

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES**  
**Doutorado em Biociências e Biotecnologia em Saúde**

**JURANDY JÚNIOR FERRAZ DE MAGALHÃES**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA,  
ESPACIAL E LABORATORIAL DOS CASOS DE COVID-19  
NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

**Recife**

**2021**

**JURANDY JÚNIOR FERRAZ DE MAGALHÃES**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA, ESPACIAL E  
LABORATORIAL DOS CASOS DE COVID-19 NO ESTADO DE  
PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em  
Biotecnologia e Biotecnologia em Saúde do  
Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo  
Cruz, para obtenção do título de Doutor em  
Ciências.

Orientador: Dr. Lindomar José Pena

RECIFE

2021

**Catálogo na fonte: Biblioteca Luciana Borges Abrantes dos Santos  
Instituto Aggeu Magalhães / Fundação Oswaldo Cruz**

---

- M188c     Magalhães, Jurandy Júnior Ferraz.  
              A Caracterização clínico-epidemiológica, espacial e  
              laboratorial dos casos de Covid-19 no Estado de  
              Pernambuco / Jurandy Júnior Ferraz de Magalhães. —  
              Recife: [s.n.], 2021.  
              150 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) — Instituto Aggeu Magalhães,  
              Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2021.  
              Orientador: Lindomar José Pena.  
              Programa de Pós-graduação em Biociência e  
              Biotecnologia Aplicada a Saúde.
1. COVID-19 - epidemiologia. 2. COVID-19 -  
              diagnóstico. 3. SARS-CoV-2. 4. Perfil de saúde. 5.  
              Análise espacial. 6. Sinais e Sintomas. 7. Sobrevida. I.  
              Pena, Lindomar José. II. Título.

**JURANDY JÚNIOR FERRAZ DE MAGALÃES**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA, ESPACIAL E  
LABORATORIAL DOS CASOS DE COVID-19 NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em  
Biociências e Biotecnologia em Saúde do  
Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo  
Cruz, para obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Aprovado em: 29/11/2021

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Marli Tenório Cordeiro  
Instituto Aggeu Magalhães

---

Dr. Christian Robson de Souza Reis  
Instituto Aggeu Magalhães

---

Dr. Luiz Cláudio Arraes Alencar  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Dra. Patrícia Muniz Mendes Feire de Moura (Suplente)

Dedico este trabalho a todas as pessoas que perderam pais, irmãos, filhos, avós, amigos e colegas em decorrência da pandemia de COVID-19.

## AGRADECIMENTOS

Ao autor e consumidor da minha fé, o qual sem ele eu nem existiria, Deus;

Ao meu pai Jurandy e minha mãe Vera e aos meus irmãos Alexandre e Dayvid, por toda a dedicação e os ínfimos esforços feitos para que eu pudesse ter vindo do interior do estado, mais precisamente de Serra Talha, enfrentar uma vida com muitos desafios na capital, desafios esses que sem o incentivo, cuidado e muito amor de vocês, não teria conseguido. Sou grato a Deus por ter me feito nascer nesta família. Agradeço também a paciência e compreensão nos momentos que tive que estar ausente em feriados e finais de semana, mas sei que tudo cooperou para realização de mais um sonho;

A minha esposa Giovanna Lundgren, por ter sido um porto seguro em toda essa jornada e me apoiar em todas as decisões tomadas, além de ter me dado o maior presente que eu poderia ter recebido, a dádiva de ser pai. Com isso, também agradeço ao meu filho Ravi que com cada sorriso e cada simples descoberta do dia a dia, trazia consigo um combustível a mais para continuar a jornada de se tornar doutor durante uma pandemia. Minha família é um precioso presente que Deus me deu.

Ao meu orientador Lindomar Pena pela dedicação, incentivo, conselhos e por proporcionar uma orientação de qualidade, sempre atenciosa e cooperando fortemente para que essa fase fosse concluída com menos dificuldade. Tive uma relação humana de compreensão e cooperação com meu orientador, da qual acredito ser rara no meio acadêmico. Fico muito grato a Deus por ter me colocado no seu caminho como aluno de doutorado, parceiro de pesquisa e um amigo para a vida.

Aos meus colegas do LAVITE que cooperaram diretamente com este trabalho, Severino Jefferson, Renata Mendes, Jéssica Frutuoso, Klarissa Miranda, Caroline Targino, e Poliana Gomes, por me ajudar a construir a revisão desta tese e algumas análises, além de terem proporcionado momentos de diversão e descontração dentro e fora do trabalho.

Aos meus professores e colegas de sala de aula que fizeram desse período um dos mais alegres, divertidos e produtivos da minha vida;

Ao Instituto Aggeu Magalhães por fornecer suporte técnico e estrutural;

Ao LACEN Pernambuco e Secretaria de Saúde de Pernambuco por terem fornecido grande parte dos dados desta pesquisa;

A Universidade de Pernambuco por ter concedido o meu afastamento pelo período de dois anos com remuneração;

A todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente dessa pesquisa, meus sinceros agradecimentos. Mais um sonho se realiza!

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.”  
Louis Pasteur



MAGALHÃES, Jurandy Júnior Ferraz. A Caracterização clínico-epidemiológica, espacial e laboratorial dos casos de Covid-19 no Estado de Pernambuco. 2021. Tese (Doutorado em Biociência e Biotecnologia Aplicada a Saúde) – Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2021.

## RESUMO

**Introdução:** No final de dezembro de 2019, um grupo de casos de pneumonia grave de origem desconhecida foi relatado na China. A doença foi denominada como COVID-19 causada por um novo coronavírus identificado como síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2). A rápida disseminação do SARS-CoV-2 ao redor do mundo fez com que a Organização Mundial da Saúde declarasse a COVID-19 uma pandemia em 11 de março de 2020. Dados epidemiológicos e clínicos da COVID-19 tem sido documentada em vários países contribuindo na compreensão de padrões de dispersão espacial e no perfil populacional afetado. Assim, uma análise atualizada dos casos pode ajudar a aprimorar significativamente o nosso conhecimento e, conseqüentemente, fornecer insights sobre a COVID-19 nesta região do planeta, dado seu clima único, dinâmica social, genética populacional e cenário político.

**Objetivo:** Caracterizar a população infectada por SARS-CoV-2 durante o ano de 2020 no estado de Pernambuco. **Métodos:** A tese compreendeu dois estudos. O primeiro, realizou a análise de dados epidemiológicos, clínicos, demográficos, espaciais e de diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 dos primeiros casos ocorridos no estado de Pernambuco em 2020. O segundo abordou as características analisadas no estudo anterior ao fim do ano de 2020. **Resultados:** De 12 de março a 22 de abril de 2020, de um total de 2.772 casos suspeitos - 1.616 mulheres (58,30%) e 1.156 homens (41,70%) - foram coletados e testados para SARS-CoV-2 no LACEN de Pernambuco por RT-qPCR. Do total de casos, 557 (20,09%) foram positivos para SARS-COV-2. Esses foram os primeiros casos de COVID-19 notificados no estado. Já ao final de 2020, Pernambuco notificou um total de 26803 casos de COVID-19, onde 13198 (49,24%) eram do sexo feminino e 13605 (50,76%) eram do sexo masculino. Realizamos análise espacial dos indivíduos que residiam em Recife no início e ao final de 2020 para fins de comparação. Nas análises iniciais, os bairros com maior poder aquisitivo possuíam as maiores incidências, fato que continuou a ocorrer ao final de 2020. Todavia, os bairros de classes com menor poder aquisitivo apresentaram as maiores incidências de óbito por COVID-19. Os sintomas mais comuns em ambas as coortes foram a tosse, seguido por febre e dispneia. Comparamos a carga viral dos casos graves com os casos leves em dias diferentes desde o início dos sintomas. Não houve diferença estatisticamente significativa na carga viral no momento do diagnóstico de pacientes com COVID-19 leve ou grave até 14 dias do início dos sintomas. No entanto, pacientes com doença grave diagnosticada após 14 dias do início dos sintomas apresentaram carga viral maior do que pacientes com doença leve. Também avaliamos a sobrevivência de indivíduos que evoluíram para o óbito encontrando significância estatística na variável de cor da pele e sexo, além de verificar que indivíduos com mais de 75 anos morrem mais rapidamente em comparação com o grupo referência. **Conclusão:** Nosso estudo forneceu informações importantes sobre a demografia, clínica e epidemiologia da COVID-19 no mundo tropical e ajudará médicos, funcionários da saúde e gestores a enfrentar as pandemias atuais e estar mais bem preparados para combater futuras incursões de patógenos respiratórios altamente transmissíveis na população humana.

**Palavras-chave:** COVID-19, SARS-CoV-2, Pandemia, Diagnóstico, Epidemiologia, Análise espacial, Sintomas clínicos, Sobrevivência.

MAGALHÃES, Jurandy Júnior Ferraz. The clinical-epidemiological, spatial and laboratory characterization of Covid-19 cases in the State of Pernambuco. 2021. Thesis (Doctorate in Bioscience and Biotechnology Applied to Health) – Instituto Aggeu Magalhães, Oswaldo Cruz Foundation, Recife, 2021.

### ABSTRACT

**Introduction:** In late December 2019, a group of severe pneumonia cases of unknown origin was reported from China. The disease was termed COVID-19 caused by a new coronavirus identified as severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). The rapid spread of SARS-CoV-2 around the world prompted the World Health Organization to declare COVID-19 a pandemic on March 11, 2020. COVID-19 epidemiological and clinical data have been documented in several contributing countries in understanding spatial dispersion patterns and in the affected population profile. Thus, an up-to-date analysis of the cases can help to significantly improve our knowledge and, consequently, provide insights into COVID-19 in this region of the planet, given its unique climate, social dynamics, population genetics and political landscape. **Objective:** To characterize the population infected with SARS-CoV-2 during 2020 in the state of Pernambuco. **Methods:** The thesis comprised two studies. The first carried out the analysis of epidemiological, clinical, demographic, spatial and molecular diagnosis data of SARS-CoV-2 from the first cases that occurred in the state of Pernambuco in 2020. The second addressed the characteristics analyzed in the study prior to the end of the year of 2020. **Results:** From March 12 to April 22, 2020, a total of 2,772 suspected cases - 1,616 women (58.30%) and 1,156 men (41.70%) - were collected and tested for SARS-CoV-2 at LACEN in Pernambuco by RT-qPCR. Of the total number of cases, 557 (20.09%) were positive for SARS-CoV-2. These were the first cases of COVID-19 reported in the state. At the end of 2020, Pernambuco reported a total of 26803 cases of COVID-19, of which 13198 (49.24%) were female and 13605 (50.76%) were male. We performed a spatial analysis of individuals residing in Recife at the beginning and end of 2020 for comparison purposes. In the initial analyses, neighborhoods with higher purchasing power had the highest incidences, a fact that continued to occur at the end of 2020. However, neighborhoods in classes with lower purchasing power had the highest incidences of death from COVID-19. The most common symptoms in both cohorts were cough, followed by fever and dyspnea. We compared the viral load of severe cases with mild cases on different days from the onset of symptoms. There was no statistically significant difference in viral load at diagnosis in patients with mild or severe COVID-19 up to 14 days after symptom onset. However, patients with severe disease diagnosed 14 days after symptom onset had a higher viral load than patients with mild disease. We also evaluated the survival of individuals who progressed to death, finding statistical significance in the variable of skin color and gender, in addition to verifying that individuals over 75 years old die more quickly compared to the reference group. **Conclusion:** Our study provided important information on the demography, clinical and epidemiology of COVID-19 in the tropical world and will help physicians, health officials and managers to face current pandemics and be better prepared to combat future incursions of highly transmissible respiratory pathogens in the human population.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, Pandemic, Diagnosis, Epidemiology, Spatial analysis, Clinical symptoms, Survival.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Mapa epidemiológico da COVID-19.....	18
<b>Figura 2</b>	Estrutura da partícula e genoma SARS-CoV-2.....	21
<b>Figura 3</b>	Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.....	24
<b>Figura 4</b>	Origens de diferentes Coronavírus.....	27
<b>Figura 5</b>	Principais modos de transmissão entre humanos do SARS-CoV-2.....	30
<b>Figura 6</b>	Manifestações clínicas de COVID-19.....	33
<b>Figura 7</b>	Expressão gênica do receptor celular ACE2 em tecidos humanos.....	37
<b>Figura 8</b>	Visão geral dos diferentes métodos de diagnóstico de COVID-19.....	45
<b>Figura 9</b>	Cinética da carga viral e resposta imune durante a infecção por SARS-CoV-2.....	47
<b>Figura 10</b>	Variantes de preocupação (VOCs) do SARS-CoV-2.....	68
<b>Figura 11</b>	Análise espacial dos casos COVID-19 no estado de Pernambuco.....	81
<b>Figura 12</b>	Características epidemiológicas de pacientes com COVID-19 em Pernambuco.....	82
<b>Figura 13</b>	Regiões Político Administrativas da cidade do Recife.....	83
<b>Figura 14</b>	Análise da Densidade de Kernel das seis RPAs do Recife.....	84
<b>Figura 15</b>	Curva epidêmica das notificações de COVID-19 em Pernambuco.....	86
<b>Figura 16</b>	Curva epidêmica dos casos de óbito e medidas de controle.....	86
<b>Figura 17</b>	Distribuição por idade de casos letais e não letais de COVID-19.....	88
<b>Figura 18</b>	Principais sintomas apresentados pelos pacientes infectados por SARS-CoV-2.....	89
<b>Figura 19</b>	Distribuição dos sintomas de acordo com a faixa etária.....	90
<b>Figura 20</b>	Padrões de excreção do vírus.....	91
<b>Figura 21</b>	Comorbidades em pacientes COVID-19 positivos.....	92
<b>Figura 22</b>	Probabilidade de morte a partir do início dos primeiros sintomas.....	94

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Perfil da população em estudo – óbitos por COVID-19.....	92
<b>Tabela 2</b>	Comorbidades em óbitos por COVID-19.....	93
<b>Tabela 3</b>	Descrição da sobrevida.....	94
<b>Tabela 4</b>	Associação com o tempo até o óbito – Análise de sobrevida.....	95

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO CONCEITUAL</b> .....	15
2.1 BREVE HISTÓRICO E EPIDEMIOLOGIA.....	15
2.2 ETIOLOGIA.....	20
2.3 ORIGEM E HOSPEDEIROS DO RESERVATÓRIO NATURAL.....	24
2.4 MODOS DE TRANSMISSÃO.....	28
2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	32
2.6 FISIOPATOLOGIA.....	36
2.7 DIAGNÓSTICO.....	44
2.7.1 CURSO CLÍNICO.....	45
2.7.2 ACHADOS DE IMAGEM.....	48
2.7.3 BIOMARCADORES DE LABORATÓRIO CLÍNICO.....	48
2.7.4 RT-qPCR.....	49
2.7.5 SEQUENCIAMENTO.....	52
2.7.6 RT-LAMP.....	54
2.7.7 SISTEMAS BASEADOS EM CRISPR/CAS.....	56
2.7.8 SENSORES.....	58
2.7.9 MÉTODOS SOROLÓGICOS.....	59
2.7.10 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE ANTÍGENOS.....	60
2.8 PREVENÇÃO.....	61
2.9 ABORDAGENS VACINAIS PARA SARS-COV-2.....	63
2.9.1 VACINAS TRADICIONAIS: VÍRUS ATENUADOS E INATIVADOS.....	63
2.9.2 VETORES VIRAIS.....	64
2.9.3 VACINAS BASEADAS EM ÁCIDO NUCLÉICO.....	65
2.9.4 VACINAS DE SUBUNIDADE.....	66
2.10 VARIANTES EMERGENTES DE SARS-COV-2.....	66
<b>3 PERGUNTA CONDUTORA</b> .....	75
<b>4 HIPÓTESE</b> .....	76
<b>5 OBJETIVOS</b> .....	77
6.1 OBJETIVO GERAL.....	77
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	77

<b>7 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	78
7.1 DESENHO DO ESTUDO E POPULAÇÃO.....	78
7.2 COLETA DE DADOS.....	78
7.3 CONFIRMAÇÃO LABORATORIAL.....	78
7.4 ANÁLISE ESPACIAL.....	79
7.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	79
<b>8 RESULTADOS</b> .....	80
8.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	80
8.2 ANÁLISE ESPACIAL.....	81
8.3 NÚMERO CUMULATIVO DE CASOS DE COVID-19.....	85
8.4 CURVA EPIDÊMICA DE ÓBITOS E MEDIDAS DE CONTENÇÃO.....	86
8.5 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PACIENTES.....	87
8.6 PADRÕES DE EXCREÇÃO VIRAL.....	90
8.7 COMORBIDADES ASSOCIADAS.....	91
8.8 ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA DE CASOS FATAIS.....	92
<b>9 DISCUSSÃO</b> .....	95
<b>10 CONCLUSÃO</b> .....	101
<b>11 REFERÊNCIAS</b> .....	103
<b>APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO</b> .....	142
<b>ANEXO A – PRODUÇÃO ACADÊMICA DURANTE O DOUTORADO</b> .....	150

## 1. INTRODUÇÃO

Os coronavírus (CoVs) são vírus de RNA envelopados que pertencem à ordem dos Nidovírus e à família dos *Coronaviridae*. Eles são um grupo diverso de vírus de RNA de fita simples com sentido positivo que infectam amplamente humanos e animais causando doenças respiratórias, hepáticas, neurológicas e entéricas (WEISS; LEIBOWITZ, 2011). Em humanos, quatro coronavírus (CoV-229E, CoV-OC43, CoV-NL63 e CoV-HKU1) são comuns e geralmente estão associados a doenças respiratórias leves e autolimitadas (SU; WONG; SHI; LIU et al., 2016). No entanto, nas últimas duas décadas, três coronavírus zoonóticos originados de morcegos surgiram e causaram doenças respiratórias graves em humanos: o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) (CHAN-YEUNG; XU, 2003; PEIRIS; GUAN; YUEN, 2004), síndrome respiratória do Oriente Médio coronavírus (MERS-CoV) (ZAKI; VAN BOHEEMEN; BESTEBROER; OSTERHAUS et al., 2012) e, mais recentemente, o coronavírus pandêmico denominado síndrome respiratória aguda grave causada por coronavírus tipo 2 (SARS-CoV-2) (CUI; LI; SHI, 2019; LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020).

No final de dezembro de 2019, uma nova doença viral, chamada doença coronavírus 2019 (COVID - 19) causada por SARS-CoV-2 foi relatada pela primeira vez em Wuhan, província de Hubei, China, e rapidamente se espalhou para outras províncias/regiões da China e muitos países de todos os continentes ao redor do mundo (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). Em 9 de agosto de 2021, mais de 200 milhões de casos de infecção por COVID-19 e 4,3 milhões de mortes foram relatados em todo o mundo, a maioria envolvendo pessoas que vivem nos EUA, seguidos por Índia, Brasil e Rússia (DONG; DU; GARDNER, 2020). A rápida disseminação da doença fora da China fez com que a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarasse primeiro como uma Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional (PHEIC) e, posteriormente, como uma pandemia (OMS, 2020b).

O SARS-CoV-2 tem elevada transmissão pessoa a pessoa por meio de contato direto e vias aéreas (gotículas respiratórias e/ou aerossóis) (FALAHI; KENARKOOHI, 2020; ZHANG; LI; ZHANG; WANG et al., 2020). Na infecção por SARS-CoV-2, o período médio de incubação é de aproximadamente 4-5 dias antes do início dos sintomas (GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; LI; GUAN; WU; WANG et al., 2020). Os sintomas mais comuns relatados em pacientes com COVID-19 incluem febre, fadiga e tosse seca (CHEN; ZHOU; DONG; QU et al., 2020; GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020). Outros sintomas menos comuns incluem dor de cabeça, dor de garganta, mialgia, diarreia,

vômitos, calafrios, perda do olfato e perda do paladar (CHEN; ZHOU; DONG; QU et al., 2020; GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; WANG; HU; HU; ZHU et al., 2020). Clinicamente, os pacientes com COVID-19 apresentam sintomas leves a moderados (81%), mas aproximadamente 14% dos pacientes infectados evoluem para pneumonia e requerem ventilação em unidade de terapia intensiva (UTI) e 5% eventualmente desenvolvem manifestações mais críticas, como a síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS), choque séptico e disfunção ou falha em múltiplos órgãos (CHEN; WU; CHEN; YAN et al., 2020; WU; MCGOOGAN, 2020; XU; SHI; WANG; ZHANG et al., 2020).

Desde o surgimento de COVID-19 em todo o mundo, um rápido progresso foi feito na compreensão de muitos aspectos relacionados a esta nova doença. Com base nas evidências científicas atuais, esta revisão de literatura fornece as informações mais recentes sobre muitos tópicos sobre o COVID-19, incluindo a epidemiologia, etiologia, origem e hospedeiros reservatórios naturais, modos de transmissão, manifestações clínicas, fisiopatologia, diagnóstico, prevenção, vacinas contra a infecção por SARS-CoV-2 e variantes emergentes.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO CONCEITUAL**

### **2.1 BREVE HISTÓRICO E EPIDEMIOLOGIA**

No início da década de 1930, membros da família *Coronaviridae* eram responsáveis por doenças infecciosas em algumas espécies, incluindo camundongos, galinhas e porcos (MCINTOSH; CHAO; KRAUSE; WASIL et al., 1974). Mais tarde, na década de 1960, Tyrrell e outros virologistas trabalharam com cepas de vírus animais e humanos. Estes incluíram vírus da hepatite de camundongo, vírus da bronquite e vírus da gastroenterite suína, onde suas características morfológicas foram visualizadas usando microscopia eletrônica (WITTE; TAJIMA; EASTERDAY, 1968). Este novo grupo de agentes virais foi denominado coronavírus (corona: significado da aparência semelhante a uma coroa em relação a coroa solar) e, posteriormente, foi oficialmente reconhecido (ALMEIDA, 1968; TYRRELL; ALMEIDA; CUNNINGHAM; DOWDLE et al., 1975). Na mesma década, coronavírus humanos incluindo OC43 e 229E foram as primeiras cepas isoladas de coronavírus com potencial para causar doença respiratória em humanos (HAMRE; PROCKNOW, 1966; MCINTOSH, 2005).

Por aproximadamente 40 anos, nenhum coronavírus adicional capaz de infectar humanos foi descrito. No entanto, nas últimas duas décadas, mais cepas virais tornaram-se conhecidas por infectar humanos. NL63 e HKU1 foram identificados pela primeira vez em 2004 e 2005,



respectivamente (VAN DER HOEK; PYRC; JEBBINK; VERMEULEN-OOST et al., 2004; WOO; LAU; CHU; CHAN et al., 2005). Esses CoVs são considerados de baixo poder patogênico, os quais costumam causar doenças com sintomas leves e moderados em indivíduos imunocompetentes (PYRC; BERKHOUT; VAN DER HOEK, 2007). Além desses quatro CoVs endêmicos, três betacoronavírus altamente patogênicos emergiram de morcegos para causar doenças respiratórias em humanos no século 21.

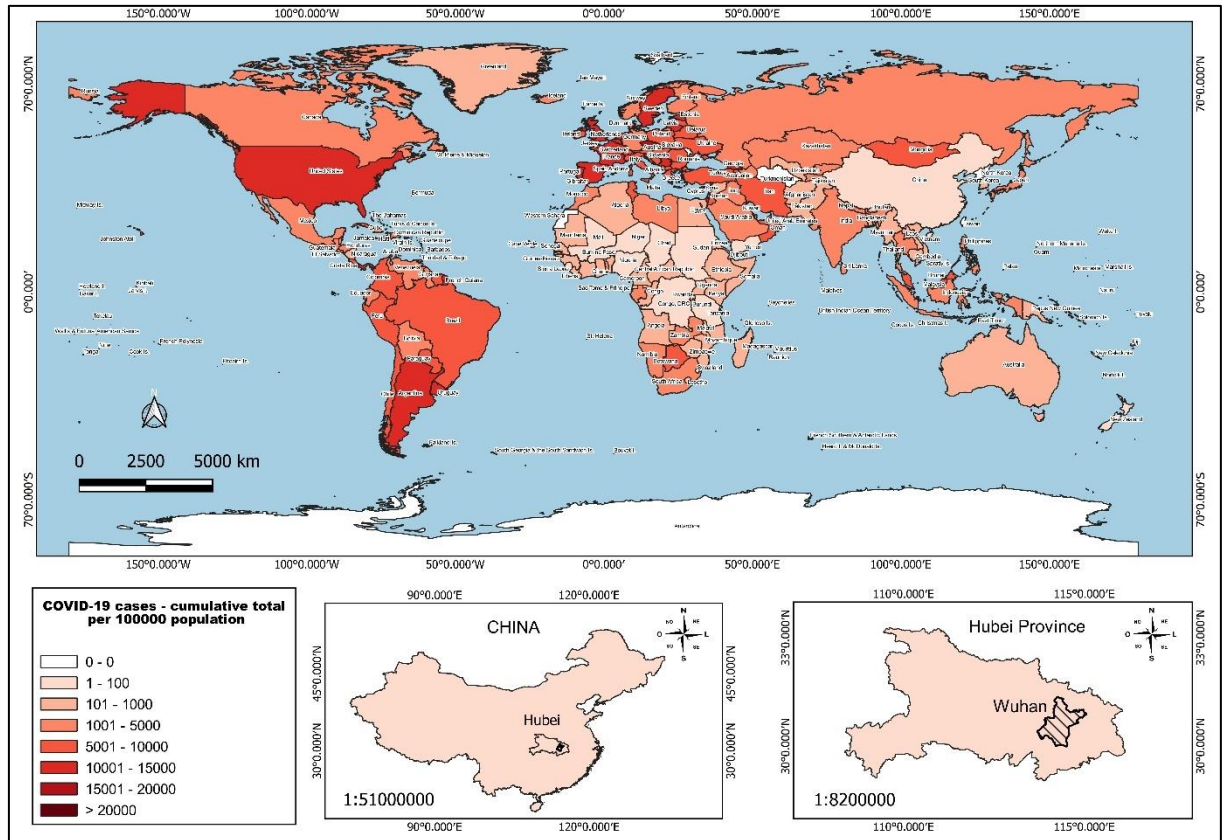
Em 2002, o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), um betacoronavírus altamente patogênico, surgiu na província de Guangdong, China, causando uma doença respiratória em humanos denominada síndrome respiratória aguda grave (SARS) (DROSTEN; GÜNTHER; PREISER; VAN DER WERF et al., 2003; PEIRIS; GUAN; YUEN, 2004). Posteriormente, o vírus se espalhou rapidamente para mais de 27 países ao redor do mundo, causando mais de 8.000 infecções em humanas com uma taxa de letalidade de aproximadamente 10%, resultando em 774 mortes durante os anos 2002-2003 (CHAN-YEUNG; XU, 2003; CHENG; LAU; WOO; YUEN, 2007). Uma década depois, em 2012, um novo betacoronavírus chamado coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) foi identificado pela primeira vez em um paciente na Arábia Saudita causando uma doença respiratória grave em humanos chamada síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) (RAJ; OSTERHAUS; FOUCHIER; HAAGMANS, 2014; ZAKI; VAN BOHEEMEN; BESTEBROER; OSTERHAUS et al., 2012). Este CoV afetou 24 países, principalmente no Oriente Médio, resultando em mais de 1.200 casos de infecção confirmados em laboratório e 400 mortes, com taxa de mortalidade estabelecida em 35% (OMS, 2019).

