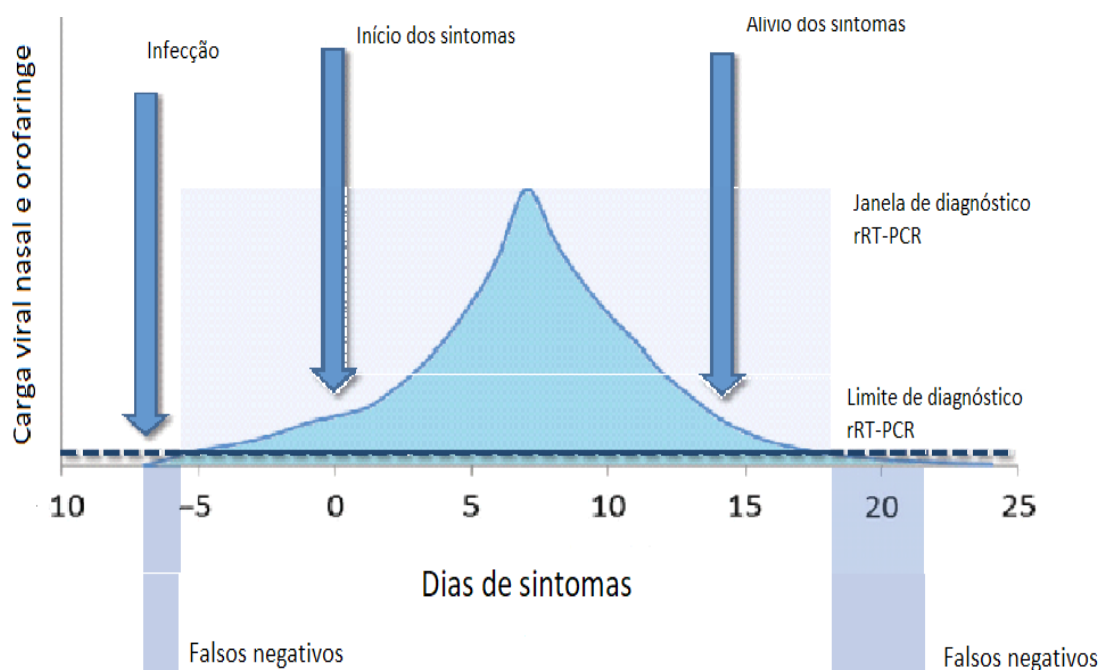
1. 9. 1. Detecção de ácidos nucleicos (RT-qPCR)

O teste de detecção de ácido nucleico viral é a principal técnica para diagnóstico laboratorial do novo CoVs. A reação em cadeia da polimerase em tempo real de transcrição reversa (RT-qPCR) apresenta sensibilidade de 80% e especificidade de aproximadamente 99% para SARS-CoV-2 quando é realizada entre 2 e 5 dias do início dos sintomas (Figura 3). Esse método fornece informações importantes nos estágios iniciais da infecção, por meio da detecção do RNAv antes da formação dos anticorpos (CIPITELLI, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020; FLORIANO, et al., 2020; VILLA, et al., 2021).

A RT-qPCR baseia-se na amplificação de ácidos nucleicos viral, através do uso de fluoróforos, que se ligam ao material genético amplificado, emitindo fluorescência. O sinal de fluorescência emitido é equivalente à quantidade de fragmentos amplificados (TSUJIMOTOA, et al., 2021). A curva de amplificação para amostras positivas apresenta fluorescência relativamente aumentada. Nenhum aumento na fluorescência é observado quando a amostra é negativa. O limiar de ciclos (Ct, número de ciclos necessários para o sinal fluorescente) representa o número do ciclo no qual a curva de amplificação cruza a linha limite e é um indicador da quantidade do gene alvo amplificado. Quanto mais baixo for o valor Ct, maior será a quantidade de gene alvo (AZZI, et al. 2021; SOUZA; BRÍGIDO; MARANHÃO, 2016; CAMPOS, et al., 2021).

De acordo com protocolos internacionais desenvolvidos pelo Instituto Charité/Berlim e recomendado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS) utilizada pela maioria dos países, os genes para identificação, incluem: N, E, S e RdRP. Esses genes atuam como marcadores genéticos para a confirmação laboratorial da Covid-19. Atualmente, os marcadores genéticos E e RdRP são utilizados para a detecção do SARS-CoV-2 segundo os protocolos Charité. O Ministério da Saúde (MS) prioriza o gene E como primeiro marcador de escolha, por apresentar maior sensibilidade em relação ao gene RdRP para RT-qPCR (CIPITELLI, et al., 2020; JELINEK, et al., 2021).

Figura 3 - Correlação entre carga viral e infecção por SARS-CoV-2, sintomas clínicos e positividade da RT-qPCR.



Fonte: Floriano, et al. 2020.

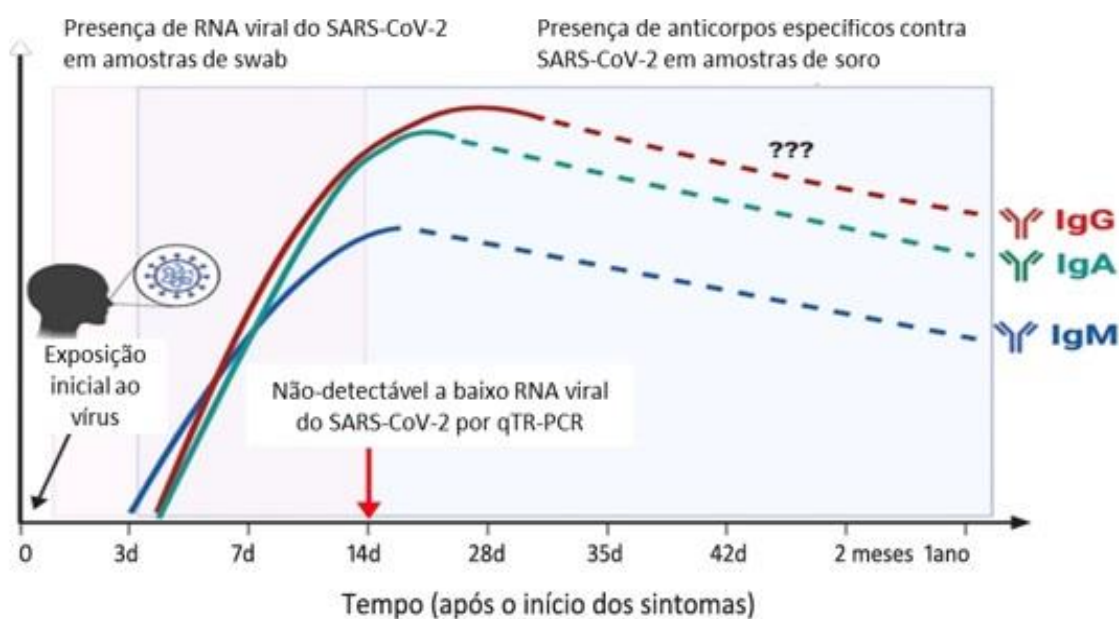
1. 9. 2. Detecção de anticorpos (IgA, IgM e IgG)

Os exames sorológicos são realizados a partir do 7º dia de sintomas e podem fornecer resultados em um período de tempo relativamente mais curto. Além disso, o custo é menor em comparação com RT-qPCR por coleta SNF (MURCIA1; MORENO; FALLA, 2021). Esse tipo de exame é indicado para verificar a presença de anticorpos isolados ou combinados no sangue, a fim de saber se o organismo apresentou resposta imunológica em função da exposição ao antígeno ou vacina (XAVIER, et al., 2020; LEE, et al., 2020).

Os ensaios sorológicos para SARS-CoV-2 são realizados através de anticorpos das amostras do soro ou plasma dos pacientes, visando a proteína S, que dentre todas as proteínas virais é a mais exposta, e a proteína N, expressa em maior quantidade durante o período de infecção. (IBRAHIM; GHRAHMH; KILANY, 2021; JIN, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020).

Os níveis de imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) aumentam gradativamente junto com as fases de infecção, com IgM sendo detectado inicialmente ao 3º dia após a infecção, atingindo o seu pico entre 2 a 3 semanas e o IgA é (IgG) específico para SARS-CoV-2 sendo detectável ao 4º dia, atingindo seu pico após 17º dia, como mostra a Figura 4. O IgM também pode permanecer presente no soro após 1 mês pico (RODRIGUES; DIAS, 2019; LEE, et al., 2020; YANG; WANG, 2020).

Figura 4 - Ilustração do período de detecção de RNA viral e anticorpos em indivíduos infectados com SARS-CoV-2.



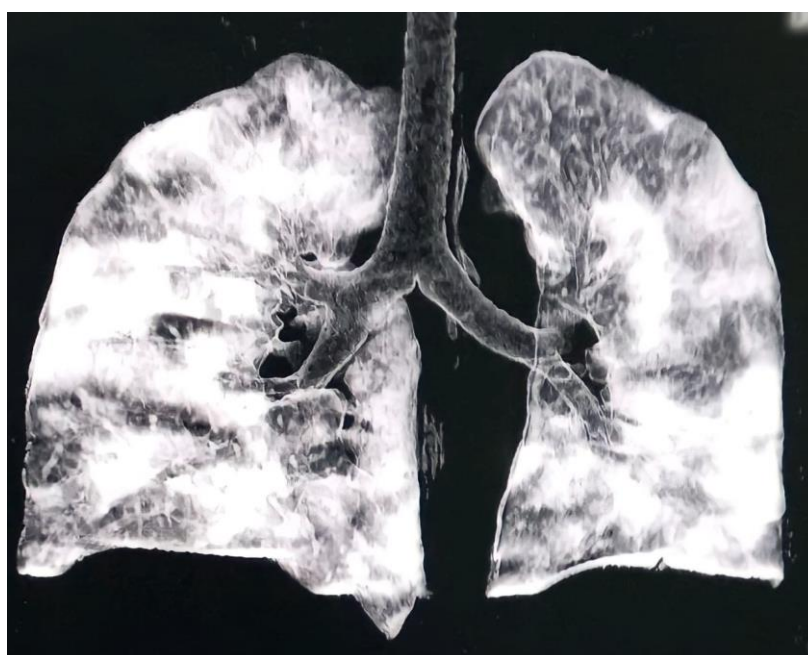
Fonte: Lee, et al. 2020.

1. 9. 3. Exames por imagem (TC)

A Tomografia Computadorizada (TC) é uma ferramenta importante para o diagnóstico da Covid-19 na prática clínica. O exame se torna mais sensível para indivíduos com alta suspeita clínica de infecção por SARS-CoV-2. Uma combinação de testes repetidos de RT-qPCR e Tomografia Computadorizada de Alta Resolução (TCAR) do tórax podem ser essenciais para diagnóstico precoce e a avaliação da gravidade da doença (ADENIJI, 2020; JIN; XU; YAUN, 2020; CHATE, et al., 2020).

Em alguns estudos, as imagens de TC de tórax de pacientes infectados com SARS-CoV-2, a tomografia computadorizada apresentou um ótimo valor diagnóstico clínico para Covid-19, especialmente na área de alta prevalência de infecções por SARS-CoV-2. Entretanto, as tomografias também apresentam algumas deficiências, como por exemplo, falso-negativo em estágio inicial da doença. Nesse sentido, entende-se que a infecção assintomática por SARS-CoV-2 é possível e pode ser assintomático nos estágios iniciais, mesmo que o RNAv seja detectado pela triagem de RT-qPCR, descartando os casos iniciais de Covid-19 por TC. (LI, et al., 2020; SHOJI, et al., 2020; ADENIJI, 2020; CESPEDES; SOUZA, 2020). A Figura 5 mostra o grau de comprometimento pulmonar, através de uma TC do tórax.

Figura 5 - Reconstrução de uma TC do tórax em paciente acometido de Covid-19. As áreas em branco representam o grau de comprometimento do órgão. O paciente apresentou 75% de comprometimento pulmonar.



Fonte: Disponibilizada por Ultra Diagnóstico por Imagem, 2020.

1. 10. Saliva como amostra biológica alternativa para detecção do SARS-CoV-2

Na atual pandemia, os testes para a Covid-19 podem ser avaliados através de algumas amostras biológicas incluindo plasma, soro, urina e saliva. O Ministério da Saúde prioriza o exame RT-qPCR através das coletas Swabs nasofaríngeas (SNF) como “padrão ouro” para detecção da SARS-CoV-2 (ADENIJI, 2020; JIN; XU; YAUN, 2020). Esse método de coleta, além de doloroso e invasivo, causa pequenas lesões como sangramento e ulceração na camada da mucosa, o que pode reduzir a falta de consentimento dos pacientes para a realização do teste e aumentar os riscos de infecção para os profissionais de saúde, devido ao seu potencial de induzir os pacientes a espirrar e tossir, expelindo partículas virais (TELES, et al., 2020; Xu, et al., 2020; VAZ, et al., 2020; CAMPOS, et al., 2021).

Atualmente, a saliva desempenha um papel importante na detecção de doença viral, bacteriana ou sistêmica. Ela possui informações a respeito dos biomarcadores salivares, como: uréia, imunoglobulinas, glicose, cortisol, fosfatos, proteínas, citocinas, quimiocinas, entre outros. Esses biomarcadores ajudam na identificação de câncer bucal, diabetes, câncer de mama, câncer de pulmão e outras enfermidades (FERNANDES, et al., 2020).

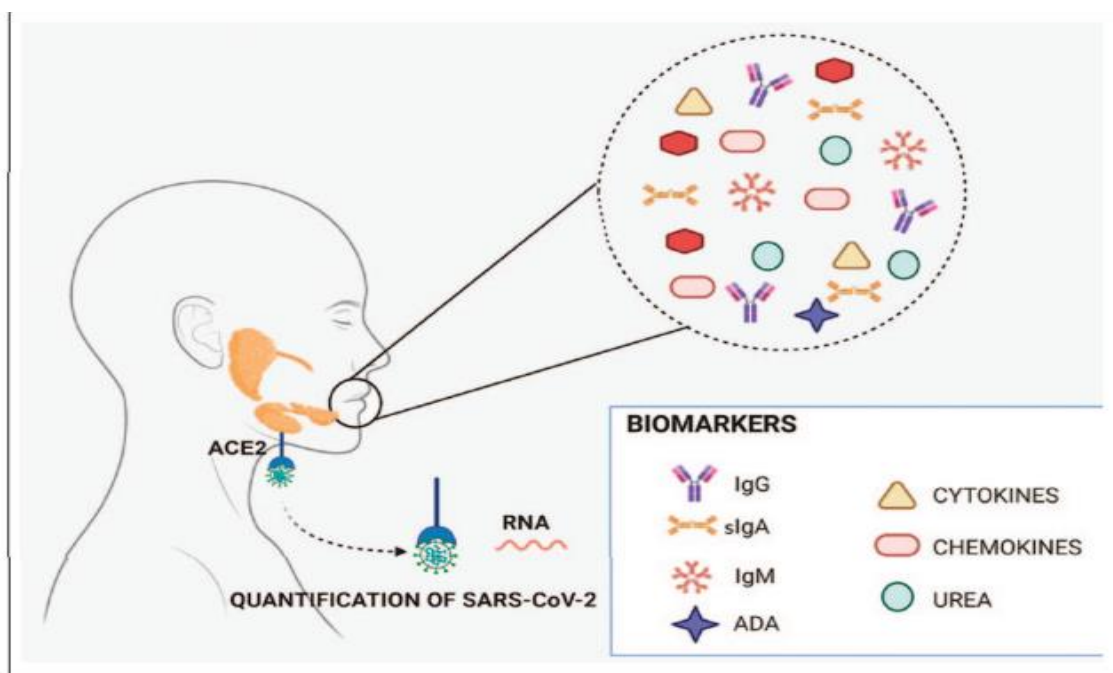
A saliva é uma mistura heterogênea que contém fisiologicamente células epiteliais orais descamadas e microrganismos, podendo conter sangue, secreções respiratórias, ácido gástrico do refluxo e resíduos alimentares, em ocasiões patológicas, sendo composta por 99% de água e 1% de proteínas (principalmente amilase) e mucina com a finalidade de digerir, provar, tamponar, equilibrar a remineralização e anti-microrganismos. A secreção da saliva ocorre diretamente na cavidade oral pelas glândulas salivares principais e 10% das glândulas salivares menores com pH entre 6 e 7 (CARVALHO, et al., 2020; Xu, et al., 2020).

O uso da saliva como um tipo de e modelo alternativo para a triagem epidemiológica parece ser promissor, pois o RNAv de SARS-CoV-2 está presente na saliva com carga e sensibilidade comparáveis ao encontrado em células da mucosa nasal por SNF (AZZI, et al., 2021; TELES, et al., 2020).

Além dos pulmões, os tecidos orais (glândulas salivares) podem ser invadidos diretamente devido à alta expressão do receptor ECA2 nas células epiteliais presente na saliva. A ECA2 atua como receptores celulares para o SARS-CoV-2 entrar na célula, semelhante ao SARS-CoV (Figura 6). O vírus se liga inicialmente a esses receptores para posteriormente colonizar o trato respiratório. Embora o principal alvo sejam as células pulmonares, os dutos das glândulas salivares também são comprometidos, causando a produção de saliva contaminada. Neste sentido, a saliva é mais facilmente infectada, uma vez

que atuando como um hospedeiro para SARS-CoV-2 (LIU, et al., 2011; THOMAS, 2020; FEI, et al., 2020; PIERALISI, et al., 2021).

Figura 6 - Biomarcadores usados no diagnóstico da Covid-19. ECA2 presente na saliva, atuam como receptores celulares para SARS-CoV-2.



Fonte: Fernandes, et al. 2020.

A aprovação dos Estados Unidos da América (EUA) de coleta amostras baseadas em saliva despertaram interesse em alternativas metodológicas que sejam mais seguras e simples. Estudos mostram que o SARS-CoV-2 pode ser facilmente detectado na saliva, embora os dados sobre a presença do vírus em saliva sejam limitados, todavia, o valor do diagnóstico das amostras de saliva para o exame de ácido nucleico da SARS-CoV-2 pode ser promissor, reduzindo assim o risco de transmissão nosocomial (AZZI, et al., 2021; RIVAS, et al., 2020; SANTOS; BARBOSA, 2020).

Diante do exposto, a saliva representaria um tipo prático de amostra não invasiva, eficiência, viável, seguro e de baixo custo para o diagnóstico dessa morbidade, onde o uso desse tipo de amostra eliminará o tempo de espera para a coleta, além da redução ao risco de transmissão nosocomial da SARS-CoV-2, sobretudo em situações nas quais as coletas de amostras nasofaríngeas podem ser contraindicadas.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a eficiência molecular da saliva como meio de detecção do SARS-CoV-2 em profissionais de saúde e pacientes do circuito cirurgico do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW-UFPB).

2.2. Objetivos específicos

- Utilizar a saliva para extração de RNA por RT-qPCR para detecção molecular do SARS-CoV-2 em comparação com amostras coletadas a partir de Swab nasofaringes;
- Quantificar e avaliar a pureza e concentração das amostras extraídas;
- Determinar a sensibilidade da saliva como método de detecção molecular do SARS-CoV-2.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3. 1. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo clínico-laboratorial, observacional e transversal, baseado em dados quantitativos, com análise estatística e procedimento comparativo e descritivo.

3. 2. Considerações éticas

O estudo foi realizado respeitando os princípios que regem a bioética em pesquisas com seres humanos, com ênfase à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Brasil pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob o protocolo N° CAAE - 40402820.4.0000.5188. Fundamentada nos principais documentos internacionais que provieram de declarações e diretrizes sobre pesquisas envolvendo seres humanos, seja ela individual ou coletiva, em sua totalidade ou partes, incluindo o manejo de informações ou materiais (TEIXEIRA, R. S. et al., 2019).

Foi ressaltado aos participantes que todos os seus direitos ficaram em sigilo, através da garantia de liberdade de recusa a participação ou desistência de seu consentimento durante o desenvolvimento da pesquisa, assim como a confidencialidade das informações, riscos, benefícios e o cumprimento ao princípio da não maleficência.

Em relação aos riscos, pode ocorrer contaminação, por isso a coleta foi realizada por um profissional do serviço devidamente treinado e vacinado. Esse risco foi minimizado ao ser reforçado os princípios de biossegurança do ambiente que o mesmo já realiza, com utilização de Equipamento de Proteção Individual (EPI) e Equipamento de Proteção Coletivo (EPC) de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde.

3. 3. Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Vigilância Molecular Aplicada (LAVIMAP) da Escola Técnica de Saúde (ETS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW-UFPB).

3. 4. Amostra biológica

As amostras foram secreções nasofaríngeas e salivas coletadas em pacientes que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos no HULW-UFPB grupo (G1) e profissionais de saúde do Hospital expostos às infecções pela Covid-19 grupo (G2).

3. 5. Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos na pesquisa indivíduos internados no hospital que iriam realizar algum procedimento cirúrgico e profissionais de saúde que prestaram assistência nessa unidade de saúde.

Foram excluídos da pesquisa indivíduos que apresentarem fichas de notificação incompletas, amostras sem identificação, amostras com o volume insuficiente e amostras acondicionadas de maneira inadequada.

3. 6. Instrumento de pesquisa

Foi empregada a ficha de investigação de síndrome gripal suspeito de doença pelo coronavírus 2019 (ANEXO B) para obtenção dos dados dos pacientes e dos profissionais de saúde com o objetivo de adquirir informações referentes ao gênero, idade, fatores de risco, sintomatologia, morbidades pré-existente, entre outras, após assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

3. 7. Limitações do estudo

Dentre as limitações do estudo, destaca-se o fato das amostras SNF e saliva serem coletadas nos serviços, onde as mesmas podem sofrer modificação na forma de coletar e alteração durante seu acondicionamento, o qual pode influenciar no resultado final do exame, principalmente em amostras com baixa carga viral. É importante lembrar, que antes do início do estudo, o pesquisador e os demais indivíduos envolvidos na pesquisa, realizaram um treinamento em relação a coleta, transporte e armazenamento das amostras até análise final.

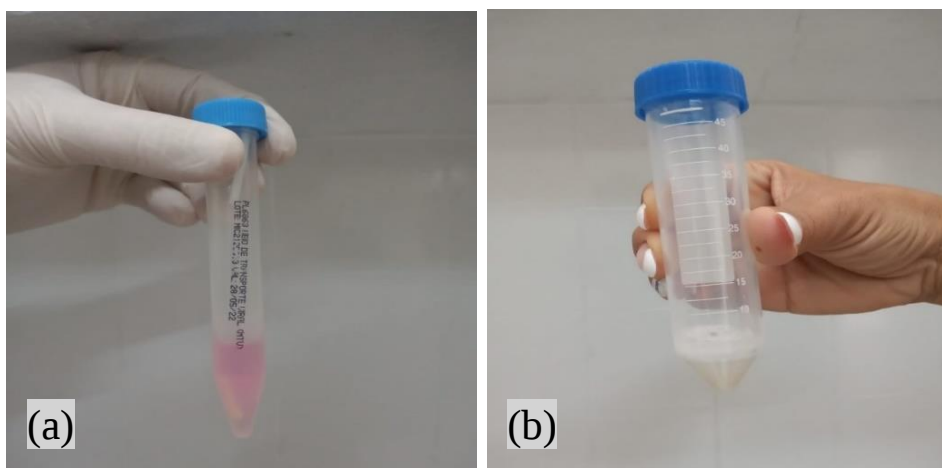
3. 8. Coleta das amostras

As amostras de secreções nasofaríngeas foram coletadas no período de 01/08 à 30/11/2021 pelos profissionais da enfermagem do HULW-UFPB devidamente treinados com a

utilização de Swabs (Swab Rayon). Inicialmente, os profissionais responsáveis pela coleta, solicitaram que os indivíduos posicionassem a cabeça para trás com objetivo de facilitar a entrada do Swab. O Swab foi inserido suavemente com rotação na cavidade nasal (cerca de 5 cm) dos participantes até encontrar parede posterior da nasofaringe. O procedimento foi realizado nas duas narinas. Em seguida, o Swab já com as células da mucosa nasal, foi removido das narinas, é cuidadosamente introduzido em um tubo cônico de 15 mL contendo 3mL de meio de transporte viral.

As amostras de saliva foram obtidas após a coleta SNF, pelos próprios participantes, sem supervisão profissional, a menos que os participantes estivessem intubados ou de outra forma incapaz de coletar sua própria amostra. Antes da coleta, os participantes foram orientados a juntar salivar por 30 segundos e, em seguida, cuspir suavemente em um tubo falcon de 50 mL fechado, estéril e sem nenhum meio de transporte até completa 2 mL de amostra de saliva. Por fim, o recipiente foi fechado e higienizado na sua parte externa com álcool 70%. No total, foram coletas 365 amostras SNF e saliva. Após a coleta, ambas as amostras foram armazenadas em um caixa térmica a 4 °C e encaminhadas para LAVIMAP. A Figura 7 mostra os recipientes de coletas utilizados nas amostras SNF e saliva.

Figura 7 – (a) Amostra SNF. (b) Amostra de saliva.



Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 9. Isolamento das amostras

O isolamento de ambas as amostras foi realizado em uma sala de pressão negativa, utilizando uma cabine de biossegurança classe II A2 do modelo Becnarmed™ (Figura 8). Inicialmente, o Swab contendo secreções nasofaríngeas foi agitado em vortex para liberação

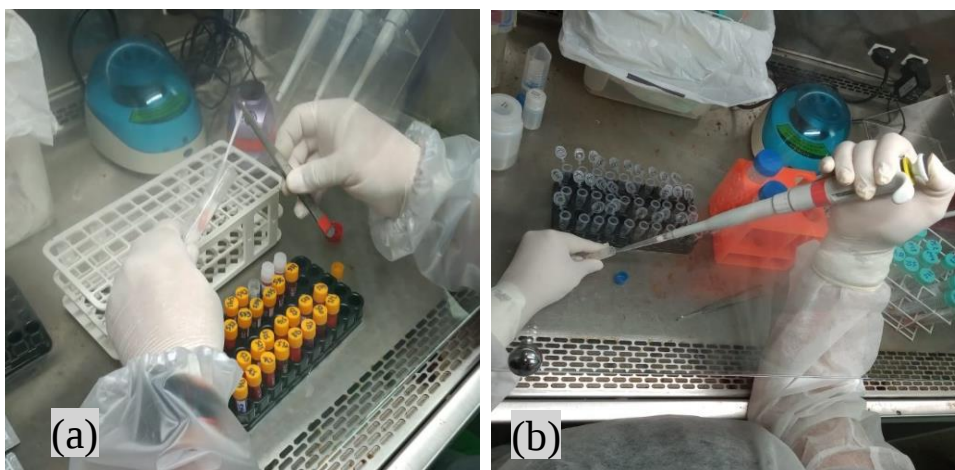
das células no meio e removido cuidadosamente pela parede do tubo falcon 3 mL em giros, com o objetivo de preservar os componentes das amostras. Por fim, as amostras SNF foram transferidas do tubo cônico de 15 mL para um criotubo 2 mL de forma manual. As amostras de saliva foram transferidas do tubo falcon 50 mL para um criotubo 2 mL utilizando uma micropipeta monocal 1.000 μ L de volume variável. O motivo da utilização da micropipeta de escala tão alta foi para evitar a aderência da saliva na ponteira pela alta viscosidade de algumas amostras salivares. A Figura 9 mostra o processo de isolamento de ambas às amostras SNF e saliva.

Figura 8 – Isolamento das amostras em cabine de biossegurança classe II A2 do modelo Becnarmed™.



Fonte: Próprio autor, 2022.

Figura 9 – (a) Isolamento das amostras SNF. (b) Isolamento das amostras de saliva.



Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 10. Extração das amostras

A extração das amostras SNF e saliva foram realizadas utilizando kits de extração RNA e DNA viral (MVXA-P016FAST) Loccus™. Em uma placa de 96 poços fundos (*deepwell*), foram adicionados em cada poço 5 µL de Proteinase K, 10 µL do controle interno (IC) e 100 µL de amostras SNF. As amostras de saliva foram adicionadas em outra placa contendo a mesma quantidade de amostra, Proteinase K e controle interno. Em seguida, as placas foram inseridas no extrator e purificador de DNA e RNA viral (MVXA-P016 e FAST) Extracta 32 Loccus™ por 27mn (Figura 10). O processo de extração Loccus envolve quatro etapas: lise da amostra, ligação ao ácido nucleico, lavagem e eluição. Todas as etapas de extração foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante por aproximadamente 1h. Ao final das etapas, as placas contendo os ácidos nucleicos purificados foram submetidas a testes de concentração e purificação.

Figura 10 – (a) Extrator e purificador de DNA e RNA viral (MVXA-P016 e FAST) Extracta 32 Loccus™. (b) Preparo das amostras e reagentes para extração.



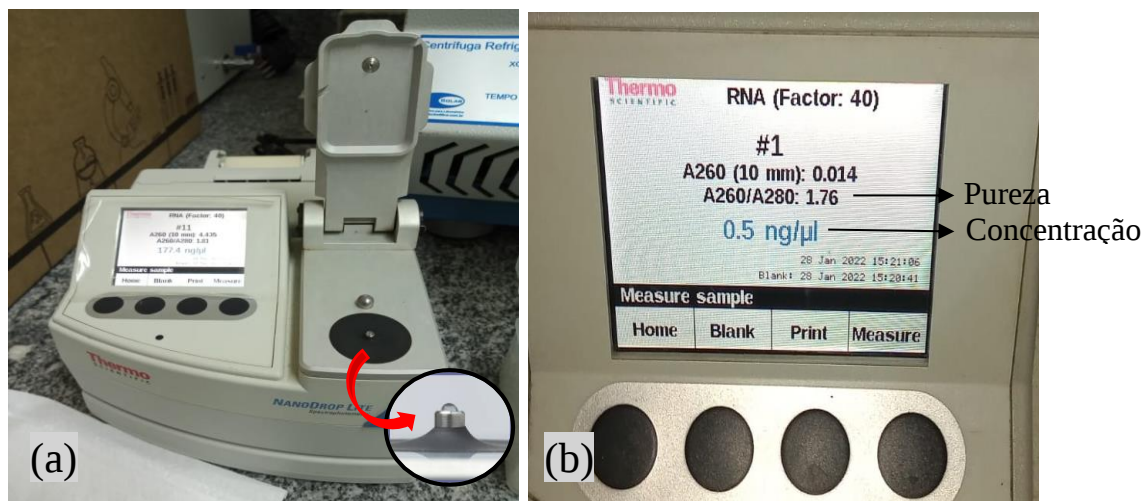
Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 11. Avaliação da concentração e pureza das amostras

As amostras extraídas foram quantificadas no equipamento NanoDrop Lite Spectrophotometer da Thermo Scientific™ (Figura 11), a fim de averiguar a concentração do RNA usando a medição A260 nm e o grau de pureza na proporção A260/A280. No aparelho foi adicionado 1 µL do RNA purificado das amostras SNF e saliva. Os valores entre 1,8 e 2,2

indicam pureza adequada no processo de extração das amostras, enquanto valores inferiores a 1,8 podem significar presença de proteínas ou outros contaminantes.

Figura 11 – (a) NanoDrop Lite Spectrophotometer da Thermo Scientific™. (b) Tela de medição de amostra.

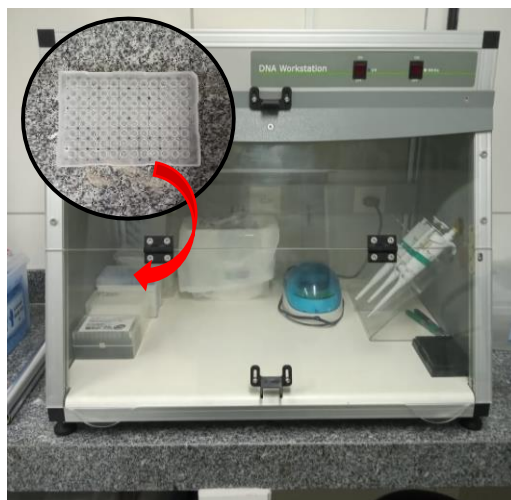


Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 12. Preparo da placa para amplificação (master mix)

O preparo do master mix foi realizado em equipamento de DNA Workstation da Locus™ (Figura 12) utilizando o kit de detecção Bio-Manguinhos™. Em uma placa de 96 poços, foi adicionado em cada poço 7,8 μL de Mistura de PCR (água livre de RNase, tampão, enzima e dntp), 2,2 μL de Mix E/ RP (primers e sonda) e 5,0 μL de RNAv (SARS-CoV-2).

Figura 12 - Equipamento de DNA Workstation do modelo Locus™.



Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 13. Método RT-qPCR para identificação do SARS-CoV-2

A identificação do SARS-CoV-2 foi realizada em um equipamento de RT-qPCR do modelo Quantstudio™ 3 (Thermo Scientific™, Waltham, MA, EUA) (Figura 13). Na detecção foram utilizadas amostras controle positivas do respectivo gene em plasmídeo sintético. As condições dos ciclos foram determinadas segundo o Quadro 2.

Quadro 2. Condições de ciclo para SARS-CoV-2 em RT-qPCR modelo Quantstudio™.

Passos	Ciclos	Temperatura	Tempo
Transcrição reversa	1	45°C	15 min
Inativação da transcriptase reversa e atividade da DNA polimerase	1	95°C	02 min
Desnaturação	40	95°C	15 seg
Extensão	40	58°C	30 seg

Fonte: Cipitelli, et al. 2020, com modificação.

Figura 13 - Equipamento de RT-qPCR do modelo Quantstudio™ 3.



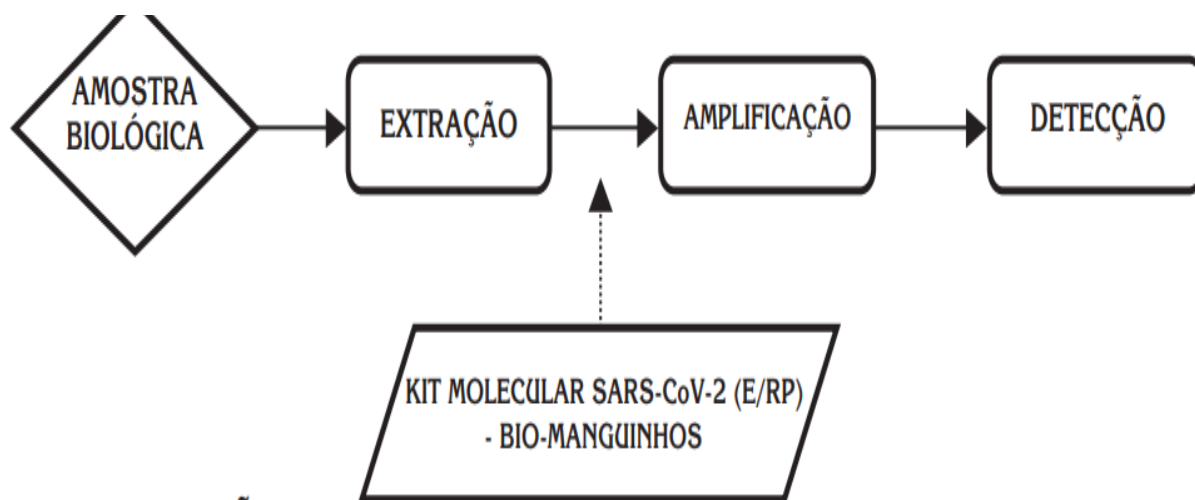
Fonte: Próprio autor, 2022.

3. 14. Kit molecular utilizado para RT-qPCR

Para a análise das amostras utilizou-se o kit molecular para SARS-CoV-2 da Bio-Manguinhos™, que se baseia na tecnologia de RT-qPCR e é indicado para processamento de

amostras clínicas, previamente submetidas a etapa de extração de ácido nucleicos, conforme o esquema da Figura 14.

Figura 14 – Esquema teste kit Bio-Manguinhos.



Fonte: Kit Bio-Manguinhos.

3. 15. Detecção dos resultados

Para detecção dos resultados utilizou-se os critérios de aceitação do controle positivo e negativo, de acordo com valor Ct das amostras indicado pelo fabricante conforme a Tabela 1. O valor Ct corresponde ao número de ciclos da RT-qPCR necessário para o início da amplificação, ou seja, o momento em que a fluorescência emitida ultrapassa a linha do limite. Dessa forma, o valor Ct tem relação inversamente proporcional à qualidade de sequência alvo presente na amostra.

Tabela 1 – Parâmetros para detecção do RNA por RT-qPCR.

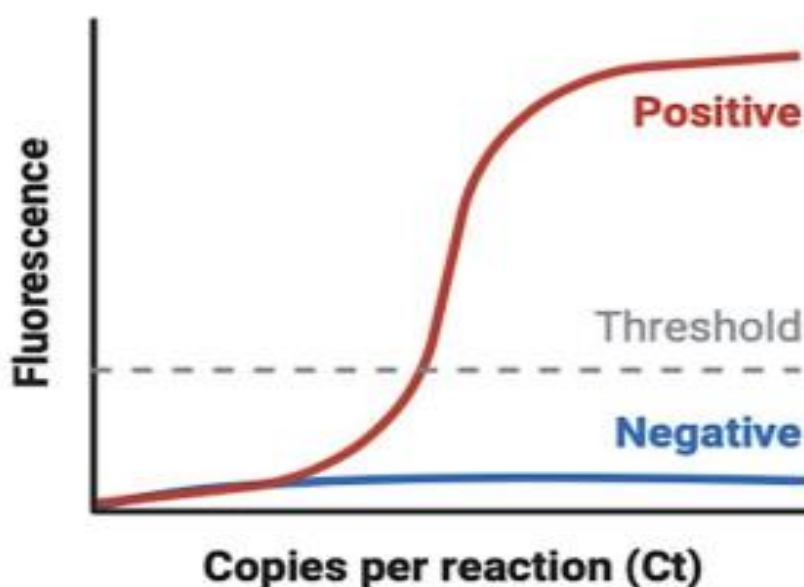
CONTROLE	CT	RESULTADOS
NEGATIVO	Não detectável	Rotina válida
	$Ct \leq 40$	Rotina inválida Repetir o teste, possível contaminação.
POSITIVO	$Ct \leq 37$	Rotina válida
	$Ct > 37$	Rotina inválida Repetir o teste, possível perda de amostra e/ ou problema durante a preparação das misturas de RT-PCR

Fonte: Kit Bio-Manguinhos.

Utilizando os protocolos do kit Bio-Manguinhos, um valor Ct menor ou igual a 37, teste detectável (positivo). Valor Ct maior que 37, teste não detectável (negativo).

Para verificação do controle o resultado por RT-qPCR é indicado na presença da curva de amplificação em amostras positivas, que apresenta a tendência de fluorescência relativamente aumentada, diferentemente de ausência quando encontrada em amostras negativa (Figura 15).

Figura 15 – Curva de amplificação aumentada em amostras positivas e ausência em amostras negativas.



Fonte: Azzi, et al. 2021, com modificação.

3. 16. Análise estatística

Foi utilizado o Microsoft Excel 2016 para todas as análises estatísticas. O número de ciclo do ensaio por RT-qPCR de acordo com os métodos de amostragem foi comparado usando o teste t de amostra pareada. A concordância entre os dois métodos foi avaliada com o teste Kappa (0-0,2 = pobre, 0,21-0,4 = regular, 0,41-0,6 = moderado, 0,61-0,8 = substancial, 0,81-1 = quase perfeito), onde 1 é a concordância perfeita.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 365 participantes distribuídos em dois grupos, a saber pacientes do circuito cirúrgico (G1) que posteriormente foram submetidos a procedimentos cirúrgico e profissionais de saúde (G2) expostos às infecções pela Covid-19, forneceram amostras Swab nasofaríngeas e saliva para análise.

As amostras chegaram ao laboratório (LAVIMAP) no intervalo de uma hora após a coleta, sendo transportada em caixa isotérmica. O volume de saliva produzido pela maioria dos participantes foi de 2 mL. Dos 365 participantes, 45 (12,3%) apresentaram detecção viral para SARS-CoV-2 por RT-qPCR em gene alvo E, sendo 21 (46,7%) em ambas as amostras SNF e saliva, 14 (31,1%) apenas em SNF e 10 (22,2%) apenas em saliva, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Detecção de SARS-CoV-2 em amostras SNF e saliva (n =45).

Amostras	DETECÇÃO VIRAL EM GENE ALVO E		
	SNF, n (%)	Saliva, n (%)	SNF + Saliva, n (%)
G1	4 (28,6%)	4 (40%)	10 (47,6%)
G2	10 (71,4%)	6 (60,0%)	11 (52,4%)
Total	14 (100%)	10 (100%)	21 (100%)

No que concerne a faixa etária, o estudo aponta que a idade média mais acometida entre os 45 participantes com detecção viral para SARS-CoV-2 foi a quarta década de vida (42 anos), sendo 13 (29%) do gênero masculino e 32 (71%) do gênero feminino, conforme os Gráficos 1 e 2.

Gráfico 1 – Distribuição dos participantes por faixa etária (n = 45).

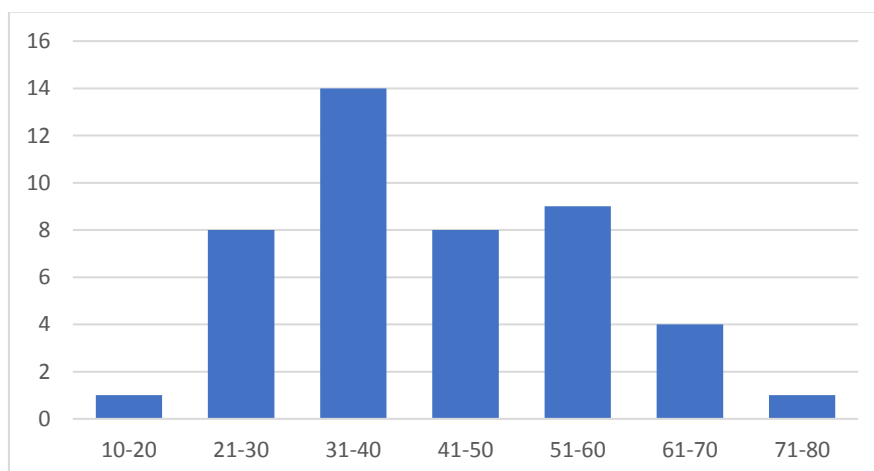
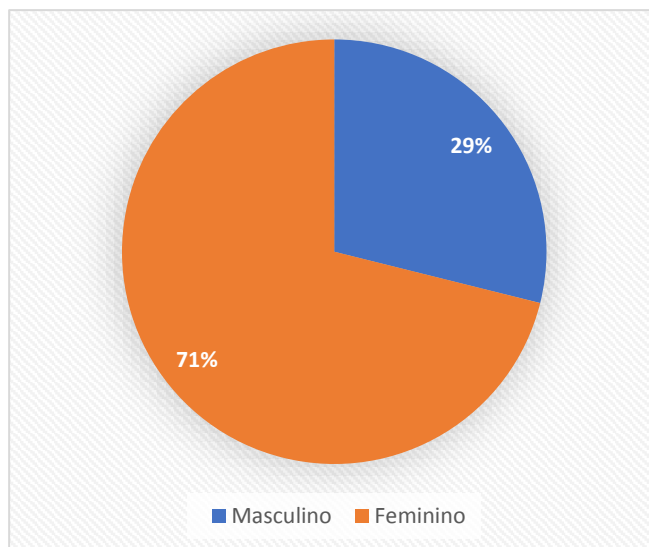
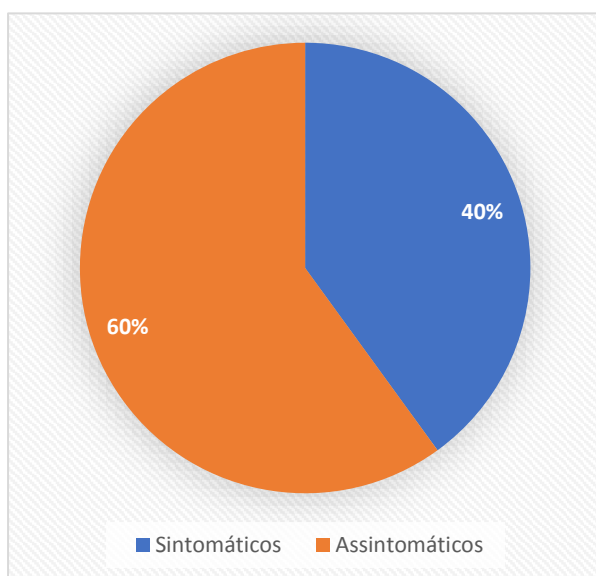
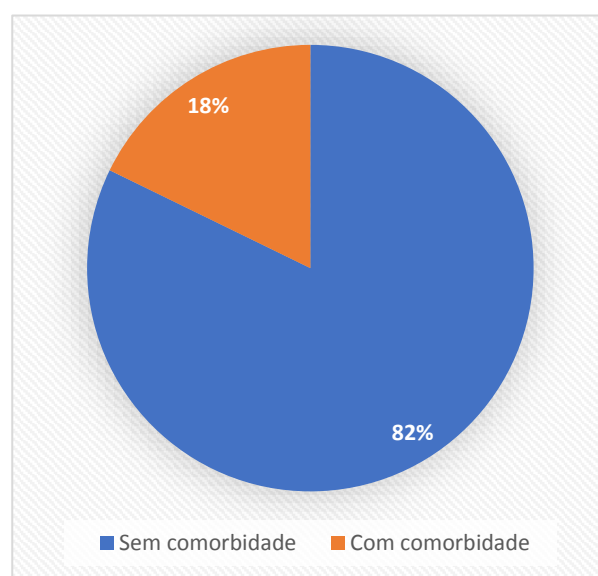


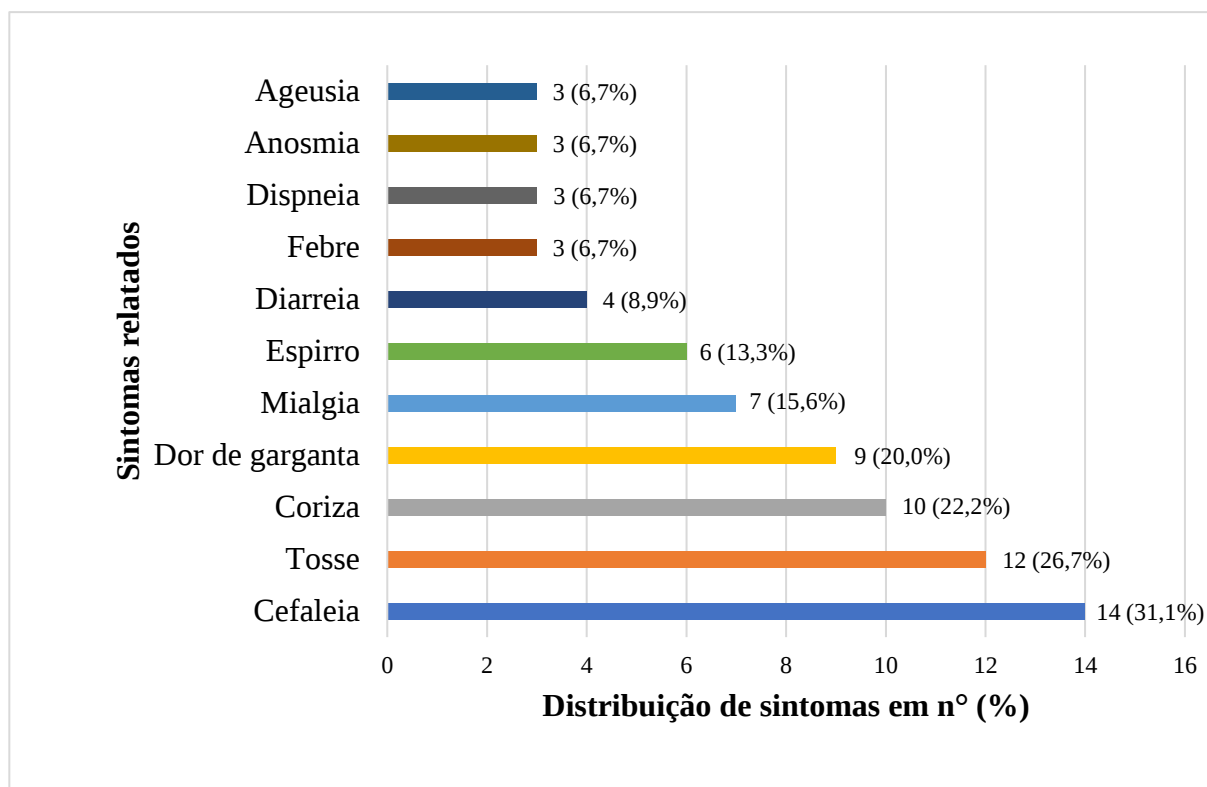
Gráfico 2 – Distribuição dos participantes por gênero (n = 45).