Atualmente, o mundo enfrenta outro desafio contra a ameaça dos coronavírus, que representam o primeiro CoV associado a uma pandemia. Diferente dos outros dois CoVs altamente patogênicos, o SARS-CoV-2 adquiriu a capacidade de estabelecer uma transmissão eficaz e sustentada de pessoa para pessoa. Em 31 de dezembro de 2019, o representante da Organização Mundial da Saúde (OMS) na China, foi alertado sobre casos de pessoas com pneumonia de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan, província de Hubei (ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). A maioria dos pacientes infectados apresentou febre, tosse seca e dificuldade para respirar como sintomas clínicos iniciais (HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020). Entre os primeiros 27 pacientes hospitalizados documentados, a maioria dos indivíduos estava epidemiologicamente ligada ao Mercado Atacadista de Frutos do Mar Huanan, um mercado localizado em Wuhan, China, que não só possui frutos do mar, mas é possível encontrar animais silvestres vivos (DENG; PENG, 2020; JIANG; DU; SHI, 2020). Após o isolamento do vírus e sequenciamento de RNA de amostras de pacientes com pneumonia grave

durante o início de 2020, os pesquisadores identificaram o agente etiológico desta doença emergente como um novo coronavírus, o sétimo membro do CoV capaz de infectar humanos e eventualmente denominado síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2).

O SARS-CoV-2 é hoje uma preocupação global devido à sua alta capacidade de transmissão e associação com graves consequências para os humanos, até mesmo a morte. O número de reprodução ( $R_0$ ) é uma indicação da transmissibilidade de um vírus, representando o número médio de novas infecções geradas por uma pessoa infectada em uma população totalmente susceptível. Em resumo,  $R_0 < 1$ , o número de infecções diminui e  $R_0 > 1$ , o número de infectados provavelmente aumentará. Para SARS-CoV-2, estudos sugeriram um aumento exponencial de infecções por SARS-CoV-2 e o número de reprodução ( $R_0$ ) variando entre 1,4 e 6,49 com média de 3,28 (BILLAH; MIAH; KHAN, 2020; LIU; GAYLE ; WILDER-SMITH; ROCKLÖV, 2020), que indicam que cada pessoa infectada pode transmiti-lo para cerca de 2–3 mais indivíduos (LIU; GAYLE; WILDER-SMITH; ROCKLÖV, 2020). No entanto, mais estudos são necessários para compreender melhor a epidemiologia e a capacidade do SARS-CoV-2 de se espalhar na população humana, especialmente após a introdução de vacinas eficazes e variantes emergentes do SARS-CoV-2.

Desde o surgimento do novo coronavírus na China, o vírus se espalhou rapidamente por vários países ao redor do mundo, o que levou a OMS a declarar a COVID-19 como uma pandemia em 11 de março de 2020 (OMS, 2020b). Até 9 de agosto de 2021, a COVID-19 afetou 213 países com mais de 200 milhões de casos e 4.301.576 mortes em todo o mundo (DONG; DU; GARDNER, 2020). Os Estados Unidos lideram o número de casos confirmados em laboratório com 35.940.893 casos, seguidos por Índia, Brasil e Rússia com 31.969.954, 20.177.757 e 6.384.195, respectivamente (Figura 1). A taxa global de mortalidade de COVID-19 é de aproximadamente 2% (OMS, 2020a).



**Figura 1** – Silva et al. (Dados não publicados) - Mapa de epidemiologia do COVID-19. Número de casos por país até 3 de setembro de 2021. A parte inferior do painel indica a localização geográfica de Wuhan, província de Hubei na China, o local onde os primeiros casos COVID-19 foram identificados.

Fonte: Dados obtidos na Organização Mundial da Saúde (OMS). Mapa produzido pelo autor

Entre todos os continentes, o maior número de casos de COVID-19 foi notificado nas Américas, com aproximadamente 83 milhões de casos confirmados e mais de 2 milhões de mortes. Só nos Estados Unidos, a pandemia causou mais de 38 milhões de infecções confirmadas e mais de 630.000 mortes até o momento, sendo o país líder em número de casos e mortes de COVID-19 (<https://covid19.who.int/table>). É importante destacar que cerca de 24% dos casos fatais de COVID-19 são subnotificados, representando mais de 180.000 mortes, indicando que quase um quarto das mortes atribuíveis a COVID-19 não são notificados por meio de atestado de óbito (IULIANO; CHANG; PATEL; THRELKEL et al., 2021). A América Latina é atualmente responsável por aproximadamente um quarto de todas as mortes de COVID-19 no mundo e é um dos epicentros da pandemia. Em junho de 2021, mais de um milhão de pessoas morreram nos 12 países da América do Sul (MALTA; VETTORE; DA SILVA; SILVA et al., 2021). O Brasil foi um dos países mais afetados pela COVID-19. Em julho, o país passou a ocupar o segundo lugar na lista de mortalidade e ultrapassou mais de 540.000 óbitos, com média diária de 2.000 óbitos por dia (SAÚDE, 2020). A mortalidade

hospitalar foi de 38% e 47% desses pacientes tinham menos de 60 anos. A linhagem P.1 (gama) foi um dos principais fatores responsáveis pelo ressurgimento de uma segunda onda de mortes espalhadas pelo país que se iniciou no estado do Amazonas (FARIA; MELLAN; WHITTAKER; CLARO et al., 2021; NAVECA; NASCIMENTO; DE SOUZA; CORADO et al., 2021; SABINO; BUSS; CARVALHO; PRETE et al., 2021).

Apesar dos grandes esforços para diminuir a incidência de COVID-19, a Europa é o segundo continente mais afetado pela pandemia e tem quase 65 milhões de casos confirmados e 1,2 milhão de mortes (<https://covid19.who.int/table>). Impulsionado pela variante alfa (B.1.1.7) que é até 70% mais transmissível, o Reino Unido é o país europeu mais afetado até o momento e tem sido o epicentro da pandemia no continente por longos meses (GRAHAM; SUDRE; MAY; ANTONELLI et al., 2021). Atualmente, o país informou mais de 6 milhões de casos confirmados e aproximadamente 130.000 mortes (<https://covid19.who.int/table>).

O segundo país com maior número de casos registrados e o terceiro em óbitos é agora a Índia, localizada no sul da Ásia. O país teve um aumento exponencial no número de casos desde março de 2021 e hoje totaliza cerca de 439.000 óbitos (<https://covid19.who.int/table>) (KUPPALLI; GALA; CHERABUDDI; KALANTRI et al., 2021). Coincidentemente, a situação pandêmica na Índia pode ser atribuída a diferentes variantes circulantes, especialmente B.1.617 (delta), que atualmente é a cepa dominante no país e se espalhou rapidamente para muitos outros países ao redor do mundo (GHOSH; SAHA; SARKAR; MAULIK, 2021; HOFFMANN; ARORA; GROß; SEIDEL et al., 2021). Além da variante delta, outras linhagens SARS-CoV-2 (B.1.1.7 e B.1.618) possivelmente contribuíram para a atual situação de pandemia na Índia (GHOSH; SAHA; SARKAR; MAULIK, 2021).

Em comparação com a tendência global, o continente aparentemente menos afetado é a África. O primeiro caso de COVID-19 na África foi notificado em 14 de fevereiro de 2020 e, até o momento, a curva epidêmica no continente se manteve estável em comparação com as Américas e Europa. O continente africano relatou 5.650.962 casos e 135.699 mortes por COVID-19, em 2 de setembro de 2021 (<https://covid19.who.int/table>). Tentativas foram feitas para explicar a baixa taxa de morbimortalidade do COVID-19 na África e possíveis fatores associados emergiram, como demografia populacional, clima, urbanização e nível econômico (TSINDA; MMBANDO, 2021). Além disso, o impacto da pandemia parece ser mal caracterizado em países de baixa e média renda. Capacidade de diagnóstico insuficiente e infraestrutura inadequada possivelmente limitam a disponibilidade de dados robustos e causam incerteza sobre o *status* real da pandemia (MADHI; NEL, 2021). A Figura 1 mostra a incidência

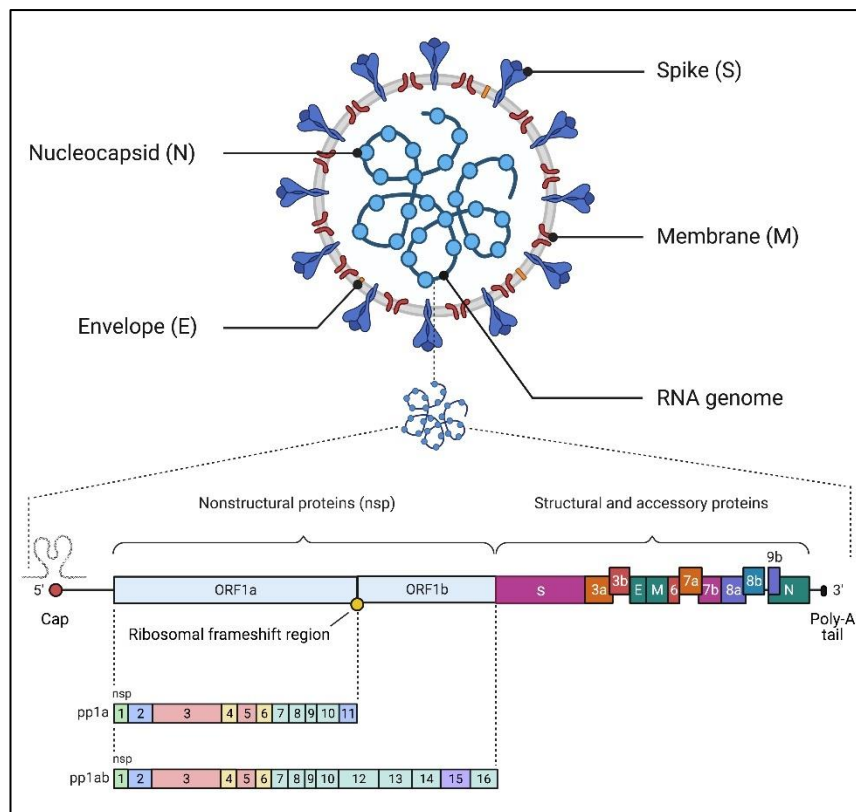
de COVID-19 em todos os países do mundo até 3 de setembro de 2021, de acordo com dados da Organização Mundial da Saúde.

## 2.2 ETIOLOGIA

O recém-emergente SARS-CoV-2 foi identificado no final de 2019 em Wuhan, na província de Hubei, na China, e rapidamente se espalhou pelo mundo causando uma situação de pandemia. Este novo vírus foi designado coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) (VÍRUS, 2020). Através do isolamento viral e sequenciamento de RNA de fluidos broncoalveolares de amostras de pacientes com pneumonia grave, equipes de pesquisa independentes da China descobriram rapidamente que o agente etiológico desta doença desconhecida era um coronavírus nunca visto antes (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020; ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). A análise filogenética mostrou que o SARS-CoV-2 está agrupado com coronavírus relacionados ao SARS (SARSr-CoVs) e o SARS-CoV previamente relatado em morcegos, colocando-o no subgênero Sarbecovirus e no gênero Betacoronavirus (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). Como um novo betacoronavírus, estudos demonstraram que o SARS-CoV-2 compartilha 79% da identidade do genoma com o SARS-CoV e 50% com o MERS-CoV (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020).

SARS-CoV-2 é um coronavírus membro da ordem *Nidovirales* na família *Coronaviridae* e subfamília *Orthocoronavirinae*. A subfamília *Orthocoronavirinae* é subdividida em quatro gêneros com base nas características genéticas: alfacoronavírus ( $\alpha$ -CoVs), betacoronavírus ( $\beta$ -CoVs), gammacoronavírus ( $\gamma$ -CoVs) e deltacoronavírus ( $\delta$ -CoVs) (FEHR; PERLMAN, 2015). Semelhante ao SARS-CoV e MERS-CoV, o SARS-CoV-2 pertence ao agrupamento  $\beta$ -CoV com uma faixa dimamétrica de 80-160 nM e tem um genoma de RNA de aproximadamente 30 quilobases (kb) de comprimento (Figura 2) (LIU ; MENDONÇA; YANG; GAO et al., 2020; NEUMAN; ADAIR; YOSHIOKA; QUISPE et al., 2006; PARK; KWON; CHOI; KANG et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020 ) Todos os vírus na ordem *Nidovirales* são envelopados e o genoma consiste em um único RNA de fita simples de sentido positivo (+ssRNA), com estrutura de capa 5' e cauda 3' poli-A, permitindo que atue como um mRNA para as proteínas replicase (FEHR; PERLMAN, 2015). A ORF1a e a ORF1b ocupam dois terços do genoma 5' e é traduzida em poliproteína 1a (pp1a) e poliproteína 1ab (pp1ab), respectivamente (SHANG; CHAN; LIU; LI et al., 2021). A poliproteína 1a é clivada em 11 proteínas não

estruturais (nsps) pela protease semelhante a 3C (3CLpro, Mpro) e a protease semelhante à papaína (PLpro), enquanto pp1ab é traduzido após um *frameshift* ribossomal que ocorre na posição a montante-1 do códon de parada, ORF1a é então clivado em 16 proteínas não estruturais (nsps) (DA SILVA; DA SILVA; MENDES; PENA, 2020; SHANG; CHAN; LIU; LI et al., 2021). As proteínas estruturais do SARS-CoV-2 (proteínas spike [S], membrana [M], envelope [E] e nucleocapsídeo [N]), por outro lado, são codificadas por um terço do genoma viral e essas proteínas são necessárias para a montagem de novas partículas virais (FEHR; PERLMAN, 2015; KIM; CHUNG; JO; LEE et al., 2020; WEISS; LEIBOWITZ, 2011). Além disso, a extremidade 5' contém uma região não traduzida (UTR), que origina várias estruturas de alça de haste necessárias para a transcrição e replicação do RNA (FEHR; PERLMAN, 2015).



**Figura 2** – Silva et al. (Dados não publicados) - Estrutura da partícula e genoma SARS-CoV-2. A parte superior do painel demonstra a estrutura geral da partícula viral SARS-CoV-2, indicando suas proteínas estruturais e genoma. A parte inferior do painel demonstra a organização do genoma do SARS-CoV-2 (região 5'cap, região que codifica proteínas não estruturais [nsp1-nsp16] necessárias para a replicação viral, região que codifica proteínas acessórias e estruturais [proteína spike (S), proteína de membrana (M), proteína do envelope (E) e proteínas do nucleocapsídeo (N)]) e cauda poli-A).

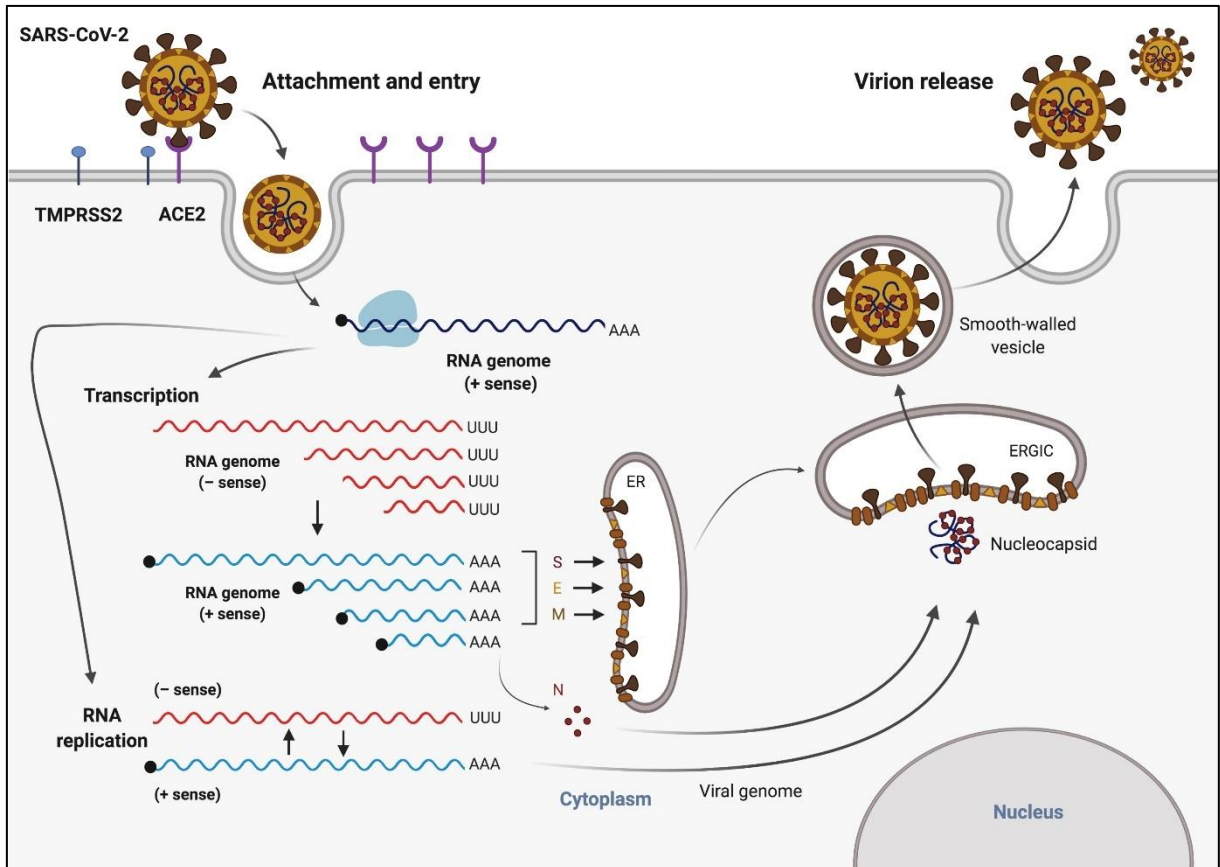
Fonte: Produzida pelo autor.

Como mencionado anteriormente, as partículas de CoVs são compostas por quatro proteínas estruturais principais, das quais a proteína spike tem um papel essencial durante a fixação inicial, fusão e entrada da partícula viral na célula hospedeira (DU; HE; ZHOU; LIU et

al., 2009; LI, 2016; LI; LI; FARZAN; HARRISON, 2005; WEISS; LEIBOWITZ, 2011). Além disso, a proteína spike desempenha os papéis mais críticos para determinar a capacidade de transmissão e tropismo do hospedeiro, e também é um alvo importante para o desenvolvimento de vacinas e anticorpos terapêuticos (DU; HE; ZHOU; LIU et al., 2009; DU; TAI ; YANG; ZHAO et al., 2016; DU; YANG; ZHOU; LU et al., 2017; LI, 2016; LIU; XIAO; CHEN; HE et al., 2004; LU; LIU; ZHU; CHAN et al. , 2014; WALLS; PARK; TORTORICI; WALL et al., 2020; WANG; WONG; LU; YAN et al., 2016). Usando análise estrutural, alguns estudos identificaram resíduos no SARS-CoV-2 RBD (domínio de ligação ao receptor) que são essenciais para a ligação ao receptor celular, a maioria dos quais são altamente conservados ou compartilham características de cadeia lateral semelhantes quando comparados ao SARS-CoV RBD (LAN; GE; YU; SHAN et al., 2020; TAI; HE; ZHANG; PU et al., 2020b). A proteína spike medeia a entrada viral nas células hospedeiras usando a subunidade S1 para se ligar a um receptor hospedeiro e então a subunidade S2 para fundir o envelope viral e a membrana da célula hospedeira (LI; LI; FARZAN; HARRISON, 2005). Nesse contexto, estudos recentes têm demonstrado que o local de clivagem polibásico (RRAR) na proteína spike, que permite a clivagem efetiva por furina e outras proteases, é necessário para a transmissão de SARS-CoV-2 (COUTARD; VALLE; DE LAMBALLERIE; CANARD et al., 2020; PEACOCK; GOLDHILL; ZHOU; BAILLON et al., 2021). O SARS-COV-2 interage com a enzima conversora de angiotensina II (ACE2), bem como relatado anteriormente para o SARS-CoV, sugerindo que esses dois CoVs podem compartilhar o mesmo ciclo de replicação (HOFFMANN; KLEINE-WEBER; SCHROEDER; KRÜGER et al., 2020; LI; MOORE; VASILIEVA; SUI et al., 2003; LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; TAI; HE; ZHANG; PU et al., 2020a; YAN; ZHANG; LI; XIA et al. ., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020). SARS-CoV-2 demonstrou usar a serina protease de superfície celular TMPRSS2 para iniciação e entrada, embora outras proteases, como catepsina B (CatB) e CatL também possam auxiliar neste mecanismo (HOFFMANN; KLEINE-WEBER; SCHROEDER; KRÜGER et al., 2020). A expressão e a distribuição tecidual da ACE2, conseqüentemente, influenciam o tropismo e a patogenicidade do SARS-CoV-2 (V'KOVSKI; KRATZEL; STEINER; STALDER et al., 2021). Mais recentemente, foi demonstrado que a proteína spike SARS-CoV-2 também se liga ao receptor de superfície CD147 na célula hospedeira, sugerindo uma rota alternativa para mediar a invasão celular de SARS-CoV-2 (WANG; CHEN; ZHANG; DENG et al., 2020). Diferentemente, MERS-CoV usa o CD26 (também conhecido como dipeptidil peptidase 4, DPP4) como o receptor celular (LU; HU; WANG; QI et al., 2013).

O SARS-CoV-2 é altamente transmissível com amplo tropismo tecidual, que é estabelecido de acordo com a suscetibilidade e permissividade de células hospedeiras específicas ao vírus (HARRISON; LIN; WANG, 2020). Durante a infecção, o ciclo de replicação do SARS-CoV-2 começa com a ligação da proteína spike ao receptor ACE2 do hospedeiro, juntamente com fatores do hospedeiro (como a serina protease da superfície celular TMPRSS2), resultando em mudanças conformacionais na proteína spike que leva ao vírus captação e fusão da proteína do envelope viral com a membrana da célula hospedeira seguida pela entrada viral pela via endossômica (COUTARD; VALLE; DE LAMBALLERIE; CANARD et al., 2020; MATSUYAMA; TAGUCHI, 2009; V'KOVSKI; KRATZEL; STEINER; STALDER et al., 2021). A replicação viral ocorre no citoplasma (SILVA; GERMANO MENDES; ALVES DA SILVA; LORUSSO et al., 2020). Após a fixação e a entrada na célula, o RNA viral é liberado no citoplasma do hospedeiro, que sofre tradução de ORF1a e ORF1b que formam o complexo de replicação e transcrição viral (RTC) (V'KOVSKI; KRATZEL; STEINER; STALDER et al., 2021). As poliproteínas resultantes pp1a (4382 aminoácidos) e pp1ab (7073 aminoácidos) são processadas por proteases virais em 16 proteínas não estruturais (nsps) (LIM; NG; TAM; LIU, 2016; V ' KOVSKI; KRATZEL; STEINER; STALDER et al., 2021). Em todos os coronavírus, a tradução de ORF1b requer um deslocamento de quadro ribossômico-1 programado (PLANT; PÉREZ-ALVARADO; JACOBS; MUKHOPADHYAY et al., 2005). Depois que os ribossomos chegam ao final da ORF1a, em vez de continuar o alongamento e terminar em um códon de parada adjacente no quadro, parte dos ribossomos retrocede em um nucleotídeo e são reposicionados no quadro de leitura -1 antes de continuar a tradução, produzindo assim uma poliproteína ORF1ab de comprimento completo (SUN; ABRIOLA; NIEDERER; PEDERSEN et al., 2021). De acordo com a tradução de nsps, a biogênese da replicação viral ocorre para a replicação do RNA genômico viral e transcrição de mRNAs subgenômicos (mRNAs sg) (V'KOVSKI; KRATZEL; STEINER; STALDER et al., 2021). Esses RNAs subgenômicos são então transcritos e traduzidos para produzir proteínas acessórias e estruturais relevantes para o ciclo de replicação e posterior produção de novas partículas virais (LIM; NG; TAM; LIU, 2016). A montagem de vírions ocorre por meio da interação de RNA genômico viral e proteínas estruturais localizadas no retículo endoplasmático (ER) e no compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC). Finalmente, esses vírions são liberados por meio de vesículas de parede lisa para a membrana plasmática e secretados da célula infectada por exocitose (Figura 3) (HOFFMANN; KLEINE-WEBER; SCHROEDER; KRÜGER et al., 2020; LIM; NG; TAM; LIU, 2016).





**Figura 3** – Silva et al. (Dados não publicados) - Ciclo de replicação do SARS-CoV-2. O SARS-CoV-2 entra pela primeira vez na célula hospedeira ligando-se ao receptor celular ACE2. Após a clivagem proteolítica da proteína S por proteases celulares (por exemplo, TMPRSS2) e exposição dos domínios de fusão, o envelope SARS-CoV-2 funde-se com a membrana celular e a partícula viral é internalizada. No citoplasma, o genoma do RNA viral é transcrito primeiro no RNA sentido e depois em mRNA, que são posteriormente traduzidos em proteínas virais estruturais e não estruturais. A replicação do genoma também ocorre no citoplasma pela ação do complexo de replicação e transcrição viral. A montagem viral ocorre no compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC), que é seguido por brotamento viral por meio de vesículas de paredes lisas. Produzida pelo autor.