Quanto aos dados epidemiológicos, verificou-se que dentre os 45 participantes detectáveis para SARS-CoV-2 18 (40,0%) foram sintomáticos e 27 (60,0%) foram assintomáticos. Destes, apenas 8 (18%) apresentaram comorbidade (Gráfico 3 e 4).

Gráfico 3 – Perfil dos participantes quanto à sintomatologia (n = 45).**Gráfico 4** – Perfil dos participantes quanto à comorbidade (n = 45).

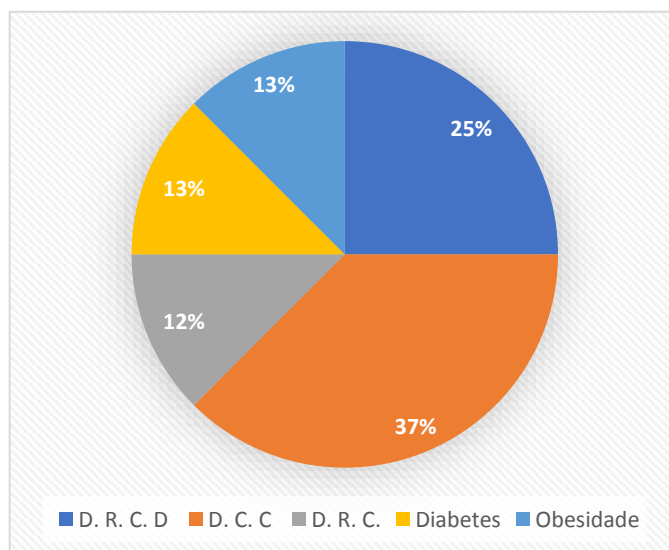
Os participantes sintomáticos apresentaram sintomas leves e moderados. Os sintomas mais frequentes foram 14 (31,1%) cefaleia, 6 (13,3%) espirro, 10 (22,2%) coriza, 3 (6,7%) febre, 4 (8,9%) diarreia, 12 (26,7%) tosse, 9 (20,0%) dor de garganta, 3 (6,7%) dispneia, 7 (15,6%) mialgia, 3 (6,7%) anosmia e 3 (6,7%) ageusia (Gráfico 5). Dos casos não houve relatos de hospitalização ou intubação, bem como relato de óbitos.

Gráfico 5 – Distribuição em n (%) dos sintomas relatados pelos participantes sintomáticos (n =18).



As comorbidades apresentadas foram 2 (25%) doenças respiratórias crônicas descompensadas (D.R.C.D), 1 (12%) doenças renais crônicas (D.R.C), 3 (37%) doenças cardíacas crônicas (D.C.C), 1 (13%) diabetes e 1 (13%) obesidade (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Distribuição de acordo com a comorbidade (n = 8).



Foi utilizado os valores medianos para avaliar a concentrações e purezas das amostras (n = 31) saliva e (n = 35) SNF detectáveis dos participantes. A concentração apresentou 28,6 – 7,6 médias, 0,9 – 0,3 valores mínimos, 112 – 33,4 valores máximos e 30,4 – 8,38 $\pm$ DP, respectivamente. Enquanto a pureza apresentou 1,81 – 1,82 médias, 1,33 – 1,22, valores mínimos, 2,28 – 2,23 valores máximos e 0,3 – 0,25 $\pm$ DP, respectivamente, como mostra na Tabela 3.

Tabela 3 – Comparação entre as concentrações e pureza de amostras de saliva e SNF.

VARIÁVEIS	CONCENTRAÇÃO		PUREZA	
	Saliva (n = 31)	SNF (n = 35)	Saliva (n = 31)	SNF (n = 35)
Média	28,6	7,6	1,81	1,82
Valor mínimo	0,9	0,3	1,33	1,22
Valor máximo	112,3	33,4	2,28	2,26
DP	30,4	8,38	0,3	0,25

*Desvio padrão

Foram utilizados gráficos de dispersão para analisar a relação entre as duas amostras de acordo com as suas concentrações. As amostras de saliva apresentaram aumento crescente em escala vertical de concentração em relação as amostras SNF (Gráficos 7 e 8).

Gráfico 7 – Dispersão das amostras de acordo com a concentração da saliva.

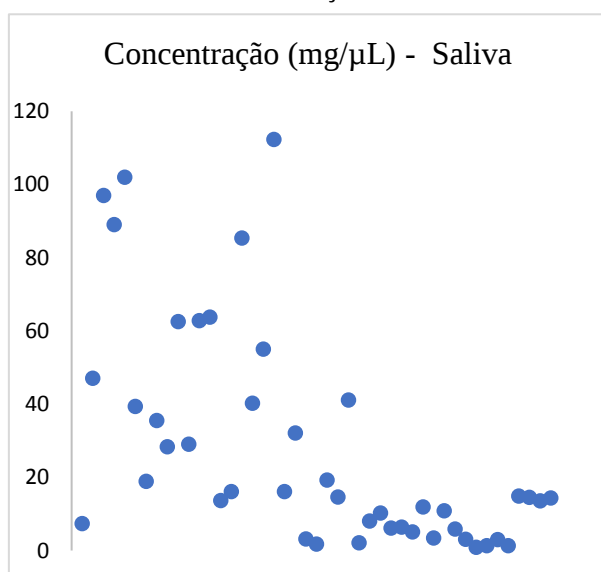
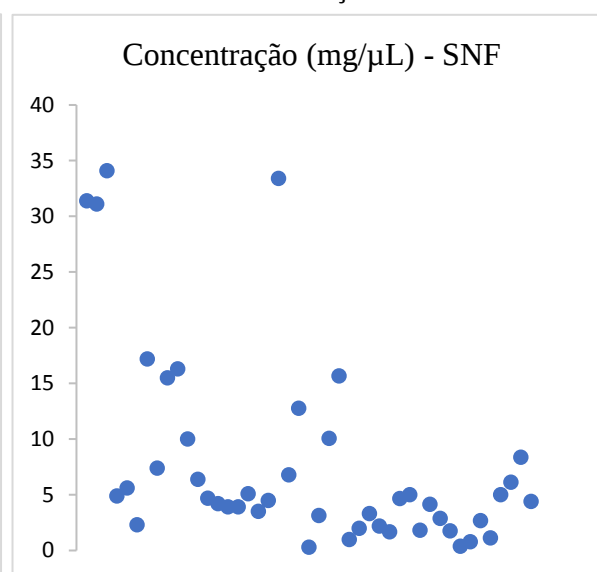


Gráfico 8 – Dispersão das amostras de acordo com a concentração do SNF.



Usando amostras SNF como referência do padrão ouro, a sensibilidade e especificidade da saliva foram de 60,% e 97%, respectivamente. O VPP e VPN foram de 68% e 96%, respectivamente. A acúrcia foi de 93% e o coeficiente Kappa foi de 0,596 (I.C 95% 0441-0,752) (Quadro 3).

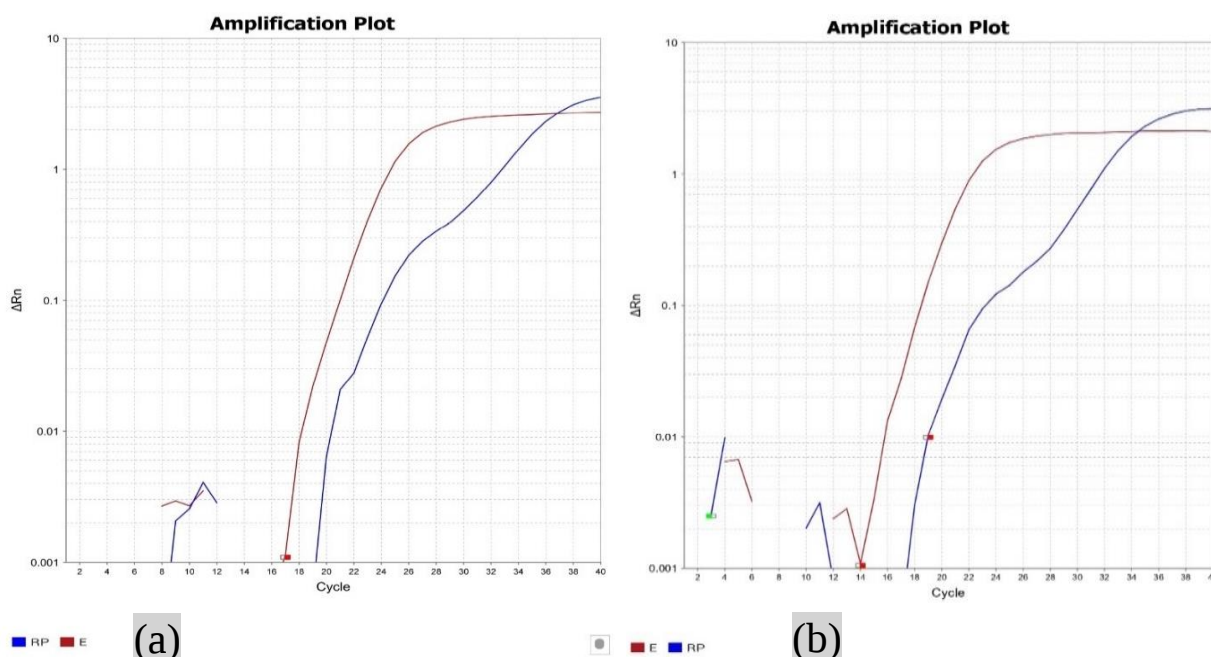
Quadro 3 – Resultado da análise estatística do método de amostragem de saliva (n = 45).

Propriedades	Amostra de saliva (%)
Sensibilidade	60,0
Especificidade	97,0
VPP*	68,0
VPN**	96,0
Acúrcia	93,0

*Valor Preditivo Positivo ** Valor Preditivo Negativo

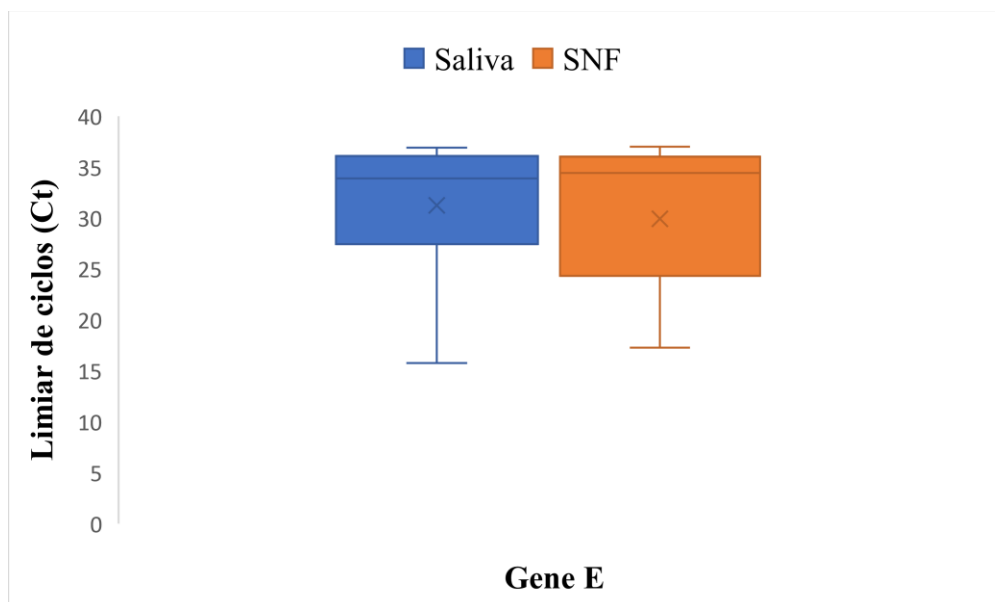
Utilizou-se um comparativo para avaliar o valor Ct de um único participante com positividade em ambas as amostras saliva e SNF. O resultado obteve amplificação do gene E, seguido por confirmação do RP (controle interno). O valor $Ct \leq 37$ indicando a carga viral de SARS-CoV-2 detectável conforme visualizado na ilustração esquemática com a curva de amplificação em escala logarítmica por tendência de fluorescência relativamente aumentada na Figura 16.

Figura 16 - (a) Amostra de saliva. (b) Amostra de SNF.



Entre os 21 participantes com amostras positivas pareadas, os valores medianos do Ct para alvo do gene E foram 29,9 em amostras de SNF e 31,2 para amostras de saliva (Gráfico 9).

Gráfico 9 - Valores de limiar de ciclos (Ct) por RT-qPCR para gene alvo E em participantes com amostras positivas pareadas.



Os resultados deste estudo sugerem que as amostras de saliva são semelhantes em comparação com as amostras de SNF, sendo sensível e específico para ser usado no diagnóstico da Covid-19.

Desde 2004, as amostras de saliva vêm demonstrando resultados confiáveis para detecção e diagnóstico do Coronavírus (SARS-CoV) (AZZI, et al., 2020). Em um ambiente de saúde To et al. (2020) observou maior sensibilidade em amostras de saliva ao compara com amostras de SNF. Da mesma forma Wyllie et al. (2020) e Rao et al. (2020) demonstraram maior sensibilidade em amostras saliva. Por outro lado, Jamal et al. (2020) relataram menor sensibilidade em amostras de saliva em comparação amostras SNF. Nesse estudo, a sensibilidade e especificidade utilizando a RT-qPCR para detecção de SARS-CoV-2 na saliva foram de 60,0% e 97%, respectivamente. Essa divergência entre os estudos é possivelmente devida às técnicas de amostragem utilizadas, kits de detecção diferentes e população de estudo avaliada.

Especulamos que a redução na sensibilidade em amostras de saliva pode estar relacionada com precisão da pipetagem em volumes de amostra na placa de extração para ácidos nucleicos. A saliva na maioria das vezes é viscosa, mesmo após agitação intensa,

resultando em resultados inválidos. Isso foi demonstrado por Sahajpa et al. (2021) com desvio do valor Ct significativamente alto, sugerindo que a menor sensibilidade da saliva.

Para que uma amostra apresente bons resultados no processo final de uma RT-qPCR após a extração, é importante avaliar o grau de pureza desse material. Nessa pesquisa, foi utilizado um NanoDrop, afim de averiguar a concentração e pureza das amostras SNF e saliva como vimos anteriormente na Tabela 3 e 4. Foram encontrados valores medianos de pureza 1,81 e $0,3 \pm DP$ em saliva e 1,82 e $0,25 \pm DP$ em SNF. A concentração 28,6 e $30,4 \pm DP$ em saliva foram superiores para 7,6 e $8,38 \pm DP$ em relação às amostras SNF, indica um índice maior de material genético em amostras de saliva.

Em investigações independentes, Senok et al. (2020) e Vaz et al. (2020) comprovaram uma alta taxa de concordância de SARS-CoV-2 em amostras de saliva quando comparadas às nasofaríngeas. Corroborando com os estudos, Azzi et al. (2020) e Yoon et al. (2020) demonstraram alta concordância da saliva em relação amostras SNF. Nesse estudo, a concordância de ambas as amostras SNF e saliva foram avaliadas pelo coeficiente Kappa 0,596, indicando concordância moderada. Embora o valor Kappa seja menor em relação a outros estudos, o traçado desse estudo foi concebido devido às dificuldades associadas à amostragem e os riscos que ela representa. Isso causa uma diminuição da taxa de adesão e valor Kappa na análise estatística.

A literatura aponta que o diagnóstico rápido e preciso é essencial no controle da pandemia. Várias amostras clínicas, como nasofaringe, escarro, cerúmen, sangue, fezes e saliva foram avaliadas para detecção do SARS-CoV-2 (AZZI, et al., 2020; RAO, et al., 2020). O uso da saliva no diagnóstico da Covid-19 representa assunto de pesquisa na atualidade sobre tipos alternativos de amostras, bem como a amostra de escolha por vários laboratórios que implementam programas de teste de alto volume (LEE, et al., 2021). Várias regiões do mundo, como Hong Kong, já adotaram a saliva em seus protocolos de triagem em massa. A razão para escolha é devido à alta expressão da ECA2 (receptor celular que se liga a proteína S do SARS-CoV-2) expressas na mucosa oral e glândulas salivares (XU, et al., 2020; XU, et al., 2020).

Em um estudo realizado por Liu et al. (2011) com macacos rhesus, mostraram que o epitélio dos ductos das glândulas salivares são alvos do SARS-CoV, especialmente no início da infecção. Yoon et al. (2020) sugerem que o SARS-CoV-2 pode ser secretado pelas glândulas salivares em vez da nasofaringe. A presença de SARS-CoV-2 na saliva indica a possibilidade de infecção na glândula. Para To et al. (2020) o SARS-CoV-2 pode ser transmitido pela saliva de pacientes assintomáticos. Corroborando com estudos anteriores,

Wyllie et al. (2020) mostram que o SARS-CoV-2 pode ser detectado na saliva de pacientes assintomáticos em ambulatorios.

A saliva verdadeira é definida como um líquido claro e natural que se acumula na boca. No entanto, a saliva dos pacientes pode ser confundida com a presença de outras amostras biológicas, como muco e sangue, dificultando o processamento em laboratório. Estudos recentes utilizaram amostras de saliva puras para detecção do SARS-CoV-2 em ambulatorios, os resultados foram positivos, principalmente em pacientes assintomáticos (SENOK, et al., 2020).

Uma das maiores dificuldades em coleta amostras SNF é o consentimento dos pacientes para realização do exame. Os pacientes experimentam um grau de desconforto durante a coleta, tornando-a menos aceitável, principalmente pelas crianças e idosos (JAMAL, et al., 2020; SENOK, et al., 2020). Entretanto, a coleta de amostra de saliva é mais aceitável pelos pacientes, sem quaisquer procedimentos invasivos, de fácil obtenção, independentemente das manifestações da doença e fora do ambiente hospitalar ou centros de saúde especializados.

Nossos resultados foram comparáveis a estudos semelhantes que utilizaram amostras de saliva pura para detecção de SARS-CoV-2, obtidos de uma população de participantes acompanhados em um Hospital Universitário. Em alguns estudos, os autores recomendaram coleta às amostras imediatamente, após indivíduo acordar, sem o consumo de alimentos prévio ou escovação dos dentes (AZZI, et al., 2020; MCCORMICK-BAW, et al., 2020; HANEGE, et al., 2021). Nesse estudo, a saliva foi auto-fornecida pelos próprios participantes dentro do ambiente hospitalar sem nenhum tipo de restrição.

Em estudos anteriores, as amostras de saliva foram obtidas por meio de dispositivos especiais de coleta para melhorar a qualidade e a quantidade da saliva obtida (TO, et al., 2020; SAHAJPA, et al., 2021). Sobretudo, esses dispositivos de coleta na maioria das vezes não estão disponíveis ou são difíceis de obter em centros de assistência médica geral, especialmente em países com baixa renda. No presente estudo, os participantes foram orientados a cuspir repetidamente em um tubo Falcon de 50 mL fechado, estéril e sem nenhum meio de transporte usado rotineiramente no Hospital Universitário. Como não houve a necessidade de nenhum dispositivo especial, o uso da saliva pode ser inserido como rotina na prática clínica da Covid-19 sem comprometer a qualidade da amostra, conforme já relatados em outros estudos.

Embora o exame RT-qPCR por coleta de amostra SNF seja o principal teste de coleta em vigor no Brasil, devemos destacar custo do exame. Por exemplo, Justo et al. (2021) relata

que esse tipo de coleta custa aproximadamente R\$ 2,15, incluindo um Swab, um tubo e o meio de transporte viral. Além disso, esse tipo de amostra exige o uso de EPI completo (toca, respirador N95, protetor facial, capote e luvas) para os profissionais que vão realizar a coleta, o que pode representar uma pressão adicional sobre os recursos do Sistema de Saúde (GÜÇLÜ, et al., 2020; VAZ, et al., 2020). A coleta da saliva não requer Swab, meio de transporte viral e profissionais da saúde especializados para coleta, a coleta é realizada pelo próprio paciente, o que pode reduzir os custos da coleta pela metade. Nos estudos realizados por Yoon et al. (2020), o tempo e custo associados à coleta de saliva foram de 2,26 vezes menores do que amostras de SNF.

Além do custo, a saliva pode ser auto-fornecida pelos próprios pacientes, sem expor os profissionais da saúde durante a coleta. Sabe-se então, que os profissionais de saúde são um dos principais grupos mais exposto a SARS-CoV-2, portanto, estão mais susceptíveis as infecções causadas pela Covid-19. Estudos realizados por Justo et al. (2021), mostram que aproximadamente 29% dos pacientes infectados por Covid-19 em Wuhan, China, eram profissionais de saúde. No dia 14 de fevereiro de 2020, a Comissão Nacional de Saúde da China, relatou que um total de 1.716 profissionais de saúde foi infectado pelo SARS-CoV-2 (GÜÇLÜ, et al., 2020). Assim, a auto-coleta da saliva manteria o distanciamento físico e minimizaria as chances de expor os profissionais de saúde que estão na linha de frente em combate ao vírus.

5 CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram o potencial da saliva como um tipo alternativo de amostra viável no diagnóstico da Covid-19. Uma vez que o RNA viral é extraído em amostras de saliva via RT-qPCR para detecção molecular do SARS-CoV-2 em ambientes comunitários sem a necessidade de meios invasivos, sendo assim, mais aceitável pelos pacientes, especialmente por crianças e idosos.

No que concerne a pureza e concentração das amostras extraídas ao utilizar valores medianos, verificou-se que as amostras de saliva apresentou 1,81 e $0,3 \pm DP$ pureza adequada no processo de extração e 28,6 e $30,4 \pm DP$ concentração superior em relação as amostras Swab nasofaríngeas, indicando um índice maior de material genético.

Do número total de amostras analisadas, 45 foram detectáveis para SARS-CoV-2 tendo como gene alvo E. O valor limiar de ciclos (Ct) para avaliação da carga viral de acordo com o coeficiente Kappa foi de 0,596, indicando concordância moderada em ambas as amostras SNF e saliva.

A sensibilidade da saliva nesse estudo foi de 60%, relativamente menor em comparação com outros trabalhos mencionados. Esse valor pode estar associado ao erro de pipetagem das amostras analisadas, uma vez que a mesma pode alterar no resultado final do exame. Para isso, é preciso a realização de outros estudos que sejam mais específicos para entender o real motivo dessa questão.

Por fim, concluímos que a auto-coleta da saliva pelos pacientes, eliminará o tempo de espera, e, portanto, os resultados estarão disponíveis em um período de tempo mais rápido. Isto é especialmente importante em ambientes clínicos movimentados, onde o número de pessoas disponíveis é limitado. Além de oferecer um menor custo e diminuição na exposição dos profissionais de saúde que coletam amostras de indivíduos potencialmente infectados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENIJI, A. A. 'Self-collected upper respiratory tract swabs for COVID-19 test': A feasible way to increase overall testing rate and conserve resources in South Africa. **Afr. j. prim. health care fam. med.**, v. 12, n. 1, p. 1-4, 2020.
- ALMEIDA, B. A. et al. Preservação da privacidade no enfrentamento da COVID-19: dados pessoais e a pandemia global. **Ciênc. Saúde coletiva**, v. 25, n. 1, p. 2487-2492, 2020.
- ALMEIDA, L. E. et al. Odontologia e a COVID-19: da compreensão do atual cenário de pandemia a reflexões sobre o seu processo formativo. **J Manag Prim Health Care**, v. 12, n. 33, p. 1-16, 2020.
- AUN, M. V. et al. COVID-19, enzima conversora da angiotensina 2 e hidroxiclороquina. *Arq Asma Alerg Imunol*, v. 4, n. 1, p. 38-40, 2020.
- AZZI, L. et al. Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. **J Dent Res**, v. 100, n. 2, p. 115-123, 2021.
- AZZI, L. et al. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. **Journal of infection**, v. 81, p. 45-50, 2020.
- BARLAN, A. et al., Receptor variation and susceptibility to Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. **J. Virol**, v. 88, n. 9, p. 4953-4961, 2014.
- BASSENDINE, M. F. et al. COVID-19 and comorbidities: A role for dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in disease severity? **Journal of Diabetes**, v. 12, p. 649–658, 2020.
- BELOUZARD, S; CHU, V. C; WHITTAKER, G. R. Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. **PNAS**, v. 106, n. 14, p. 5871–5876, 2009.
- CAMPOS, K. R. et al. COVID-19 laboratory diagnosis: comparative analysis of different RNA extraction methods for SARS-CoV-2 detection by two amplification protocols. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 63, n. 52, p. 1-10, 2021.
- CARVALHO, A. R. V. S. et al. Epidemiology, diagnosis, treatment, and future perspectives concerning SARS-COV-2: a review article. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 66, n. 3, p. 370-374, 2020.
- CASTRO, R. et al. COVID-19: a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil. **Braz J Infect Dis**, v. 24, n. 2, p. 180-187, 2020.
- CESPEDES, M. S; SOUZA, J. C. R. P. Sars-CoV-2: A clinical update – II. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 66, n. 4, p. 547-557, 2020.
- CHATE, R. C. et al. Presentation of pulmonary infection on CT in COVID-19: initial experience in Brazil. **J. bras. pneumol**, v. 46, n. 2, p. 1-4, 2020.

CIPITELLI, M. C. et al. SARS-CoV-2 diagnostic diary: from rumors to the first case. Early reports of molecular tests from the military research and diagnostic institute of Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 115, n. 1, p. 1-5, 2020.

CRUZ, K. A. T; LIMA, P. S; PEREIRA, A. L. A. Principais aspectos do novo coronavírus SARS-CoV-2: uma ampla revisão. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 1, p. 73 – 90, 2021.

DANSER, A. H. J; EPSTEIN, M; BATLLE, D. Renin-Angiotensin System Blockers and the COVID-19 Pandemic: At Present There Is No Evidence to Abandon Renin-Angiotensin System Blockers. **Hypertension**, v. 75, n. 6, p. 1382-1385, 2020.

FAM, B. S. O. et al. ACE2 diversity in placental mammals reveals the evolutionary strategy of SARS-CoV-2. **Genet. Mol. Biol**, v. 43, n. 2, p. 1-10, 2020.

FAUCI, A. S; LANE, C; REDFIELD, R.R. Covid-19 — Navigating the Uncharted. **NEJM Group**, v. 382, n. 13, p. 1268-1269, 2020.

FEI, M. S. Y. et al. Coagulation Dysfunction in COVID-19. **Arch Pathol Lab Med**, v. 144, n. 1, p. 1223-1229, 2020.

FERNANDES, L. L. et al. Saliva in the Diagnosis of COVID-19: A Review and New Research Directions. **Journal of Dental Research**, v. 99, n. 13, p. 1435–1443, 2020.

FERREIRA, E. M. S. et al. SARS-COV-2-aspectos relacionados a biologia, propagação e transmissão da doença emergente Covid-19. **Revista Desafios**, v. 7, n. Supl, p. 9-17, 2020.

FLORIANO, I. et al. Accuracy of the Polymerase Chain Reaction (PCR) test in the diagnosis of acute respiratory syndrome due to coronavirus: a systematic review and meta-analysis. **Rev Assoc Med Bras**, v. 66, n. 7, p. 880-888, 2020.

GOMES, C. P. et al. Cathepsin L in COVID-19: From Pharmacological Evidences to Genetics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 1-10, 2020.

GOUVEIA, N; KANAI, C. Pandemics, cities and Public Health. **Ambient. soc**, v. 23, n. 03, p. 2020.

GÜÇLÜ, E. et al. Comparison of saliva and oro-nasopharyngeal swab sample in the molecular diagnosis of COVID-19. **REV ASSOC MED BRAS**, v. 66, n. 8, p. 1116-1121, 2020.

HANEGE, F. M. et al. SARS-CoV-2 Presence in the Saliva, Tears, and Cerumen of COVID-19 Patients. **Laryngoscope**, v. 131, p. 1677-1682, 2021.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Articles**, v. 395, n. 01, p. 497-506, 2020.

HUYUT, M. A. Nova Pneumonia por Coronavírus e Miocardiopatia: Relato de Caso. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 114, n. 5, p. 843-845, 2020.

IBRAHIM, E. H; GHRAMH, H. A; KILANY, M. Development of in-house ELISAs for the detection of anti-SARS CoV 2 RBD and N IgG and IgM antibodies in biological samples. **Journal of King Saud University**, v. 33, n. 4, p. 1-6, 2021.

JAMAL, A. J. et al. Sensitivity of Nasopharyngeal Swabs and Saliva for the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. **Clin Infect Dis**, v. 72, p. 1064-1066, 2020.

JEFFERS, S. A. et al. CD209L (L-SIGN) is a receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus. **Natl. Acad. Sci. U.S.A**, v. 101, n. 44, p. 15748-15753, 2004.

JELINEK, H. F. et al. Evolution, Ecology, and Zoonotic Transmission of Betacoronaviruses: A Review. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, n. 1, p. 1-18, 2021.

JIN, L; XU, Y; YAUN, H. Effects of four types of integrated Chinese and Western medicines for the treatment of COVID-19 in China: a network meta-analysis. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 66 n. 6, p. 771-777, 2020.

JIN, Y. et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. **Viruses**, v. 12, n. 372, p. 1-17, 2020.

JUSTO, A. F. O. et al. Comparison of viral load between saliva and nasopharyngeal swabs for SARS-CoV2: the role of days of symptoms onset on diagnosis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 116, p. 1-4, 2021.

KAMPF, G. et al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agentes. **Journal of Hospital Infection**, v. 104, p. 246-251, 2020.

KARIA, R. et al. COVID-19 and its Modes of Transmission. **SN Compr Clin Med**, v. 1, p. 1-4, 2020.

KIT MOLECULAR SARS-COV-2 (E/RP) - (2X48 REAÇÕES (DUPLEX): Reativos. Responsável técnico Edimilson Domingos da Silva, CRBio-2 RJ/ES nº: 21433-02.. Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos/ FIOCRUZ, 2021. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/produtos/reativos/testes-moleculares/novo-coronavirus-sars-cov2/kit-molecular-sars-cov-2-e-rp>. Acesso em: 24 fev. 2022.

KNOOPS, K. et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. **PLoS Biol**, v. 6, n. 9, p. 1957-1974, 2008.

KUMAR, P. et al. CRISPR-Cas System: An Approach With Potentials for COVID-19 Diagnosis and Therapeutics. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 10, p. 1-13, 2020.

LEE, C. Y. P. et al. Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2020.

LEE, R. A. et al. Performance of Saliva, Oropharyngeal Swabs, and Nasal Swabs for SARS-CoV-2 Molecular Detection: a Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1-17, 2021.

LI, Q. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. **N ENGL J MED**, v. 382, n. 13, p. 1199-1207, 2020.

LIU, L. et al. Epithelial Cells Lining Salivary Gland Ducts Are Early Target Cells of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the Upper Respiratory Tracts of Rhesus Macaques. **J. Virol**, v. 85, n. 8, p. 4025-2030, 2011.

LU, R. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **Lancet**, v. 396, p. 565-574, 2020.

MAGALHÃES, B. S. N. et al. Investigação de *Mycoplasma* spp. em aves do Zoológico do Rio de Janeiro por isolamento e PCR. **Pesq. Vet. Bras**, v. 40, n. 3, p. 220-225, 2020.

MAGALHÃES, E. F. et al. Análise da prevalência de vírus respiratórios em crianças atendidas em um hospital universitário do sul de minas gerais. **Rev Med Minas Gerais**, v. 26, n. 1828, p. 1-5, 2017.

MASTERS, S. The molecular biology of coronaviruses. **Virus Res**, v. 66, n. 1, p. 193-292, 2006.

MENEZES, M. E; LIMA, L. M; MARTINELLO, F. Diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). **RBAC**, v. 52, n. 2, p. 122-30, 2020.

MEYERHOLZ, D. K; LAMBERTZ, A. M; JR, P. B. M. Dipeptidyl peptidase 4 distribution in the human respiratory tract: implications for the middle east respiratory syndrome. **Am J Pathol**, v. 186, n. 1, p. 78–86, 2016.

MCCORMICK-BAW, C. et al. Saliva as an Alternate Specimen Source for Detection of SARSCoV-2 in Symptomatic Patients Using Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 1-2, 2020.

MOITINHO, M. S. et al. Acute Kidney Injury by SARS-CoV-2 virus in patients with COVID-19: an integrative review. **Rev. Bras. Enferm**, v. 73, n. 2, p. 1-8, 2020.

MORRELL, A. L. G. et al. Manejo intraoperatório em cirurgia laparoscópica ou robótica para minimizar a dispersão de aerossóis: Adaptações ao contexto da pandemia por COVID-19. **Rev. Col. Bras. Cir**, v. 47, n. 03, p. 1-7, 2020.

MURCIA1, L. G. D; MORENO, C. A; FALLA, D. G. Citoquinas pro y anti-inflamatorias en la infección por SARS-CoV-2, en población de Colombia. **Infectio**, v. 25, n. 2, p. 94 – 100, 2021.

MUTHIAH, V. M. D. et al. Renin–Angiotensin–Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19. **N ENGL J MED**, v. 382, n. 17, p. 1653-1659, 2020.

NOBRE, A. F. S. et al. Primeira detecção de coronavírus humano associado à infecção respiratória aguda na Região Norte do Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 5 n. 2, p. 37-41, 2014.

OLIVEIRA, A. C. et al. Adesão à higiene de mãos entre profissionais de um serviço de pronto atendimento. **Rev Med**, v. 95, n. 4, p. 162-167, 2016.

OLIVEIRA, A. C; LUCAS, T. C; IQUIAPAZA, R. A. O que a pandemia da COVID-19 tem nos ensinado sobre adoção de medidas de precaução? **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 29, n. 2, p. 1-15, 2020.

OLIVEIRA, F. R. C. et al. Management of acute respiratory distress syndrome in a child with adenovirus pneumonia: case report and literature review. **Rev. paul. Pediatr**, v. 38, n. 1, p. 1-5, 2020.

OLIVEIRA, W. K. et al. Como o Brasil pode deter a COVID-19. **Epidemiol. Serv. Saude**, v. 29, n. 2, p. 1-8, 2020.

PERON, J. P. S; NAKAYA, H. Susceptibility of the Elderly to SARS-CoV-2 Infection: ACE-2 Overexpression, Shedding, and Antibody-dependent Enhancement (ADE). **Clinics**, v. 75, n. 1, p. 1-6, 2020.

PIERALISI, N. et al. Biosecurity Perspectives in Oral and Maxillofacial Radiology in Times of Coronavirus disease (COVID-19): a Literature Review. **Int. J. Odontostomat**, v. 15, n. 1, p. 77-81, 2021.

RABAAN, A. A. et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. **Le Infezioni in Medicina**, v. 28, n. 2, p. 174-184, 2020.

RAJ, V. S. et al., Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. **Nature**, v. 495, n. 2, p. 251-254, 2013.

RAO, M. et al. Comparing Nasopharyngeal Swab and Early Morning Saliva for the Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). **Clin Infect Dis**, v. 71, p. 352-356, 2020.

REHMAN, M. F. et al. Novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic: A recent mini review. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 612–623, 2021.

RIVAS, A. M. et al. Detección de COVID -19 (SARS-CoV-2) Mediante la Saliva: Una Alternativa Diagnóstica poco Invasiva. **Int. J. Odontostomat**, v. 14, n. 3, p. 316-320, 2020.

ROBINSON, E. L. et al. Genes encoding ACE2, TMPRSS2 and related proteins mediating SARS-CoV-2 viral entry are upregulated with age in human cardiomyocytes. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 147, p. 88–91, 2020.

RODRIGUES, D. P; DIAS, R. Q. **Infecções respiratórias agudas: consequência do tabagismo passivo em crianças.** 2019. 22f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Enfermagem) - Faculdade CESMAC do Sertão, Palmeira dos Índios, 2019.

SAGREDO, A. R. et al. Anti-hypertensive agents in patients with COVID-19. **Rev Chil Cardiol**, v. 39, n. 1, p. 66-74, 2020.

- SAHAJPA, N. S. et al. Clinical Validation of a Sensitive Test for Saliva Collected in Healthcare and Community Settings with Pooling Utility for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Mass Surveillance. **The Journal of Molecular Diagnostics**, v. 23, n. 7, p. 788-795, 2021.
- SANTOS, K. F; BARBOSA, M. COVID-19 e a Odontologia na prática atual. **REAS/EJCH**, v. 12, n. 11, p. 1-9, 2020.
- SCHMIDT, B. M. et al. Healthcare workers' adherence to infection prevention and control guidelines for respiratory infectious diseases: A rapid qualitative evidence synthesis. **SAMJ: South African Medical Journal**, v. 110, n. 7, p. 1 – 2, 2020.
- SCHOLZ, J. R. et al. COVID-19, Sistema Renina-Angiotensina, Enzima Conversora da Angiotensina 2 e Nicotina: Qual a Inter-Relação? **Arq Bras Cardiol**, v. 115, n. 4, p. 708-711, 2020.
- SENOK, A. et al. Saliva as an Alternative Specimen for Molecular COVID-19 Testing in Community Settings and Population-Based Screening. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 3393–3399, 2020.
- SHEHAWIA, A. M; ALOTAIBIA, S. S; ELSEEHYB, M. M. Genomic Study of COVID-19 Corona Virus Excludes Its Origin from Recombination or Characterized Biological Sources and Suggests a Role for HERVS in Its Wide Range Symptoms. **Cytology and genetics**, v. 54, n. 6, p. 588-604, 2020.
- SHOJI, H. et al. Structured thoracic computed tomography report for COVID-19 pandemic. **Einstein**, v. 18, n. 9, p. 1-3, 2020.
- SNIJDER, E. J. et al. Unique and Conserved Features of Genome and Proteome of SARS-coronavirus, an Early Split-off From the Coronavirus Group 2 Lineage.
- SILVA, R. G. L. et al. A participação da universidade na produção de testes diagnósticos moleculares do novo coronavírus no Brasil: resposta aos desafios sanitários. **Cad. Saúde Pública**, v. 36, n. 6, p. 1-5, 2020.
- SINGHAL, T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). **The Indian Journal of Pediatrics**. v. 87, n. 1, p. 281–286, 2020.
- SOARES, K. H. D. et al. Medidas de prevenção e controle da covid-19: revisão integrativa. **REAS**, v. 13, n. 2, p. 1-11, 2021.
- SOTO, G. P. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. **Int. J. Odontostomat**. v. 14, n. 3, p. 331-337, 2020.
- SOUZA, M. T; BRÍGIDO, M. M; MARANHÃO, A. Q. **Técnicas básicas em biologia molecular**. 2.ed. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2016.
- TEIXEIRA, R. S. et al. Bioética e discentes de medicina: transição do método de ensino. **Rev. Bioét**. v. 27 n. 1, p. 127 – 133, 2019.

TELES, S. G. S. et al. A saliva como alternativa para diagnóstico de Covid-19: uma revisão sistemática. **Revista Científica da FMC**, v. 15, n. 2, p. 51-55, 2020.

THOMAS, S. Mapping the Nonstructural Transmembrane Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. **Journal of Computational Biology**, v. 28, n. 9, p. 909–921, 2021.

THOMAS, S. The Structure of the Membrane Protein of SARS-CoV-2 Resembles the Sugar Transporter SemiSWEET. **Pathogens and Immunity**, v. 5, n. 1, p. 342-363, 2020.

TO, K. K. W. et al. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. **Clin Infect Dis**, v. 71, n. 15, p. 841-843. 2020.

TO, K. K. W. et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. **Lancet Infect Dis**, v. 20, p. 565–74, 2020.

TSUJIMOTOA, Y, et al. Diagnostic accuracy of nasopharyngeal swab, nasal swab and saliva swab samples for the detection of SARS-CoV-2 using RT-PCR. **Infectious diseases**, v. 53, n. 8, p. 581–589, 2021.

UZUNIAN, A. Coronavírus SARS-CoV-2 e Covid-19. **J Bras Patol Med Lab**, v. 3, n. 56, p. 1-8, 2020.

VAZ. S. N. et al. Saliva is a reliable, non-invasive specimen for SARS-CoV-2 detection. **Braz J Infect Dis**, v. 24, n. 5, p. 422–427, 2020.

VIEIRA, L. M. F; EMERY. E; ANDRIOLO, A. COVID-19: laboratory diagnosis for clinicians. An updating article. **Sao Paulo Med. J**, v. 138, n. 3, p. 259-266, 2020.

VILLA, D. M. G. et al. Verificación del desempeño de la prueba rápida "AMP Rapid Test SARS-CoV-2 IgG/IgM- Cassettes". **Infect**, v. 25, n.3, p. 169-175, 2021.

WEBER, H. K. et al. Polymorphisms in dipeptidyl peptidase 4 reduce host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n.1, p. 155-168, 2020.

WIT, E. et al. SARS and MERS: recent in-sights into emerging coronaviruses. **Rev. Microbiol.** v. 14, n. 2, p. 523-534, 2016.

WYLLIE. A. L. et al. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. **N Engl J Med**, v. 383, n. 13, p. 1283-1286, 2020.

XAVIER, A. R. et al. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **J Bras Patol Med Lab**, v. 56, n.1, p. 1-9, 2020.

XU, H. et al. Performance of Saliva, Oropharyngeal Swabs, and Nasal Swabs for SARS-CoV-2 Molecular Detection: a Systematic Review and Meta-analysis. **International Journal of Oral Science**, v. 12, n. 8, p. 1-5, 2020.

XU, R. et al. Saliva: potential diagnostic value and transmission of 2019- nCoV. **International Journal of Oral Science**, v. 12, n. 11, p. 1-6, 2020.

YAN, R. et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. **Science**, v. 367, p. 1444–1448, 2020.

YAN, T; XIAO, R; LIN, G. Angiotensin-converting enzyme 2 in severe acute respiratory syndrome coronavirus and SARS-CoV-2: A double-edged sword? **The FASEB Journal**, v. 34, p. 6017–6026, 2020.

YANG, P; WANG, X. COVID-19: a new challenge for human beings. **Cell Mol Immunol**, v. 17, n. 5, p. 555-557, 2020.

YOON, J. G. et al. Clinical Significance of a High SARS-CoV-2 Viral Load in the Saliva. **J Korean Med Sci**, v. 35, n. 20, p. 1-6, 2020.

ZUMLA, A. et al. Coronaviruses - drug discovery andtherapeutic options. **Rev. Drug Discov**, v. 15, n. 3, p. 327-347, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
ESCOLA TÉCNICA DE SAÚDE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de pesquisa: VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2 (COVID-19) E OUTROS VÍRUS RESPIRATÓRIOS NO ESTADO DA PARAÍBA

Meu nome é João Felipe Bezerra, sou Coordenador deste Projeto e estou convidando você para participar do projeto de pesquisa que estou desenvolvendo em parceria com a equipe do Laboratório Central de Saúde Pública da Paraíba – LACEN/PB e Secretaria de Saúde do Estado da Paraíba. Esta pesquisa visa identificar os vírus causadores de doenças respiratórias para poder entender melhor a COVID-19, além de melhorar e adequar as políticas de vigilância e o diagnóstico dos pacientes. Para participar será coletado 1swab de nasofaringe e 2mL de saliva para identificação do agente viral. Além de você, outros pacientes também participarão deste Projeto. Após a realização de todos os exames, o paciente poderá ter acesso aos resultados no GAL (Software de liberação de resultados de exames). Caso haja interesse de realizarmos futuras pesquisas entraremos em contato com você, e somente com sua autorização e aprovação dos novos projetos no Comitê de Ética em Pesquisa realizaremos os estudos.