### 2.3 ORIGEM E HOSPEDEIROS DO RESERVATÓRIO NATURAL

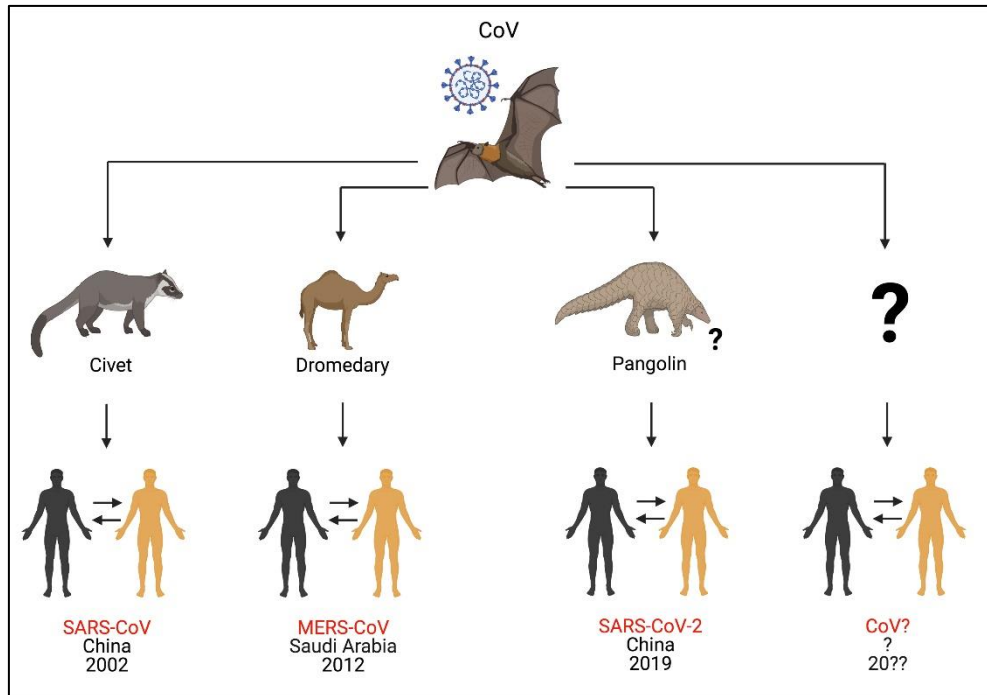
Morcegos e outros animais silvestres (por exemplo, macacos) são considerados hospedeiros reservatórios naturais importantes de muitos vírus relevantes, como CoVs, vírus Zika, vírus da febre amarela, Ebola, Nipah, com *spillover* ocasional para humanos (CUI; LI; SHI, 2019; FIGUEIREDO, 2019; GUBLER; VASILAKIS; MUSSO, 2017; MALIK; SIRCAR; BHAT; SHARUN et al., 2020). Para muitos vírus, uma das principais etapas do processo de emergência é o *spillover* de animais silvestres para humanos, gerando uma grande preocupação para a saúde pública, uma vez que a população humana nunca foi exposta ao novo vírus. SARS-CoV-2 é o sétimo membro da família *Coronaviridae* que emergiu de animais silvestres para

infectar humanos (ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). Dada a especulação de que o SARS-CoV-2 era um vírus construído em laboratório, um estudo genômico comparativo sugeriu dois cenários que podem explicar melhor a origem do SARS-CoV-2: i) seleção natural em um reservatório animal antes do *spillover* zoonótico; ii) seleção natural em humanos após *spillover* zoonótico (ANDERSEN, K. G. ; RAMBAUT, A. ; LIPKIN, W. I. ; HOLMES, E. C. et al., 2020). Assim, esses resultados demonstraram que o SARS-CoV-2 não é um patógeno propositalmente manipulado ou construído em laboratório. Assim como outros CoVs altamente patogênicos (SARS-CoV e MERS-CoV), alguns estudos recentes demonstraram por meio de análises genéticas que o SARS-CoV-2 foi possivelmente originado de morcegos, uma vez que compartilha cerca de 88% da identidade genômica em comparação com coronavírus de morcegos, incluindo bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21 (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020). Além de bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21, a análise filogenética mostra que o genoma completo do bat-CoV RaTG13 detectado em *Rhinilophus affinis* da província de Yunnan, China, é 96% idêntico ao genoma de SARS-CoV-2 (ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020). Notadamente, a alta similaridade genética entre SARS-CoV-2 e CoVs de morcegos relacionados provavelmente representa mais de duas décadas de evolução da sequência, sugerindo que esses CoVs de morcegos podem ser apontados como o progenitor evolucionário mais provável do SARS-CoV-2, enquanto outros hospedeiros intermediários podem ter desempenhado um papel crucial durante a transmissão da doença aos humanos (ANDERSEN, K. ; RAMBAUT, A. ; LIPKIN, I. ; HOLMES, E. et al., 2020; CHAN; KOK; ZHU; CHU et al., 2020; ZHANG; HOLMES, 2020).

Com relação aos hospedeiros intermediários, SARS-CoV e MERS-CoV emergiram de morcegos e foram transmitidos diretamente para humanos a partir de civetas e camelos dromedários, respectivamente (CUI; LI; SHI, 2019; SU; WONG; SHI; LIU et al., 2016). No entanto, a questão sobre o hospedeiro intermediário para SARS-CoV-2 permanece incompleta e requer um grande corpo de evidências para preencher essa lacuna de conhecimento (Figura 4) (XU, 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020 ) A identificação de hospedeiros intermediários é crucial para medidas de saúde pública a fim de prevenir futuros surtos causados por SARS-CoV-2 ou vírus relacionados (ANDERSEN, KG; RAMBAUT, A. ; LIPKIN, WI; HOLMES, EC et al., 2020; PERLMAN, 2020; RELMAN, 2020). Alguns estudos sugeriram que os pangolins são provavelmente um hospedeiro da vida selvagem intimamente associado ao SARS-CoV-2 (LAM; SHUM; ZHU; TONG et al., 2020; LIU; JIANG; WAN; HUA et al., 2020; WACHARAPLUESADEE; TAN; MANEEORN; DUENGKAE et al., 2021; XIAO; ZHAI; FENG; ZHOU et al., 2020). Os vírus relacionados com SARS-CoV-2 foram detectados

e isolados de tecidos de pangolins malaias da China com sinais clínicos de doença e alterações histológicas (XIAO; ZHAI; FENG; ZHOU et al., 2020). Em seu estudo, Xiao e colegas revelaram que um CoV isolado do pangolim malaio mostrou 100%, 98,6%, 97,8% e 90,7% de identidade de aminoácidos com as proteínas SARS-CoV-2 E, M, N e S, respectivamente (XIAO; ZHAI; FENG; ZHOU et al., 2020). Em outro estudo, Lam e colaboradores demonstraram por meio de sequência metagenômica que os vírus de pangolins foram associados a duas sublinhagens distintas de coronavírus relacionados com SARS-CoV-2, incluindo um que exibiu forte similaridade (97,4% de similaridade de aminoácidos) no RBD com SARS-CoV-2 (LAM; SHUM; ZHU; TONG et al., 2020). Da mesma forma, Liu e colegas montaram o genoma completo de um coronavírus identificado em três pangolins malaias doentes e demonstraram por meio de análises filogenéticas que ele era geneticamente relacionado ao SARS-CoV-2 (LIU; JIANG; WAN; HUA et al., 2020). Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que os pangolins têm o potencial de atuar como um hospedeiro intermediário do SARS-CoV-2, embora mais estudos sejam necessários para confirmar essa hipótese.

Mais recentemente, grupos de pesquisa de diferentes partes do mundo têm investigado a suscetibilidade de animais domesticados à infecção por SARS-CoV-2 (HALFMANN; HATTA; CHIBA; MAEMURA et al., 2020; ROSA; DANTAS; DO NASCIMENTO; DA SILVA et al., 2021; SHI; WEN; ZHONG; YANG et al., 2020). Nesse contexto, Shi e colaboradores (2020) forneceram e discutiram importantes insights sobre os reservatórios animais do SARS-CoV-2 (SHI; WEN; ZHONG; YANG et al., 2020). Os autores investigaram a suscetibilidade de furões e outros animais à infecção por SARS-CoV-2, a maioria deles tradicionalmente tendo contato próximo com humanos, incluindo gatos, cães, porcos, patos e galinhas. Eles demonstraram que o SARS-CoV-2 se replica efetivamente em gatos e furões, enquanto o vírus se replica mal em cães, porcos, patos e galinhas (SHI; WEN; ZHONG; YANG et al., 2020). Além disso, foi



**Figura 4** – *Silva et al.* (Dados não publicados) - Origens de diferentes Coronavírus. No século 21, três betacoronavírus altamente patogênicos surgiram de morcegos para causar doenças respiratórias em humanos. Em 2002, o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), um betacoronavírus, surgiu na província de Guangdong, na China, causando uma doença respiratória em humanos denominada síndrome respiratória aguda grave (SARS). Uma década depois, em 2012, outro betacoronavírus chamado coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) foi relatado na Arábia Saudita causando uma doença respiratória grave em humanos chamada síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS). Tanto o SARS-CoV quanto o MERS-CoV emergiram de morcegos e foram transmitidos aos humanos por civetas e camelos dromedários, respectivamente. Mais tarde, em dezembro de 2019, um novo betacoronavírus, denominado coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) emergiu de morcegos causando uma doença pandêmica chamada doença coronavírus 2019 (COVID-19). Provavelmente foi transmitido aos humanos por pangolins. Em resumo, os coronavírus representam um exemplo de vírus zoonóticos emergentes que cruzaram a barreira das espécies silvestres para causar doenças na população humana. A possibilidade de um novo CoV altamente patogênico emergir de animais silvestres nos próximos anos não pode ser descartada. Produzida pelo autor.

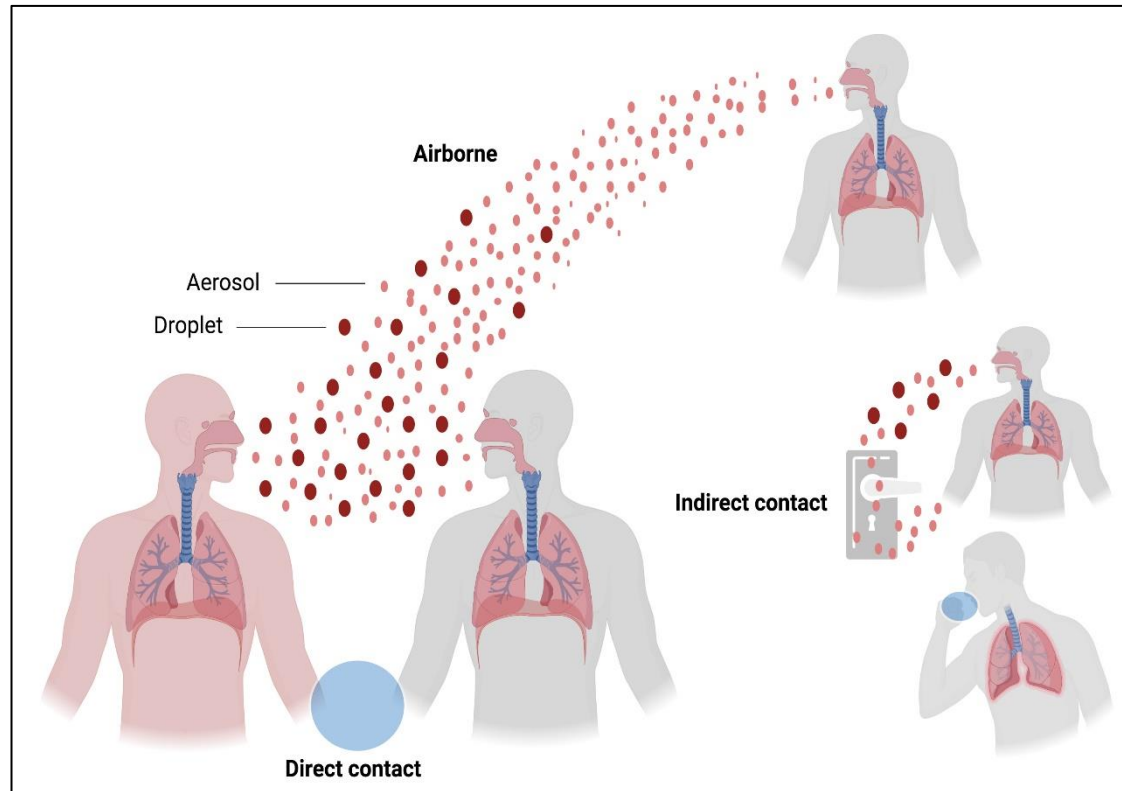
demonstrado que o SARS-CoV-2 pode ser transmitido facilmente entre gatos através de gotículas respiratórias (SHI; WEN; ZHONG; YANG et al., 2020). Da mesma forma, Halfmann e colegas avaliaram a transmissão do SARS-CoV-2 em gatos domésticos e evidenciaram a potencial cadeia de transmissão humano-gato-humano. Neste estudo, nenhum dos gatos infectados mostrou quaisquer sintomas relacionados à doença, como temperatura corporal anormal, perda substancial de peso ou conjuntivite, sugerindo que os gatos podem ser um hospedeiro intermediário silencioso para SARS-CoV-2 (HALFMANN; HATTA; CHIBA ; MAEMURA et al., 2020). No entanto, não há evidências claras de que o SARS-CoV-2 possa ser transmitido de animais infectados para humanos (ZHANG; ZHANG; GAO; HUANG et al., 2020), e mais estudos são necessários para compreender o real papel dos gatos e outros animais domésticos na transmissão de SARS-CoV-2 para humanos.

Além de animais domésticos, muitos estudos têm sido realizados para estabelecer modelos animais experimentais para SARS-CoV-2 (MUÑOZ-FONTELA; DOWLING; FUNNELL; GSELL et al., 2020; ROSA; DANTAS; DO NASCIMENTO; DA SILVA et al., 2021). O desenvolvimento e a identificação de modelos animais para estudar o SARS-CoV-2 são urgentemente necessários para elucidar a biologia do vírus, a transmissão, a patogênese do COVID-19 e avaliar os potenciais agentes terapêuticos e vacinas (MUÑOZ-FONTELA; DOWLING; FUNNELL; GSELL et al., 2020). A suscetibilidade de muitas espécies animais, incluindo hamsters, camundongos, furões, coelhos, morcegos, patos, porcos, galinhas, visons e primatas não humanos, foi investigada contra a infecção por SARS-CoV-2 (HASSAN; CASE; WINKLER; THACKRAY et al., 2020; KIM; KIM; KIM; KIM et al., 2020; LU; ZHAO; YU; YANG et al., 2020; MUÑOZ-FONTELA; DOWLING; FUNNELL; GSELL et al., 2020; ORESHKOVA; MOLENAAR; VREMAN ; HARDERS et al., 2020; SHI; WEN; ZHONG; YANG et al., 2020). Em geral, os resultados demonstraram que a suscetibilidade varia de acordo com a espécie animal, mas hamsters, camundongos, furões e primatas não humanos parecem ser os modelos *in vivo* mais promissores para a infecção. Até o momento, o conhecimento sobre os hospedeiros intermediários do SARS-CoV-2 permanece incompleto e todos os hospedeiros reservatórios do vírus não foram claramente comprovados. Portanto, estudos experimentais utilizando modelos animais com o objetivo de determinar potenciais hospedeiros reservatórios devem ser realizados a fim de elucidar outras rotas de propagação da SARS-CoV-2 entre humanos e animais (DA SILVA; DA SILVA; MENDES; PENA, 2020; ROSA; DANTAS; DO NASCIMENTO; DA SILVA et al., 2021; SILVA; GERMANO MENDES; ALVES DA SILVA; LORUSSO et al., 2020).

#### 2.4 MODOS DE TRANSMISSÃO

De acordo com as evidências atuais, o SARS-CoV-2 é transmitido de pessoa para pessoa quando a partícula infecciosa é liberada do trato respiratório de um indivíduo infectado e atinge o trato respiratório de um indivíduo exposto e suscetível (LEUNG, 2021; ZHANG; LI; ZHANG; WANG et al., 2020). Resumidamente, o SARS-CoV-2 pode ser transmitido através de três rotas principais, que não são mutuamente exclusivas: (i) via aerossol (gotículas respiratórias e aerossóis), (ii) via contato direto (vírus infeccioso depositado em pessoas), e (iii) via contato indireto (vírus infeccioso depositado em fômites) (Figura 5) (MARQUÈS; DOMINGO, 2021). Notadamente, o SARS-CoV-2 tem uma alta taxa de transmissão de pessoa para pessoa por meio do contato próximo com pessoas infectadas (HU; GUO; ZHOU; SHI,

2021), especialmente quando o vírus infeccioso é expelido durante a fala/respiração, tosse ou mesmo espirrando por um indivíduo infectado (KUTTER; SPRONKEN; FRAAIJ; FOUCHIER et al., 2018; LEUNG; CHU; SHIU; CHAN et al., 2020; STADNYTSKYI; BAX; BAX; ANFINRUD, 2020; TANG; NICOLLE; KLETTNER; KLETTNER; KLETTNER; et al., 2013). O SARS-CoV-2 entra no corpo através das membranas mucosas dos olhos, boca ou nariz e se espalha para a cavidade nasal e garganta até deposição ao longo do trato respiratório humano (KAUR; BHERWANI; GULIA; VIJAY et al., 2020). Após a infecção, a carga viral no trato respiratório superior parece atingir o pico junto com o início dos sintomas e a eliminação viral começa quase 2 a 3 dias antes do início dos sintomas (HE; LAU; WU; DENG et al., 2020). Dados epidemiológicos e de modelagem recentes sugeriram que a transmissão de SARS-CoV-2 pode ocorrer de pessoas sintomáticas, assintomáticas e pré-sintomáticas (BAI; YAO; WEI; TIAN et al., 2020; JOHANSSON; QUANDELACY; KADA; PRASAD et al., 2021; ROTHE; SCHUNK; SOTHMANN; BRETZEL et al., 2020; WEI; LI; CHIEW; YONG et al., 2020; ZHAO; LU; DENG; TANG et al., 2020), o que sugere que a identificação e isolamento de indivíduos com COVID-19 sintomático isoladamente não controlarão a disseminação contínua de SARS-CoV-2 (JOHANSSON; QUANDELACY; KADA; PRASAD et al., 2021).



**Figura 5** – *Silva et al.* (Dados não publicados) - Principais modos de transmissão entre humanos do SARS-CoV-2. Por via aérea, partículas infecciosas depositadas em gotículas respiratórias e aerossóis, e via contato direto, partículas infecciosas depositadas em pessoas infectadas, são as vias mais importantes de disseminação do SARS-CoV-2. Por contato indireto, partículas infecciosas depositadas em fômites representam outra possível via de transmissão viral.

Produzida pelo autor.

Dada a rápida disseminação do SARS-CoV-2 ao redor do mundo, a transmissão sustentada de pessoa para pessoa foi estabelecida. Assim, compreender as rotas de transmissão é uma etapa crucial para desenhar e estabelecer políticas e medidas de prevenção eficazes para conter a disseminação do SARS-CoV-2. O contato aéreo e direto são considerados as rotas dominantes para a propagação do SARS-CoV-2 entre as pessoas (FALAH; KENARKOOHI, 2020; GREENHALGH; JIMENEZ; PRATHER; TUFEKCI et al., 2021; ZHANG; LI; ZHANG; WANG et al., 2020). Uma exposição prolongada a qualquer indivíduo infectado (aproximadamente 1,8 metros por pelo menos 15 minutos) e curtas exposições a pessoas infectadas sintomáticas (por exemplo, tosse) estão associadas a uma transmissão viral bem-sucedida (CHU; AKL; DUDA; SOLO et al., 2020). Da mesma forma, estudos apontaram que a transmissão via gotículas respiratórias e aerossóis foram consideradas rotas relevantes para a transmissão de outros coronavírus altamente patogênicos, incluindo SARS-CoV e MERS-CoV (SETO; TSANG; YUNG; CHING et al., 2003; XIAO; LI; SUNG; WEI et al., 2018; YU; LI; WONG; TAM et al., 2004; ZUMLA; HUI; PERLMAN, 2015).

A transmissão da SARS-CoV-2 também pode ocorrer pelo contato com superfícies contaminadas (LEUNG, 2021; LUO; LIU; ZHANG; LI et al., 2020), embora não esteja claro o real papel dessa fonte de infecção para humanos. Notadamente, o risco de infecção por esta via é provavelmente multifatorial, sendo influenciado pela distância da fonte viral, a quantidade de vírus a que o indivíduo está exposto e o tempo de depósito do vírus na superfície, uma vez que a viabilidade do SARS-CoV-2 ao longo do tempo é afetada por vários estressores ambientais, incluindo umidade, temperatura e radiação ultravioleta (CHIN; CHU; PERERA; HUI et al., 2020; VAN DOREMALEN; BUSHMAKER; MORRIS; HOLBROOK et al., 2020; ZHANG ; LI; ZHANG; WANG et al., 2020). Estudos anteriores realizados em condições de laboratório demonstraram a capacidade do SARS-CoV-2 de permanecer infeccioso em diferentes tipos de superfícies, como papel, vidro e aço inoxidável, dependendo do tipo de material, por até 28 dias a 20°C (RIDDELL; GOLDIE; HILL; EAGLES et al., 2020), enquanto em aerossóis por até 3h (VAN DOREMALEN; BUSHMAKER; MORRIS; HOLBROOK et al., 2020). Para abordar esta questão em ambientes da vida real, muitos estudos recentes investigaram a presença de contaminação por SARS-CoV-2 no ar e em superfícies ambientais, incluindo unidades de saúde (CHIA; COLEMAN; TAN; ONG et al., 2020; COLANERI; SEMINARI ; NOVATI; ASPERGES et al., 2020; LIU; NING; CHEN; GUO et al., 2020; SANTARPIA; RIVERA; HERRERA; MORWITZER et al., 2020; ZHOU; LONTRA; PREÇO; CIMPEANU et al., 2020) e ambientes urbanos (ABRAHÃO; SACCHETTO; REZENDE; RODRIGUES et al., 2021; DI CARLO; CHIACCHIARETTA; SINJARI; ARUFFO et al., 2020; LUO; LIU; ZHANG; LI et al., 2020; SILVA, 2021). Os resultados demonstram diferentes níveis de contaminação viral variando de alto (SILVA, 2021; ZHOU; LONTRA; PREÇO; CIMPEANU et al., 2020) a baixo (COLANERI; SEMINARI; NOVATI; ASPERGES et al., 2020), ou mesmo sem contaminação por RNA do SARS-CoV-2 (DI CARLO; CHIACCHIARETTA; SINJARI; ARUFFO et al., 2020). Além disso, a maioria das amostras ambientais positivas apresentou altos valores de Ct (> 30) na RT-qPCR para a maioria das amostras positivas (SILVA, 2021; ZHOU; LONTRA; PREÇO; CIMPEANU et al., 2020), indicando a presença de baixa carga viral. No entanto, a maioria desses estudos não investigou a capacidade do SARS-CoV-2 de ser cultivado a partir de uma amostra de superfície ambiental, o que seria crucial para a compreensão do real papel das amostras positivas com RNA do SARS-CoV-2 em termos de potencial infeccioso para a população humana (COLANERI; SEMINARI; NOVATI; ASPERGES et al., 2020; SILVA, 2021; ZHOU; LONTRA; PREÇO; CIMPEANU et al., 2020). Tomados em conjunto, estudos recentes reforçam o potencial das amostras ambientais para a transmissão do SARS-CoV-2, embora a disseminação do vírus via face a face continue a ser a principal via de transmissão.



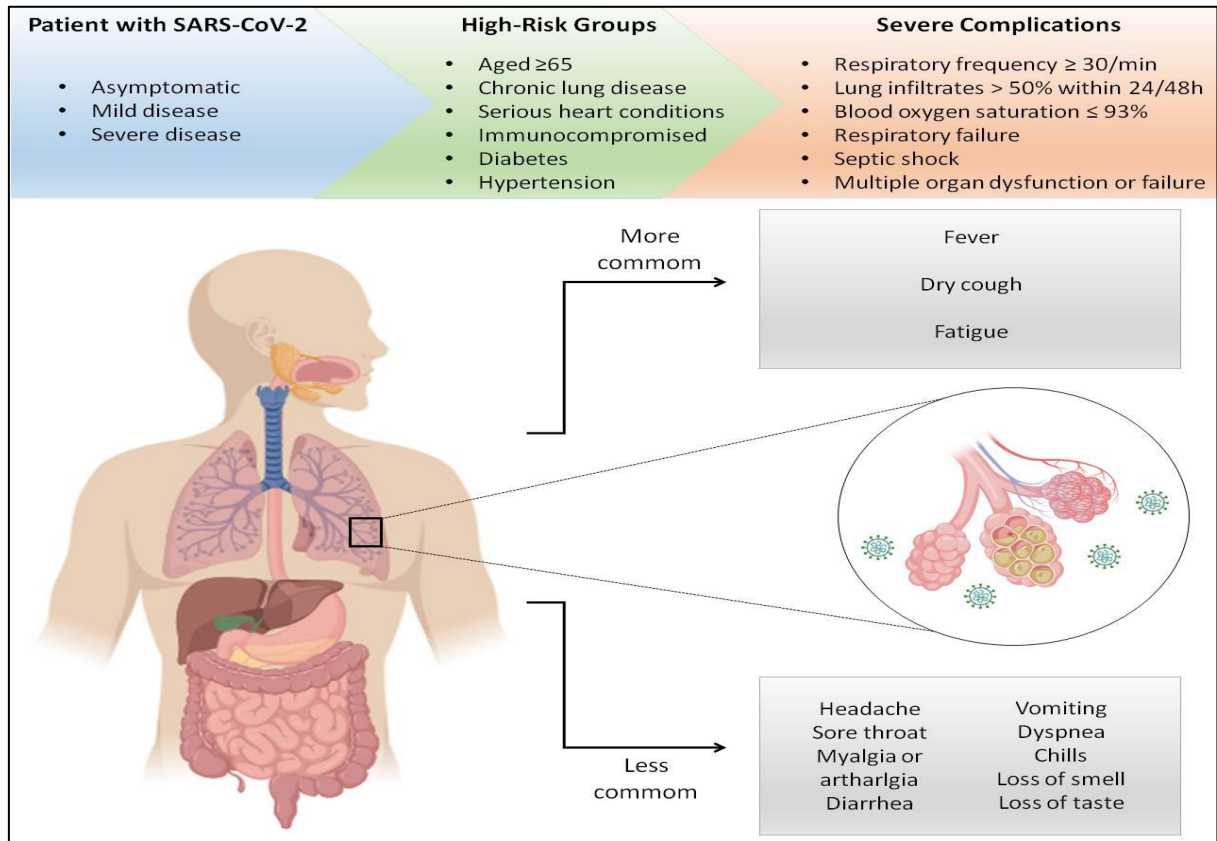
Novos estudos são necessários com urgência para demonstrar a real contribuição das amostras ambientais para a cadeia de transmissão da SARS-CoV-2.

Outras possíveis vias de transmissão estão sendo exploradas por grupos de pesquisa em todo o mundo, incluindo as vias fecal-oral e sanguínea, e a transmissão vertical da mãe para os recém-nascidos. O RNA do SARS-CoV-2 foi detectado nas amostras de fezes de pacientes com COVID-19, sugerindo que a eliminação viral nas fezes pode ser uma rota potencial de transmissão fecal-oral (ONG; TAN; CHIA; LEE et al., 2020; WANG ; XU; GAO; LU et al., 2020). Além disso, o SARS-CoV-2 também foi relatado em amostras de sangue, mas o risco de transmissão pelo sangue foi apontado como insignificante (OWUSU; SYLVERKEN; EL-DUAH; AYISI-BOATENG et al., 2021; WANG; XU; GAO; LU et al., 2020). No que diz respeito à transmissão vertical, vários estudos de meta-análise baseados nas evidências científicas atuais sugeriram um baixo risco de transmissão vertical para a disseminação da SARS-CoV-2 (BARRERO-CASTILLERO; BEAM; BERNARDINI; RAMOS et al., 2021; BELLOS; PANDITA; PANZA, 2021; CAPOBIANCO; SADERI; ALIBERTI; MONDONI et al., 2020). Na maioria das séries de casos relatados, a infecção com SARS-CoV-2 ocorreu no terceiro trimestre da gravidez e não há evidências de que a infecção possa levar à transmissão vertical de SARS-CoV-2 ou resultados adversos graves em recém-nascidos (CHEN; GUO ; WANG; LUO et al., 2020; DASHRAATH; WONG; LIM; LIM et al., 2020; ZENG; XIA; YUAN; YAN et al., 2020).