Confidencialidade do estudo: Os registros de sua participação no estudo serão mantidos confidenciais. Eles serão guardados e, somente os pesquisadores trabalhando com a pesquisa terão acesso. Cada pessoa participante receberá um número para ser utilizado na pesquisa. Se qualquer relatório ou publicação resultar deste trabalho, sua identificação não será revelada.

Dano decorrente da pesquisa: Em qualquer momento, se o paciente tiver algum problema de saúde decorrente da pesquisa, será garantido atendimento médico na instituição.

Riscos inerentes da coleta: O risco a saúde será mínimo, em função do incômodo durante a coleta de swab de nasofaringe. Riscos esses que serão minimizados através de procedimentos de coleta cuidadosos.

Ressarcimento de despesas: O pesquisador será responsável pelo ressarcimento de eventuais despesas decorrentes da pesquisa.

Participação voluntária: Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, podendo recusar-se fazer parte do mesmo ou interromper se julgar conveniente, sem prejuízo para o andamento do trabalho de pesquisa. Caso você tenha alguma dúvida em relação à pesquisa você pode entrar em contato com a **Prof. Dr. João Felipe Bezerra** a qualquer hora do dia (telefone: 83 99113-2554)

(rubrica do Participante/Responsável legal)

Página 1 de 2

(rubrica do Pesquisador)

Perguntas: Estimulamos que você faça perguntas a respeito da pesquisa. Se houver alguma dúvida, entre em contato com o **Prof. Dr. João Felipe Bezerra** pelo telefone **3216-7400/ (83) 99113-2554** ou na Escola Técnica de Saúde, Conjunto Castelo Branco III, João Pessoa-PB. Por quaisquer motivo adequado, independente do seu consentimento, os membros da equipe de pesquisa podem encerrar sua participação no estudo. O motivo será explicado e poderá ser devido a alguma alteração médica que pode colocá-lo em risco ou outras complicações se continuar a participar, como também cancelamento do estudo pela coordenação caso o sujeito não cumpra as orientações ou outras questões administrativas.

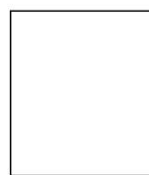
Comitê de ética: Este projeto foi avaliado pelo Comitê de ética em pesquisa da UFPB (CEP). Informações adicionais podem ser obtidas no CEP (Centro de Ciências da Saúde - 1º andar / Campus I / Cidade Universitária CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB ou pelo telefone 3216-7791 ou pelo e-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br).

Consentimento para participação

Fui devidamente esclarecido (a) quanto aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos aos quais serei submetido (a). Foram garantidos esclarecimentos que eu venha a solicitar durante o curso da pesquisa e o direito de desistir da participação a qualquer momento, sem que minha desistência implique em qualquer prejuízo à minha pessoa ou à minha família. A minha participação na pesquisa não implicará em custos ou prejuízos adicionais, sejam eles de caráter econômico, social, psicológico ou moral. Foi-me garantido o anonimato, o sigilo dos dados referentes a minha identificação e o compromisso de que serei contactado (a) para avaliação de estudo futuro usando as amostras biológicas obtidas nesse instante.

- ☐ SIM, tenho interesse de receber as informações sobre os resultados ao final da pesquisa.
☐ NÃO, tenho interesse de receber as informações sobre os resultados ao final da pesquisa

Paciente



(polegar direito)

Responsável Legal

Testemunha

Compromisso do pesquisador: Eu discuti as questões acima com o (a) participante do presente estudo ou com seus responsáveis legais. É minha convicção que o paciente entende os riscos, benefícios e obrigações relacionados com este projeto.

João Felipe Bezerra

Prof. Dr. João Felipe Bezerra

 (rubrica do Participante/Responsável legal)

Página 2 de 2
 (rubrica do Pesquisador)

APÊNDICE B - TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR**TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR**

Título do projeto: AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO MEIO DE DETECÇÃO DO SARS-COV-2.

Pesquisador responsável: FELIPE GONÇALVES BEZERRA

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

Telefone para contato:

Local da coleta de dados:

Eu, Felipe Gonçalves Bezerra, pesquisador (a) responsável pela pesquisa acima identificada, declaro que conheço e cumprirei as normas vigentes expressas na **Resolução Nº 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde**, e assumo, neste termo o compromisso de:

1. Somente iniciar a pesquisa após sua aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa através da Plataforma Brasil e, nos casos assim previstos na Resolução CNS/MS 510/2016.
2. Caso a pesquisa seja interrompida, informar tal fato ao CEP/CCS/UFPB, de forma justificada.
3. Na ocorrência de evento adverso grave comunicar imediatamente ao CEP/CCS/UFPB., bem como prestar todas as informações que me forem solicitadas.
4. Ao utilizar dados e/ou informações coletados no (s) prontuários do(s) sujeito(s) da pesquisa, ou material biológico estocado, assegurar a confidencialidade e a privacidade dos mesmos.
5. Destinar os dados coletados somente para o projeto ao qual se vinculam. Todo e qualquer outro uso deverá ser objeto de um novo projeto de pesquisa que deverá ser submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa.
6. Apresentar relatório final, sobre o desenvolvimento da pesquisa ao CEP/CCS/UFPB.

João Pessoa, 07 de abril de 2021.



Pesquisador Responsável

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR PARA DETECÇÃO DE SARS-COV-2 (COVID-19) E OUTROS VÍRUS RESPIRATÓRIOS NAS MACROREGIONAIS DO ESTADO DA PARAÍBA

Pesquisador: JOAO FELIPE BEZERRA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 40402820.4.0000.5188

Instituição Proponente: ESCOLA TÉCNICA DE SAÚDE DA UFPB

Patrocinador Principal: Universidade Federal da Paraíba

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.635.642

Apresentação do Projeto:

Supondo que existe associação entre as características no genoma viral e as alterações na expressão gênica causadas pelo SARS-CoV-2 com os desfechos de casos graves, moderados e leves no Estado da Paraíba, a pesquisa se propõe a realizar análise epidemiológica e molecular com a genômica viral e transcriptômica na detecção de SARS-Cov-2 e outros vírus respiratórios no estado da Paraíba correlacionando a incidência da doença com os diversos desfechos observados e observará também outros vírus.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a incidência da doença a partir da análise epidemiológica e molecular com a genômica viral e transcriptômica na detecção de SARS-Cov-2 e outros vírus respiratórios no estado da Paraíba. Objetivos secundariamente: Identificar o perfil epidemiológico dos indivíduos com a SARS-COV-2; Realizar o rastreamento dos profissionais de saúde envolvidos com assistência do SARS-COV-2; Investigar o perfil dos profissionais de saúde diagnosticados com o COVID-19 em função de exposição no ambiente de trabalho; Levantar a efetividade da detecção rápida através da saliva do SARS-COV-2 e

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOÃO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 4.635.642

outros vírus respiratórios; Identificar o perfil de expressão gênica entre pacientes com o SARS-CoV-2 e controles, buscando pelo entendimento da fisiopatologia e de biomarcadores para futuros tratamentos; Produzir ferramenta digital para rastreamento dos profissionais de saúde; Sequenciar o genoma viral do SARS-CoV-2 e correlacionar com os perfis de expressão gênica e variáveis clínicas. Comparar diferentes protocolos de extração de RNA viral para otimizar custo e tempo do processo; Verificar a sensibilidade de diferentes ensaios de detecção do RT-PCR em tempo real, utilizando marcadores gênicos distintos; Verificar a sensibilidade de testes rápidos de antígenos para detecção do SARS-CoV-2; Verificar a sensibilidade de testes rápidos de IgM e IgG

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto refere que pode ocorrer constrangimento ou desconforto em responder os questionários. Esse risco será minimizado ao ser reforçado que todos os resultados dos procedimentos aplicados são confidenciais e serão divulgados apenas em meio científico sem identificação do sujeito do estudo. Pode ocorrer também algum desconforto durante o processo de coleta de amostras. Benefícios: proporcionar conhecimento e identificação da epidemiologia acerca do SARS-CoV-2 (Covid 19), contribuir com o diagnóstico e o entendimento do mecanismo da doença

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Viável e de impacto

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados em conformidade com a resolução 466/12

Recomendações:

vide conclusões

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa pode ser iniciada

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOÃO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 4.635.642

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1655765.pdf	06/03/2021 20:33:55		Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_PROJETO_COVID.pdf	06/03/2021 20:30:31	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Responsaveis_Projeto_COVID.pdf	06/03/2021 20:30:10	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_COVID.pdf	06/03/2021 20:25:09	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_Projeto_COVID.pdf	06/03/2021 20:24:59	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_COVID_ETS.docx	07/01/2021 13:41:48	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_final.pdf	07/01/2021 12:12:23	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito
Outros	AnuenciaSES.pdf	30/11/2020 11:16:05	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Outros	HUUFPB.pdf	30/11/2020 11:13:10	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Outros	HUJBUFCG.pdf	30/11/2020 11:12:54	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Outros	CARTAANUENCIAADRIANAUFNRN.pdf	30/11/2020 11:12:08	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Outros	AnuenciaLACEN.pdf	30/11/2020 11:11:23	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Outros	CartaAnuenciaUSP.pdf	30/11/2020 11:08:14	Eliane Marques Duarte de Sousa	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_PROJETO_COVID.pdf	24/11/2020 16:46:12	JOAO FELIPE BEZERRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



Continuação do Parecer: 4.635.642

JOAO PESSOA, 07 de Abril de 2021

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

ANEXO B - FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE SÍNDROME GRIPAL SUSPEITO DE DOENÇA PELO CORONAVÍRUS 2019



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE

Nº

e-SUS Notifica – 05/10/2020

FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE SG SUSPEITO DE DOENÇA PELO CORONAVÍRUS 2019 – COVID-19 (B34.2)

Definição de caso: Indivíduo com quadro respiratório agudo, caracterizado por pelo menos dois (2) dos seguintes sinais e sintomas: febre (mesmo que referida), calafrios, dor de garganta, dor de cabeça, tosse, coriza, distúrbios olfativos ou distúrbios gustativos.

Em crianças: além dos itens anteriores considera-se também obstrução nasal, na ausência de outro diagnóstico específico.

Em idosos: deve-se considerar também critérios específicos de agravamento como síncope, confusão mental, sonolência excessiva, irritabilidade e inapetência.

Observação: Na suspeita de COVID-19, a febre pode estar ausente e sintomas gastrointestinais (diarreia) podem estar presentes.

UF de notificação:		Município de Notificação:	
IDENTIFICAÇÃO	Tem CPF? (Marcar X) ☐ Sim ☐ Não	Estrangeiro: (Marcar X) ☐ Sim ☐ Não	Profissional de saúde (Marcar X) ☐ Sim ☐ Não
			Profissional de segurança (Marcar X) ☐ Sim ☐ Não
	CBO:		CPF:
	CNS:		
	Nome Completo:		
	Nome Completo da Mãe:		
	Data de nascimento:		País de origem:
	Sexo: (Marcar X) ☐ Masculino ☐ Feminino	Raça/COR: (Marcar X) ☐ Branca ☐ Preta ☐ Amarela ☐ Parda ☐ Indígena - Etnia: ☐ Ignorado	
	CEP:		Passaporte:
	Estado de residência:		Município de Residência:
Logradouro:		Número:	
Complemento:		Bairro:	
Telefone Celular:		Telefone de contato:	
Data da Notificação:		Data do início dos sintomas:	
DADOS CLÍNICOS EPIDEMIOLÓGICOS	Sintomas: (Marcar X) ☐ Assintomático ☐ Febre ☐ Dor de Garganta ☐ Dispneia ☐ Tosse ☐ Coriza ☐ Dor de Cabeça ☐ Distúrbios gustatórios ☐ Distúrbios olfativos ☐ Outros		
	Condições: (Marcar X) ☐ Doenças respiratórias crônicas descompensadas ☐ Diabetes ☐ Obesidade ☐ Doenças renais crônicas em estágio avançado (graus 3, 4 e 5) ☐ Imunossupressão ☐ Portador de doenças cromossômicas ou estado de fragilidade imunológica ☐ Gestante ☐ Doenças cardíacas crônicas ☐ Puérpera (até 45 dias do parto)		
	Estado do Teste: (Marcar X) ☐ Solicitado ☐ Coletado ☐ Concluído ☐ Exame Não Solicitado	Tipo de Teste: (Marcar X) ☐ RT – PCR ☐ Teste rápido – anticorpo ☐ Teste rápido – antígeno ☐ Testes sorológico	Data do Teste (PCR/Rápidos):
			Data do Teste (Sorológico):
	Resultado (PCR/Rápidos): (Marcar X) ☐ Negativo ☐ Positivo ☐ Inconclusivo ou Indeterminado	Teste Sorológico: (Marcar X) ☐ IgA ☐ IgG ☐ IgM ☐ Anticorpos Totais	Resultado (IgA): (Marcar X) ☐ Reagente ☐ Não Reagente ☐ Inconclusivo ou Indeterminado
	Resultado (IgG): (Marcar X) ☐ Reagente ☐ Não Reagente ☐ Inconclusivo ou Indeterminado	Resultado (IgM): (Marcar X) ☐ Reagente ☐ Não Reagente ☐ Inconclusivo ou Indeterminado	Resultado (Anticorpos Totais): (Marcar X) ☐ Reagente ☐ Não Reagente ☐ Inconclusivo ou Indeterminado
	Evolução do caso: (Marcar X) ☐ Cancelado ☐ Ignorado ☐ Internado ☐ Em tratamento domiciliar ☐ Óbito ☐ Internado em UTI ☐ Cura		Classificação final: (Marcar X) ☐ Descartado ☐ Confirmado Clínico Imagem ☐ Confirmado Clínico-Epidemiológico ☐ Confirmado Por Critério Clínico ☐ Confirmado Laboratorial ☐ Síndrome Gripal Não Especificada
			Data de encerramento:
	Informações complementares e observações		

ANEXO C – ARTIGO CIENTÍFICO: REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)

ARTIGO 11 – ORIGINAL

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)

Maria Soraya Pereira Franco Adriano¹
Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo¹
João Felipe Bezerra¹
Ronaldo Rodrigues Sarmiento¹
Ana Carolina Bernardes Dulgheroff¹
Maryanne Pereira Franco Adriano²
Felipe Gonçalves Bezerra¹
Betânia Maria Pereira dos Santos¹

<https://orcid.org/0000-0001-7888-4430>
<https://orcid.org/0000-0003-2297-2305>
<https://orcid.org/0000-0002-9978-628X>
<https://orcid.org/0000-0003-0054-7682>
<https://orcid.org/0000-0003-2126-8623>
<https://orcid.org/0000-0003-2054-0840>
<https://orcid.org/0000-0002-2795-9815>
<https://orcid.org/0000-0002-7916-1995>

Objetivo: Analisar a produção científica acerca da atual pandemia do novo coronavírus, destacando aspectos referentes às características do vírus, bem como a epidemiologia, o diagnóstico e tratamento da COVID-19 no intuito de fornecer informações aos profissionais de saúde e à comunidade científica. **Método:** Revisão narrativa, com busca nas bases de dados Scielo, Medline, Lilacs e Pubmed, referente ao período de fevereiro a maio de 2020, utilizando os descritores: "infecções por coronavírus" or "coronavirus infections", "COVID-19", "betacoronavirus", "Síndrome Respiratória Aguda Grave", "SARS-Cov-2", "diagnóstico", "diagnosis". **Resultados:** Foram evidenciadas três categorias temáticas: aspectos referentes ao vírus; a epidemiologia e a clínica da doença; e aspectos do diagnóstico e tratamento. **Conclusão:** O Coronavírus sofreu mutações desde o início da pandemia, mas não se sabe se estas mutações afetaram seu poder de infecciosidade. Em diferentes partes do mundo a epidemiologia da COVID-19 foi diferente. Com relação ao tratamento, a droga que tem se mostrado mais promissora até o momento é o remdesivir. Sem uma vacina eficaz, a maior arma que dispomos é o isolamento social.

Descritores: COVID-19; Síndrome Respiratória Aguda Grave; SARS-CoV-2.

SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME AND COVID-19 (SARS-COV-2)

Objective: To analyze a scientific production on the current pandemic of new coronaviruses, highlighting aspects related to virus resources, as well as the epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19 in order to provide information to health professionals and the scientific community. **Method:** Narrative review, searching the Scielo, Medline, Lilacs and Pubmed databases, for the period from February to May 2020, using the keywords: "coronavirus infections" or "coronavirus infections", "COVID-19", "Betacoronavirus", "Severe Acute Respiratory Syndrome", "SARS-Cov-2", "diagnosis", "diagnosis". **Results:** Three thematic categories were highlighted: aspects related to the virus; an epidemiology and disease clinic; and aspects of diagnosis and treatment. **Conclusion:** The Coronavirus has mutated since the beginning of the pandemic, but it is not known whether these mutations have affected its infectiousness. In different parts of the world the epidemiology of COVID-19 was different. Regarding treatment, a drug that has been shown to be more promising until recovery is needed. Without an effective vaccine, the biggest weapon that affects social isolation.

Descriptors: COVID-19; Severe Acute Respiratory Syndrome; SARS-CoV-2.

SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO GRAVE Y COVID-19 (SARS-COV-2)

Objetivo: analizar una producción científica sobre la pandemia actual de nuevos coronavirus, destacando aspectos relacionados con los recursos del virus, así como la epidemiología, diagnóstico y tratamiento de COVID-19 para proporcionar información a los profesionales de la salud y la comunidad científica. **Método:** Revisión narrativa, buscando en las bases de datos Scielo, Medline, Lilacs y Pubmed, para el período de febrero a mayo de 2020, utilizando los descriptores: "infecciones por coronavirus" o "infecciones por coronavirus", "COVID-19", "Betacoronavirus", "Síndrome respiratorio agudo severo", "SARS-Cov-2", "diagnóstico", "diagnóstico". **Resultados:** se destacaron tres categorías temáticas: aspectos relacionados con el virus; una clínica de epidemiología y enfermedad; y aspectos de diagnóstico y tratamiento. **Conclusión:** el coronavirus ha mutado desde el comienzo de la pandemia, pero no se sabe si estas mutaciones han afectado su infecciosidad. En diferentes partes del mundo, la epidemiología de COVID-19 fue diferente. Con respecto al tratamiento, un medicamento que ha demostrado ser más prometedor hasta que se necesita recuperación. Sin una vacuna efectiva, el arma más grande que afecta el aislamiento social.

Descriptores: COVID-19; Síndrome Respiratorio Agudo Grave; SARS-CoV-2.

¹Universidade Federal da Paraíba, PB.

²Centro Universitário de João Pessoa, PB.

Autor Correspondente: Maria Soraya Pereira Franco Adriano E-mail: msorayapf@hotmail.com
Recebido: 10/5/20 Aceito: 30/5/20

INTRODUÇÃO

As infecções respiratórias são as doenças mais frequentes em humanos e sua abordagem é relevante devido à alta incidência e prevalência, inclusive com surtos epidêmicos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou, em 30 de janeiro de 2020, que o surto da doença causada pelo novo coronavírus, chamada de COVID-19, constitui uma emergência de Saúde Pública de Importância Internacional. Em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela OMS como uma pandemia¹.

O novo coronavírus, denominado (SARS-CoV-2), foi identificado em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, China, onde os casos foram confirmados pela primeira vez. Trata-se de uma nova cepa de coronavírus que, até então, não havia sido identificada em seres humanos².

Desde que o vírus surgiu no mercado de frutos do mar, no final do ano passado o número de infectados aumentou dramaticamente³. A transmissão entre humanos do vírus foi confirmada⁴ tendo sido detectado em amostras de lavado bronco-alveolar⁵, escarro⁶, saliva⁷, garganta⁸ e swabs de nasofaringe⁷.

Por ser tratar de um vírus novo e causar uma doença nova e pandêmica, este trabalho objetivou analisar a produção científica acerca da atual pandemia do novo coronavírus, destacando aspectos referentes às características do vírus, à epidemiologia, ao diagnóstico e ao tratamento da COVID-19 no intuito de fornecer informações aos profissionais de saúde

e à comunidade científica.

MÉTODO

Tipo de estudo

O presente estudo é uma revisão narrativa⁹⁻¹¹.

Coleta dos dados

O levantamento dos trabalhos foi feito de maneira não sistemática, através de pesquisas nas bases de dados científicas *Scielo*, *Medline*, *Lilacs*, *Pubmed*, no período de janeiro a maio de 2020. Os descritores utilizados para a busca foram: infecções por coronavírus (coronavirus infections), covid-19, betacoronavirus, Síndrome Respiratória Aguda Grave (Severe Acute Respiratory Syndrome), diagnóstico (diagnosis), no título, resumo ou corpo do texto.

Análise dos dados

Encontrou-se 78 artigos nas bases de dados, utilizando os descritores estabelecidos. Estes materiais foram lidos na íntegra, categorizados e analisados criticamente. Foram selecionados 51 trabalhos, dentre os quais dois tratam-se de boletins epidemiológicos do CDC e do Ministério da Saúde, para atualização do número de casos.

RESULTADOS

Os estudos foram apresentados sob a forma de quadros quanto às temáticas: Características do SARS-Cov-2; Epidemiologia e clínica; Diagnóstico e tratamento.

Quadro 1 - Caracterização dos estudos que abordam as características do SARS-Cov-2.

Identificação do Estudo	Tipo de estudo	Objetivos
Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding The Lancet. 2020; 395(10224):565-574	artigo original	Sequenciar e fazer análise filogenética para determinar a história evolutiva do vírus
SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum PLoS Biol. 2008; 16:6(9): e226	artigo original	demonstrar as alterações de membrana na célula hospedeira ocasionadas pela replicação viral
The molecular biology of coronaviruses Adv Virus Res. 2006; 66: 193-292	artigo de revisão	abordar a biologia molecular do vírus
Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19 Journal of Pharmaceutical Analysis. 2020; 10(2):1028.	artigo de revisão	abordar sobre a imunopatogênese
Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC - Nature. 2013; 495(7440): 251-254	artigo original	identificar a dipeptidil peptidase 4 (CD26) como um receptor funcional para hCoV-EMC
Receptor variation and susceptibility to Middle East respiratory syndrome coronavirus infection - J Virol. 2014; 88(9): 4953-4961	artigo original	avaliar a atividade do receptor DD4 na ligação e entrada do vírus na célula
Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study - The Lancet Microbe. 2020; 1(1):e14-e23	artigo original	investigar a susceptibilidade, cinética de replicação e dano celular causados pelo SARS-Cov-2 e comparar com SARS-Cov
CD209L (L-SIGN) is a receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus - Proc Natl Acad Sci U S A. 2004; 101(44): 15748-53	artigo original	testar o CD209L (L-SIGN) como receptor para SARS-Cov
Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. - Chinese Med J. 2020; 133(9):1015-1024	artigo original	sequenciar e fazer análise filogenética para determinar a história evolutiva do vírus

ARTIGO 11

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)
 Maria Soraya Pereira Franco Adriano Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, João Felipe Bezerra, Ronaldo Rodrigues Sarmento,
 Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Marianne Pereira Franco Adriano, Felipe Gonçalves Bezerra, Betânia Maria Pereira dos Santos

Quadro 2 - Caracterização dos estudos que abordam sobre a epidemiologia e clínica da COVID-19.