## 2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O período médio de incubação (o tempo desde a exposição até o início dos sintomas) de COVID-19 é de aproximadamente 5,2 dias (intervalo de confiança de 95% [CI], 4,1-7,0) e eventualmente evolui para pneumonia em um tempo médio de 8 dias a partir do início da doença ( LI; GUAN; WU; WANG et al., 2020; WU; MCGOOGAN, 2020). Aproximadamente 97,5% das pessoas infectadas que desenvolvem manifestações clínicas o farão dentro de 11,5 dias após a infecção (LAUER; GRANTZ; BI; JONES et al., 2020). O intervalo médio desde o início dos sintomas até a internação hospitalar é de 7 dias (3-9 dias) (KIM; WHITAKER; O'HALLORAN; KAMBHAMPATI et al., 2020). Estudos recentes demonstraram que pessoas de todas as idades são suscetíveis à infecção por SARS-CoV-2, embora a idade média da infecção seja em torno de 50 anos (CHEN; ZHOU; DONG; QU et al., 2020; GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; WANG; HU; HU; ZHU et al., 2020; WU; MCGOOGAN, 2020). No geral, homens com  $\geq 65$  anos com comorbidades são mais suscetíveis

a desenvolver doenças respiratórias graves que requerem internação hospitalar, enquanto a maioria dos jovens e crianças apresenta apenas doença leve ou são assintomáticos (Figura 6) (GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; WANG; HU; HU; ZHU et al., 2020).



**Figura 6** – Silva et al. (Dados não publicados) - Manifestações clínicas de COVID-19. Os pacientes infectados com SARS-CoV-2 podem ser assintomáticos, desenvolver uma doença leve com sintomas mais ou menos comuns ou progredir para uma doença grave. As complicações graves do COVID-19 são mais frequentemente apresentadas por pacientes do grupo de alto risco. Produzida pelo autor.

A apresentação clínica inicial da infecção por SARS-CoV-2 é inespecífica, o que pode representar uma limitação para o diagnóstico clínico, uma vez que outros vírus respiratórios podem causar sintomas semelhantes, como os vírus influenza e parainfluenza (BORDI; NICASTRI; SCORZOLINI; DI CARO et al., 2020). Os sintomas mais comuns da infecção por SARS-CoV-2 são febre, tosse seca e fadiga (CHEN; ZHOU; DONG; QU et al., 2020; FERRAZ DE MAGALHÃES; GERMANO MENDES; ALVES DA SILVA; RIBEIRO DA SILVA et al., 2020; GUAN; NI; HU; LIANG et al., 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; WANG; HU; HU; ZHU et al., 2020). Os sintomas menos comuns incluem dor de cabeça, dor de garganta, mialgia ou artralgia, falta de ar, diarreia, vômito, dispneia, calafrios, perda do olfato

e perda do paladar (CHEN; ZHOU; DONG; QU et al., 2020; GUAN; NI ; HU; LIANG et al., 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020; WANG; HU; HU; ZHU et al., 2020). Em um estudo recente com 417 pacientes europeus com COVID-19 leves a moderados, 85,6% e 88,0% deles relataram distúrbios olfativos e gustativos, respectivamente (LECHIEN; CHIESA-ESTOMBA; DE SIATI; HOROI et al., 2020). Foi demonstrado que essas disfunções persistiram após a resolução de outros sintomas e as mulheres foram significativamente mais afetadas por disfunções olfativas e gustativas do que os homens (LECHIEN; CHIESA-ESTOMBA; DE SIATI; HOROI et al., 2020), embora a prevalência dessas doenças pode ocorrer em intensidades variadas e deve ser considerada como parte das apresentações clínicas do COVID-19 (COSTA; CARNAÚBA; ROCHA; ANDRADE et al., 2020). Outras apresentações atípicas de COVID-19 incluem manifestações cutâneas, onde os indivíduos podem apresentar diferentes tipos de lesões, como urticariforme, livedoide, purpúrica, maculopapular, trombotiscêmica e papulovesicular (DOMINGUEZ-SANTAS; DIAZ-GUIMARAENS; GARCIA ABELLAS; MORENO-GARCIA REAL et al., 2020; ELMAS; DEMIRBAŞ; ÖZYURT; ATASOY et al., 2020; RECALCATI, 2020; TAMMARO; ADEBANJO; PARISELLA; PEZZUTO et al., 2020).

De acordo com as evidências atuais, COVID-19 é reconhecida como uma doença que afeta múltiplos órgãos com um amplo espectro de apresentações clínicas (NALBANDIAN; SEHGAL; GUPTA; MADHAVAN et al., 2021; WIERSINGA; RHODES; CHENG; PEACOCK et al., 2020). Em um grande estudo incluindo 72.314 indivíduos com COVID-19 na China, 81% dos casos apresentaram sintomas leves ou moderados, 14% dos pacientes infectados desenvolveram pneumonia grave que exigiu ventilação em uma unidade de terapia intensiva (UTI), e aproximadamente 5% dos casos apresentavam manifestações críticas, que incluíam pacientes com insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção ou falência de múltiplos órgãos (CHEN; WU; CHEN; YAN et al., 2020; WU; MCGOOGAN, 2020). Semelhante às síndromes virais pós-agudas relatadas em sobreviventes de outros coronavírus patogênicos, há relatos crescentes de efeitos persistentes e prolongados após a COVID-19 aguda, que são caracterizados por sintomas persistentes e/ou complicações retardadas ou de longo prazo além de 3-4 semanas a partir do início dos sintomas (DATTA; TALWAR; LEE, 2020; GREENHALGH; KNIGHT; A'COURT; BUXTON et al., 2020; NALBANDIAN; SEHGAL; GUPTA; MADHAVAN et al., 2021). Além disso, estudos sugeriram que os pacientes com COVID-19 podem desenvolver uma doença crônica ou síndrome pós-COVID-19, que inclui sintomas e anormalidades persistentes ou presentes além de 12 semanas do início da doença (GREENHALGH; KNIGHT; A'COURT; BUXTON et al., 2020; MORENO-

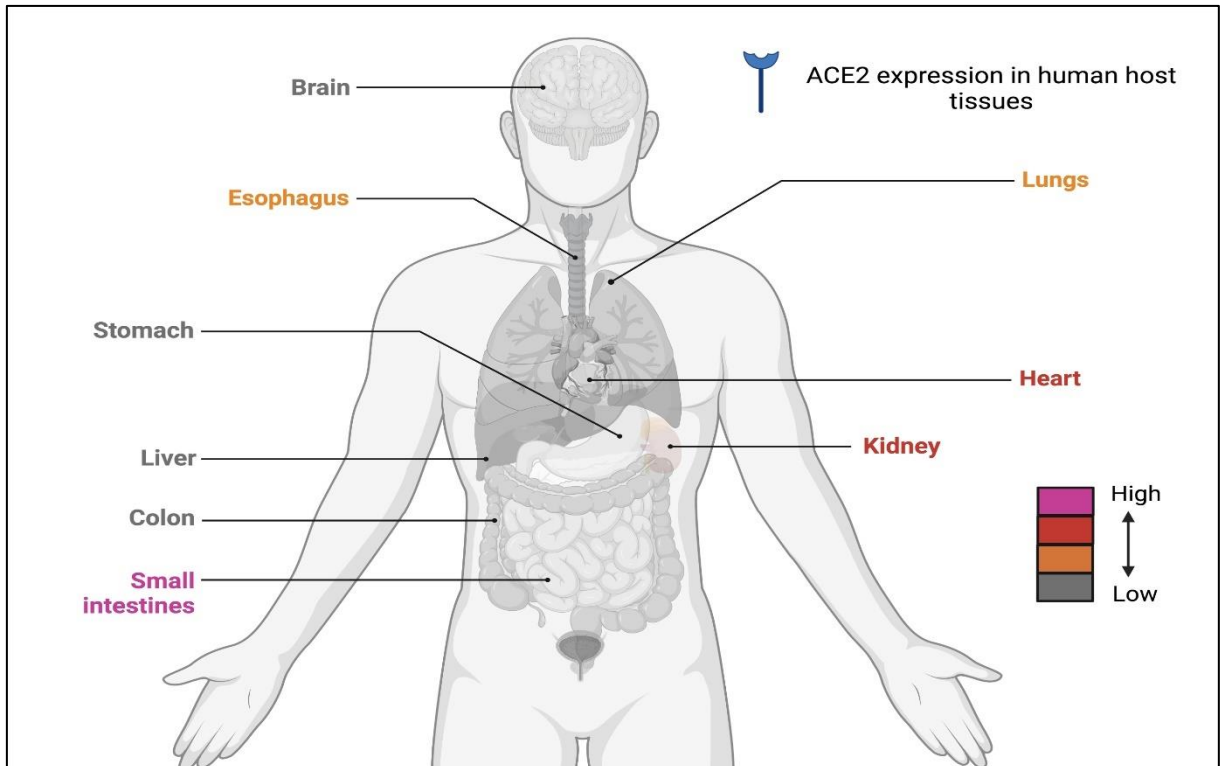
PÉREZ; MERINO; LEON-RAMIREZ; ANDRES et al., 2021; SHAH; HILLMAN; PLAYFORD; HISHMEH, 2021). Complicações da COVID-19 em pacientes com doença grave podem incluir função prejudicada do pulmão, fígado, coração, cérebro, sistema de coagulação e rim (NALBANDIAN; SEHGAL; GUPTA; MADHAVAN et al., 2021; WIERSINGA; RHODES; CHENG; PEACOCK et al., 2020). Os fatores de risco para o desenvolvimento de COVID-19 grave incluem idade  $\geq 65$  anos e pessoas com comorbidades, como hipertensão, diabetes, doença pulmonar crônica, doença renal crônica, imunodeficiências, doença hepática crônica, câncer, doença cardiovascular e obesidade (DU; LIANG ; YANG; WANG et al., 2020; GARG; KIM; WHITAKER; O'HALLORAN et al., 2020; GRASSELLI; ZANGRILLO; ZANELLA; ANTONELLI et al., 2020; LIANG; GUAN; CHEN; WANG et al., 2020 ; PETRILLI; JONES; YANG; RAJAGOPALAN et al., 2020; RICHARDSON; HIRSCH; NARASIMHAN; CRAWFORD et al., 2020). As características típicas de pacientes com doença grave de COVID-19 incluem frequência respiratória  $\geq 30$ /min, infiltrados pulmonares  $>50\%$  em 20/48 horas, saturação de oxigênio no sangue  $<93\%$  e relação PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> alterada, que está associada a alta mortalidade e morbidade (WU; MCGOOGAN, 2020; XU; SHI; WANG; ZHANG et al., 2020).

COVID-19 é geralmente uma doença leve em crianças, incluindo bebês. Quando infectadas, a maioria das crianças permanece assintomática (GAYTHORPE; BHATIA; MANGAL; UNWIN et al., 2021). No entanto, uma pequena proporção de crianças (4%) com COVID-19 desenvolve doença grave que requer admissão na UTI e ventilação prolongada, embora os desfechos fatais sejam geralmente raros (GÖTZINGER; SANTIAGO-GARCÍA; NOGUERA-JULIÁN; LANASPA et al., 2020). Aproximadamente 2% a 5% dos pacientes infectados com COVID-19 são mais jovens, com idade mediana de 11 anos e ainda não está claro o motivo pelo qual as crianças são menos suscetíveis à infecção por SARS-CoV-2 (WIERSINGA; RHODES; CHENG; PEACOCK et al., 2020). Recentemente, alguns estudos relataram uma síndrome inflamatória multissistêmica em crianças (MIS-C) devido à infecção por SARS-CoV-2 (CONSIGLIO; COTUGNO; SARDH; POU et al., 2020; FELDSTEIN; TENFORDE; FRIEDMAN; NEWHAMS et al., 2021; VERDONI; MAZZA; GERVASONI; MARTELLI et al., 2020; WHITTAKER; BAMFORD; KENNY; KAFOROU et al., 2020). A patogênese desse raro MIS-C ainda não está clara, mas compartilha algumas características com a doença de Kawasaki, sugerindo uma etiologia vascular e provavelmente autoimune (CONSIGLIO; COTUGNO; SARDH; POU et al., 2020). Um recente estudo de meta-análise avaliou 783 casos individuais de MIS-C entre março e junho de 2020 (RADIA; WILLIAMS; AGRAWAL; HARMAN et al., 2021). Os resultados revelaram que os pacientes com MIS-C

têm uma alta frequência de sintomas gastrointestinais (71%), incluindo dor abdominal (34%) e diarreia (27%). Outros sintomas comuns incluem tosse e dificuldade respiratória encontrados em 4,5% e 9,6% dos casos, respectivamente (RADIA; WILLIAMS; AGRAWAL; HARMAN et al., 2021). Além de sua baixa taxa de letalidade (1,5%), MIS-C parece ser uma condição de maior gravidade para pacientes infectados (RADIA; WILLIAMS; AGRAWAL; HARMAN et al., 2021).

## 2.6 FISIOPATOLOGIA

Similarmente ao SARS-CoV, a ligação do SARS-CoV-2 e a entrada nas células epiteliais alveolares estão relacionadas à presença da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), o principal receptor humano para a glicoproteína de pico da superfície viral (HUI; I AZHAR; MADANI; NTOUMI et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020). No entanto, a afinidade da glicoproteína de pico SARS-CoV-2 para a ACE-2 humana é cerca de 10 a 20 vezes maior do que a proteína de pico SARS-CoV (WRAPP; WANG; CORBETT; GOLDSMITH et al., 2020), indicando que o novo coronavírus é mais fácil de se disseminar entre humanos (LI; LIU; YU; TANG et al., 2020). ACE2 é altamente expresso em diferentes tecidos humanos, como pulmão, brônquio, esôfago, cérebro, mucosa nasal, coração, rim, íleo, estômago e bexiga (Figura 7) (ZOU; CHEN; ZOU; HAN et al., 2020), que pode explicar o amplo espectro de manifestações clínicas associadas à doença COVID-19 em pacientes infectados.



**Figura 7** – Silva *et al.* (Dados não publicados) - Expressão gênica do receptor celular ACE2 em tecidos humanos. O nível de expressão em cada órgão é categorizado de alto a baixo usando cores diferentes  
Produzida pelo autor.

O SARS-CoV-2 requer processamento proteolítico da proteína spike para ativar a via endocítica. Nesse contexto, estudos recentes têm demonstrado que proteases incluindo a serina protease transmembrana (TMPRSS2), furina e catepsina B e L (CatB/L) participam da clivagem da proteína spike, resultando na entrada de SARS-CoV-2 e a fusão do envelope viral e endossomo (HOFFMANN; KLEINE-WEBER; SCHROEDER; KRÜGER *et al.*, 2020; OU; LIU; LEI; LI *et al.*, 2020; SHANG; WAN; LUO; YE *et al.*, 2020). Mais recentemente, foi sugerido que o SARS-CoV-2 pode se ligar a outro receptor de superfície CD147, o que sugere uma nova forma de mediar a invasão do vírus na célula hospedeira (proteína CD147-spike) (WANG; CHEN; ZHANG; DENG *et al.*, 2020). Presume-se que a replicação viral primária ocorre no epitélio da mucosa do trato respiratório superior, seguida pela multiplicação no trato respiratório inferior e na mucosa gastrointestinal, causando viremia leve (XIAO; TANG; ZHENG; LIU *et al.*, 2020). Nesse momento, algumas infecções podem ser controladas naturalmente e a pessoa infectada permanece assintomática (JIN; YANG; JI; WU *et al.*, 2020). Durante a entrada do vírus na célula, o Receptor de Reconhecimento de Padrões-RRP, como os TLRs (*Toll Like Receptors*) endossômicos, podem reconhecer o RNA genômico viral, conforme relatado anteriormente para coronavírus zoonótico e SARS-CoV (TOTURA; BARIC, 2012). A

ativação de TLR-3 ou TLR-7 desencadeia uma via de sinalização que libera o principal regulador transcricional da inflamação, NF- $\kappa$ B, de seu inibidor (BOUAYAD, 2020). O reconhecimento da proteína spike pelo TLR-2 colocado na superfície celular também pode contribuir com a sinalização que ativa a resposta de defesa do hospedeiro (BOUAYAD, 2020). Apesar de fazer parte das defesas do hospedeiro, a hiperativação de TLR e de sua proteína adaptadora MyD88 foi considerada um fator de predisposição para inflamação exacerbada observada em pacientes com COVID-19 com obesidade (CUEVAS; CLARK; POTTER, 2021). Uma vez liberado, o NF- $\kappa$ B migra para o núcleo e induz genes que codificam proteínas com propriedades imunológicas, como citocinas, quimiocinas e outros mediadores imunológicos (HARIHARAN; HAKEEM; RADHAKRISHNAN; REDDY et al., 2021). O dano celular causado pela replicação viral rápida, *Antibody Dependent Enhancement* (ADE), regulação negativa e liberação de ACE2 induzida por vírus são a principal causa da inflamação agressiva induzida por SARS-CoV-2 (FU; CHENG; WU, 2020; XU; SHI; WANG; ZHANG et al., 2020).

Depois da fusão entre o envelope viral e a membrana endossômica, o genoma viral é liberado na célula e pode ser identificado por outros RRP's no citosol como MDA-5 ou RIG-1 (WU; SHI; PAN; WU et al., 2021; ZALINGER; ELLIOTT; ROSE; WEISS, 2015). Esses RRP's também irão desencadear a ativação do NF- $\kappa$ B, embora por outra via de sinalização (WU; SHI; PAN; WU et al., 2021). Esses RRP's também ativarão os reguladores transcricionais, incluindo IRF-3 e IRF-7, que induzem a expressão de genes interferons (IFN) de classe I (WU; SHI; PAN; WU et al., 2021). Uma resposta antiviral eficiente depende da produção de IFN classe I, interferon  $\alpha$  e interferon  $\beta$  (CHANNAPPANAVAR; FEHR; ZHENG; WOHLFORD-LENANE et al., 2019; SHOKRI; MAHMOUDVAND; TAHERKHANI; FARSHADPOUR, 2019). O IFN atua nas células para a autoindução da resposta antiviral e nas células mais próximas pela via JAK/STAT, ativando a resposta antiviral em células não infectadas e aumentando as defesas celulares contra o vírus (ACHARYA; LIU; GACK, 2020; O'BRIEN; THOMAS; JACKSON; PROKUNINA-OLSSON et al., 2020; SCHULTZE; ASCHENBRENNER, 2021; XIA; SHI, 2020). Algumas proteínas não estruturais (nsps) do SARS-CoV foram associadas à inibição da via de sinalização celular e à interrupção de uma resposta antiviral adequada (TOTURA; BARIC, 2012). Da mesma forma, vários nsps de SARS-CoV-2 foram relatados perturbando a via de ativação de IFN (XIA; SHI, 2020), pelo menos nsp 3b, nsp 9, nsp 13 e nsp 15 podem interagir com a proteína da via de indução de IFN ou mesmo inibir a produção de interferon (SA RIBERO; JOUVENET; DREUX; NISOLE, 2020). Isso poderia contribuir para a baixa produção de IFN observada em alguns pacientes com COVID-19, o que poderia melhorar a replicação do vírus por evadir as defesas celulares (CEVIK; KUPPALLI; KINDRACHUK;

PEIRIS, 2020). Assim, a capacidade do hospedeiro em produzir IFNs, apesar de quaisquer interferências virais, poderia contribuir para conter a proliferação viral, aumentando a resposta imunológica em promover o *clearance* viral e evitar a deterioração clínica observada nos casos graves de COVID-19.

Na ausência de uma resposta antiviral adequada mediada por IFN, as defesas do hospedeiro dependem de outros mecanismos imunes inatos, como as células imunes (MERAD; MARTIN, 2020). A ativação do NF- $\kappa$ B leva à produção de citocinas e quimiocinas que recrutarão e ativarão células imunes da corrente sanguínea (LEE; CHOI, 2021; SCHULTZE; ASCHENBRENNER, 2021). As primeiras células imunes a atingir o local da infecção a partir da circulação são os neutrófilos e monócitos (BARNES; ADROVER; BAXTER-STOLTZFUS; BORCZUK et al., 2020). Várias quimiocinas como CCL-2, CCL-3 e CXCL-10, juntamente com CCL-7, CCL-2 são quimiocinas potentes para monócitos e estão em níveis elevados em pacientes COVID-19 com doença grave (MERAD; MARTIN, 2020). Alguns níveis anormais do subconjunto da população de monócitos foram demonstrados em pacientes com COVID-19, sugerindo a migração dos monócitos intermediários (CD14 ++ CD16 +) e não clássicos (CD14 + CD16 +++) para o tecido inflamado (GATTI; RADRIZZANI; VIGANÒ; MAZZONE et al., 2020; JAFARZADEH; CHAUHAN; SAHA; JAFARZADEH et al., 2020; ZHANG; GUO; LEI; LIU et al., 2021). Monócitos não clássicos foram previamente associados a uma resposta imune contra infecção por vírus e monócitos clássicos com um antibacteriano (GATTI; RADRIZZANI; VIGANÒ; MAZZONE et al., 2020). Pacientes com níveis normais ou quase normais desse subgrupo de monócitos mostraram o desenvolvimento de uma doença moderada e tem sido sugerido como um melhor prognóstico (GATTI; RADRIZZANI; VIGANÒ; MAZZONE et al., 2020; ZHANG; GUO; LEI; LIU et al., 2021). Mais recentemente, Chevrier e colegas revelaram informações importantes sobre as assinaturas imunes envolvidas durante a progressão de doença leve para doença grave de COVID-19 (CHEVRIER; ZURBUCHEN; CERVIA; ADAMO et al., 2021). Os resultados demonstraram que uma produção de CD169 + combinada com um IFN- $\gamma$  + MCP-2 + segue rapidamente o início dos sintomas. Em estágios posteriores, eles mostraram um fenótipo inflamatório persistente em pacientes COVID-19 com doença grave, dominada por alta abundância de CCL3 e CCL4 correlacionada com o reaparecimento de monócitos CD16 +, enquanto a resposta de pacientes COVID-19 moderados normalizou (CHEVRIER; ZURBUCHEN; CERVIA; ADAMO et al., 2021).

Macrófagos e monócitos são células suscetíveis à infecção por SARS-CoV-2 e alguns relatos sugerem que a infecção por vírus desencadeia um importante fenótipo pró-inflamatório por meio da produção e secreção de citocinas (MACHHI; HERSKOVITZ; SENAN; DUTTA



et al., 2020; MOORE; JUNHO, 2020; ZHANG; WU; LI; ZHAO et al., 2020). Níveis elevados de várias citocinas foram relatados em pacientes com COVID-19 grave, como IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$ , Proteína 10 induzida por IFN- $\gamma$ , MCP-1, G-CSF, MIP-1 $\alpha$  e TNF- $\alpha$  (BARNES; ADROVER; BAXTER-STOLTZFUS; BORCZUK et al., 2020). O termo tempestade de citocinas é utilizado para definir esse aumento patológico da circulação de citocinas que leva à resposta inflamatória sistêmica afetando diversos órgãos como coração, fígado e rim, que é apontada como a principal causa de morte em pacientes com COVID-19 (FAJGENBAUM; JUNHO, 2020; HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; MEHTA; MCAULEY; BROWN; SANCHEZ et al., 2020). O aumento da circulação de citocinas pró-inflamatórias desencadeou vários sintomas, incluindo febre, cefaleia, erupção cutânea, diarreia, artralgia e mialgia (FAJGENBAUM; JUNHO, 2020). Em casos graves, o alto nível de citocinas na circulação leva à hipotensão, vazamento vascular, coagulação intravascular disseminada e falência múltiplos de órgãos (SHIMABUKURO-VORNHAGEN; GÖDEL; SUBKLEWE; STEMMLER et al., 2018). Muitos desses sintomas foram relatados em pacientes graves de COVID-19 e a tempestade de citocinas foi eleita como parte da patologia em casos graves (HU; HUANG; YIN, 2021), embora ainda não se compreenda completamente o mecanismo que desencadeia essa resposta imunológica exacerbada.

Os neutrófilos também são recrutados para o tecido infectado com vírus (BORGES; PITHON-CURI; CURI; HATANAKA, 2020). É uma célula responsiva que pode produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) que danificam o tecido (LAFORGE; ELBIM; FRÈRE; HÉMADI et al., 2020). Os danos causados pelos neutrófilos contribuem para a depuração do vírus e eliminação de patógenos invasivos (SCHÖNRICH; RAFTERY; SAMSTAG, 2020). A infecção viral e o estresse oxidativo excessivo podem induzir a liberação de *Damage Associated Molecular Pattern* (DAMP) que pode atuar por estímulo pró-inflamatório (SCHÖNRICH; RAFTERY; SAMSTAG, 2020). A neutrofilia nos pulmões tem sido descrita relacionada ao aumento da lesão tecidual e pneumonia em pacientes com COVID-19 e o aumento da relação neutrófilos/linfócitos (NRL) tem sido sugerido como um fator de risco para a doença (WANG; LI; YIN; ZHANG et al., 2020). A ativação de neutrófilos também pode promover a formação de *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) (BARNES; ADROVER; BAXTER-STOLTZFUS; BORCZUK et al., 2020; SCHÖNRICH; RAFTERY; SAMSTAG, 2020). A liberação de NET também foi induzida por SARS-CoV-2 infeccioso em células de cultura de neutrófilos in vitro, mas não por vírus inativos, sugerindo que a infecção pelo vírus pode ser um mecanismo para a indução de NETs (VERAS; PONTELLI; SILVA; TOLLER-KAWAHISA et al., 2020). Nesta resposta os neutrófilos podem morrer e no processo liberar seu DNA junto com várias

moléculas bioativas que reforçam a resposta inflamatória e aumentam o desequilíbrio pró-trombótico (MIDDLETON; HE; DENORME; CAMPBELL et al., 2020). Normalmente, a formação de NETs pode restringir a disseminação de patógenos através da circulação e compostos antimicrobianos também são liberados (MIDDLETON; HE; DENORME; CAMPBELL et al., 2020; SCHÖNRICH; RAFTERY; SAMSTAG, 2020). Dados histológicos *post mortem* de pacientes com COVID-19 descreveram números aumentados de neutrófilos degradados compatíveis com a formação de NET (FOX; AKMATBEKOV; HARBERT; LI et al., 2020). Também o estímulo pró-coagulação do NET tem sido associado à manifestação sistêmica de desequilíbrio vascular, formação de trombos na microvasculatura em vários órgãos e SDRA (MIDDLETON; HE; DENORME; CAMPBELL et al., 2020).