Identificação do Estudo	Tipo de estudo	Objetivos
Coronavirus disease (COVID-19) Situation Report 109 World Health Organization [WHO]	boletim epidemiológico	Mostrar o número de casos
Identifying Locations with Possible Undetected Imported Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Cases by Using Importation Predictions - Emerg Infect Dis. 2020; 26(7)	artigo original	Identificar locais que poderiam ter casos importados não detectados
The Covid-19 epidemic - Trop Med Int Health. 2020; 25(3): 278-280	editorial	Fornecer uma visão geral sobre a COVID-19
Initial cluster of novel coronavirus (2019-nCoV) infections in Wuhan, China is consistent with substantial human-to-human transmission - J. Clin. Med. 2020; 9(2): 488	editorial	Discutir sobre a transmissão entre humanos e zoonótica
A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 - N Engl J Med. 2020; 382(8): 727-733	artigo original	Identificar a fonte dos casos de pneumonia, descrever um novo coronavírus detectado em pacientes com pneumonia
Novel coronavirus pneumonia outbreak in 2019: Computed tomographic findings in two cases - Korean J. Radiol. 2020; 21(3): 365-368	relato de caso	relatar dois casos confirmados de pneumonia 2019-nCoV com achados de tomografia computadorizada de tórax
The first 2019 novel coronavirus case in Nepal - Lancet Infect. Dis. 2020; 20(3): 279-280	relato de caso	Relatar o primeiro caso em Nepal
Covid-19-Navigating the Uncharted N Engl J Med. 2020; 382(13): 1268-1269	editorial	descrever os achados do estudo clínico e epidemiológico na cidade de Wuhan
Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China - N Engl J Med. 2020; 382(18): 1708-1720	artigo original	analisar características clínicas de casos confirmados na China
Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia - N Engl J Med. 2020; 382(13): 1199-1207	artigo original	analisar as características clínicas e epidemiológicas dos primeiros 425 casos confirmados de Wuhan
Epidemiology of Covid-19 in a Long-Term Care Facility in King County, Washington - N Engl J M. 2020; 382(21): 2005-2011	artigo original	Realizar levantamento de casos
Maximizing the Calm Before the Storm: Tiered Surgical Response Plan for Novel Coronavirus (COVID-19) - Journal of the American College of Surgeons. 2020; 230(6): 1080-1091	artigo original	apresentar um planejamento para manejo

Outbreak of a novel coronavirus Nat Rev Microbiol. 2020; 18(3): 123	artigo de revisão	apresentar os casos durante o surto de Wuhan
Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China Lancet. 2020; 395(10223): 497-506	artigo de revisão	relatar características clínicas, epidemiológicas, laboratoriais, radiológicas e tratamento
Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China J. Med. Virol. 2020; 92(4):441-447	revisão	Realizar levantamento de casos
The extent of transmission of novel coronavirus in wuhan, China, 2020 J. Clin. Med. 2020; 24;9(2): 330	editorial	Atualizar o número de casos em Wuhan
The Novel Chinese Coronavirus (2019-nCoV) Infections: challenges for fighting the storm Eur. J. Clin. Invest. 2020; 50(3): e13209	editorial	relatar as características clínicas e epidemiológicas
COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil Travel Med Infect Dis. 2020; 101613	editorial	relata sobre o primeiro caso confirmado no Brasil
Painel Coronavirus Ministério da Saúde	boletim epidemiológico	mostrar número de casos
Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis Travel Med Infect Dis. 2020; 34: 101623	revisão sistemática e meta análise	caracterizar os casos clínico e laboratorialmente
Flattening the Curve for Incarcerated Populations – Covid-19 in Jails and Prisons NEJM Group. 2020; 382: 2075-2077	artigo original	aborda o SARS-Cov-2 em prisões dos Estados Unidos
Peer-to-Peer Contact Tracing: A Privacy-Preserving Smartphone app JMIR Mhealth Uhealth. 2020; 8(4): e18936	artigo original	desenvolver aplicativo para smartphone que respeite a privacidade do usuário
First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States Int J Antimicrob Agents. 2020; 55(3):105924	relato de caso	relatar sobre o primeiro caso detectado nos Estados Unidos

ARTIGO 11

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)
 Maria Soraya Pereira Franco Adriano, Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, João Felipe Bezerra, Ronaldo Rodrigues Sarmiento,
 Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Marianne Pereira Franco Adriano, Felipe Gonçalves Bezerra, Betânia Maria Pereira dos Santos

Quadro 3 - Caracterização dos trabalhos que abordam diagnóstico e tratamento da COVID-19.

Identificação do Estudo	Tipo de estudo	Objetivo
Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV) - BioScience Trends [Internet]. 2020; 14(1):69-71	comunicado	Descrever as opções de tratamento disponíveis
COVID-19: Immunology and treatment options - Clin Immunol. 2020; 215: 108448	artigo de revisão	aborda aspectos da imunologia e tratamento
Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro - Cell Res. 2020; 30(3): 269-271	carta ao editor	aborda os efeitos in vitro da cloroquina e remdesivir
Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies - Biosci Trends. 2020; 14(1): 72-73	carta ao editor	aborda sobre a eficácia da cloroquina no tratamento
Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial - Int J Antimicrob Agents. 2020; 105949	artigo original	avaliar o papel da cloroquina na carga viral
No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection - Med Mal Infect. 2020; 50(4): 384	carta ao editor	aborda sobre a ineficácia da cloroquina associada a azitromicina nos casos graves
Outcomes of Hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with COVID-19 medRxiv Server. 2020 apr	artigo original	avaliar a eficácia da cloroquina
Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis - The Lancet. 2020; 6736(20): 31180-31186	artigo original	Avaliar os efeitos da cloroquina ou hidroxicoquina com ou sem a associação com macrolídeo no tratamento de pacientes com a COVID-19
Chloroquine diphosphate in two different dosages as adjunctive therapy of hospitalized patients with severe respiratory syndrome in the context of coronavirus (SARS-CoV-2) infection: Preliminary safety results of a randomized, double-blinded, phase IIb clinical trial (CloroCovid-19 Study) medRxiv Preprint. 2020 apr	artigo original	avaliar a eficácia e segurança da cloroquina em duas dosagens
The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus J Biol Chem. 2020; 295(15): 4773-4779	artigo original	avaliar a eficácia do remdesivir
Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19 N Engl J Med. 2020; NEJMoa2007016	artigo original	avaliar a eficácia do remdesivir

DISCUSSÃO

Características do SARS-Cov-2

Os coronavírus são vírus com genoma de RNA fita simples. Foram identificados até o momento coronavírus que acometem humanos (HCoV) tais como HCoV-229E e NL63, MERS-CoV, SARS-CoV, HCoV-OC43 e HCoV-HKU1¹².

Em dezembro de 2019, em Wuhan, na China, foram relatados casos de pacientes com tosse, febre e dispneia, dificuldade respiratória aguda devido a uma infecção microbiana não identificada. Sequenciamento genético revelou um vírus que possuía 88% de identidade à sequência de dois coronavírus que causam doenças graves, do tipo síndromes respiratórias agudas derivadas de morcegos. O novo vírus foi então chamado "SARS-CoV-2" pela Comissão Internacional de Classificação de vírus¹³⁻¹⁵.

Em reconhecimento à transmissão global generalizada da COVID-19, a OMS declarou situação de pandemia em 11 de março de 2020 sendo em 23 de março 332.930 casos confirmados no mundo e 14.510 mortes¹⁶.

O genoma do SARS-CoV-2 é similar ao de CoVs típicos e produz as proteínas não-estruturais e as estruturais (*spike* ou espícula (S), envelope-E, nucleocápside-N e proteínas da membrana-M) do vírus, bem como várias proteínas acessórias com funções desconhecidas que não participam da replicação viral¹⁷⁻¹⁹. A enzima Dipeptidil peptidase 4 (DPP4) foi identificada como um receptor funcional para MERS-CoV, porque o domínio S1 se liga ao receptor^{20,21}.

A proteína S dos coronavírus tem sido relatada como um elemento importante na entrada do vírus em células hospedeiras. Esta glicoproteína se liga ao seu receptor celular, ACE2, para SARS-CoV e SARS-CoV-2, CD209L (uma lectina do tipo C, também conhecida como L-SIGN) para SARS-CoV, DPP4 para MERS-CoV^{22,23,20}. Estudos tem mostrado que o vírus tem sofrido mutações, mas não se sabe ainda se estas mutações interferem na infecciosidade do mesmo.¹³

Características Clínicas e Epidemiologia da doença

Os sintomas e sinais clínicos da COVID-19 são em sua maioria inespecíficos incluindo sintomas respiratórios, febre, tosse improdutiva, dispnéia, mialgia, fadiga, leucopenia, evidência de disfunção hepática e/ou renal e evidência radiográfica de pneumonia¹⁴.

Em um dos maiores estudos epidemiológicos na China, 81% de todos os infectados apresentaram sintomas leves (febre, tosse, mal-estar), 19% necessitaram de hospitalização e 5% de cuidados intensivos, no entanto, a idade superior a 80 anos foi associada a uma letalidade maior²⁴.

Os primeiros casos de SARS-Cov-2 foram relatados em dezembro de 2019 na China²⁵. Nesse período, cinco pacientes

foram hospitalizados com síndrome do desconforto respiratório agudo e um desses evoluiu para óbito²⁶. Em janeiro de 2020, 41 pacientes hospitalizados foram diagnosticados com COVID-19 e menos da metade desses pacientes apresentava doenças subjacentes, incluindo diabetes, hipertensão e doença cardiovascular²⁷.

Presumiu-se que esses pacientes adquiriram o vírus naquele hospital, provavelmente devido a uma infecção hospitalar. Concluiu-se naquele momento que o SARS-Cov-2 não era um vírus de rápida e fácil propagação, mas provavelmente se disseminava devido a muitos pacientes serem infectados em vários locais do hospital por mecanismos desconhecidos. Além disso, apenas os pacientes que ficaram clinicamente doentes foram testados. Portanto, provavelmente havia muito mais pacientes que estavam presumivelmente infectados. Em 22 de janeiro de 2020, um total de 571 casos do novo coronavírus foram relatados em 25 províncias (distritos e cidades) na China²⁸.

A Comissão Nacional de Saúde da China informou os detalhes das 17 primeiras mortes até 22 de janeiro de 2020. Relatório de 24 de janeiro de 2020 estimou a incidência cumulativa na China em 5502 casos^{29,30}. Em 30 de janeiro de 2020, 7734 casos foram confirmados na China e 90 outros foram relatados em países que incluíram Taiwan, Tailândia, Vietnã, Malásia, Nepal, Sri Lanka, Camboja, Japão, Cingapura e República da Coreia, Emirados Árabes Unidos, Estados Unidos, Filipinas, Índia, Austrália, Canadá, Finlândia, França e Alemanha³¹. No Brasil, o primeiro caso foi confirmado em 26 de fevereiro de 2020, de um homem que viajou para a região da Lombardia, no norte da Itália³². No Brasil, segundo o painel do coronavírus do Ministério da Saúde, em 08 de maio foram confirmados 145.328 casos e 9.897 óbitos de COVID-19³³.

Diagnóstico laboratorial

O teste padrão ouro para detecção é a reação em cadeia da polimerase pela técnica da PCR de transcriptase reversa (RT-PCR). O teste detecta o vírus nas secreções respiratórias, nos primeiros dias após o início dos sintomas, todavia estudos tenham mostrado detecção viral mesmo muitos dias após o início dos sintomas, embora acredite-se que esta detecção viral tardia não represente a partícula viral íntegra e, portanto, viável e infecciosa e sim fragmentos do RNA viral^{34,35}.

Com relação aos testes rápidos que detectam anticorpos das classes IgM e IgG, a literatura têm mostrado que estes ensaios apresentam baixa sensibilidade durante a fase inicial da infecção, ou seja, um resultado negativo não exclui a infecção, e, portanto, sozinho este teste não é recomendado para o diagnóstico inicial da COVID-19. Se o teste molecular não estiver disponível, a combinação do teste rápido e a To-

ARTIGO 11

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-CoV-2)
 Maria Soraya Pereira Franco Adriano, Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, João Felipe Bezerra, Ronaldo Rodrigues Sarmento,
 Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Maryanne Pereira Franco Adriano, Felipe Gonçalves Bezerra, Betânia Maria Pereira dos Santos

mografia computadorizada (TC) do tórax pode ser útil para o diagnóstico^{36,37}.

A TC apresentou um ótimo valor diagnóstico clínico especialmente em áreas de alta prevalência de SARS-CoV-2. Entretanto, também apresentam algumas deficiências, como por exemplo falso-negativo em estágio inicial da doença³⁹. Em estudo realizado na Tailândia com 82 casos confirmados de COVID-19 por PCR, em dois laboratórios de referência, a TC de tórax foi positiva em apenas 38 dos 82 casos. A maioria dos rastreados eram assintomáticos ou relataram apenas leves sintomas, nenhum apresentou achados anormais na TC do tórax³⁸.

Prevenção e Tratamento

O isolamento social inclui medidas que limitem atividades desnecessárias e aquelas que gerem aglomeração de pessoas^{39,40}. Para Yasaka e colaboradores⁴⁰, o rastreamento por meio do smartphone, pode ser uma solução viável às medidas de prevenção, além de limitar a disseminação da doença. O rastreamento de contato é o processo de rastreamento de possíveis rotas de transmissão de uma infecção, por meio de uma população com o objetivo de isolar aqueles que possam ter sido expostos e reduzir ainda mais transmissão.

Estão sendo realizados ensaios clínicos para testar medicamentos para a COVID-19 com resultados de grandes estudos randomizados promissores, muito embora ainda não se tenha uma droga preconizada para tratar a doença⁴¹. É importante deixar claro que muitas destas drogas ainda estão em fase de teste, não devendo sob hipótese alguma serem utilizadas pelas pessoas.

Hidroxicloroquina

Os derivados de fosfato e sulfato são administrados como antimaláricos, e a hidroxicloroquina é amplamente utilizada como agente imunomodulador no lúpus eritematoso sistêmico. Além disso, a cloroquina mostrou atividade antiviral contra influenza, vírus Chikungunya, CoV sazonais e SARS. A atividade antiviral de derivados de cloroquina contra SARS-CoV-2 foi identificada *in vitro* desde o início^{41,42}.

Com base nisso, o medicamento foi rapidamente introduzido no uso clínico, e relatórios preliminares sugeriram uma melhor eliminação viral e resultados clínicos em pacientes com COVID-19 que receberam o medicamento durante 10 dias⁴³. Um pequeno estudo piloto francês randomizando em 36 pacientes com COVID-19, sugeriu uma eliminação do vírus acelerada em pacientes tratados com uma combinação de hidroxicloroquina e azitromicina⁴⁴. No entanto, outros testaram os resultados e não encontraram benefício no re-

sultado da doença ou na depuração viral⁴⁵. O maior estudo (também retrospectivo) até o momento, que avaliou a hidroxicloroquina por si só ou em combinação com a azitromicina, não encontrou benefício, mas, na verdade, um risco aumentado de mortalidade entre os pacientes que receberam hidroxicloroquina⁴⁶.

Um estudo explorando o difosfato de cloroquina em dois esquemas de dosagem foi forçado a terminar precocemente devido a preocupações com o aumento da mortalidade no grupo de altas doses. Os autores concluíram que o tratamento com altas doses de cloroquina por 10 dias não foi suficientemente seguro e não deve mais ser usado em pacientes graves com SARS-CoV-2⁴⁷.

Um estudo multinacional observacional realizado em 671 hospitais de 6 continentes sobre o uso da hidroxicloroquina ou cloroquina com ou sem macrolídeo e seus efeitos no tratamento de COVID-19 verificou que não foi possível confirmar um benefício quando usadas isoladamente ou em associação com um macrolídeo no tratamento. Segundo os autores o uso do medicamento foi associado à diminuição da sobrevida hospitalar e a um aumento da frequência de arritmias ventriculares⁴⁸. Após a publicação deste estudo, a OMS suspendeu os ensaios clínicos com estes fármacos para o tratamento da COVID-19 que estava sob sua responsabilidade e irá analisar com cautela os resultados dos estudos desenvolvidos até o momento.

Remdesivir e outros análogos de nucleosídeo

Análogos de nucleosídeos têm sido explorados como opções de tratamento para COVID-19. Os candidatos incluem favipiravir, geldesivir, ribavirina e remdesivir, sendo que este último recebeu mais atenção. O remdesivir, um pró-fármaco à adenosina, foi originalmente desenvolvido para o tratamento de vírus da febre hemorrágica, ou seja, vírus Ebola (EBOV) e Marburg, mas com desempenho inferior ao tratamento com EBOV comparado às estratégias de anticorpos. Ambos têm atividade antiviral *in vitro* em MERS e SARS. Competindo com ATP e substituindo a adenosina durante a síntese de RNA, o remdesivir inibe a RNA polimerase dependente de RNA viral (RdRp)⁴⁹.

O remdesivir foi submetido a testes *in vitro* no Wuhan Virus Research Institute, no início do surto de SARS-CoV2, foi identificado como inibidor potente da infecção viral em culturas de células em concentrações facilmente alcançáveis *in vivo*. Foi usado pela primeira vez, com sucesso, em um paciente COVID-19, em janeiro de 2020⁵⁰. Estudos na China têm demonstrado redução significativa da mortalidade em pacientes graves⁵¹.

Atualmente, os ensaios estão em andamento na Europa e na América do Norte. Com uma redução efetiva da carga viral pulmonar, em modelos animais. O remdesivir pode oferecer uma opção de tratamento futuro eficaz e viável⁴¹.

Limitações do estudo

Por se tratar de um tema novo e muitos estudos estejam em condução, trabalhos futuros irão possibilitar mais conclusões.

Contribuições para a prática

Em meio à crise sanitária vivenciada no mundo, esse estudo proporciona conhecimento atual sobre o novo coronavírus e a COVID-19 com informações relevantes para os profissionais da área da saúde e para a comunidade científica como um todo, além de auxiliar a condução de novas pesquisas sobre o tema.

CONCLUSÃO

Os estudos têm mostrado a semelhança desse vírus com vírus encontrados em morcegos. Análises genéticas de sequenciamento têm mostrado que o vírus sofreu mutações, mas ainda não é possível afirmar se estas mutações implicam em maior infecciosidade.

Em diferentes partes do mundo a doença mostrou um perfil epidemiológico diferente. Tem sido rápida a evolução do número de casos confirmados pelo Ministério da Saúde, embora este número possa refletir subnotificação, por fato-

res diversos. Com relação ao diagnóstico, o teste molecular ainda é o mais recomendado para a detecção do vírus, porém é importante que se obedeça aos critérios de elegibilidade do teste, como a quantidade de dias de sintomas e o correto armazenamento e envio ao laboratório, para que se garanta um resultado fidedigno.

Vários estudos estão sendo conduzidos em todo o mundo para descobrir um tratamento. Até o momento, a droga mais promissora é o remdesivir. Vale destacar que todos estes medicamentos ainda estão em fase de teste e que, enquanto não se dispor de uma vacina, a melhor arma para combater a COVID-19 é o isolamento social.

Contribuições dos Autores: Maria Soraya Pereira Franco Adriano: concepção, análise e interpretação dados, revisão crítica e aprovação da versão final a ser publicada; Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo: concepção, coleta, análise e interpretação dados, redação, revisão crítica e aprovação da versão final a ser publicada; João Felipe Bezerra: revisão crítica e aprovação da versão final a ser publicada; Ronaldo Rodrigues Sarmiento: revisão crítica e aprovação da versão final a ser publicada; Ana Carolina Bernardes Dulgheroff: coleta, análise e interpretação dados, coleta, análise e interpretação dados; Maryanne Pereira Franco Adriano: coleta de dados, análise e interpretação dos dados; Felipe Gonçalves Bezerra: concepção, coleta de dados, redação do manuscrito; Betânia Maria Pereira dos Santos: revisão crítica e aprovação da versão final a ser publicada.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) Situation Report - 109 [Internet]. 2020 fev [cited 2020 May 08]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/>.
2. De Salazar PM, Niehus R, Taylor A, Buckee CO, Lipsitch M. Identifying Locations with Possible Undetected Imported Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Cases by Using Importation Predictions. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2020 [cited 2020 Apr 08]; 26(7). Available from: <https://doi.org/10.3201/eid2607.200250>.
3. Velavan TP, Meyer GG. The Covid-19 epidemic. *Tropical Med. Int. Health*. v. 25, n.3, p. 278-280, 2020. *Trop Med Int Health* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 30]; 25(3): 278-280. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7169770/>.
4. Nishiura H, Linton NM, Akhmetzhanov AR. Initial cluster of novel coronavirus (2019-nCoV) infections in Wuhan, China is consistent with substantial human-to-human transmission. *J. Clin. Med* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 20]; 9(2): 488. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7073724/>.
5. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 20]; 382(8): 727-733. Available from: doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
6. Lin X, Gong Z, Xiao Z, Xiong J, Fan B, Liu J. Novel coronavirus pneumonia outbreak in 2019: Computed tomographic findings in two cases. *Korean J. Radiol* [in-

ARTIGO 11

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)
 Maria Soraya Pereira Franco Adriano, Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, João Felipe Bezerra, Ronaldo Rodrigues Sarmiento,
 Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Maryanne Pereira Franco Adriano, Felipe Gonçalves Bezerra, Betânia Maria Pereira dos Santos

ternet]. 2020 [cited 2020 apr 09]; 21(3): 365-368. Available from: doi: 10.3348/kjr.2020.0078.

7. Wang To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC, Chan JMC, et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 03]; ciaa149. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32047895/>.

8. Bastola A, Sah R, Rodriguez-Morales AJ, Lal BK, Jha R, Ojha HC, et al. The first 2019 novel coronavirus case in Nepal. *Lancet Infect. Dis* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 03]; 20(3): 279-280. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32057299/>.

9. Rother ET. Revisão sistemática X revisão narrativa. *Acta paul. Enferm* [internet]. 2007 [cited 2020 may 02]; 20(2): 1-8. Available from: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-21002007000200001-8&lng=en&nm=iso&tlng=pt.

10. Mota M, Cunha M, Santos M, Cunha ICKO, Alves M, Marques N. Intervenções de enfermagem pré-hospitalar: revisão narrativa. *Enfermagem em foco* [internet]. 2019 [cited 2020 may 05]; 10(4): 1-9. Available from: <http://revista.cofen.gov.br/index.php/enfermagem/article/view/2527>.

11. Santos MG, Bitencourt JVOV, Silva TG, Frizon G, Quinto AS. Etapas do processo de enfermagem: uma revisão narrativa. *Enfermagem em foco* [internet]. 2017 [cited 2020 may 05]; 8(4): 49-53. Available from: <http://revista.cofen.gov.br/index.php/enfermagem/article/view/1032/0>.

12. Fauci AS, Lane C, Redfield RR. Covid-19-Navigating the Uncharted. *N Engl J Med* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 30]; 382(13): 1268-1269. Available from: doi: 10.1056/NEJ-Me2002387.

13. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 30]; 395(10224): 565-574. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30251-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30251-8/fulltext).

14. Guan W, Ni ZY, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 28]; 382(18): 1708-1720. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2002032>.

15. Li Q, Med M, Guan X, Wu P, Wuang X, Zhou L, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 03]; 382(13): 1199-1207. Available from: [nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001316](https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001316).

16. Michael TM, Currie DW, Clark S, Pogojans S, Kay M, Schwartz G, et al. Epidemiology of Covid-19 in a Long-Term Care Facility in King County, Washington. *N Engl J M* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 09]; 382(21): 2005-2011. Available from: doi: 10.1056/NEJMoa2005412.

17. Knoop K, Kikkert M, Van Den Worm SHE, Zevenhoven-Dobbe JC, Van Der Meer Y, Koster AJ, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol* [internet]. 2008 [cited 2020 apr 10]; 16:6(9): e226. Available from: doi: 10.1371/journal.pbio.0060226.

18. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* [internet]. 2006 [cited 2020 mar 03]; 66: 193-292. Available from: doi: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3.

19. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [internet]. 2020 [cited 2020 may 4]; 10(2): 102-108. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177920302045>.

20. Raj VS, Mou H, Smits SL, Dekkers DHW, Müller MA, Dijkman R, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature* [internet]. 2013 [cited 2020 mar 09]; 495(7440): 251-254. Available from: doi: 10.1038/nature12005.

21. Barlan A, Zhao J, Mayukh K, Li K, McCray Jr PB, Perlman S, et al. Receptor variation and susceptibility to Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *J Virol* [internet]. 2014 [cited 2020 apr 02]; 88(9): 4953-4961. Available from: doi: 10.1128/JVI.00161-14.

22. Chu H, Chan JF-W, Yuen TT, Shuai H, Yuan S,

MPhill YW, et al. Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study. *The Lancet Microbe* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 30]; 1(1): e14-e23. Available from: doi: 10.1016/S2666-5247(20)30004-5.

23. Jeffers AS, Tusell SM, Gillim-Ross L, Hemmila EM, Achenbach JE, Babcock GJ, et al. CD209L (L-SIGN) is a receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* [internet]. 2004 [cited 2020 apr 8]; 101(44): 15748-15753. Available from: <https://www.pnas.org/content/101/44/15748>.

24. Ross SW, Lauer CW, Miles WS, Green JM, Christmas AB, May AK, et al. Maximizing the Calm Before the Storm: Tiered Surgical Response Plan for Novel Coronavirus (COVID-19). *Journal of the American College of Surgeons* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 04]. Available from: [https://www.journalacs.org/article/S1072-7515\(20\)30263-5/pdf](https://www.journalacs.org/article/S1072-7515(20)30263-5/pdf).

25. Du Toit A. Outbreak of a novel coronavirus. *Nat. Rev. Microbiol* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 03]; 18(3): 123. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31988490/>.

26. Ren LL, Wang YM., Wu ZQ, Xiang ZC, Guo L, Xu T. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese Med J* [internet]. 2020 [cited may 08]; 133(9):1015-1024. Available from: doi: 10.1097/CM9.0000000000000722.

27. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* [internet]. 2020 [cited mar 22]; 395(10223): 497-506. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30183-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30183-5/fulltext).

28. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci. Trends* [internet]. 2020 [cited 2020 may 01]; 14(1): 69-71. Available from: <https://doi.org/10.5582/bst.2020.01020>.

29. Wang W, Tang J, Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *J. Med. Virol* [internet]. 2020 [cited 2020

may 01]; 92(4):441-447. Available from: doi: 10.1002/jmv.25689.

30. Nishiura H, Jung SM, Linton NM, Kinoshita R, Yang Y, Hayashi K. The extent of transmission of novel coronavirus in wuhan, China, 2020. *J. Clin. Med* [internet]. 2020 [cited 2020 feb 20]; 24(9(2): 330. Available from: doi: 10.3390/jcm9020330.

31. Bassetti M, Vena A, Roberto Giacobbe D. The Novel Chinese Coronavirus (2019-nCoV) Infections: challenges for fighting the storm. *Eur. J. Clin. Invest* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 02]; 50(3): e13209. Available from: doi: 10.1111/eci.13209.

32. Rodriguez-Morales AJ. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 01]; 101613. Available from: doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101613.

33. Ministério da Saúde (BR). Painel Coronavírus. 2020 may [cited 2020 May 08]. Available from: <https://covid.saude.gov.br>.

34. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguín-Rivera Y, Escalera-Antezana YP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* [internet]. 2020 [2020 apr 01]; 34: 101623. Available from: doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101623.

35. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for samples for COVID-19. 2020 feb [cited 2020 May 08]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>.

36. Imai K, Tabata S, Ikeda M, Nocuchi S, Kitagawa Y, Matuoka M, et al. Clinical evaluation of an immunochromatographic IgM/IgG antibody assay and chest computed tomography for the diagnosis of COVID-19. *J Clin Virol* [internet]. 2020 [cited 2020 may 08]; 128: 104393. Available from: doi: 10.1016/j.jcv.2020.104393.

37. Corman, VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* [internet]. 2020 [cited 2020 feb 27]; 25(3): 2000045. Available from: doi : 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.

ARTIGO 11

REVISÃO NARRATIVA DE LITERATURA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA GRAVE E A COVID-19 (SARS-COV-2)
 Maria Soraya Pereira Franco Adriano, Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, João Felipe Bezerra, Ronaldo Rodrigues Sarmento,
 Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Maryanne Pereira Franco Adriano, Felipe Gonçalves Bezerra, Betânia Maria Pereira dos Santos

38. Mungmunpuntantip R, Wiwanitkit V. Uncertainty in using chest computed tomography in early coronavirus disease (COVID-19). *Can J Anesth* [internet]. 2020 [cited 2020 may 08]; 67(7): 897. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32240519>.
39. Akiyama MJ, Spaulding AC, Rich JD. Flattening the Curve for Incarcerated Populations – Covid-19 in Jails and Prisons. *NEJM Group* [internet]. 2020 [cited 2020 may 07]; 382: 2075-2077. Available from: [doi:10.1056/NEJM2005687](https://doi.org/10.1056/NEJM2005687).
40. Yasaka TM, Lehigh BM, Sahyouni R. Peer-to-Peer Contact Tracing: A Privacy-Preserving Smartphone app. *JMIR Mhealth Uhealth* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 20]; 8(4): e18936. Available from: [doi: 10.2196/18936](https://doi.org/10.2196/18936).
41. Felsenstein S, Herbert JN, Mcnamara OS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol* [internet]. 2020 [cited 2020 may 01]; 215: 108448. Available from: [doi: 10.1016/j.clim.2020.108448](https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108448).
42. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 07]; 30(3): 269-271. Available from: [doi: 10.1038/s41422-020-0282-0](https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0).
43. Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci Trends* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 28]; 14(1): 72-73. Available from: [doi: 10.5582/bst.2020.01047](https://doi.org/10.5582/bst.2020.01047).
44. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents* [internet]. 2020 [cited 2020 apr 16]; 105949. Available from: [doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105949).
45. Molina JM, Delaugerre C, Le Goff J, Mela-Lima B, Ponscarne D, Goldwirt L, et al. No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection. *Med Mal Infect* [internet]. 2020 [cited 2020 may 03]; 50(4): 384. Available from: [doi: 10.1016/j.medmal.2020.03.006](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.03.006).
46. Magagnoli JN, Narendran S, Pereira F, Cummings T, Hardin JW, Sutton SS, et al. Outcomes of Hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with COVID-19. *medRxiv Server*. 2020 apr [cited 2020 may 02]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.16.20065920v2>.
47. Borba MGS, Val FFA, Sampaio VS, Alexandre MAA, Melo GC, Brito M, et al. Chloroquine diphosphate in two different dosages as adjunctive therapy of hospitalized patients with severe respiratory syndrome in the context of coronavirus (SARS-CoV-2) infection: Preliminary safety results of a randomized, double-blinded, phase IIb clinical trial (Cloro-Covid-19 Study) *medRxiv Preprint*. 2020 apr [cited 2020 may 03]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.07.20056424v1.full.pdf>.
48. Mehra MR, Desai SS, Ruschitzka F, Patel NA. Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis. *The Lancet* [internet]. 2020 [cited 2020 may 28]; 6736(20): 31180-31186. Available from: [https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736\(20\)2931180-6](https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736(20)2931180-6).
49. Gordon CJ, Tchesnokov EP, Feng JY, Porter DP, Gotte M. The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Biol Chem* [internet]. 2020 [cited 2020 may 05]; 295(15): 4773-4779. Available from: [doi: 10.1074/jbc.AC120.013056](https://doi.org/10.1074/jbc.AC120.013056).
50. Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Tang HJ, Hsueh PR. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *Int J Antimicrob Agents* [internet]. 2020 [cited 2020 mar 27]; 55(3): 105924. Available from: [doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924).
51. Grein J, Ohmagari N, Shin D, Diaz G, Asperges E, Castagna A, et al. Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *N Engl J Med* [internet]. 2020 [cited 2020 may 06]; NEJMoa2007016. Available from: [doi: 10.1056/NEJMoa2007016](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2007016).

**ANEXO D– CAPÍTULO DE LIVRO: AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA
COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2**

**Instituto Medeiros de Educação Avançada -
IMEA**

Editor Chefe

Giselle Medeiros da Costa One

Corpo Editorial

Giselle Medeiros da Costa One

Maria Luiza Souto Porto

Roseanne da Cunha Uchôa

Iara Medeiros de Araújo

Revisão Final

Ednice Fideles Cavalcante Anízio

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados de Acordo com AACR2, CDU e CUTTER

O59c	One, Giselle Medeiros da Costa. Ciências naturais e exatas: os desafios do novo cenário / Organizador: Giselle Medeiros da Costa One. IMEA. 2022. 319 p. PDF Vários colaboradores ISBN: 978-65-89069-28-7 Modelo de acesso: Word Wibe Web <http://www.cinasama.com.br> Instituto Medeiros de Educação Avançada – IMEA – João Pessoa - PB 1. Ciências naturais e exatas – Ciências Agrárias 2. Ciências Biológicas 3. Geociências 4. Química I. One, Giselle Medeiros da Costa. II. Ciências naturais e exatas: os desafios do novo cenário CDU: 500
------	---

Laureno Marques Sales, Bibliotecário especialista. CRB -15/121

Direitos desta Edição reservados ao Instituto Medeiros de Edu
cação Avançada – IMEA
Impresso no Brasil / Printed in Brazil

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA
DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

CAPÍTULO 10

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Felipe Gonçalves BEZERRA¹ João
Felipe BEZERRA² Maria Soraya Pereira
Franco ADRIANO³

¹ Mestrando em Biologia Celular e Molecular, UFPB; ² Coorientador/Professor da ETS/UFPB; ³ Orientadora/Professora do PGBCM/UFPB.
felipebiomedicina@outlook.com

RESUMO: O novo Coronavírus, denominado Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), foi identificado pela primeira vez em Wuhan, província de Hubei, China, e agora se propaga para todos os países. Os indícios surgem que o SARS-CoV-2, seja um romance entre dois coronavírus graves (MERS-CoV e SARS-CoV), derivada dos moços ferradura chineses. O exame RT-qPCR através da coleta de células da mucosa nasal *Swabs* nasofaríngeos (NSP)

o “padrão ouro” para detecção da SARS-CoV-2. Esse método, além de doloroso e invasivo, pode aumentar os riscos de infecção entre os profissionais de saúde. Estudos apontam que o SARS-CoV-2 pode ser facilmente detectado pela saliva em comparação com NSP. Essa pesquisa teve como objetivo explicar, através de um levantamento bibliográfico de revisão de literatura, a importância do uso da saliva como biomarcador para detecção do SARS-CoV-2. As informações foram obtidas numa seleção de 41 artigos. O instrumento utilizado para coleta de dados incluiu-se a utilização de consulta na base de dados do Google acadêmico, Scielo, Bireme e Biblioteca Virtual em Saúde de forma gratuita. Através dos dados obtidos, observou-se que a saliva apresentar sensibilidade comparáveis ao encontrado em amostras NSP, sendo um método seguro e

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA
DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

eficaz na detecção de SARS-CoV-2. **Palavras-chave:** Biomarcadores. Covid-19. Infecção por SARS-CoV-2. Saliva.

INTRODUÇÃO

A duas décadas atrás, o MERS-CoV e SARS-CoV causaram mais de 10.000 casos cumulativos, com taxas de mortalidade de 10% para SARS-CoV e 37% para MERS-CoV (HUANG, et al., 2020). O primeiro caso relatado da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) ocorreu no Sul da China e propagou por todo mundo entre 2002 a 2003. Em novembro de 2002, uma epidemia anormal de pneumonia com elevada taxa de transmissão e complicações aos profissionais de saúde, ocorreu em Foshan, Guangdong, china. Em março de 2003, um novo CoV foi identificado como agente causador da SARS chamado de SARS-CoV. Após 10 anos do primeiro caso de SARS-CoV, em setembro de 2012 na Jeddah, Arábia Saudita, um homem de 60 anos padecendo de pneumonia aguda e insuficiência renal, foi relatado como primeiro caso da Síndrome Respiratória no Oriente Médio (MERS). Inicialmente identificado como 'Erasmuns Medical Center' o vírus posteriormente chamado de MERS-CoV pelo consenso internacional (SOTO, 2020; SAGREDO, et al., 2020).

No final de dezembro de 2019, foi relatado uma sequência de casos de pneumonia de origem desconhecida em Wuhan, província de Hubei, China, com aspectos clínicos semelhantes a um vírus MERS (MORRELL, et al., 2020). A análise de uma sequência de genoma em amostra do trato respiratório em cinco pacientes com pneumonia, hospitalizados desde do dia 18 de dezembro a 29 de dezembro de 2019, revelou a presença de um novo coronavírus, que foi nomeado como "SARS-CoV-2" pela Comissão Internacional de Classificação de Vírus (ICTV) (CASTRO, et al., 2020; CESPEDDES). O vírus SARS-CoV-2 em

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

humanos é desconhecido. Os indícios de outras zoonoses virais surgem um romance entre dois coronavírus graves SARS-CoV, derivada dos morcegos ferradura chineses (*Rhinolophus sp.*) como hospedeiro intermediário e MERS-CoV. O SARS-CoV-2 é um novo *betacoronavírus* (Beta-CoVs) que apresenta semelhança genética de 79% com SARS-CoV e de 50% com MERS-CoV (CARVALHO, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020).

Através da coleta *Swabs* nasofaríngeos (NPS), é obtido o monitoramento serial da carga viral de SARS-CoV-2, mas esse tipo de coleta, pode induzir a tosse e causar desconforto aos pacientes, além de aumentar os riscos de infecção entre os profissionais de saúde (ADENIJI, 2020; JIN; XU; YAUN, 2020). Em contrapartida, estudos apontam que o SARS-CoV-2 pode ser facilmente detectado pela saliva, embora atualmente esse tipo de diagnóstico seja limitado, devido às demandas existentes no país, todavia, o valor do diagnóstico das amostras de saliva para o exame de SARS-CoV-2 pode ser promissor, reduzindo assim, os riscos de transmissão (AZZI, et al., 2021; RIVAS, et al., 2020).

Mediante a proposta escolhida, essa pesquisa teve como objetivo explicar, através de um levantamento bibliográfico de revisão de literatura, a importância do uso da saliva como biomarcador para detecção do SARS-CoV-2.

MATERIAIS E MÉTODO

Trata-se de uma pesquisa de revisão de literatura. As informações foram obtidas numa seleção de 67 artigos, referindo-se ao respectivo tema, mas apenas 41 dos 67 artigos que foram selecionados, estavam dentro dos critérios de inclusão para serem utilizados na construção do estudo. O instrumento utilizado para coleta de dados incluiu-se a utilização de consulta

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

na base de dados do Google acadêmico, Scielo, Bireme e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) de forma gratuita por meio das palavras-chave: biomarcadores, Covid-19, infecção por SARS-CoV-2 e saliva. O Critério de elegibilidade incluiu artigos registrados entre 2017 a 2021 no idioma Português, Inglês e Espanhol. Dentre os critérios observados foram considerados os seguintes aspectos: disponibilidade do texto integral do estudo e clareza no detalhamento metodológico utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após leitura criteriosa dos artigos nas bases de dados nos referidos bancos de dados, realizou-se o fichamento catalográfico do material bibliográfico com o intuito de dinamizar a leitura e compreensão dessa revisão, optouse por dividi-la em seis tópicos principais: características gerais dos coronavírus, genoma viral de SARS-CoV-2 e entrada na célula por meio da ligação entre ECA2 e proteína S, meio de transmissão; métodos profiláticos, manifestações clínicas, diagnóstico laboratorial e considerações moleculares acerca da saliva como biomarcador para detecção do SARS-COV-2.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS CORONAVÍRUS

Os coronavírus (CoVs) são vírus envelopados não segmentados, com genoma de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples positiva (+ ssRNA), variando de 60nm a 140nm de diâmetro junto com “Spikes” de 8nm a 12nm de longitude aproximadamente. Apresentam projeções semelhantes a

4

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

espinhos em sua superfície dando um aspecto de coroa na visualização em microscopia eletrônica (CESPEDES; SOUZA, 2020). São vírus pertencentes a família Coronaviridae e a ordem Nidovirales (vírus que usa um conjunto de mRNA para replicação). A família Coronaviridae é subdividida em as subfamílias Torovirinae e Coronavirinae que se manifestam em mamíferos e aves, causando problemas respiratórios, entéricos, hepáticos neurológicas e neurológicas de gravidade variável (SINGHAL, 2020; LU, et al., 2020). A subfamília dos Coronavirinae contém quatro gêneros: *alphacoronavírus* (α) e *betacoronavírus* (β) que infectam os mamíferos e os *gamacoronavírus* (γ) e *deltacoronavírus* (δ) que infectam as aves. Acredita-se que até o presente momento exista apenas sete coronavírus que causam doenças em seres humanos. Sendo que quatro deles (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1) causam sintomas leves, semelhante a um resfriado comum, é as epidemias dos demais vírus apresentam sintomas mais graves (MERS-CoV - Síndrome Respiratória no Oriente Médio, SARS-CoV - Síndrome Respiratória Aguda Grave e SARS-CoV-2) (FAM, et al., 2020; MOITINHO, et al., 2020).

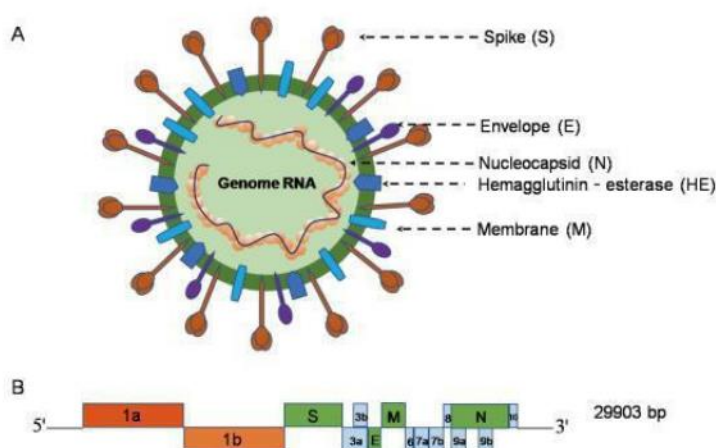
GENOMA VIRAL DE SARS-COV-2 E ENTRADA NA CÉLULA POR MEIO DA LIGAÇÃO ENTRE ECA2 E PROTEÍNA S

O genoma de SARS-CoV-2 é similar ao de CoVs e contém no mínimo dez quadros de leitura abertos *Open Reading Frames* (ORFs). Os primeiros ORFs (ORF1a/b) representam aproximadamente dois terços do RNA viral, é são traduzidos em dois grandes poliproteínas replicase (pp1a e pp1ab), processadas em 16 proteínas não estruturais (nsp1-nsp16), que formam o complexo da replicase transcriptase viral (RTC). Esses nsps reorganizam as membranas originárias do retículo

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA
DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

endoplasmático (RER) em vesículas de membrana dupla onde replicação e transcrição viral ocorrem (MENEZES; LIMA; REHMAN, et al., 2021). O outro ORFs de SARS-CoV2 em um terço do genoma codifica quatro principais proteínas estruturais que estão relacionadas com a regulação de função e estrutura viral: envelope (proteína E), membrana (proteína M), *Spike* (proteína S), nucleocapsídeo (proteína N) e hemaglutinina-esterase (proteína HE) (Figura 1). A proteína N contribui na formação do capsídeo e de toda a estrutura viral, a proteína S está relacionada ao processo de infecção viral e a proteína HE permite a entrada e a infecção da célula hospedeira. Além disso, o SARS-CoV-2 apresenta 16 proteínas não estruturais, incluindo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) (THOMAS, 2020).

Figura 1 - Representação esquemática da partícula viral e do genoma do β -Coronavírus. (A) Partícula viral. (B) Genoma viral.



Fonte: Jin, et al. 2020; adaptado.

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA
DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

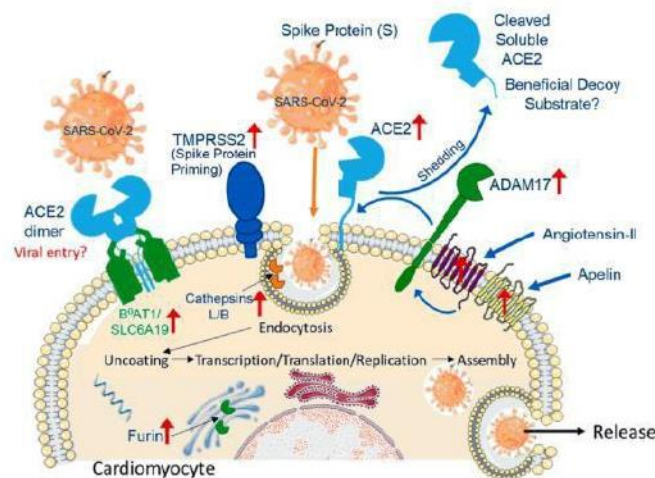
A enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) é uma proteína de membrana tipo I expressa no pulmão, coração, rim e intestino. O comprimento total da ECA2 consiste em um domínio N-terminal (PD) e um domínio C-terminal que termina com uma única hélice transmembrana e um segmento intracelular (JIN, et al., 2020; LU, et al., 2020). Os níveis solúveis dessa enzima geralmente são baixos no sangue. Por isso, o receptor de angiotensina II tipo1 (AT1), ativa a metaloprotease 17 (ADAM17) que cliva o ectodomínio da ECA2, aumentando os níveis de ECA2 solúveis (CESPEDES; SOUZA, 2020; AUN, et al., 2020). A clivagem da angiotensina I para II fornece um local de ligação para proteína S do SARS-CoV que tem sido relatada como elemento chave para entrada do vírus na célula (SCHOLZ, et al., 2020).