Como os SARS-CoV-2 são transmitidos pelo ar, o sistema respiratório é o primeiro a lidar com a infecção viral e a resposta inflamatória (CEVIK; KUPPALLI; KINDRACHUK; PEIRIS, 2020). Em alguns casos o vírus atinge o trato respiratório inferior e infecta o revestimento das células alveolares, pneumócitos I e II (CHU; CHAN; WANG; YUEN et al., 2020), levando à secreção de mediador imunológico que ativa as células endoteliais (COLLING; KANTHI, 2020). A ativação do endotélio enfraquece a função de barreira epitelial aumentando o influxo de fluido da circulação para a área intersticial circundante que desenvolve o edema (COLLING; KANTHI, 2020). Junto com o fluido, células imunes como monócitos e neutrófilos são recrutadas e cruzam a barreira endotelial impulsionada pela secreção de quimiocinas como CCL-2, CCL-3, CCL-7, CXCL-10 (MERAD; MARTIN, 2020). No tecido, essas células aumentam a inflamação e o dano tecidual associado à inflamação exagerada que também contribui para a formação de trombos (JAFARZADEH; CHAUHAN; SAHA; JAFARZADEH et al., 2020). A resposta hiperinflamatória leva à desordem do revestimento alveolar dos pneumócitos e da ARDS, interrompendo a função de troca gasosa. Assim, sem oxigenação do sangue, estabelece um estado de hipóxia. Nessa fase, os pacientes com COVID-19 apresentam dispneia, inclusive a tontura e tornam-se cianóticos.

Uma vez que o vírus atinge a corrente sanguínea pode infectar outras células (CEVIK; KUPPALLI; KINDRACHUK; PEIRIS, 2020). Mesmo as células endoteliais são suscetíveis à infecção do vírus que pode contribuir para o desequilíbrio a favor da coagulação (VARGA; FLAMMER; STEIGER; HABERECKER et al., 2020). A formação de trombos na isquemia da microvasculatura nas extremidades dos membros foi relatada em pacientes com COVID-19 (BIKDELI; MADHAVAN; JIMENEZ; CHUICH et al., 2020). A coagulação intravascular induzida por COVID-19 tem estimulado o uso de terapia anticoagulante nesses pacientes (TANG; BAI; CHEN; GONG et al., 2020). Os níveis anormais de parâmetros sanguíneos como

dímero D e níveis de fibrinogênio são relatados em pacientes graves (ARACHCHILLAGE; LAFFAN, 2020). Possivelmente, essas anormalidades refletem a inflamação excessiva influenciada pelos níveis de IL-6 (GUPTA; MADHAVAN; SEHGAL; NAIR et al., 2020). Outros parâmetros anormais encontrados em pacientes com doença grave são a elevação da proteína C reativa e do lactato (RUAN; YANG; WANG; JIANG et al., 2020; WU; CHEN; CAI; XIA et al., 2020; ZHOU; YU; DU; FAN et al., 2020). Uma vez infectado o endotélio, o vírus induz uma resposta imune, mediada principalmente por neutrófilos e linfócitos, contra a endotelite desencadeadora de células endoteliais (VARGA; FLAMMER; STEIGER; HABERECKER et al., 2020). A tempestade de citocinas também pode levar à síndrome de extravasamento de vasos com efluxo descontrolado de fluido da circulação para os tecidos circundantes (SHIMABUKURO-VORNHAGEN; GÖDEL; SUBKLEWE; STEMMLER et al., 2018).

O SARS-CoV-2 pode atingir outros órgãos, como coração, rim e fígado (GUPTA; MADHAVAN; SEHGAL; NAIR et al., 2020). Lesão cardíaca é uma condição comum (12-19%) entre pacientes hospitalizados com COVID-19 e está associada a maior risco de mortalidade hospitalar (HUANG; WANG; LI; REN et al., 2020; SHI; QIN; SHEN; CAI et al., 2020). Da mesma forma, lesões cardíacas também foram associadas durante a infecção com outros CoVs altamente patogênicos, incluindo SARS-CoV e MERS-CoV (CAPOTOSTO; NGUYEN; CIARDI; MASTROIANNI et al., 2020). Os dados da autópsia indicaram infiltração de células mononucleares no miocárdio intersticial (XU; SHI; WANG; ZHANG et al., 2020) e miocardite foi relatada em mais de 20% dos pacientes hospitalizados na UTI (OLESZAK; MARYNIAK; BOTTI; ABRAHIM et al., 2020). Apesar de não ser um marcador específico, o nível elevado de troponina pode sugerir dano miocárdico e níveis elevados anormais são observados em pacientes com COVID-19 (ZHAO; LIU; LEI; ZHOU et al., 2020). Várias anormalidades cardíacas também são relatadas nesses pacientes, incluindo necrose celular, choque cardiogênico e disfuncionalidade dos miócitos, células que promovem o estímulo elétrico no coração, que podem induzir arritmias ou até mesmo parada cardíaca (TOPOL, 2020). Em relação ao rim, lesão aguda foi relatada em mais de 70% dos pacientes em condições graves e as anormalidades mais comuns relatadas na urina são proteinúria, hematúria e leucocitúria (CHAN; CHAUDHARY; SAHA; CHAUHAN et al., 2021). A formação de trombos na microvasculatura do rim com formação de NET também foi relatada (NICOLAI; LEUNIG; BRAMBS; KAISER et al., 2020). Ao contrário dos pulmões, o rim encontra o vírus mais tarde no curso da doença, quando outras condições mais graves são estabelecidas. Assim, o dano renal pode ser um efeito secundário da resposta hiperinflamatória, tempestade de citocinas e

hipóxia (FAJGENBAUM; JUNHO, 2020; KELLUM; VAN TILL; MULLIGAN, 2020; SHIMABUKURO-VORNHAGEN; GÖDEL; SUBKLEWE; STEMMLER et al., 2018) O fígado também é afetado pela doença, apresentando alteração em seus testes de funções em mais de 50% dos pacientes hospitalizados (SAVIANO; WRENSCH; GHANY; BAUMERT, 2020). A elevação das aminotransferases como a alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase junto com um leve aumento no nível de bilirrubina tem sido associada a lesões hepáticas (AMIN, 2021). O dano hepático pode ser resultado da resposta hiperinflamatória sistêmica como tempestade de citocinas, coagulação mediada por NET e hipóxia, além disso, o uso de drogas como remdesivir, lopinavir e tocilizumabe também tem sido relatadas como hepatotóxicas (GUPTA; MADHAVAN; SEHGAL; NAIR et al., 2020).

O trato gastrointestinal representa outro sistema afetado por coronavírus no hospedeiro animal (DING; LIANG, 2020). Os sintomas gastrointestinais em COVID-19 geralmente são autolimitados e incluem diarreia, vômitos, náuseas, dor abdominal e desconforto (KARIYAWASAM; JAYARAJAH; RIZA; ABEYSURIYA et al., 2021; WONG; LUI; SUNG, 2020). A infecção do SARS-CoV e MERS-CoV também induziu sintomas intestinais em alguns pacientes (KARIYAWASAM; JAYARAJAH; RIZA; ABEYSURIYA et al., 2021). As células epiteliais do intestino podem ser infectadas pelo SARS-CoV-2 e partícula viral foi observada em amostras de fezes (SILVA; BRITO; SANTOS; MARQUES et al., 2020). Isso sugere que a toxicidade direta do vírus pode ser a causa das manifestações entéricas. Em alguns pacientes, o desenvolvimento de sintomas entéricos pode preceder os respiratórios (D'AMICO; BAUMGART; DANESE; PEYRIN-BIROULET, 2020; DING; LIANG, 2020). Apesar de ser plausível considerar a via de transmissão fecal-oral para SARS-CoV-2 (YEO; KAUSHAL; YEO, 2020) a via respiratória continua sendo a principal via de transmissão e o vírus pode atingir outros órgãos, como os do sistema gastrointestinal, após espalhar-se pela corrente sanguínea.

O material genético SARS-CoV-2 foi identificado em amostras de líquido cefalorraquidiano e partículas do vírus na análise *post mortem* do tecido cerebral (MORIGUCHI; HARI; GOTO; HARADA et al., 2020). A manifestação neurológica é conhecida a partir do coronavírus de hospedeiro animal, principalmente a doença causada pelo MHV em camundongos. Durante a infecção por SARS-CoV-2, os sintomas neurológicos atualmente relatados incluem um espectro de gravidade que varia de leve, como distúrbio sensorial, hiposmia e hipoguesia, confusão e tontura (GIACOMELLI; PEZZATI; CONTI; BERNACCHIA et al., 2020; MORIGUCHI; HARI; GOTO; HARADA et al., 2020), com transtornos de consciência, convulsões e paralisia (GIACOMELLI; PEZZATI; CONTI;

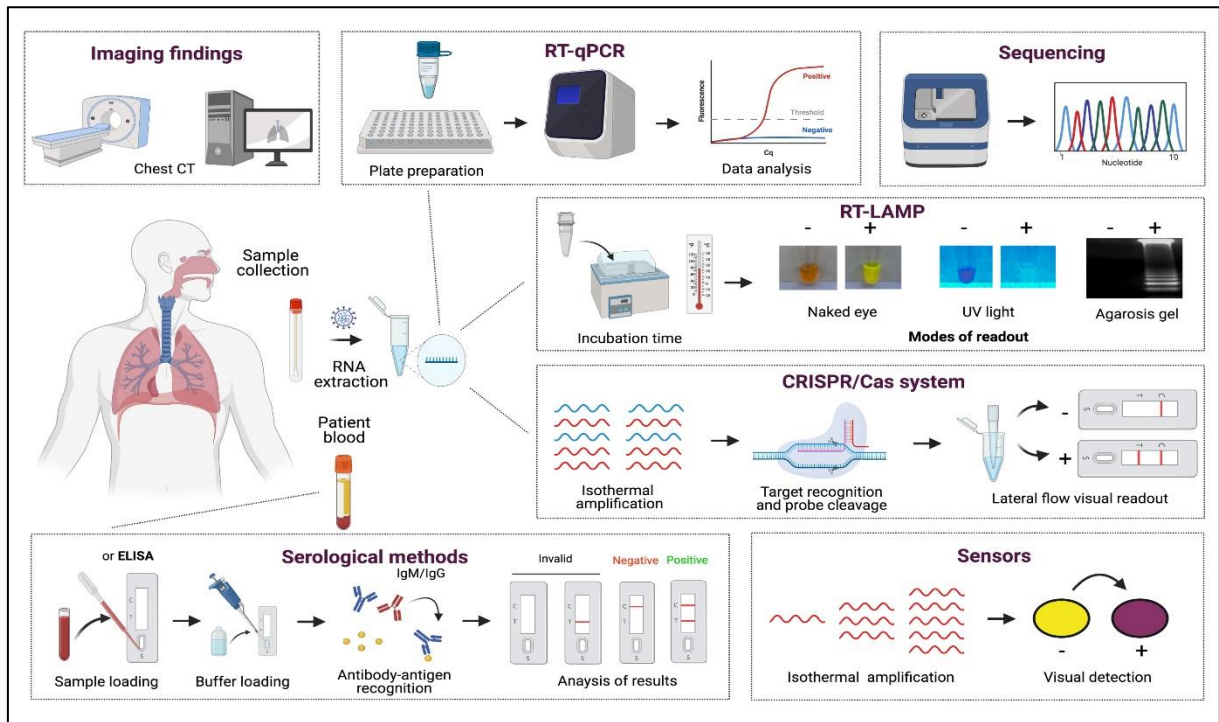
BERNACCHIA et al., 2020; MORIGUCHI; HARI; GOTO; HARADA et al., 2020 ; PANIZMONDOLFI; BRYCE; GRIMES; GORDON et al., 2020; POYIADJI; SHAHIN; NOUJAIM; STONE et al., 2020). O principal caminho para o sistema nervoso percorrido pelo vírus é pela corrente sanguínea, embora caminhos alternativos como a placa cribiforme ou o osso etmóide tenham sido sugeridos (BAIG, 2020). Juntos, a resposta hiperinflamatória, hipóxia e distúrbios metabólicos podem ocorrer em pacientes graves, o que aumenta o dano neurológico observado em alguns pacientes com COVID-19 (BAIG, 2020). Embora a toxicidade direta do vírus não possa ser descartada, já foi relatado seu potencial para infectar células neuronais em humanos e em modelos animais, dependendo da disponibilidade de ACE2 na célula (SONG; ZHANG; ISRAELOW; LU-CULLIGAN et al., 2021).

Notadamente, COVID-19 é uma doença com uma ampla gama de manifestações não restritas ao sistema respiratório (NALBANDIAN; SEHGAL; GUPTA; MADHAVAN et al., 2021). Ainda pouco compreendido os fatores que levam à progressão da doença, o status da saúde dos pacientes e as predisposições genéticas podem influenciar na apresentação clínica. A hiperativação do sistema imunológico desempenha um papel central na patogênese e pode ser induzida de várias formas, baixa produção de IFN, estímulo tromboinflamatório, comorbidades pró-inflamatórias entre outros. A compreensão dos fatores que podem piorar o COVID-19 em alguns pacientes não só pode orientar o desenvolvimento de terapias mais bem-sucedidas, mas também melhorar a resposta clínica contra o vírus.

## 2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce é essencial para rastrear contatos, identificar áreas de *hot-spot* para transmissão comunitária ativa e controlar a disseminação de SARS-CoV-2 (MATTHEWS; DA SILVA; NOROUZI; PENA et al., 2020; SILVA; MAGALHÃES; PENA, 2021; SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). A confirmação atual da infecção por COVID-19 pode ser obtida por meio de sintomas clínicos, achados de imagem, avaliação de biomarcadores, testes de ácido nucleico e métodos sorológicos. Resumidamente, testes diretos são usados para detectar a presença de partículas virais, antígenos de vírus ou RNA viral, enquanto testes indiretos são usados para detectar a resposta imunológica contra SARS-CoV-2 em pacientes com COVID-19, particularmente para detectar anticorpos IgM e IgG (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). Nesta seção, será fornecida uma visão geral sobre o curso clínico do COVID-19 relatada em pacientes infectados. Além disso, serão explorados os

diferentes métodos de detecção em desenvolvimento para o diagnóstico de SARS-CoV-2, discutindo seus avanços, princípios, vantagens e limitações (Figura 8).



**Figura 8** – *Silva et al.* (Dados não publicados) - Visão geral dos diferentes métodos de diagnóstico de COVID-19. Após a anamnese clínica dos pacientes, o SARS-CoV-2 pode ser detectado diretamente em amostras humanas usando abordagens moleculares, como RT-qPCR, sequenciamento, RT-LAMP, sistema CRISPR-Cas e sensores. Além disso, os anticorpos humanos produzidos contra antígenos SARS-CoV-2 podem ser detectados em amostras de sangue por métodos sorológicos, incluindo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), imunoenensaio de quimioluminescência (CLIA), ensaio de imunofluorescência (IFA) e ensaio de fluxo lateral (LFA)

Produzida pelo autor.

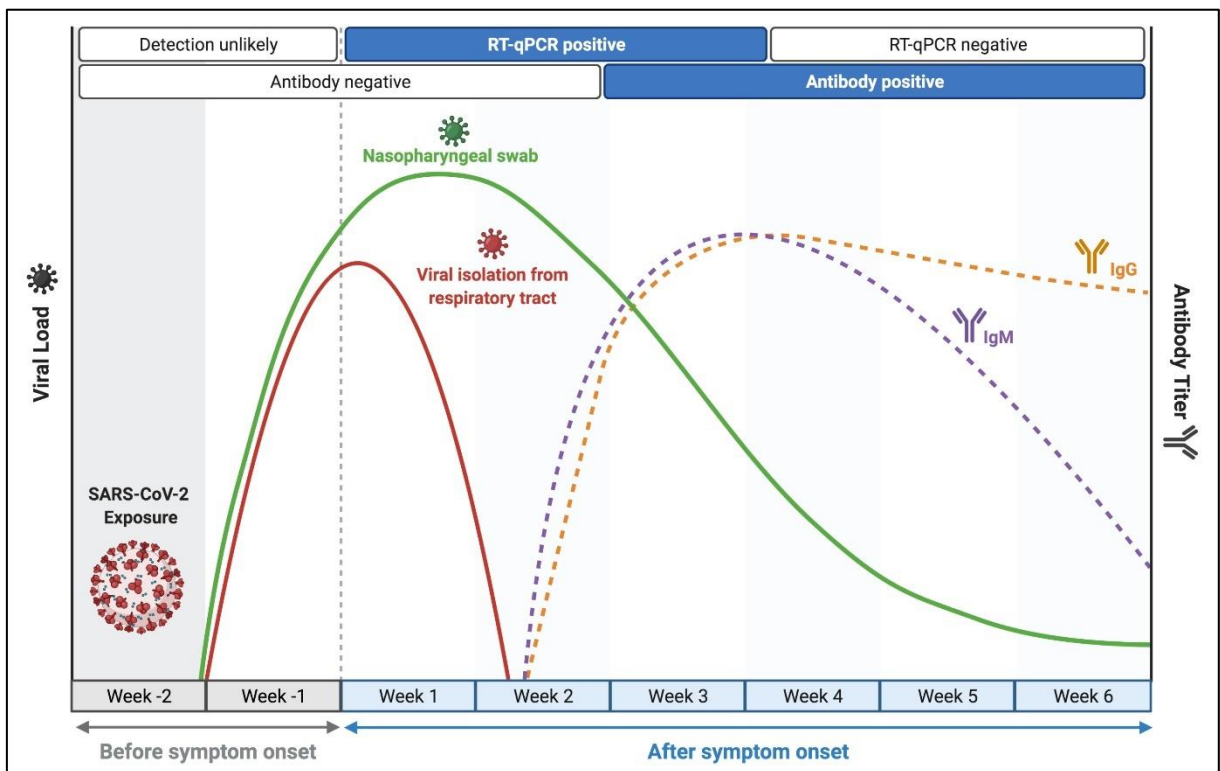
### 2.7.1 CURSO CLÍNICO

Compreender a dinâmica temporal da eliminação viral e da resposta imune em pacientes com COVID-19 é fundamental para diagnosticar corretamente a infecção por SARS-CoV-2. Desde o início da pandemia, os perfis de eliminação viral de pacientes com COVID-19 foram investigados (HE; LAU; WU; DENG et al., 2020; LIU; YAN; WAN; XIANG et al., 2020; PAN; ZHANG; YANG; POON et al., 2020; XIAO; TONG; ZHANG, 2020). Um recente estudo de meta-análise analisou a dinâmica da carga viral, a duração da liberação de RNA viral e a liberação de vírus viável de SARS-CoV-2 em vários fluidos corporais (CEVIK; TATE; LLOYD; MARAOLO et al., 2021). Usando 79 estudos (5340 indivíduos), o relatório demonstrou que a duração média da liberação do RNA do SARS-CoV-2 foi de 14,6 dias (IC 95% 9 · 3-20 · 0; sete estudos, 260 indivíduos) no trato respiratório inferior, 17,0 dias (IC 95%

15·5-18·6; 43 estudos, 3.229 indivíduos) no trato respiratório superior, 16,6 dias (IC 95% 3·6-29·7; dois estudos, 108 indivíduos) em amostras de soro, e 17,2 dias (95% CI 14·4-20·1; 13 estudos, 586 indivíduos) nas fezes (CEVIK; TATE; LLOYD; MARAOLO et al., 2021). A maior duração da liberação de RNA SARS-CoV-2 no trato respiratório inferior foi de 59 dias, 83 dias no trato respiratório superior, 60 dias no soro e 126 dias nas fezes (CEVIK; TATE; LLOYD; MARAOLO et al., 2021). Verificou-se que o pico ocorre na primeira semana de doença, enquanto para o pico de RNA SARS-CoV varia de 10 a 14 dias e para o MERS-CoV o pico varia de 7 a 10 dias (CEVIK; TATE; LLOYD; MARAOLO et al., 2021). Em pacientes com doença grave, a carga viral parece atingir seu nível mais alto na terceira e quarta semanas, enquanto em pacientes com comorbidades, a persistência viral é contínua (LIU; YI; ZHANG; LV et al., 2020; YONGCHEN; SHEN; WANG; SHI et al., 2020). No entanto, descobertas recentes mostraram que o vírus infeccioso não pôde ser detectado além do dia 9 da doença (CEVIK; TATE; LLOYD; MARAOLO et al., 2021). Portanto, o isolamento de SARS-CoV-2 de amostras respiratórias deve usar amostras coletadas durante os estágios iniciais de COVID-19 que apresentaram um *Cycle Threshold* baixo ( $Ct > 24$ ) em RT-qPCR (BULLARD; DUST; FUNK; STRONG et al., 2020). Normalmente, os testes de ácido nucleico são comumente usados para detectar e amplificar o genoma SARS-CoV-2 de vários tipos de amostras, incluindo swabs nasofaríngeos, swabs orofaríngeos ou outras amostras do trato respiratório superior (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020). Usando RT-qPCR (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa), o RNA do SARS-CoV-2 é detectado logo no dia 1 dos sintomas e atinge o pico na primeira semana do início dos sintomas (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020). Essa positividade começa a diminuir na semana 3 e, subsequentemente, o RNA do SARS-CoV-2 torna-se indetectável (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020). No entanto, a carga viral de casos graves de COVID-19 foi estimada sendo 60 vezes maior quando comparada com os casos leves (LIU; YAN; WAN; XIANG et al., 2020) e, posteriormente um resultado positivo na RT-qPCR pode persistir por mais de 3 semanas após o início da doença, enquanto a maioria dos casos leves apresentará um resultado negativo (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020; ZHENG; FAN; YU; FENG et al., 2020).

A resposta imune do hospedeiro à infecção por SARS-CoV-2 também foi investigada (JIANG; HILLYER; DU, 2020; LONG; LIU; DENG; WU et al., 2020; NI; YE; CHENG; FENG et al., 2020; RAVINDRAN; MCREYNOLDS; YANG; HAMMOCK et al., 2021; ZHAO; YUAN; WANG; LIU et al., 2020). Na maioria dos pacientes com COVID-19, os níveis de IgM aumentam durante a primeira semana após a infecção por SARS-CoV-2 e atingem seu pico após 2 semanas e, subsequentemente, caem para níveis basais (KEVADIYA; MACHHI;

HERSKOVITZ; OLEYNIKOV et al., 2021). Da mesma forma, IgG é detectável após 1 semana do início da doença e é mantida em um nível alto por um longo período, até mais de 48 dias (HOU; WANG; ZHANG; LUO et al., 2020). Estudos recentes descobriram que a soroconversão para IgG e IgM ocorreu simultaneamente ou sequencialmente e os títulos de IgG e IgM estabilizaram dentro de 6 dias após a soroconversão (LONG; LIU; DENG; WU et al., 2020). Em um grande estudo com 285 pacientes com COVID-19, 100% dos pacientes testaram positivo para IgG em 19 dias após o início dos sintomas (LONG; LIU; DENG; WU et al., 2020). Durante a resposta imune do hospedeiro contra a infecção por SARS-CoV-2, a COVID-19 pode ser detectada indiretamente usando métodos sorológicos, particularmente para detectar IgM e IgG. Resumidamente, a figura 9 descreve como interpretar dois tipos de abordagens diagnósticas comumente usadas para o diagnóstico de SARS-CoV-2 (RT-qPCR e métodos sorológicos) e como os resultados podem variar ao longo do tempo durante a progressão clínica de COVID-19.



**Figura 9** – Silva et al. (Dados não publicados) - Cinética da carga viral e resposta imune durante a infecção por SARS-CoV-2. Durante a primeira semana após a exposição ao SARS-CoV-2, período em que os pacientes são comumente pré-sintomáticos, a carga viral aumenta, atingindo seu pico nos primeiros dias após o início dos sintomas. A soroconversão em pacientes infectados começa na segunda semana após o início dos sintomas. Depois 3-4 semanas após o início dos sintomas, os níveis de IgM e IgG atingem seu pico e, em seguida, seus níveis começam a cair, mais rapidamente para IgM do que para IgG. A escolha adequada da ferramenta diagnóstica a ser utilizada para COVID-19 deve levar em consideração a cinética da carga viral e a resposta imune, evitando resultados falso-negativos.

Produzida pelo autor.



### 2.7.2 ACHADOS DE IMAGEM

No estágio inicial da infecção por SARS-CoV-2, os sintomas geralmente são inespecíficos. Isso dificulta o diagnóstico clínico, principalmente em áreas com circulação de outros vírus respiratórios, como influenza e rinovírus, e até mesmo patógenos não respiratórios como o vírus da dengue (BORDI; NICASTRI; SCORZOLINI; DI CARO et al., 2020; SILVA; MAGALHÃES; PENA, 2021; YAN; LEE; LAM; YAN et al., 2020). Devido à manifestação clínica inespecífica da doença, a tomografia computadorizada (TC) foi e continua sendo amplamente utilizada como ferramenta complementar na investigação de pacientes com COVID-19. Ela é usada para avaliar a progressão da doença e avaliar o comprometimento do trato respiratório inferior ou outras áreas anatômicas pela doença (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021; WANG; KANG; TIAN; ZHANG et al., 2020). Imagens de tomografia computadorizada de tórax podem ser usadas para verificar possíveis anormalidades sugestivas de doença do trato respiratório inferior, como pneumonia viral, eventualmente causada por SARS-CoV-2 (UDUGAMA; KADHIRESAN; KOZLOWSKI; MALEKJAHANI et al., 2020). Normalmente, as alterações de imagem mais importantes observadas em pacientes com COVID-19 são lesões multilobares em ambos os pulmões e opacidade em vidro fosco (GGO) bilateral e periférica com ou sem alterações consolidadas (WANG; KANG; TIAN; ZHANG et al., 2020). Outros achados incluem opacidades arredondadas, um padrão de pavimentação em mosaico, um broncograma aéreo e espessamento septal distribuído principalmente na área periférica e posterior (LI; WU; LUO; ZHANG, 2020; ZHOU; GUO; LI; FANG et al., 2020). Durante o manejo clínico dos pacientes, foi sugerido que a tomografia computadorizada combinada com RT-qPCR deve ser usada na rotina para o diagnóstico de pacientes com forte suspeita clínica de COVID-19 (XIE; ZHONG; ZHAO; ZHENG et al., 2020).