A proteína de superfície S do SARS-CoV é uma glicoproteína de membrana tipo I que consiste em um domínio de ligação ao receptor de subunidade S1 N-terminal (RBD) e um domínio de subunidade S2 C-terminal que permite fusão na membrana. O RBD da S1 do SARS-CoV é ativado por uma serina protease transmembrana do tipo II (TMPRSS2), que se encontra na superfície da célula hospedeira (BASSENDINE, et al., 2020). Ao ser ativado, o RBD de S1 se liga ao domínio PD da ECA2 alterando o trímero de pré-fusão, ocasionando a eliminação da S1 para uma conformação pós-fusão, enquanto a S2 é responsável pela fusão da membrana permitindo que o genoma RNAv (RNA viral) entre na célula hospedeira (LU, et al., 2020; ROBINSON, et al., 2020). Enquanto isso, outra protease, a catepsina L, uma protease de cisteína expressa em todos os tipos de tecidos, atua facilitando a entrada da proteína S de SARS-CoV na membrana do endossomo por meio de endocitose. A interação da TMPRSS2 e catepsina L ocorre tanto em SARS-CoV quanto em SARS-CoV-2 (GOMES, et al., 2020; FAM, et al., 2020; VIEIRA; EMERY; ANDRIOLO, 2020).

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA
DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Após o vírus entra na célula, o genoma do RNA viral é liberado no citoplasma. Uma sequência de RNA atua através de um mRNA, onde este transcreve o gene da replicase viral por meio de ORF1a e ORF1ab, que é traduzido dando origem a pp1a e pp1ab (YANG; WANG, 2020). Em seguida, pp1a e pp1ab sofrem ação proteolítica para gerar às 16 nsps do complexo RTC (THOMAS, 2021). O RTC, replica e sintetiza um conjunto de RNAs guias (sgRNA) que codificam para produção das principais proteínas estruturais (S, M, E e N) e proteínas acessórias. Essas proteínas serão montadas no nível do complexo Golgi, para formar as novas partículas virais. Por fim, as partículas virais são liberadas da célula infectada (Figura 2) (REHMAN, et al., 2021).

Figura 2 - SARS-CoV-2 se liga inicialmente ao receptor de ACE2. Principais proteínas envolvidas na entrada do vírus por endocitose.



Fonte: Robinson, et al. 2020.

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

MEIO DE TRANSMISSÃO

O SARS-CoV-2 possui um grande potencial de transmissibilidade pelo contato direto com as vias aéreas superior, principalmente por meio de gotículas respiratórias e pelo contato indireto por meio das mãos, objetos ou superfícies contaminadas, de forma semelhante com que outros patógenos respiratórios se espalham. O atual estudo indica uma reprodução básica do vírus, estimada em um número de 2.2, o que significa que, em média, cada pessoa infectada espalha a infecção para mais duas pessoas (MAGALHAES, et al., 2017; SILVA, et al., 2020).

Os pacientes acometidos com SARS-CoV-2, sejam assintomáticos ou sintomáticos podem transmitir a doença, no entanto, aqueles com sintomas mais graves têm sido considerados com maior potencial de transmissão (SANTOS; BARBOSA, 2020).

MÉTODOS PROFILÁTICOS

O SARS-CoV-2 pode permanecer ativo e infeccioso na superfície de objetos inanimados (plástico, aço e papelão) por horas ou dias. A sua permanência é observada em um período maior tempo (72h) em plásticos e aço inoxidável do que em papelão (24 h) após a sua aplicação na superfície (KAMPF, et al., 2020; JIN, et al., 2020).

Devido ao potencial de sobrevivência do SARS-CoV-2 no ambiente por vários dias, os objetos contaminados pelo vírus devem ser limpos antes de serem utilizados, com produtos que contenham agentes antimicrobianos (OLIVEIRA; LUCAS; IQUIAPAZA, 2020).

Por serem as mãos o principal veículo de contaminação cruzada do vírus, a prática da higienização das mãos pela ação

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

de fricção com água e sabão diminui a ocorrência das infecções, sendo considerada uma medida profilática simples, de baixo custo e alta efetividade (OLIVEIRA, et al., 2016; SOARES, et al., 2021).

O uso dos raios ultravioletas, altas temperaturas acima de 56% em um período de 30 min e produtos desinfetantes como éter dietílico, etanol 75%, cloro, ácido peracético e clorofórmio são considerados suficientes para inativa o vírus (JIN, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas para infecções confirmadas pelo SARS-CoV-2 se apresenta clinicamente com ou sem sintomas, há relatos de pessoas com sintomas leves e outros com sintomas mais graves, chegando ao óbito, em algumas situações. Quando presentes, os mais comuns são febre $\geq 37,8$ °C (87,9%), cansaço (38,1%) e tosse seca (67,7%), (MORRELL, et al., 2020). Alguns pacientes podem ter dor de cabeça (13,6%), dor no corpo (14,8%), congestão nasal (4,8%), dor de garganta (13,9%), diarreia (3,7%), produção de escarro (33,4%), perda de olfato (30,0%), dificuldade em respirar (18,6%), calafrios (11,4%) e vômitos (5%). Esses sintomas geralmente são leves e começam gradualmente podendo se recuperar em 1 a 2 semanas (ALMEIDA, et al., 2020).

Uma em cada seis pessoas com Covid-19 fica gravemente doente e desenvolve dificuldade respiratória. As lesões graves não incluem apenas lesões pulmonares, mas também lesões cardíacas e renal, independente do paciente ter histórico de hipertensão ou não (BASSENDINE, et al., 2020).

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

As pessoas idosas e as que têm outras condições de saúde como pressão alta, problemas cardíacos ou diabetes, têm maior probabilidade de desenvolver doenças graves. A maioria das pessoas (cerca de 80%) se recupera da doença sem precisar de tratamento especial (SINGHAL, 2020; HUANG et al., 2020).

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico para SARS-CoV-2 consiste principalmente alguns exames auxiliares, como detecção de ácidos nucleicos (RT-qPCR), detecção de anticorpos (IgA, IgM e IgG) e exames por imagens (TC) (CASTRO, et al., 2020; RIVAS, et al., 2020).

O teste de detecção de ácido nucleico viral é a principal técnica para diagnóstico laboratorial do novo CoVs. A reação em cadeia da polimerase em tempo real de transcrição reversa (RT-qPCR), apresenta sensibilidade de 80% e especificidade de aproximadamente 99% para SARS-CoV-2 quando é realizada entre 2 e 5 dias do início dos sintomas. Esse método fornece informações importantes nos estágios iniciais da infecção, por meio da detecção do RNA viral, antes da formação dos anticorpos (XAVIER, et al., 2020; VILLA, et al., 2021).

A RT-qPCR baseia-se na amplificação de ácidos nucleicos viral, através do uso de fluoróforos, que se ligam ao material genético amplificado, emitindo fluorescência. O sinal de fluorescência emitido é equivalente à quantidade de fragmentos amplificados. A curva de amplificação para amostras positivas apresenta fluorescência relativamente aumentada. Nenhum aumento na fluorescência é observado quando a amostra é negativa. O limite do ciclo (Ct) representa o número do ciclo no qual a curva de amplificação cruza a linha limite e é um indicador da quantidade do gene alvo amplificado. Quanto mais baixo for o

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

valor Ct, maior será a quantidade de gene alvo (AZZI, et al. 2021; CAMPOS, et al., 2021).

De acordo com protocolos internacionais desenvolvidos pelo Instituto Charité/Berlim e recomendado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS/OMS) utilizados pela maioria dos países, os genes para identificação, incluem: N, E, S e RdRP. Esses genes, atuam como marcadores genéticos para a confirmação laboratorial da Covid-19. Atualmente, os marcadores genéticos E e RdRP são utilizados para a detecção do SARS-CoV-2 segundo os protocolos Charité. O Ministério da Saúde (MS) priorizar o gene E como primeiro marcado de escolha, por apresentar maior sensibilidade em relação ao gene RdRP para RT-qPCR (CIPITELLI, et al., 2020).

Os exames sorológicos são realizados a partir do 7 dia de sintomas e podem fornecer resultados em um período de tempo relativamente mais curto e com menor custo em comparação com RT-qPCR por coleta NPS. Esse tipo de exame, é indicado para verificar a presença de anticorpos isolados ou combinados no sangue, a fim de saber se o organismo apresentou resposta imunológica em função da exposição ao antígeno ou vacina (LEE, et al., 2020).

Os ensaios sorológicos para SARS-CoV-2, são realizados através de anticorpos das amostras do soro ou plasma dos pacientes, visando a proteína S, que dentre todas as proteínas virais, é a mais exposta, e a proteína N, que é expressa em maior quantidade durante o período de infecção. (JIN, et al., 2020; XAVIER, et al., 2020).

Os níveis de imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG) aumentam gradativamente junto com as fases de infecção, com IgM sendo detectado inicialmente ao 3 dia após a infecção, atingindo o seu pico entre

2 a 3 semanas e o IgA e (IgG) específico para SARS-CoV-2 12

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

sendo detectável ao 4 dia, atingindo seu pico após 17 dia. O IgM também pode permanecer presente no soro após 1 mês pico (LEE, et al., 2020; YANG; WANG, 2020).

A tomografia computadorizada (TC) é uma ferramenta importante para o diagnóstico da Covid-19 na prática clínica. O exame se torna mais sensível para indivíduos com alta suspeita clínica de infecção por SARS-CoV-2. Uma combinação de testes repetidos de RT-qPCR e tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) do tórax pode ser essencial para diagnóstico precoce e avaliação da gravidade da doença (ADENIJI, 2020; JIN; XU; YAUN, 2020; CHATE, et al., 2020).

Em alguns estudos, os médicos analisaram imagens de TC de tórax de pacientes infectados com SARS-CoV-2, a tomografia computadorizada apresentou um ótimo valor diagnóstico clínico para Covid-19, especialmente na área de alta prevalência de infecções por SARS-CoV-2. Entretanto, as tomografias também apresentam algumas deficiências, como por exemplo, falso-negativo em estágio inicial da doença. Nesse sentido, entende-se que a infecção assintomática por SARS-CoV-2 é possível e pode ser assintomático nos estágios iniciais, mesmo embora o RNA sendo detectado pela triagem de RT-qPCR, descartando os casos iniciais de Covid-19 por TC. (SHOJI, et al., 2020; CESPEDES; SOUZA, 2020).

CONSIDERAÇÕES MOLECULARES ACERCA DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2

Atualmente, a saliva vem desempenhando um papel importante na detecção de doenças virais, bacterianas ou sistêmicas e possui informações que vão desde biomarcadores salivares que ajudam na identificação de câncer bucal, diabetes, câncer de mama, câncer de pulmão e outras enfermidades (FERNANDES, et al., 2020).

AVALIAÇÃO MOLECULAR DA SALIVA COMO BIOMARCADOR PARA DETECÇÃO DO SARS-COV-2: UMA REVISÃO DE LITERATURA

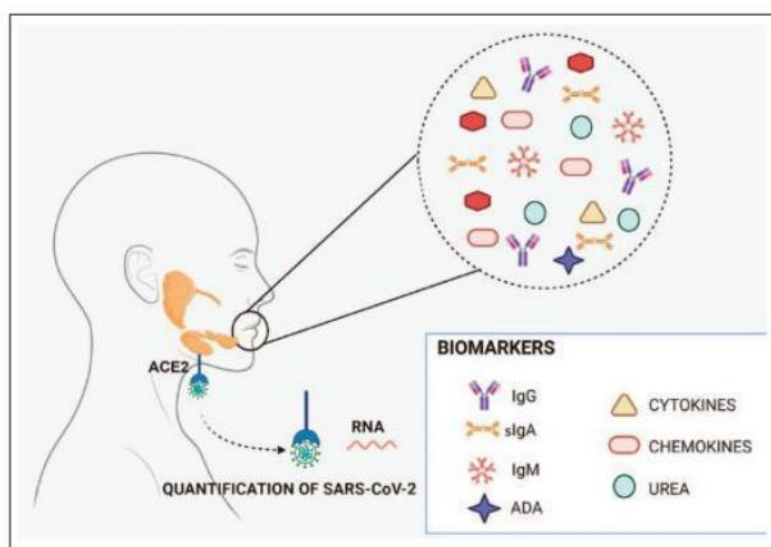
A saliva é uma mistura heterogênea que contém fisiologicamente células epiteliais orais descamadas e microrganismos, podendo conter sangue, secreções respiratórias, ácido gástrico do refluxo e resíduos alimentares em ocasiões patológicas, sendo composta por 99% de água e 1% de proteínas (principalmente amilase) e mucina com a finalidade de digerir, provar, tamponar, equilibrar a remineralização e anti-microrganismos. A secreção da saliva ocorre diretamente na cavidade oral pelas glândulas salivares principais e 10% das glândulas salivares menores (CARVALHO, et al., 2020).

Segundo Azzi et al (2021) e Teles et al (2020), o uso da saliva como um tipo de modelo alternativo para a triagem epidemiológica de SARS-CoV-2 parece ser promissor, pois o RNA viral de SARS-CoV-2 está presente na saliva com carga e sensibilidade comparáveis ao encontrado NPS. Além disso, o uso da saliva para fins de diagnóstico, abre a possibilidade de usar outras ferramentas que não sejam a detecção direta do patógeno, como por exemplo, os anticorpos, especialmente IgA (TELES, et al., 2020).

De acordo com os estudos de Thomas (2020) e Pieralisi et al (2021), a ECA2 das células epiteliais presente na saliva, atuam como receptores celulares para o SARS-CoV-2 entrar na célula, semelhante ao SARS-CoV (Figura 3). O vírus se liga inicialmente a esses receptores, para posteriormente colonizar o trato respiratório. Embora o principal alvo sejam as células pulmonares, os dutos das glândulas salivares também são comprometidos, causando a produção de saliva contaminada. Neste sentido, a saliva é mais facilmente infectada, uma vez que atuando como um hospedeiro para SARS-CoV-2.

PRODUÇÃO DE LIPASES POR BACTÉRIAS MARINHAS UTILIZANDO
DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS

Figura 3 - Biomarcadores usados no diagnóstico da Covid-19. ECA2 presente na saliva, atuam como receptores celulares para SARS-CoV-2.



Fonte: Fernandes, et al. 2020.

CONCLUSÕES

Em resumo, a saliva representa um biomarcador alternativo e confiável para a detecção do SARS-CoV-2, por não ser invasivo e de baixo custo. Diferente NPS, a saliva pode ser coletada pelo próprio paciente, dispensando a necessidade do contato direto com os profissionais de saúde, evitando assim, o risco de infecções nosocomial. Portanto, os resultados apresentados por essa pesquisa, fornecem evidências para o potencial uso da amostra de saliva no diagnóstico da Covid-19.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENIJI, A. A. 'Self-collected upper respiratory tract swabs for COVID-19 test': A feasible way to increase overall testing rate and conserve resources in South Africa. **Afr. j. prim. health care fam. med**, v. 12, n. 1, p. 1-4, 2020.
- ALMEIDA, B. A. et al. Preservação da privacidade no enfrentamento da COVID-19: dados pessoais e a pandemia global. **Ciênc. Saúde coletiva**, v. 25, n. 1, p. 2487-2492, 2020.
- AUN, M. V. et al. COVID-19, enzima conversora da angiotensina 2 e hidroxycloquina. **Arq Asma Alerg Imunol**, v. 4, n. 1, p. 38-40, 2020.
- AZZI, L. et al. Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. **J Dent Res**, v. 100, n. 2, p. 115-123, 2021.
- BASSENDINE, M. F. et al. COVID-19 and comorbidities: A role for dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in disease severity? **Journal of Diabetes**, v. 12, p. 649-658, 2020.
- CAMPOS, K. R. et al. COVID-19 laboratory diagnosis: comparative analysis of different RNA extraction methods for SARS-CoV-2 detection by two amplification protocols. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 63, n. 52, p. 1-10, 2021.
- CARVALHO, A. R. V. S. et al. Epidemiology, diagnosis, treatment, and future perspectives concerning SARS-COV-2: a review article. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 66, n. 3, p. 370-374, 2020.
- CASTRO, R. et al. COVID-19: a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil. **Braz J Infect Dis**, v. 24, n. 2, p. 180-187, 2020.
- CESPEDES, M. S; SOUZA, J. C. R. P. Sars-CoV-2: A clinical update – II. **Rev. Assoc. Med. Bras**, v. 66, n. 4, p. 547-557, 2020.
- CIPITELLI, M. C. et al. SARS-CoV-2 diagnostic diary: from rumors to the first case. Early reports of molecular tests from the military research and diagnostic institute of Rio de Janeiro. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 115, n. 1, p. 1-5, 2020.

PRODUÇÃO DE LIPASES POR BACTÉRIAS MARINHAS UTILIZANDO
DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS

FAM, B. S. O. et al. ACE2 diversity in placental mammals reveals the evolutionary strategy of SARS-CoV-2. **Genet. Mol. Biol.**, v. 43, n. 2, p. 1-10, 2020.

FERNANDES, L. L. et al. Saliva in the Diagnosis of COVID-19: A Review and New Research Directions. **Journal of Dental Research**, v. 99, n. 13, p. 1435–1443, 2020.

GOMES, C. P. et al. Cathepsin L in COVID-19: From Pharmacological Evidences to Genetics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 1-10, 2020.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Articles**, v. 395, n. 01, p. 497-506, 2020.

JIN, L; XU, Y; YAUN, H. Effects of four types of integrated Chinese and Western medicines for the treatment of COVID-19 in China: a network meta-analysis. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 66 n. 6, p. 771-777, 2020.

JIN, Y. et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. **Viruses**, v. 12, n. 372, p. 1-17, 2020.

KAMPF, G. et al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. **Journal of Hospital Infection**, v. 104, p. 246-251, 2020.

LU, R. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **Lancet**, v. 396, p. 565-574, 2020.

MAGALHÃES, E. F. et al. Análise da prevalência de vírus respiratórios em crianças atendidas em um hospital universitário do sul de minas gerais. **Rev Med Minas Gerais**, v. 26, n. 1828, p. 1-5, 2017.

MENEZES, M. E; LIMA, L. M; MARTINELLO, F. Diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). **RBAC**, v. 52, n. 2, p. 122-30, 2020. MOITINHO, M. S. et al. Acute Kidney Injury by SARS-CoV-2 virus in patients with COVID-19: an integrative review. **Rev. Bras. Enferm**, v. 73, n. 2, p. 1-8, 2020.

MORRELL, A. L. G. et al. Manejo intraoperatório em cirurgia laparoscópica ou robótica para minimizar a dispersão de aerossóis: Adaptações ao contexto da pandemia por COVID-19. **Rev. Col. Bras. Cir**, v. 47, n. 03, p. 1-7, 2020.

PRODUÇÃO DE LIPASES POR BACTÉRIAS MARINHAS UTILIZANDO
DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS

- OLIVEIRA, A. C. et al. Adesão à higiene de mãos entre profissionais de um serviço de pronto atendimento. **Rev Med**, v. 95, n. 4, p. 162-167, 2016. OLIVEIRA, A. C.; LUCAS, T. C.; IQUIAPAZA, R. A. O que a pandemia da COVID-19 tem nos ensinado sobre adoção de medidas de precaução? **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 29, n. 2, p. 1-15, 2020.
- PIERALISI, N. et al. Biosecurity Perspectives in Oral and Maxillofacial Radiology in Times of Coronavirus disease (COVID-19): a Literature Review. **Int. J. Odontostomat**, v. 15, n. 1, p. 77-81, 2021.
- REHMAN, M. F. et al. Novel coronavirus disease (COVID-19) pandemic: A recent mini review. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 612–623, 2021.
- RIVAS, A. M. et al. Detección de COVID -19 (SARS-CoV-2) Mediante la Saliva: Una Alternativa Diagnóstica poco Invasiva. **Int. J. Odontostomat**, v. 14, n. 3, p. 316-320, 2020.
- ROBINSON, E. L. et al. Genes encoding ACE2, TMPRSS2 and related proteins mediating SARS-CoV-2 viral entry are upregulated with age in human cardiomyocytes. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 147, p. 88–91, 2020.
- SAGREDO, A. R. et al. Anti-hypertensive agents in patients with COVID-19. **Rev Chil Cardiol**, v. 39, n. 1, p. 66-74, 2020.
- SCHOLZ, J. R. et al. COVID-19, Sistema Renina-Angiotensina, Enzima Conversora da Angiotensina 2 e Nicotina: Qual a Inter-Relação? **Arq Bras Cardiol**, v. 115, n. 4, p. 708-711, 2020.
- SHOJI, H. et al. Structured thoracic computed tomography report for COVID-19 pandemic. **Einstein**, v. 18, n. 9, p. 1-3, 2020.
- SILVA, R. G. L. et al. A participação da universidade na produção de testes diagnósticos moleculares do novo coronavírus no Brasil: resposta aos desafios sanitários. **Cad. Saúde Pública**, v. 36, n. 6, p. 1-5, 2020.
- SINGHAL, T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 1, p. 281–286, 2020.
- SOARES, K. H. D. et al. Medidas de prevenção e controle da covid-19:

PRODUÇÃO DE LIPASES POR BACTÉRIAS MARINHAS UTILIZANDO
DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS

- revisão integrativa. **REAS**, v. 13, n. 2, p. 1-11, 2021.
- SOTO, G. P. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2).
Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. **Int. J. Odontostomat**, v. 14, n. 3, p. 331-337, 2020.
- TELES, S. G. S. et al. A saliva como alternativa para diagnóstico de Covid-19: uma revisão sistemática. **Revista Científica da FMC**, v. 15, n. 2, p. 51-55, 2020.
- THOMAS, S. The Structure of the Membrane Protein of SARS-CoV-2 Resembles the Sugar Transporter SemiSWEET. **Pathogens and Immunity**, v. 5, n. 1, p. 342-363, 2020.
- VIEIRA, L. M. F; EMERY, E; ANDRIOLO, A. COVID-19: laboratory diagnosis for clinicians. An updating article. **Sao Paulo Med. J**, v. 138, n. 3, p. 259-266, 2020.
- VILLA, D. M. G. et al. Verificación del desempeño de la prueba rápida "AMP Rapid Test SARS-CoV-2 IgG/IgM-Cassettes". **Infect**, v. 25, n.3, p. 169-175, 2021.
- XAVIER, A. R. et al. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **J Bras Patol Med Lab**, v. 56, n.1, p. 1-9, 2020.
- YANG, P; WANG, X. COVID-19: a new challenge for human beings. **Cell Mol Immunol**, v. 17, n. 5, p. 555-557, 2020.