### 2.7.3 BIOMARCADORES DE LABORATÓRIO CLÍNICO

Além dos métodos laboratoriais para detectar SARS-CoV-2 já discutidos, muitos estudos demonstraram que alterações hematológicas, bioquímicas e químicas do sangue em pacientes com COVID-19 são possíveis marcadores de progressão da doença e de saúde do paciente (BHIMRAJ; MORGAN; SHUMAKER; LAVERGNE et al., 2020; O'SHEA; LEE; GRIFFIN; TORMEY et al., 2020; STEGEMAN; OCHODO; GULEID; HOLTMAN et al., 2020; ZHOU; YU; DU; FAN et al., 2020; ZHU; XIE; LU; XU et al., 2020). O nível desses marcadores flutua

dependendo do curso clínico da doença e, uma vez que eles podem ser rotineiramente avaliados em laboratório, testes adicionais podem ser solicitados por médicos com base na evolução clínica dos pacientes. Os achados laboratoriais em pacientes infectados com SARS-CoV-2 incluem leucocitose, leucopenia, diminuição dos níveis de albumina, aumento dos níveis de lactato desidrogenase (LDH), proteína C reativa (PCR), bilirrubina, creatinina quinase e uma alta taxa de hemossedimentação (ESR) (RODRIGUEZ-MORALES; CARDONA-OSPINA; GUTIÉRREZ-OCAMPO; VILLAMIZAR-PEÑA et al., 2020). Em geral, nenhum biomarcador individual pode ser usado para confirmar ou descartar COVID-19, e testes laboratoriais devem ser realizados para todos os casos suspeitos.

Deve-se ressaltar que alguns biomarcadores laboratoriais têm um valor importante para o manejo do paciente, uma vez que podem ser usados para avaliar a progressão da doença, sua gravidade ou mesmo atuar como fatores de risco para óbito. Em comparação com indivíduos saudáveis, os biomarcadores laboratoriais associados ao aumento da gravidade da doença em pacientes com COVID-19 incluem linfopenia, trombocitopenia e altos níveis de alanina aminotransferase (ALT) hepática, aspartato aminotransferase (AST), LDH, PCR e ferritina (BHIMRAJ; MORGAN; SHUMAKER; LAVERGNE et al., 2020; MALIK; PATEL; MEHTA; PATEL et al., 2021). Em um estudo de meta-análise, foi demonstrado que pacientes com doença grave e fatal tiveram contagem de leucócitos significativamente aumentada e contagem de linfócitos e plaquetas diminuída em comparação com doença não grave e sobreviventes (HENRY; DE OLIVEIRA; BENOIT; PLEBANI et al., 2020). Além disso, foi descoberto que os biomarcadores de inflamação, lesão cardíaca e muscular, disfunção hepática e renal e parâmetros de coagulação também foram significativamente elevados em pacientes com COVID-19 grave e fatal (HENRY; DE OLIVEIRA; BENOIT; PLEBANI et al., 2020) Níveis elevados de biomarcadores séricos, tais como IL-6, IL-10, ferritina, proteína C reativa e troponina cardíaca atuaram como fortes discriminadores para a gravidade da doença e foram associados a um risco aumentado de morte (HENRY; DE OLIVEIRA; BENOIT; PLEBANI et al., 2020; RUAN; YANG; WANG; JIANG et al., 2020; YOUNG; ONG; NG; ANDERSON et al., 2020).

#### 2.7.4 RT-qPCR

A RT-qPCR é atualmente considerada o método de laboratório padrão ouro para o diagnóstico de SARS-CoV-2 (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). Dada sua alta sensibilidade e especificidade, esta técnica permite a detecção de RNA viral nos primeiros

dias após o início dos sintomas durante os estágios iniciais da doença, ou mesmo durante as fases pré ou pós-sintomáticas (KEVADIYA; MACHHI; HERSKOVITZ; OLEYNIKOV et al., 2021; WÖLFEL; CORMAN; GUGGEMOS; SEILMAIER et al., 2020). A escolha da amostra correta para teste é uma etapa crítica para produzir um diagnóstico confiável (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). A RT-qPCR para SARS-CoV-2 é mais comumente realizado em amostras respiratórias superiores, o que inclui esfregaços nasofaríngeos ou orofaríngeos, aspirados ou lavagens nasofaríngeas ou orofaríngeas, expectoração e fluidos broncoalveolares (CDC, 2020b; WANG; XU; GAO; LU et al., 2020; WÖLFEL; CORMAN; GUGGEMOS; SEILMAIER et al., 2020; ZOU; RUAN; HUANG; LIANG et al., 2020). Além de amostras do trato respiratório, a detecção de SARS-CoV-2 por RT-qPCR foi documentada em outras amostras, como sangue, urina, esfregaços anais, secreções oculares, leite materno, sêmen e fezes (COLAVITA; LAPA; CARLETTI; LALLE et al., 2020; GROß; CONZELMANN; MÜLLER; STENGER et al., 2020; KIPKORIR; CHERUIYOT; NGURE; MISIANI et al., 2020; LI; JIN; BAO; ZHAO et al., 2020; PENG; LIU; XU ; LUO et al., 2020; WANG; XU; GAO; LU et al., 2020). Devido ao desconforto associado à amostragem do trato respiratório, à necessidade de pessoal de saúde treinado e ao risco de produção de gotículas de aerossol, existe um grande interesse em alternativas para coletar amostras de pacientes com COVID-19. Os “enxaguatórios bucais” com saliva e gargarejo são alternativas promissoras para uso na rotina, especialmente em pacientes com carga viral elevada (AZZI; CARCANO; GIANFAGNA; GROSSI et al., 2020; GOLDFARB; TILLEY; AL-RAWAHI; SRIGLEY et al., 2021; MARICIC; NÍQUEL; AXIMU-PETRI; ESSEL et al., 2020; WYLLIE; FOURNIER; CASANOVAS-MASSANA; CAMPBELL et al., 2020).

Desde o surgimento do SARS-CoV-2, muitos ensaios moleculares internos baseados em RT-qPCR foram desenvolvidos ou estão sendo usados por laboratórios clínicos, de pesquisa e de saúde pública para o diagnóstico de COVID-19 (CDC, 2020c; CHINA, 2020; CHU; PAN; CHENG; HUI et al., 2020; CORMAN; LANDT; KAISER; MOLENKAMP et al., 2020). Além dos ensaios internos, muitos kits moleculares RT-qPCR foram aprovados pela agência *Food and Drug Administration* (FDA) e estão amplamente disponíveis para a detecção e amplificação do RNA de SARS-CoV-2 (<https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/emergency-use-authorizations>). Uma variedade de alvos moleculares dentro do genoma SARS-CoV-2 têm sido usados, com a maioria dos ensaios direcionados a um ou mais genes, como a spike (S), envelope (env), nucleocapsídeo (N), polimerase RNA dependente de RNA (RdRp) e ORF1 (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020). Nos estágios iniciais da pandemia de COVID-19, estratégias de detecção de dois ou mais genes foram adotadas para

os ensaios RT-qPCR para garantir a especificidade do ensaio (LEBLANC; GUBBAY; LI; NEEDLE et al., 2020). Conforme a pandemia evoluiu e a prevalência da doença aumentou, muitos laboratórios em todo o mundo implementaram um fluxo de trabalho usando a detecção de um único alvo do SARS-CoV-2 (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021). A fim de minimizar falsos negativos associados a erros técnicos, o controle interno (IC) visando a detecção da transcrição de genes humanos de manutenção celular, como o mRNA de RNase P, deve ser incluído durante o teste de amostras de pacientes por RT-qPCR (MATSUMURA; SHIMIZU; NOGUCHI; NAKANO et al., 2021).

Quatro dos ensaios SARS-CoV-2 RT-qPCR mais comumente usados foram desenvolvidos pelo Centro de Controle de Doenças da China (China CDC) (CHINA, 2020), *United States CDC* (US CDC) (CDC, 2020c), *Charité Institute of Virology, Universitätsmedizin Berlin* (Charité) (CORMAN; LANDT; KAISER; MOLENKAMP et al., 2020), e *Hong Kong University* (HKU) (CHU; PAN; CHENG; HUI et al., 2020). Nesse contexto, Vogel e colegas avaliaram a eficiência analítica e a sensibilidade desses quatro conjuntos de sonda-iniciadores para detectar SARS-CoV-2 (VOGELS; BRITO; WYLLIE; FAUVER et al., 2020). Os resultados demonstraram que todos os conjuntos primer-iniciadores podem ser usados para detectar SARS-CoV-2 em 500 cópias de RNA viral por reação, com exceção do RdRp-SARSr (Charité), que apresentou baixa sensibilidade (VOGELS; BRITO; WYLLIE; FAUVER et al., 2020). Em outro estudo relacionado, Nalla e colaboradores avaliaram o desempenho de sete protocolos de RT-qPCR recomendados pela OMS para a detecção do RNA de SARS-CoV-2 em amostras de pacientes (NALLA; CASTO; HUANG; PERCHETTI et al., 2020). Verificou-se que os ensaios mais sensíveis foram aqueles que usaram o conjunto de sonda-iniciador do gene E descrito por Corman et al. (CORMAN; LANDT; KAISER; MOLENKAMP et al., 2020) e o conjunto N2 desenvolvido pelo CDC-EUA (CDC, 2020c). Além disso, os resultados demonstraram que todos os ensaios RT-qPCR avaliados foram altamente específicos para a detecção de SARS-CoV-2, e nenhuma reatividade cruzada foi relatada contra outros vírus respiratórios (NALLA; CASTO; HUANG; PERCHETTI et al., 2020).

Ao longo da pandemia de COVID-19, laboratórios de referência enfrentaram escassez global de suprimentos de diagnóstico, especialmente para a etapa de extração de RNA (ALCOBA-FLOREZ; GONZÁLEZ-MONTELONGO; ÍÑIGO-CAMPOS; DE ARTOLA et al., 2020; FOMSGAARD; ROSENSTIERNE, 2020; MERINDOL; PÉPIN; MARCHAND; RHEAULT et al., 2020; SMYRLAKI; EKMAN; LENTINI; RUFINO DE SOUSA et al., 2020). Para atender a essa necessidade, a simplificação dos testes de ácido nucleico pela eliminação da etapa de extração de RNA está sendo explorada (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES

et al., 2020; SMYRLAKI; EKMAN; LENTINI; RUFINO DE SOUSA et al., 2020). Estudos sugeriram que a extração de RNA por simples aquecimento direto de amostras por 5 minutos a 95-98°C resultou em sensibilidade e especificidade comparável ao método RT-qPCR padrão usando métodos clássicos de extração e RNA viral (FOMSGAARD; ROSENSTIERNE, 2020; SMYRLAKI; EKMAN; LENTINI; RUFINO DE SOUSA et al., 2020), sugerindo que RT-qPCR realizada sem uma etapa de extração de RNA clássica é uma opção viável para realizar o diagnóstico de pacientes com COVID-19. Embora essa estratégia seja promissora e tenha grande potencial para a aplicação de fluxos de trabalho de diagnóstico em ambientes de poucos recursos, uma atenção particular deve ser dada ao aumento de resultados falsos negativos (WOLOSHIN; PATEL; KESSELHEIM, 2020).

Mais recentemente, com o surgimento de variantes do SARS-CoV-2 que podem aumentar a transmissibilidade e/ou causar escape das respostas imunes, há uma necessidade urgente de vigilância direcionada dessas variantes circulantes em laboratórios de todo o mundo (VOGELS; BREBAN; OTT; ALPERT et al., 2021). Vogels e colegas projetaram e validaram um ensaio RT-qPCR multiplex para detectar variantes de preocupação (VOCs) de SARS-CoV-2 (VOGELS; BREBAN; OTT; ALPERT et al., 2021). Usando a detecção de deleção  $\Delta 3675-3677$  no gene ORF1a, eles poderiam indicar a presença das variantes emergentes B.1.1.7 [alfa], B.1.351 [beta] e P.1 [gama], uma vez que esta mutação ainda não foi detectada em outras variantes do SARS-CoV-2. A detecção da deleção  $\Delta 69-70$  no gene spike foi aplicada para diferenciar essas três linhagens (VOGELS; BREBAN; OTT; ALPERT et al., 2021). Será crucial que a otimização e validação dos testes de diagnóstico continuem à medida que a pandemia de COVID-19 evolui, uma vez que novas variantes do SARS-CoV-2 podem surgir e os testes devem ser constantemente avaliados para garantir que o diagnóstico seja realizado com alta eficiência e precisão.

### 2.7.5 SEQUENCIAMENTO

O sequenciamento genômico não desempenha um papel crítico na rotina laboratorial para o diagnóstico de SARS-CoV-2. No entanto, esta plataforma é essencial para rastrear mudanças no genoma viral ao longo do tempo e rastrear padrões de transmissão (PAIVA; GUEDES; DOCENA; BEZERRA et al., 2020; SILVA, SJRD; PENA, L., 2021; SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). Até o momento, apenas um número limitado de relatórios explorou o uso de sequenciamento de última geração (NGS) para detecção de SARS-CoV-2 com fins diagnósticos (BHOYAR; JAIN; SEHGAL; DIVAKAR et al., 2021; BLOOM;

SATHE; MUNUGALA; JONES et al., 2021; NASIR; KOZAK; AFTANAS; RAPHENYA et al., 2020). Por exemplo, Bloom e colegas desenvolveram um protocolo usando NGS, denominado SwabSeq, para detectar RNA de SARS-CoV-2 em amostras de pacientes, incluindo amostras nasais ou de saliva, em uma única execução sem a necessidade de extração de RNA (BLOOM; SATHE; MUNUGALA; JONES et al., 2021). Os autores incorporaram um padrão de RNA sintético que facilita a quantificação e reduz a necessidade de automação, purificação e normalização da amostra (BLOOM; SATHE; MUNUGALA; JONES et al., 2021). Testando 80.000 testes em dois meses, os resultados revelaram uma sensibilidade analítica e especificidade comparável ou melhor do que o método de referência RT-qPCR (BLOOM; SATHE; MUNUGALA; JONES et al., 2021). Descobertas recentes apoiam o potencial do NGS como uma ferramenta de diagnóstico para detecção de SARS-CoV-2, embora dificuldades práticas como alto custo, escassez de suprimentos disponíveis globalmente, necessidade de uma infraestrutura laboratorial especializada, instrumentação sofisticada, experiência em bioinformática e equipe bem treinada podem representar gargalos significativos para seu uso na confirmação da COVID-19, especialmente em países com poucos recursos (BEZERRA; MACHADO; DE CARVALHO; DOCENA et al., 2021). Outra limitação das tecnologias NGS é sua baixa sensibilidade analítica, o que pode afetar negativamente a análise dos resultados (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021). Para o sequenciamento NGS, o uso de amostras com altas cargas virais (baixo valor de Ct) é recomendado para gerar resultados de alta qualidade, enquanto amostras com baixas cargas virais (alto valor de Ct) podem gerar dados insuficientes ou resultados de baixa qualidade para análises subsequentes (MEREDITH; HAMILTON; WARNE; HOULDCROFT et al., 2020; NASIR; KOZAK; AFTANAS; RAPHENYA et al., 2020).

Notadamente, protocolos de sequenciamento baseados em NGS (por exemplo, Illumina, BGI MGISEQ2000 e Nanopore [MinION]) e métodos Sanger estão sendo usados para gerar rapidamente sequências do genoma SARS-CoV-2 a partir de amostras de pacientes (LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; ZHOU; YANG; WANG; HU et al., 2020; ZHU; ZHANG; WANG; LI et al., 2020). Até 25 de agosto, 3.054.703 sequências de genoma foram depositadas na *Global Initiative on Sharing All Influenza Data-GISAID* (<https://www.gisaid.org/>), incluindo sequências de genoma completos de pacientes COVID-19 de diferentes países ao redor do mundo. A fim de esclarecer a evolução em curso do genoma do SARS-CoV-2 durante a pandemia, o sequenciamento é essencial para identificar mutações que podem estar associadas ao escape da imunidade induzida pela vacina ou imunidade natural induzida, além da diminuição no desempenho dos diagnósticos atuais que ao falharem podem aumentar a

transmissibilidade e/ou letalidade (CDC, 2021; RANA; POKHREL, 2020) (CORMAN; RASCHE; BARONTI; ALDABBAGH et al., 2016; PEÑARRUBIA; RUIZ; PORCO; RAO et al., 2020; TOMS; LI; CAI, 2020; VOGELS; BREBAN; OTT; ALPERT et al., 2021). Assim, o desenvolvimento de protocolos de sequenciamento rápido e de baixo custo são cruciais para discriminar todas as variantes emergentes do SARS-CoV-2 conforme a pandemia evolui. Para responder a essa questão, Bezerra e colaboradores propuseram um protocolo rápido e acessível baseado no sequenciamento Sanger de um único fragmento de PCR capaz de identificar e discriminar todas as VOCs do SARS-CoV-2 identificadas até o momento (BEZERRA; MACHADO; DE CARVALHO; DOCENA et al., 2021). Eles avaliaram doze amostras de pacientes brasileiros usando as abordagens de sequenciamento NGS e Sanger. Tomados em conjunto, os resultados do sequenciamento Sanger corresponderam 100% aos resultados do NGS (BEZERRA; MACHADO; DE CARVALHO; DOCENA et al., 2021). Além disso, este protocolo permite que uma rede muito mais ampla de laboratórios execute a vigilância molecular de SARS-CoV-2 e relate os resultados em um cronograma mais curto, especialmente para aumentar a capacidade de sequenciamento em países de baixa e média renda. Dada a natureza evolutiva do genoma do SARS-CoV-2, a vigilância genômica deve ser conduzida e implementada em grande escala para permitir a identificação precoce de novas variantes e, posteriormente, ajudar a estabelecer políticas para o controle da disseminação viral.

Mesmo não sendo usado rotineiramente para detecção de SARS-CoV-2 em laboratórios de referência, o sequenciamento do genoma de amostras positivas para SARS-CoV-2 combinadas com ferramentas computacionais abriram caminho para muitas aplicações, incluindo investigações sobre a patogênese da doença, diagnósticos, vacinas, drogas antivirais, epidemiologia molecular, evolução viral, ligação ao receptor celular, possíveis hospedeiros virais e resposta imune antiviral do hospedeiro (AHMED; QUADEER; MCKAY, 2020; DA SILVA; DA SILVA; MENDES; PENA, 2020; DAO THI; HERBST; BOERNER; MEURER et al., 2020; FAHMI; KUBOTA; ITO, 2020; GRIFONI; SIDNEY; ZHANG; SCHEUERMANN et al., 2020; GUO; CAO; HONG; TAN et al., 2020; LU; ZHAO; LI; NIU et al., 2020; MALIK; SIRCAR; BHAT; SHARUN et al., 2020; PARASKEVIS; KOSTAKI; MAGIORKINIS; PANAYIOTAKOPOULOS et al., 2020).

#### 2.7.6 RT-LAMP

Embora RT-qPCR seja atualmente o método de laboratório padrão ouro para o diagnóstico de SARS-CoV-2, ele tem várias limitações, incluindo longo tempo de

processamento, exigência de mão de obra altamente especializada e envolvimento de equipamentos caros e especializados para amplificação e detecção de genoma viral (SILVA; PAIVA; GUEDES; KROKOVSKY et al., 2019; SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). Juntas, essas barreiras tornam a técnica inadequada para aplicações em grande escala e impactam negativamente o estabelecimento de programas eficazes de controle de doenças, especialmente em países de baixa e média renda. Com isso em mente, uma variedade de técnicas foi desenvolvida para detectar SARS-CoV-2 (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021). Técnicas isotérmicas como a Transcrição Reversa seguida de Amplificação Isotérmica em Alça (RT-LAMP) estão talvez entre os métodos mais promissores para a detecção rápida de SARS-CoV-2. O RT-LAMP apresenta diversas vantagens quando comparado ao RT-qPCR, pois as reações são conduzidas em temperatura constante, eliminando a necessidade de equipamentos caros para a realização do ensaio e permite que o teste seja realizado em campo (NOTOMI; OKAYAMA; MASUBUCHI; YONEKAWA et al., 2000; SILVA; PARDEE; PENA, 2019). Após a incubação isotérmica em apenas 20 a 60 min, geralmente os resultados podem ser facilmente interpretados pela análise a olho nu através da mudança de cor do tubo de reação (DA SILVA; PARDEE; BALASURIYA; PENA, 2021; SILVA; PAIVA; GUEDES; KROKOVSKY et al., 2019), embora outras abordagens diferentes possam ser utilizadas para visualizar os resultados da reação (SILVA; PARDEE; PENA, 2019).

Considerando suas vantagens de alta especificidade e sensibilidade, amplificação rápida, operação simples e baixo custo, o RT-LAMP tem aplicações potenciais para o diagnóstico de muitas doenças infecciosas (MORI; NOTOMI, 2009; SILVA; PARDEE; PENA, 2019). Desde o surgimento do SARS-CoV-2, muitos ensaios RT-LAMP foram desenvolvidos para o diagnóstico desse vírus em vários tipos de amostras clínicas, incluindo saliva, soro, swabs nasofaríngeos, swabs orofaríngeos e urina (BAEK; UM; ANTIGUA; PARK et al., 2020; DAO THI; HERBST; BOERNER; MEURER et al., 2020; HUANG; LIM; HSU; XIONG et al., 2020; LAMB; BARTOLONE; WARD; CHANCELLOR, 2020; LU; WU; WAN; LI et al., 2020; LUDWIG; SCHMITHAUSEN; LI; JACOBS et al., 2021; PARK; KU; BAEK; KIM et al., 2020; YAN; CUI; HUANG; DU et al., 2020). Em geral, os ensaios RT-LAMP foram projetados para diferentes alvos (ORF1ab, proteína N, proteína E, RdRP e proteína M) no genoma de SARS-COV-2 e o desempenho clínico de muitos ensaios RT-LAMP foi comparado com o RT-qPCR (LUDWIG; SCHMITHAUSEN; LI; JACOBS et al., 2021; SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021; SOROKA; WASOWICZ; RYMASZEWSKA, 2021). Esforços para diminuir os custos e simplificar o fluxo de trabalho RT-LAMP para testar amostras de pacientes estão em andamento usando protocolos sem extração de RNA e usando



enzimas produzidas internamente (ALEKSEENKO; BARRETT; PAREJA-SANCHEZ; HOWARD et al., 2021; LALLI; LANGMADE; CHEN; FRONICK et al., 2021; WEI; KOHL; DJANDJI; MORGAN et al., 2021), cuja possibilidade melhora o diagnóstico COVID-19. Com relação ao limite de detecção (LoD), a maioria dos ensaios RT-LAMP deve ter um LoD variando de 200 a 100 cópias por reação (LU; WU; WAN; LI et al., 2020; PARK; KU; BAEK; KIM et al., 2020), enquanto alguns demonstraram um LoD tão baixo quanto 10 cópias por reação ou mesmo 1 cópia por reação (AMARAL; ANTUNES; MOE; DUARTE et al., 2021; KITAGAWA; ORIHARA; KAWAMURA; IMAI et al., 2020; YU; WU; HAO; DONG et al., 2020). Juntos, esses resultados destacam o potencial dos métodos baseados em RT-LAMP para melhorar o diagnóstico de SARS-CoV-2 quase em tempo real, principalmente para ambientes chave (por exemplo, lares de idosos, pequenas cidades) e áreas remotas (por exemplo, comunidades rurais) com infraestrutura laboratorial limitada.

#### 2.7.7 SISTEMAS BASEADOS EM CRISPR/CAS

Outra categoria de testes de ácido nucléico que pode ser usada para detectar o RNA do SARS-CoV-2 são as *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR)/Maquinaria Cas (KAMINSKI; ABUDAYYEH; GOOTENBERG; ZHANG et al., 2021). Os sistemas CRISPR são uma parte fundamental de um sistema imune adaptativo microbiano contra ácidos nucléicos estranhos e, quando ativados, a maquinaria guia as proteínas Cas para reconhecer e clivar sequências de ácido nucléico específicas (HILLE; RICHTER; WONG; BRATOVIČ et al., 2018; MOJICA; DÍEZ-VILLASEÑOR; GARCÍA-MARTÍNEZ; SORIA, 2005; SANDER; JOUNG, 2014; WRIGHT; NUÑEZ; DOUDNA, 2016). Assim, a compreensão do mecanismo e das características do sistema CRISPR/Cas ao longo dos últimos anos levou a muitos avanços tecnológicos na edição de genoma e destacou o uso do sistema CRISPR/Cas para aplicações diagnósticas como a detecção de vírus de RNA (DE PUIG; LEE; NAJJAR; TAN et al., 2021; GOOTENBERG; ABUDAYYEH; KELLNER; JOUNG et al., 2018; GOOTENBERG; ABUDAYYEH; LEE; ESSLETZBICHLER et al., 2017; KAMINSKI; JOUNG et al., 2018; GOOTENBERG; ABUDAYYEH; LEE; ESSLETZBICHLER et al., 2017; KAMINSKI; JOUNG et al., 2018; GOOTENBERG; ABUDAYYEH; LEE; ESSLETZBICHLER et al., 2017; KAMINSKI, al. MANGHWAR; LI; DING; HUSSAIN et al., 2020; PARDEE; GREEN; TAKAHASHI; BRAFF et al., 2016). Resumidamente, o sistema CRISPR/Cas é programado para clivar sequências de ácido nucleico específicas no RNA/DNA alvo e sua clivagem pode ser detectada por leitura de fluorescência ou leitura de fluxo lateral

(PATCHSUNG; JANTARUG; PATTAMA; APHICHO et al., 2020). Um dos primeiros métodos de detecção baseados em CRISPR/Cas foi descrito em 2017 e denominado como SHERLOCK (para *Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing*) que, combinado com pré-amplificação isotérmica detecta cepas específicas de vírus Zika e Dengue, distingue bactérias patogênicas, distingue genótipos de DNA humano e identifica mutações no DNA de tumor e biópsia líquida de amostras de pacientes (GOOTENBERG; ABUDAYYEH; KELLNER; JOUNG et al., 2018; GOOTENBERG; ABUDAYYEH; LEE; ESSLETZBICHLER et al., 2017). Não surpreendentemente, o mesmo sistema foi rapidamente adaptado para detectar RNA de SARS-CoV-2 (JOUNG; LADHA; SAITO; KIM et al., 2020; PATCHSUNG; JANTARUG; PATTAMA; APHICHO et al., 2020; SCHERMER; FABRETTI; DAMAGNEZ; DI CRISTANZIANO et al., 2020). A adequação da tecnologia SHERLOCK para a detecção de SARS-CoV-2 foi avaliada usando 154 amostras de Swab nasofaríngeo e da garganta. Com um LoD de 42 cópias de RNA por reação, a plataforma SHERLOCK foi 100% específica e 96% sensível de acordo com RT-qPCR (PATCHSUNG; JANTARUG; PATTAMA; APHICHO et al., 2020). Mais recentemente, De Puig e colegas desenvolveram um teste de baixo custo baseado no sistema SHERLOCK para realizar o diagnóstico de SARS-CoV-2 e variantes emergentes (DE PUIG; LEE; NAJJAR; TAN et al., 2021). Com tempo de reação de aproximadamente 1 hora, os autores alcançaram alta sensibilidade e demonstraram uma detecção multiplexada de SARS-CoV-2 e mutações associadas a variantes emergentes, incluindo B.1.1.7 (alfa), B.1.351 (beta) e P.1 (gama) (DE PUIG; LEE; NAJJAR; TAN et al., 2021).

Outra tecnologia baseada no sistema CRISPR/Cas chamada DETECTR (*endonuclease-targeted CRISPR trans reporter*) foi desenvolvida pela empresa *Mammoth Biosciences* para detectar qualquer DNA ou RNA alvo. Mais recentemente, esta tecnologia foi combinada com o ensaio RT-LAMP para a detecção de SARS-CoV-2 em amostras de pacientes, incluindo swabs de nasofaringe ou orofaringe em 40 min de reação (BROUGHTON; DENG; YU; FASCHING et al., 2020). Um estudo de desempenho clínico utilizando 78 amostras de pacientes com COVID-19 demonstrou que a tecnologia DETECTR teve 95% de concordância preditiva positiva e 100% preditiva negativa de acordo com o método de referência (RT-qPCR) (BROUGHTON; DENG; YU; FASCHING et al., 2020). Em uma coorte maior de pacientes, os autores compararam o DETECTR com RT-qPCR para diagnosticar SARS-CoV-2 usando amostras de 378 pacientes (BRANDSMA; VERHAGEN; VAN DE LAAR; CLAAS et al., 2020). Os resultados demonstraram um valor de reprodutibilidade de 95% entre os métodos e mostraram que o DETECTR alcançou igual sensibilidade quando combinado com RT-LAMP

para detectar o RNA de SARS-CoV-2 em comparação com o RT-qPCR (BRANDSMA; VERHAGEN; VAN DE LAAR; CLAAS et al., 2020). Tomados em conjunto, esses achados destacam o potencial promissor dos sistemas de diagnóstico baseados em CRISPR/Cas para o diagnóstico de pacientes com COVID-19. No entanto, a maioria dos fluxos de trabalho baseados em CRISPR ainda exigem várias etapas de manipulação de líquidos, incluindo extração de RNA, acesso confiável à eletricidade, habilidades técnicas e equipamentos de laboratório como centrífugas, pipetas e blocos de aquecimento (DE PUIG; LEE; NAJJAR; TAN et al., 2021 ), o que limita sua aplicabilidade em áreas remotas.

### 2.7.8 SENSORES

Os sensores são uma alternativa útil e econômica para detectar o RNA do SARS-CoV-2 com um método rápido e de alto rendimento. Dadas as suas vantagens, muitos estudos também se concentraram em modalidades alternativas baseadas em sensores para o diagnóstico de pacientes com COVID-19. O uso de sensores elimina as limitações enfrentadas pelo RT-qPCR e fornece uma ferramenta de diagnóstico descentralizada, de alta capacidade e baixo custo para uso em ambientes de poucos recursos (MATTIOLI; HASSAN; OLIVEIRA; CRESPILO, 2020; QIN; PENG; BARAVIK; LIU, 2020). Em resumo, a maioria dos sensores desenvolvidos para SARS-CoV-2 são baseados em plataformas anteriormente utilizadas para o diagnóstico de outros patógenos virais e atualmente estão sendo adaptados para o diagnóstico de SARS-CoV-2 (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020) A detecção do SARS-CoV-2 tem sido feita com vários tipos de sensores, que incluem genossensores, imunossensores, eletroquímicos e imunossensores elétricos (MATTIOLI; HASSAN; OLIVEIRA; CRESPILO, 2020).

Sensores baseados em papel oferecem outra alternativa promissora para o diagnóstico COVID-19, uma vez que fornecem alta sensibilidade e especificidade, operação simples, fácil adaptabilidade, baixo custo e ausência de requisitos de distribuição na cadeia a frio (PARDEE; GREEN; TAKAHASHI; BRAFF et al., 2016; TINAFAR; JAENES; PARDEE, 2019). Estudos anteriores sobre diagnósticos baseados em biologia sintética pavimentaram o caminho e abriram portas para o uso de reações livres de células (CF) para a detecção de patógenos emergentes e reemergentes, como os vírus Zika e Ebola (VERDE; PRATA; COLLINS; YIN , 2014; PARDEE; GREEN; FERRANTE; CAMERON et al., 2014; PARDEE; GREEN; TAKAHASHI; BRAFF et al., 2016). Esses sensores são riborreguladores sintéticos programáveis que controlam a tradução de um gene por meio da ligação de um RNA alvo. Resumidamente, os sensores de switch contêm uma estrutura em gancho que bloqueia a

tradução do gene por sequestro do sítio de ligação ao ribossomo (RBS) e códon de início. Se a sequência alvo estiver presente, ela ativa a tradução de um repórter (por exemplo, LacZ) para criar um sinal óptico por meio da reação enzimática, que medeia uma mudança de cor convertendo um substrato amarelo (clorofenol vermelho-bD-galactopiranosídeo) em um produto roxo (clorofenol vermelho) (PARDEE; VERDE; TAKAHASHI; BRAFF et al., 2016). Mais recentemente, este mesmo sistema foi adaptado para o diagnóstico de SARS-CoV-2, alcançando alta sensibilidade com apenas 100 cópias de RNA e alta especificidade contra outros patógenos respiratórios, incluindo H1N1, H7N9 e MERS-CoV (AMALFITANO; KARLIKOW; NOROUZI; JAENES et al., 2021). Juntos, esses resultados ilustram o potencial das ferramentas baseadas em sensores para responder a crises globais.

## 2.7.9 MÉTODOS SOROLÓGICOS

Desde o surgimento do SARS-CoV-2, uma variedade de métodos sorológicos foi desenvolvida e comercializada, e uma lista de ensaios sorológicos COVID-19 autorizados nos Estados Unidos é atualizada diariamente (FDA, 2021). As aplicações dos métodos sorológicos desempenham um papel importante como diagnóstico complementar aos ensaios moleculares para apoiar a identificação de pacientes suspeitos com COVID-19 que apresentem resultados repetidamente negativos nos testes de ácido nucleico (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021). Além disso, os testes sorológicos também podem ser usados em estudos de soroprevalência para determinar exposições anteriores ao SARS-CoV-2 na população humana, isso ajuda a avaliar as taxas de ataque na população e avaliação da eficácia da vacina (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ ; OYEWUNMI et al., 2021; SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020).

Atualmente, os ensaios sorológicos estão sendo desenvolvidos usando diferentes plataformas, que incluem ensaios de fluxo lateral (LFA), ensaios imunoenzimáticos (ELISA), ensaios enzimáticos de quimioluminescência (CLIA) e ensaios de imunofluorescência (IFA) (KONTOU; BRALIOU; DIMOU; NIKOLOPOULOS et al., 2020). Destes LFA, ELISA e CLIA são usados como métodos de primeira linha na rotina para confirmar a infecção por COVID-19 (SILVA; SILVA; GUARINES; MENDES et al., 2020). Métodos sorológicos costumam usar antígenos recombinantes para detectar uma ou mais imunoglobulinas (ou seja, IgA, IgM ou IgG), dos quais a proteína spike (S), o domínio de ligação ao receptor S (RBD) e proteína do nucleocapsídeo (N) são os antígenos mais comumente usados devido à sua alta antigenicidade (TANG; SCHMITZ; PERSING; STRATTON, 2020; WALLS; PARK;

TORTORICI; WALL et al., 2020; ZHENG; SONG, 2020). IgM e IgG são amplamente usados em métodos sorológicos para SARS-CoV-2, enquanto a detecção de IgA é menos comumente usada (ESPEJO; AKGUN; AL MANA; TJENDRA et al., 2020). Relatórios recentes mostram que os métodos sorológicos que utilizam o antígeno S são mais sensíveis quando comparados aos métodos baseados no antígeno N (KONTOU; BRALIOU; DIMOU; NIKOLOPOULOS et al., 2020). Além disso, foi sugerido que um ensaio baseado em N apresenta mais reação cruzada com outros anticorpos anti-coronavírus humanos do que um ensaio baseado em S (ANDERSON; TAN; CHIA; YOUNG et al., 2020; LONG; LIU; DENG; WU et al., 2020). Dentro da proteína S, a subunidade S1 é o principal epítipo imunodominante produzido na resposta contra a infecção por SARS-CoV-2, sugerindo que esta subunidade é uma candidata promissora para uso durante o desenvolvimento de ensaios sorológicos (OKBA; MÜLLER; LI; WANG et al., 2020; PREMKUMAR; SEGOVIA-CHUMBEZ; JADI; MARTINEZ et al., 2020). Uma vez que o tempo médio necessário para detectar respostas imunes à infecção por SARS-CoV-2 é de cerca de 1 a 2 semanas, os métodos sorológicos têm utilidade limitada para diagnósticos de SARS-CoV-2 nos estágios agudos da doença, embora tenham melhor desempenho quando usados durante a fase tardia da infecção (SAFIABADI TALI; LEBLANC; SADIQ; OYEWUNMI et al., 2021). Alta sensibilidade, especificidade e precisão geral são requeridas para ensaios sorológicos, mas preocupações sobre a presença de muitos resultados falsos positivos e falsos negativos foram levantadas e a precisão geral de muitos testes não foi bem definida (HANSON; CALIENDO; ARIAS; INGLATERRA et al., 2020; SILVA, SJRD; PENA, LJ, 2021). Nesse contexto, a compreensão dos parâmetros-chave em termos de desenvolvimento e validação de ensaios diagnósticos é fundamental para a correta interpretação dos resultados (SILVA, S. J. R. D.; PENA, L. J., 2021; WOLOSHIN; PATEL; KESSELHEIM, 2020). Para superar essas desvantagens, os métodos sorológicos devem ser desenvolvidos seguindo um guia padrão como referência e, após seu desenvolvimento, o ensaio deve ser validado com amostras adequadas de pacientes que representem um cenário contextualizado de onde tais testes serão aplicados (HANSON; CALIENDO; ARIAS; INGLATERRA et al., 2020; SILVA, SJRD; PENA, LJ, 2021)

#### 2.7.10 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE ANTÍGENOS

Os testes de detecção de antígenos representam outro tipo de ensaio atraente para detectar SARS-CoV-2 em pacientes infectados. Os diagnósticos baseados em antígenos detectam fragmentos de proteínas no SARS-CoV-2 ou em amostras biológicas coletadas de pacientes

com COVID-19 quando a carga viral é alta (BRÜMMER; KATZENSCHLAGER; GAEDDERT; ERDMANN et al., 2021; HABLI; SALEH; ZARAKET ; KHRAICHE, 2020). Desde o surgimento do SARS-CoV-2, esforços extraordinários de grupos de pesquisa e empresas em todo o mundo resultaram no desenvolvimento de muitos testes de antígenos para detectar o SARS-CoV-2 (LIN; WEN; WU; LIU et al., 2020; MAK; CHENG; LAU; WONG et al., 2020; MAVRIKOU; MOSCHOPOULOU; TSEKOURAS; KINTZIOS, 2020; PORTE; LEGARRAGA; VOLLRATH; AGUILERA et al., 2020; STADLBAUER; AMANAT; CHROMIKOVA; JIANG et al., 2020). A adequação dos testes rápidos baseados em antígenos (Ag-RDTs) para a detecção de SARS-CoV-2 foi avaliada em um estudo de meta-análise recente usando 214 conjuntos de dados clínicos, incluindo 112.323 amostras de pacientes (BRÜMMER; KATZENSCHLAGER; GAEDDERT; ERDMANN et al., 2021). Para comparação, as amostras de pacientes também foram testadas usando RT-qPCR como método padrão. Os resultados demonstraram uma sensibilidade clínica de 71,2% (IC 95% 68,2% a 74,0%) e especificidade clínica de 98,9% (IC 95% 98,6% a 99,1%) (BRÜMMER; KATZENSCHLAGER; GAEDDERT; ERDMANN et al., 2021). A sensibilidade clínica foi consideravelmente melhor em amostras com valores mais baixos de RT-qPCR Ct, ou seja,  $<20$  (96,5%, 95% CI 92,6% a 98,4%) e  $<25$  (95,8%, 95% CI 92,3% a 97,8%), em comparação com aqueles com  $Ct \geq 25$  (50,7%, IC 95% 35,6% a 65,8%) e  $\geq 30$  (20,9%, IC 95% 12,5% a 32,8%) (BRÜMMER; KATZENSCHLAGER; GAEDDERT; ERDMANN et al., 2021 ) Além disso, verificou-se que quando o teste foi realizado na primeira semana do início dos sintomas, a sensibilidade foi substancialmente maior (83,8%, IC 95% 76,3% a 89,2%) em comparação com o teste após 1 semana (61,5%, 95% CI 52,2% a 70,0%) (BRÜMMER; KATZENSCHLAGER; GAEDDERT; ERDMANN et al., 2021). Tomados em conjunto, esses achados sugerem que Ag-RDTs podem detectar pessoas infectadas com SARS-CoV-2 na primeira semana do início dos sintomas, embora tenham pouca utilidade para fins diagnósticos na fase tardia da doença COVID-19 e, portanto, de valor limitado.

## 2.8 PREVENÇÃO

É importante ressaltar que, atualmente, não existem terapias comprovadamente eficazes para o COVID-19 ou antivirais específicos contra a SARS-CoV-2. Alguns métodos terapêuticos têm produzido benefícios particulares em subpopulações de pacientes em situações específicas. (HU et al 2021). A troca de informações constante entre médicos e outros profissionais de saúde que atuam na linha de frente do COVID-19 com os pesquisadores é uma

ferramenta importante para oferecer a melhor opção de tratamento a cada paciente de acordo com sua situação clínica.

Atualmente, a vacinação representa a estratégia de longo prazo mais eficaz para o controle e prevenção de COVID-19 (HU; GUO; ZHOU; SHI, 2021). Além de vacinas eficazes, a recomendação para prevenir a infecção por SARS-CoV-2 é baseada em uma série de contra-medidas. Reduzir a propagação do COVID-19 requer duas coisas: reduzir a probabilidade de transmissão por contato e limitar os contatos entre as pessoas por meio do distanciamento físico (HOWARD; HUANG; LI; TUFEKCI et al., 2021) (SINGHAL, 2020). Assim, as práticas de prevenção, juntamente com a implementação de medidas eficazes, representam uma estratégia crucial para conter a rápida disseminação da SARS-CoV-2 entre os humanos.

As recomendações para prevenir a infecção por SARS-CoV-2 estabelecidas pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) incluem: i) uso de máscara, uma vez que descobertas recentes indicaram que o uso de máscara reduz a transmissibilidade por contato, reduzindo a transmissão de partículas respiratórias infectadas em ambos os casos clínicos e cenários laboratoriais e, subsequentemente, poderia resultar em uma grande redução no risco de infecção por SARS-CoV-2 em nível populacional (CHENG; MA; WITT; RAPP et al., 2021; CHU; AKL; DUDA; SOLO et al., 2020; HOWARD; HUANG; LI; TUFEKCI et al., 2021); ii) ficar pelo menos 1,8 metros distância de outras pessoas. Quando estiver dentro de sua casa, evite contato próximo com pessoas doentes. Quando estiver fora de sua casa, coloque pelo menos 1,8 metros de distância entre você e as pessoas que não moram em sua casa; iii) evitar aglomerações e áreas mal ventiladas; iv) lavar as mãos frequentemente com água e sabão por pelo menos 20 segundos, especialmente depois de permanecer em um local público, ou após assoar o nariz, tossir ou espirrar. Se não houver água e sabão disponíveis, usar um desinfetante para as mãos que contenha pelo menos 60% de álcool. Evitar tocar seus olhos, nariz e boca com as mãos sujas; v) cobrir tosses e espirros. Se estiver usando uma máscara, pode espirrar em sua máscara. Colocar máscara nova o mais rápido possível e lavar as mãos. Se não estiver usando máscara, sempre cubra a boca e o nariz com um lenço de papel ao tossir ou espirrar, ou usar a parte interna do cotovelo e não cuspir; vi) limpar e desinfetar diariamente as superfícies altamente tocadas, o que inclui maçanetas, mesas, telefones, teclados, vasos sanitários, torneiras, mesas, maçanetas, interruptores de luz, bancadas e pias; vii) monitorar a saúde diariamente (CDC, 2020a). Notadamente, essas medidas são mais eficazes na redução da disseminação do vírus quando a adesão é alta entre a população humana (CHENG; MA; WITT; RAPP et al., 2021). Para profissionais de saúde e de linha de frente, são necessárias mais precauções, incluindo precauções com o uso de máscaras adequadas (respiradores N95),

precauções de contato (uso de jaleco e luvas) e proteção para os olhos (uso de óculos de proteção ou proteção facial) (UNGARO; SULLIVAN; COLOMBEL; PATEL, 2020). Além disso, o diagnóstico precoce, a quarentena e os tratamentos de suporte são essenciais para o manejo clínico de pacientes infectados.

SARS-CoV-2 pode permanecer por muito tempo em vários tipos de superfícies, incluindo aerossóis, plástico, aço inoxidável, cobre e papelão (RIDDELL; GOLDIE; HILL; EAGLES et al., 2020; VAN DOREMALEN; BUSHMAKER; MORRIS; HOLBROOK; et al., 2020), então vários agentes podem ser usados para inativar o vírus (UNGARO; SULLIVAN; COLOMBEL; PATEL, 2020). Nesse contexto, Chin e colaboradores (2020) relataram a susceptibilidade do SARS-CoV-2 quando exposto a diversos agentes desinfetantes, como alvejante doméstico (1:49-1:99), solução de sabonete (1:49), etanol (70%), iodo povidona (7,5%), cloroxilenol (0,05%), clorexidina (0,05%) e cloreto de benzalcônio (0,1%) (CHIN; CHU; PERERA; HUI et al., 2020). Esses agentes foram avaliados em diferentes tempos de exposição (5 min, 15 min e 30 min) seguido de ensaio TCID<sub>50</sub> (dose infectante de 50% da cultura de tecidos) para titulação viral para confirmação da presença de vírus infecciosos. Os resultados revelaram que a inativação viral foi observada após apenas 5 min de exposição usando quase todos os agentes desinfetantes, exceto sabonete (CHIN; CHU; PERERA; HUI et al., 2020). Além disso, foi demonstrado que o SARS-CoV-2 é estável em uma ampla faixa de valores de pH (3 - 10) à temperatura ambiente (CHIN; CHU; PERERA; HUI et al., 2020).

## 2.9 ABORDAGENS VACINAIS PARA SARS-COV-2

Os betacoronavírus possuem quatro proteínas principais já mencionadas nas sessões anteriores (proteínas S, E, M e N) (SCHOEMAN; FIELDING, 2019). A proteína S tem sido um alvo vacinal promissor pelo fato de facilitar a entrada da partícula viral na célula hospedeira durante o processo de infecção (XIA; ZHU; LIU; LAN *et al.*, 2020). No entanto, existem outras estratégias vacinais aprovadas e também em desenvolvimento para SARS-CoV-2. De acordo com a OMS em relatório atualizado ao final do primeiro semestre de 2021, 184 vacinas candidatas estão em fase pré-clínica e 104 em fase clínica.

### 2.9.1 VACINAS TRADICIONAIS: VÍRUS ATENUADOS E INATIVADOS

As vacinas ditas como tradicionais, aqui nomeadas como de vírus atenuados, inativados e de vetor viral, utilizam como estratégia de imunização, plataformas que fornecem o patógeno



inteiro e até mesmo uma subunidade proteica viral. Diversas formas para enfraquecer ou inativar uma partícula viral podem ser usadas, tais como processos químicos, físicos entre outros. Isso resultou na aprovação rápida de uso clínico (SHIN; SHUKLA; CHUNG; BEISS *et al.*, 2020).

As vacinas de vírus atenuados (AVs) possuem partículas com capacidade de replicação, mas são avirulentos. Por ser uma plataforma vacinal já utilizada na indústria na prevenção de outras doenças, essa tecnologia pode fornecer resultados satisfatórios na prevenção da infecção por SARS-CoV-2. Podemos citar como exemplo vacina candidata da Codagenix Incorporation, que atualmente encontra-se em fase clínica 1 (ORGANIZATION, 2021). Mesmo com o domínio dessa tecnologia, as AVs podem apresentar alguns riscos, tais como a transmissão para outros indivíduos e até a reversão do patógenos para a forma patogênica. Além disso, pode ocorrer reativação em indivíduos imunocomprometidos e até mesmo recombinação com outros vírus que estejam circulando concomitantemente na população alvo. Outro problema enfrentado por esse tipo de plataforma vacinal é a necessidade de transporte e armazenamento na cadeia fria (SI; XU; ZHOU; ZHANG *et al.*, 2016). As vacinas inativadas (IVs) são geralmente adquiridas por processos físicos como o calor, químicos ou com o uso de frações desses patógenos. Como são incapazes de replicação, essa abordagem se torna mais segura do que as AVs, porém resulta em imunogenicidade reduzida e muitas vezes necessita da aplicação de duas ou mais doses para estabelecer imunidade duradoura, além de apresentarem dificuldades na imunização de indivíduos idosos por causa da senescência imunológica (CIABATTINI; NARDINI; SANTORO; GARAGNANI *et al.*, 2018). Finalmente, os IVs também requerem uma rede de cadeia fria, mas apresentam maior estabilidade quando comparados aos AVs. A vacina CoronaVac, da empresa Sinovac, é um exemplo desse tipo de plataforma e de acordo com a OMS, está atualmente em fase 4 de estudo clínico, além de ter sido aprovada em vários países para uso emergencial.

### 2.9.2 VETORES VIRAIS

Atualmente existem cerca de 22 vacinas candidatas em fase clínica e 40 em fase pré-clínica usando tanto vetores replicantes como não replicantes. Um dos vetores mais utilizados como estratégia vacinal contra o SARS-CoV-2 é o vetor adenoviral, como o adenovírus tipo 5 (Ad5-nCoV) da empresa CanSino Biological e o vetor de vacina de adenovírus de chimpanzé (ChAdOx1), da Universidade de Oxford em parceria com a farmacêutica AstraZeneca, ambos em fase 4 de estudo clínico. Podemos listar algumas vantagens no uso dessa tecnologia, tais

como o seu amplo tropismo celular e escalabilidade. No entanto, existe um desafio a ser vencido quando usamos adenovírus como vetores, que é a imunidade pré-existente em humanos, isso pode interferir nos resultados de eficácia. Ainda assim, esse problema é minimizado com o uso do vetor ChAdOx1 que possui baixa soroprevalência humana. (DICKS; SPENCER; EDWARDS; WADELL *et al.*, 2012; FAUSTHER-BOVENDO; KOBINGER, 2014; ORGANIZATION, 2021)

### 2.9.3 VACINAS BASEADAS EM ÁCIDO NUCLÉICO

As vacinas baseadas em ácido nucléico são uma alternativa promissora quando comparadas às tecnologias tradicionais, pois elas fornecem o código genético viral para a produção *in situ* de proteínas do patógeno. As vacinas de DNA e mRNA se enquadram nessa categoria e algumas delas já receberam autorização para uso em seres humanos. Essas plataformas apresentam características atraentes em termos de segurança, velocidade, estabilidade e escalabilidade (ALBERER; GNAD-VOGT; HONG; MEHR *et al.*, 2017). Até o momento, pelo menos 27 vacinas candidatas encontram-se em fase clínica de estudos, incluindo a da Pfizer/Biontech e Moderna, ambas em fase 4 de estudo clínico; 24 estão em fase pré-clínica, segundo a OMS. Uma das grandes vantagens desse tipo de abordagem é a estimulação de resposta T citotóxica por células CD8+, além das respostas de anticorpos e células T CD4+ também presentes em outras plataformas (PARDI; HOGAN; PORTER; WEISSMAN, 2018; SMITH; PATEL; RAMOS; ELWOOD *et al.*, 2020). Em relação às vacinas de mRNA, elas também podem ser produzidas através da transcrição *in vitro*, isso contribui para vencer obstáculos regulatórios quando se trabalha com células. Uma vantagem nas plataformas que usam DNA é a sua maior estabilidade quando comparado às de mRNA, porém as baseadas em mRNA não se integram no genoma celular e assim não apresentam risco de mutagênese por inserção (IAVARONE; O'HAGAN; YU; DELAHAYE *et al.*, 2017). Para entrega desses ácidos nucléicos ao tecido alvo, abordagens nanotecnológicas podem ser utilizadas, tais como os nanotransportadores sintéticos, que incluem lipossomas catiônicos, nanopartículas poliméricas. Essa tecnologia tem sido usada para a entrega de ácidos nucléicos através das membranas celulares ((LIM; BADRUDDOZA; FIRDOUS; AZAD *et al.*, 2020; PARDI; HOGAN; PORTER; WEISSMAN, 2018; ZENG; HOU; YAN; ZHANG *et al.*, 2020).

#### 2.9.4 VACINAS DE SUBUNIDADE

As vacinas candidatas são compostas por subunidade estruturais do SARS-CoV-2 e quando administradas com adjuvantes possuem imunogenicidade aumentada, como o uso de subunidades da proteína S (S1 e/ou S2) por exemplo. Existem atualmente pelo menos 34 vacinas candidatas em estudo clínico, como as vacinas da Novavax e Sanofi Pasteur/GSK, que estão em fase 3 de estudo clínico. 71 vacinas candidatas estão em estudos pré-clínicos (ORGANIZATION, 2021). Além disso, também podemos verificar a exploração do uso apenas da subunidade RBD da proteína S (HOTEZ; BOTTAZZI, 2020). De outra maneira, as vacinas que usam subunidades também podem assumir a forma de partículas semelhantes a vírus (VLPs). Essas VLPs podem ser produzidas por expressão recombinante que permite incorporação de ligantes e imunomoduladores. Essa abordagem possibilita a produção de vacinas estáveis com produção escalonável entre outras vantagens (BRUNE; HOWARTH, 2018; KANEKIYO; BU; JOYCE; MENG *et al.*, 2015; KANEKIYO; JOYCE; GILLESPIE; GALLAGHER *et al.*, 2019; SHARMA; SHEPARDSON; JOHNS; WELLHAM *et al.*, 2020). Além disso, essa tecnologia permite a entrega eficiente de antígeno/adjuvante para órgãos linfóides secundários (WANG; QIN; YAMANKURT; SKAKUJ *et al.*, 2019), e captação preferencial por células apresentadoras de antígeno (APCs), criam estímulo imunológico sustentado e permitem que os antígenos extracelulares sejam apresentados através da via MHC-I para o envolvimento de células T CD8+. (SMITH; SIMON; BAKER JR, 2013) Segundo a OMS, existem atualmente cinco vacinas candidatas em fase clínica e 18 em fase pré-clínica usando plataformas baseada em VLPs.

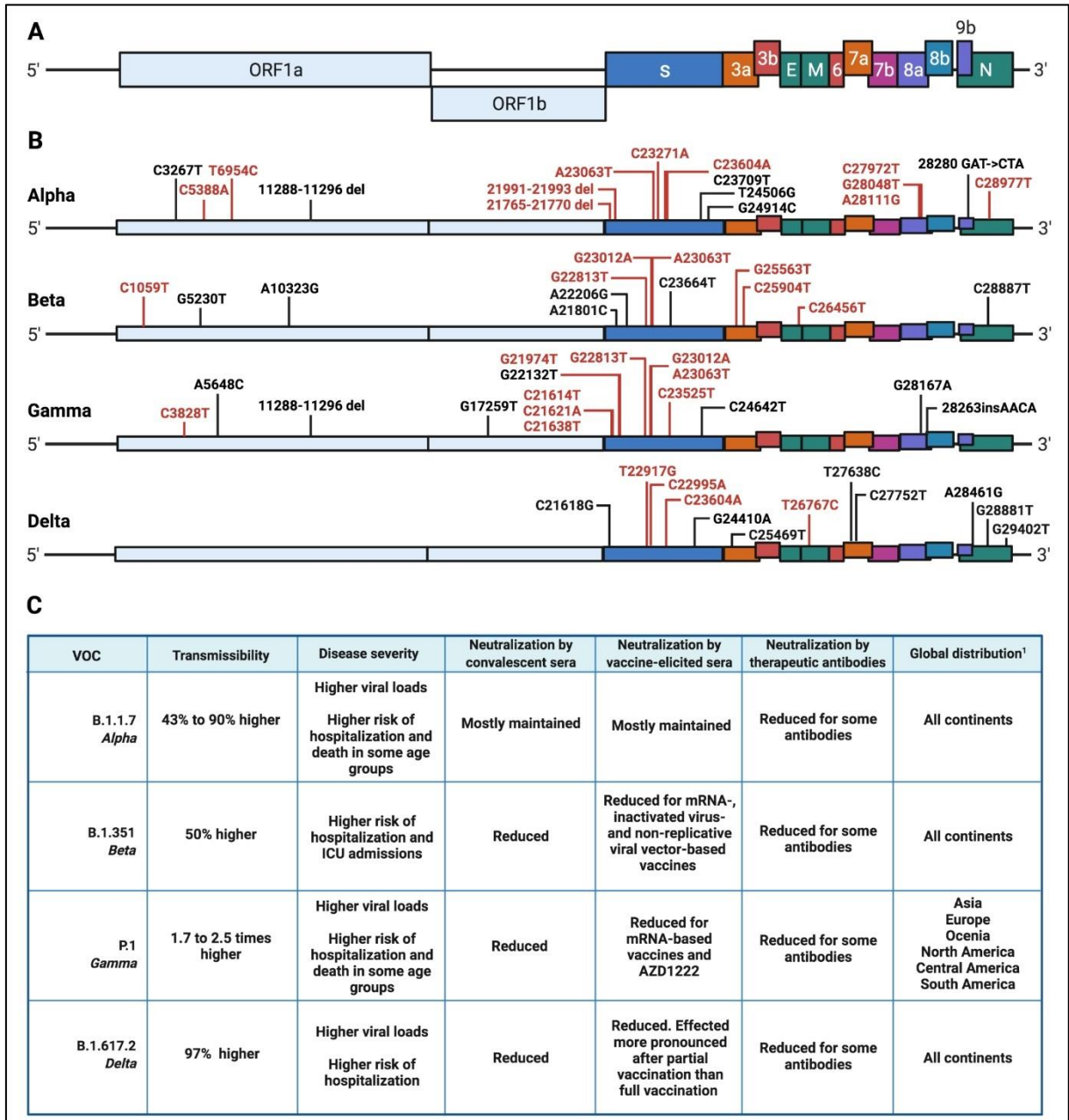
#### 2.10 VARIANTES EMERGENTES DE SARS-COV-2

Desde a descoberta do SARS-CoV-2 em dezembro de 2019, o genoma viral de diferentes isolados clínicos está sendo sequenciado diariamente em todo o mundo, e milhares de genomas completos foram depositados em bancos de dados até o momento. Vírus de RNA, como o SARS-CoV-2, são conhecidos por apresentarem altas taxas de mutação devido à baixa capacidade da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) em corrigir erros durante a replicação do genoma. No entanto, a família *Coronaviridae* é uma exceção, uma vez que o maquinário de replicação desses vírus contém um domínio de exoribonuclease 3'-5' capaz de revisar (OGANDO; FERRON; DECROLY; CANARD *et al.*, 2019). Este domínio também foi

detectado no SARS-CoV-2 como um componente da proteína não estrutural nsp14 (OGANDO; ZEVENHOVEN-DOBBE; VAN DER MEER; BREDENBEEK et al., 2020). Na verdade, após a análise de diferentes genomas publicados até novembro de 2020, o SARS-CoV-2 mostrou uma baixa diversidade global de nucleotídeos. No entanto, a diversidade de nucleotídeos tende a aumentar à medida que a incidência do vírus aumenta (FLORES-ALANIS; CRUZ-RANGEL; RODRÍGUEZ-GÓMEZ; GONZÁLEZ et al., 2021). A mutação do vírus ao longo do tempo culminou no surgimento de variantes do SARS-CoV-2, espécimes de vírus que são geneticamente diferentes da linhagem principal ou inicial do SARS-CoV-2. Essas mutações podem ser fenotipicamente neutras, sem grandes impactos na biologia viral, ou conferir vantagens às variantes que as possuem, incluindo melhorar a adaptação e a aptidão viral (LAURING; HODCROFT, 2021). A primeira variação importante da cepa de referência Wuhan observada possuía a mutação D614G na proteína Spike. Essa mutação foi detectada pela primeira vez em março de 2020 e rapidamente se tornou globalmente dominante, estando presente na maioria das linhagens virais circulantes atuais. O D614G confere vantagens replicativas ao vírus o que poderia ser a explicação para sua rápida disseminação mundial (KORBER; FISCHER; GNANAKARAN; YOON et al., 2020; PLANTE; LIU; LIU; XIA et al., 2021).

O CDC EUA classificou as variantes do SARS-CoV-2 em três grupos: variantes de interesse; variantes de preocupação (VOCs) e variantes de grande consequência. Variantes de interesse são variantes com prevalência ou disseminação limitada que possuem mutações que podem afetar a transmissão, o diagnóstico, a terapêutica ou a sensibilidade a anticorpos produzidos após exposição ou vacinação prévia. Variantes preocupantes são definidas como aquelas que apresentam evidência de aumento de incidência/transmissão, falha diagnóstica ou terapêutica, ou redução da neutralização por anticorpos produzidos após exposição ou vacinação prévia. Variantes de alta consequência são aquelas para as quais as medidas de prevenção ou contramedidas médicas têm eficácia reduzida. Desde 19 de agosto de 2021, seis variantes do SARS-CoV-2 foram classificadas como variantes de interesse (B.1.427, B.1.429, B.1.525, B.1.526, B.1.617.1 e B.1.617.3), enquanto cinco foram classificadas como variantes de preocupação (B.1.1.7, P.1, B.1.351 e B.1.617.2) (CDC, 2021). O CDC até agora não classificou nenhuma variante como uma variante de alta consequência. Todas essas variantes compartilham a mutação D614G (CDC, 2021). Existem diferentes esquemas de nomenclatura de variantes (ABDOOL KARIM; DE OLIVEIRA; LOOTS, 2021; CALLAWAY, 2021), mas aqui será utilizada a nomenclatura baseada no arcabouço filogenético proposto por Rambaut e colaboradores (2020), a linhagem Pango (RAMBAUT; HOLMES; O'TOOLE; HILL et

al.,2020) e o rótulo definido pela Organização Mundial da Saúde (<https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>). As variantes de interesse serão discutidas mais profundamente nesta seção e estão resumidas na figura 10.



**Figura 10** – Silva *et al.* (Dados não publicados) - Variantes de preocupação (VOCs) do SARS-CoV-2. (A) Modelo esquemático do genoma SARS-CoV-2. (B) Definição de mutações e exclusões não sinônimas de cada VOC. Em preto estão alterações de nucleotídeos sem impacto previsto ou confirmado na estrutura e/ou função da proteína. Em vermelho estão alterações de nucleotídeos com impacto previsto ou confirmado na estrutura e/ou função da proteína. (C) Características fenotípicas dos VOCs. Distribuição global de acordo com o site das linhagens PANGO (<https://cov-lineages.org/index.html>). Produzida pelo autor.

Em dezembro de 2020, após vigilância epidemiológica e genômica, o Reino Unido (RU) relatou uma nova variante do SARS-CoV-2, inicialmente chamada de VUI-202012/01 (primeira variante sob investigação em dezembro de 2020) (RAHIMI; TALEBI BEZMIN ABADI, 2021) Esta variante, renomeada de B.1.1.7 de acordo com as linhagens Pango, e posteriormente, como alfa de acordo com a OMS, difere geneticamente das outras por 23 alterações de nucleotídeos: 14 não sinônimas, 6 substituições sinônimas e 3 deleções (RAMBAUT ; LOMAN; PYBUS; ETAL, 2020). Estima-se que a variante alfa seja mais transmissível do que as variantes anteriores, tornando-se a mais prevalente no Reino Unido ao longo do tempo e associada a maior mortalidade (DAVIES; ABBOTT; BARNARD; JARVIS et al., 2021; DAVIES; JARVIS; EDMUNDS; JEWELL et al., 2021). O número de reprodução da variante alfa é 43% a 90% maior do que as variantes anteriores no Reino Unido e em outros países, dependendo do tipo de modelo usado para calcular os dados (DAVIES; ABBOTT; BARNARD; JARVIS et al., 2021). Estudos recentes têm proposto que o aumento da transmissibilidade pode estar relacionado a cargas virais mais altas ou a um período infeccioso mais longo (DAVIES; ABBOTT; BARNARD; JARVIS et al., 2021). De fato, pacientes infectados com a variante alfa apresentam níveis mais elevados de RNA viral e positividade mais duradoura para o vírus (CALISTRIS; AMATO; PUGLIA; CITO et al., 2021; FRAMPTON; RAMPLING; CROSS; BAILEY et al., 2021). Alguns kits comerciais de RT-qPCR direcionados ao gene S não conseguiram detectar a infecção com a variante alfa devido à presença da deleção 21765-21770 no genoma viral, fenômeno geralmente denominado “*S gene target failure*” (SGTF) (BAL; DESTRAS; GAYMARD; STEFIC et al., 2021). Usando o SGTF como uma abordagem para diferenciar a variante alfa de outras, Funk e colegas observaram um maior risco de hospitalização de pacientes europeus nas faixas etárias de 20-39 e 40-59 anos e de admissão na UTI na faixa etária de 40-59 anos (FUNK; PHARRIS; SPITERI; BUNDLE et al., 2021). Estudos recentes mostraram que a variante alfa estava associada ao alto risco (55-64%) de morte em pacientes infectados com SARS-CoV-2 (CHALLEN; BROOKS-POLLOCK; READ; DYSON et al., 2021; DAVIES; JARVIS; EDMUNDS; JEWELL et al., 2021). Mutações na proteína Spike da variante alfa foram associadas à neutralização reduzida por anticorpos monoclonais (REES-SPEAR; MUIR; GRIFFITH; HEANEY et al., 2021; WANG; NAIR; LIU; IKETANI et al., 2021). No entanto, seu impacto na neutralização viral por soros convalescentes ou obtidos de indivíduos vacinados parece ser pequeno ou ausente (PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; REES-SPEAR; MUIR; GRIFFITH; HEANEY et al., 2021; RONDINONE; PACE; FASANELLA; MANZULLI et al., 2021; WANG; NAIR; LIU; IKETANI et al., 2021). A eficiência das vacinas

baseadas em mRNA BNT162b2 (BioNTech, Pfizer) e mRNA-1273 (Moderna) contra a variante alfa mostrou-se semelhante à observada para a variante anterior (ABU-RADDAD; QUIMAITELLY; BUTT; VACINAÇÃO, 2021; MUIK; WALLISCH; SÄNGER; SWANSON et al., 2021). As vacinas à base de vírus inativadas BBIBP-CorV (Sinopharm) e BBV152/COVAXIN (Bharat Biotech) mostraram-se eficazes contra alfa (SAPKAL; YADAV; ELLA; DESHPANDE et al., 2021; WANG; WANG; DUAN; MENG et al., 2021), enquanto CoronaVac (Sinovac) reduziu a capacidade de neutralização contra esta variante por um fator de 0,5 (WANG; WANG; DUAN; MENG et al., 2021). As vacinas baseadas em vetor viral não replicativo ChAdOx1 nCoV-19 / AZD1222 (Oxford, AstraZeneca) e Ad26.COV2.S (Janssen) também mostraram uma capacidade de neutralização reduzida contra a variante alfa (EMARY; GOLUBCHIK; ALEY; ARIANI et al., 2021) (Relatório de avaliação EMA/158424/2021), embora a eficácia geral do AZD1222 contra casos sintomáticos e assintomáticos tenha sido preservada (61,7% contra a variante alfa e 77,3% contra outras variantes) (EMÁRIO; GOLUBCHIK; ALEY; ARIANI et al., 2021). A eficácia de Ad26.COV2.S na prevenção de COVID-19 causada pela variante alfa ainda precisa ser avaliada. O Sputnik V Ad26/Ad5 (Gamaleya Institute) ainda é eficaz na neutralização de B.1.1.7 (IKEGAME; SIDDIQUEY; HUNG; HAAS et al., 2021).

No mesmo mês em que a variante B.1.1.7 foi relatada pela primeira vez no Reino Unido, pesquisadores sul-africanos descreveram uma nova variante do SARS-CoV-2 que surgiu no país após a primeira onda epidêmica (TEGALMENTE; WILKINSON; GIOVANETTI; IRANZADEH et al., 2021). Inicialmente chamada de S501.V2, esta nova variante foi nomeada pelas linhagens Pango como B.1.351 e beta de acordo com a OMS (RAMBAUT; HOLMES; O'TOOLE; HILL et al., 2020). B.1.351 foi caracterizado pela primeira vez contendo 31 mutações, onde 4 são compartilhadas com a variante B.1 parental. Entre as 27 variações específicas encontradas nesta linhagem, 21 são mutações não sinônimas, dessas, 12 foram fixadas na linhagem ao longo do tempo (TEGALMENTE; WILKINSON; GIOVANETTI; IRANZADEH et al., 2021). Esta variante emergente compartilha com B.1.1.7 a substituição N501Y na proteína spike, uma mutação importante para o fenótipo do vírus. Estima-se que B.1.351 seja 50% mais transmissível do que as variantes anteriormente circulantes (PEARSON; RUSSELL; DAVIES; ETAL, 2021). Quando comparado a outras variantes não VOCs, B.1.351 mostrou um maior risco de hospitalização para pacientes europeus nas faixas etárias de 40-59 e 60-79 anos e de admissão na UTI na faixa etária de 40-59 anos, mas isso não levou a um aumento na taxa de mortalidade (FUNK; PHARRIS; SPITERI; BUNDLE et al., 2021). Até o momento, o que parece ser a característica mais importante de B.1.351 é sua sensibilidade

reduzida à neutralização por soros convalescentes e induzidos por vacina (EDARA; NORWOOD; FLOYD; LAI et al., 2021; GARCIA-BELTRAN; LAM; ST DENIS; NITIDO et al., 2021; KUZMINA; KHALAILA; VOLOSHIN; KEREN-NAUS et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; WANG; WANG; DUAN; MENG et al., 2021; WANG; NAIR; LIU; IKETANI et al., 2021; ZHOU; DEJNIRATTISAI; SUPASA; LIU et al., 2021). As vacinas BNT162b2, mRNA-1273, BBIBP-CorV, CoronaVac, ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 e Sputnik V Ad26/Ad5 mostraram capacidade de neutralização reduzida contra esta variante (EDARA; NORWOOD; FLOYD; LAI et al., 2021; GARCIA-BELTRAN; LAM; ST DENIS; NITIDO et al., 2021; IKEGAME; SIDDIQUEY; HUNG; HAAS et al., 2021; KUZMINA; KHALAILA; VOLOSHIN; KEREN-NAUS et al., 2021; MADHI; BAILLIE; CUTLAND; VOYSEY et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; WANG; WANG; DUAN; MENG et al., 2021; WANG; NAIR; LIU; IKETANI et al., 2021; ZHOU; DEJNIRATTISAI; SUPASA; LIU et al., 2021). Também foi observada para ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 uma redução importante na eficácia da vacina em um estudo de base populacional (MADHI; BAILLIE; CUTLAND; VOYSEY et al., 2021). O BNT162b2, por exemplo, parece manter sua eficácia na prevenção de formas graves da doença (ABU-RADDAD; CHEMAITELLY; BUTT; VACINATION, 2021). Estima-se que BBV152/COVAXIN e Ad26.COV2.S sejam eficazes contra B.1.351 (HUANG, 2021) (Relatório de avaliação EMA/158424/2021). Neutralização reduzida por anticorpos monoclonais terapêuticos também foi observada para esta variante (PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; ZHOU; DEJNIRATTISAI; SUPASA; LIU et al., 2021). Assim, B.1.351 pode estar implicado no aumento da frequência de reinfecção e falha da vacina ou terapia e deve ser monitorado de perto pela vigilância genômica.

Uma nova variante do SARS-CoV-2 denominada P.1 (gama) foi detectada em Manaus, Brasil, em dezembro de 2020, que possivelmente estava ligada a um aumento importante da frequência do COVID-19 nesta cidade (FARIA; MELLAN; WHITTAKER; CLARO et al., 2021; NAVECA; NASCIMENTO; DE SOUZA; CORADO et al., 2021). A mesma variante também foi detectada em viajantes contaminados oriundos desse estado e que chegaram a Tóquio, no Japão, em janeiro de 2021 (NIID, 2021). Esta nova variante foi originalmente caracterizada por 35 mutações distribuídas por todo o genoma. Dez variações não sinônimas estão localizadas no gene S, em que três delas (K417T, E484K e N501Y) são compartilhadas com B.1.351 e uma (N501Y) é compartilhada com as variantes B.1.1.7 e B.1.351 (FARIA; MELLAN; WHITTAKER; CLARO et al., 2021). A transmissibilidade P.1 é estimada em 1,7 a 2,5 vezes maior do que as variantes não P.1 circulando em Manaus, tornando-se dominantes



na cidade em janeiro de 2021 (FARIA; MELLAN; WHITTAKER; CLARO et al., 2021; NAVECA; NASCIMENTO; DE SOUZA; CORADO et al., 2021). Cargas virais mais elevadas em pessoas infectadas com a variante P.1 também foram relatadas, o que pode ser um fator contribuinte para seu comportamento mais infeccioso (NAVECA; NASCIMENTO; DE SOUZA; CORADO et al., 2021). A infecção com a variante P.1 foi associada a alto risco de hospitalização e admissão na UTI (FUNK; PHARRIS; SPITERI; BUNDLE et al., 2021). Casos de reinfecção (NAVECA; COSTA; NASCIMENTO; ETAL, 2021; ROMANO; FELIX; PAULA; JESUS et al., 2021) e ressurgimento da doença em locais onde a imunidade de rebanho foi provavelmente alcançada por variantes anteriores (SABINO; BUSS; CARVALHO; PRETE et al., 2021; SILVA, SJRD; PENA, L., 2021) também pode ser explicado pelo surgimento desta nova variante. A resistência à neutralização por anticorpos monoclonais terapêuticos e plasma convalescente pode variar de pouca a completamente resistente pela P.1 (CHEN; ZHANG; CASE; WINKLER et al., 2021; WANG; CASNER; NAIR; WANG et al., 2021). O conhecimento sobre a eficácia das vacinas atualmente disponíveis para P.1 ainda é pequeno. As vacinas BNT162b2 e mRNA-1273 foram as mais avaliadas, mostrando uma redução modesta a moderada em sua capacidade de neutralização contra esta variante (CHEN; ZHANG; CASE; WINKLER et al., 2021; DEJNIRATTISAI; ZHOU; SUPASA; LIU et al., 2021; GARCIA-BELTRAN; LAM; ST DENIS; NITIDO et al., 2021; WANG; CASNER; NAIR; WANG et al., 2021). Na verdade, foi relatado um caso de um homem totalmente vacinado com BNT162b2 que desenvolveu sintomas leves após a infecção por P.1 (FABIANI; MARGIOTTI; VIOLA; MESORACA et al., 2021). Estima-se que CoronaVac seja eficaz contra P.1 (HITCHINGS; ETAL, 2021) e a capacidade do AZD1222 de neutralizar esse vírus é reduzida (DEJNIRATTISAI; ZHOU; SUPASA; LIU et al., 2021).

Em dezembro de 2020 e nos primeiros meses de 2021, a Índia relatou um aumento de casos COVID-19 associados ao surgimento de novas variantes B.1.617.1, B.1.617.2 e B.1.617.3 do SARS-CoV-2 que foram exportadas para outros países por viajantes indianos (ECDC, 2021). B.1.617.2 (Delta) rapidamente se tornou a cepa dominante na Índia e estabeleceu uma cadeia de transmissão comunitária em outros países, aumentando rapidamente sua proporção (CAMPBELL; ARCHER; LAURENSEN-SCHAFFER; JINNAI et al., 2021; ECDC, 2021). Com um número de reprodução 97% maior do que o observado para não VOCs e pelo menos 30% maior do que outros VOCs, estima-se que B.1.617.2 se torne a linhagem dominante em circulação em todo o mundo ao longo do tempo (CAMPBELL; ARCHER; LAURENSEN-SCHAFFER; JINNAI et al., 2021). Doze mutações não sinônimas caracterizam essa variante, cinco delas no gene Spike. O aumento da transmissibilidade apresentado por B.1.617.2 pode

estar relacionado a cargas virais mais elevadas (ONG, 2021; VON WINTERSDORFF, 2021; WILLIAMS; LLEWELYN; BRANDAO; CHOWDHARY et al., 2021), possivelmente devido a uma taxa de replicação mais elevada em comparação com outras variantes (MLCOCHOVA, 2021). Além disso, prevê-se que duas mutações na Spike apresentadas por esta variante, L452R e T478K, melhorem sua interação com a ACE2 e, possivelmente, aumentem a capacidade do vírus de entrar nas células humanas (CHERIAN; POTDAR; JADHAV; YADAV et al., 2021; PASCARELLA; CICOZZI; ZELLA; BIANCHI et al., 2021), embora essa hipótese deva ser mais bem avaliada. B.1.617.2 foi associado a um maior risco de hospitalização e gravidade da doença (ONG, 2021; SHEIKH; MCMENAMIN; TAYLOR; ROBERTSON et al., 2021). Conforme observado para outros VOCs, B.1.617.2 é resistente à neutralização por alguns anticorpos monoclonais terapêuticos (LIU; GINN; DEJNIRATTISAI; SUPASA et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021) e a soros convalescentes (LIU; GINN; DEJNIRATTISAI; SUPASA et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021). Os soros induzidos pela vacina BNT162b2 também mostraram uma capacidade de neutralização reduzida contra B.1.617.2, especialmente após vacinação parcial (LIU; GINN; DEJNIRATTISAI; SUPASA et al., 2021; LIU; LIU; XIA; ZOU et al., 2021; LUSTIG; ZUCKERMAN; NEMET; ATARI et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; WALL; WU; HARVEY; KELLY et al., 2021). A vacinação completa com BNT162b2 parece gerar uma imunidade contra B.1.617.2 comparável a outras variantes (LIU; GINN; DEJNIRATTISAI; SUPASA et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021; WALL; WU; HARVEY; KELLY et al., 2021). Na verdade, a vacinação completa teve uma eficácia semelhante contra B.1.617.2 em comparação com B.1.1.7 em estudos de base populacional (LOPEZ BERNAL; ANDREWS; GOWER; GALLAGHER et al., 2021; NASREEN, 2021). A vacinação com mRNA-1273 foi menos eficaz contra o desenvolvimento de casos sintomáticos derivados da infecção por B.1.617.2 do que pela infecção por B.1.1.7 (NASREEN, 2021). No entanto, as vacinas baseadas em mRNA (BNT162b2 e mRNA-1273 analisados em conjunto) foram capazes de proteger os indivíduos vacinados do desenvolvimento de doença moderada a grave (CHIA, 2021). Vacinas inativadas à base de vírus, HB02 e WIV04 da Sinopharm, CoronaVac e vacina inativada COVID19 da Biokangtai, foram avaliadas juntas em relação à sua eficácia contra B.1.617.2 em uma população chinesa. Eles alcançaram uma eficácia de 69,5% contra a pneumonia associada a COVID-19 e de 100% contra doenças graves (KANG, 2021). A neutralização da variante Delta por soros induzidos por BBV152/COVAXIN foi ligeiramente reduzida, sugerindo a manutenção de sua eficácia contra esta cepa (YADAV,

2021). Os soros produzidos por vacinas baseadas em vetores virais não replicativos tiveram sua capacidade de neutralização reduzida contra B.1.617.2 (GUSHCHIN; DOLZHIKOVA; SHCHETININ; ODINTSOVA et al., 2021; JONGENEELLEN, 2021; LIU; GINN; DEJNIRATTISAI; SUPASA et al., 2021; PLANAS; BRUEL; GRZELAK; GUIVEL-BENHASSINE et al., 2021). A eficácia do AZD122 obtida em estudos populacionais diverge entre os autores e deve ser mais bem investigada (LOPEZ BERNAL; ANDREWS; GOWER; GALLAGHER et al., 2021; NASREEN, 2021).

Durante o processo de defesa desta tese, no mês de novembro de 2021, foi relatada o surgimento de uma nova variante classificada como B.1.1.529 (Ômicron) e também como variante de preocupação. Ainda não se sabe qual o impacto que essa variante terá sobre a atual pandemia no que diz respeito à dados importantes de eficácias das atuais abordagens terapêuticas e vacinais, bem como sua transmissibilidade, virulência e patogenicidade (WHO, 2021).

### **3. PERGUNTA CONDUTORA**

Qual é o perfil clínico-epidemiológico, laboratorial e espacial dos indivíduos infectados ao longo do tempo?

#### **4. HIPÓTESE**

O perfil dos indivíduos infectados por SARS-CoV-2 ao fim do ano de 2020 difere do padrão encontrado nos primeiros casos notificados em Pernambuco quanto ao seu padrão espacial, demográfico e socioeconômico.

## 5. OBJETIVOS

### 6.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a população infectada por SARS-CoV-2 durante o ano de 2020 no Estado de Pernambuco.

### 6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever as principais características clínicas e epidemiológicas dos primeiros casos de COVID-19 no estado de Pernambuco e ao final do ano de 2020;
- b) Comparar a carga viral em pacientes com diferentes desfechos clínicos;
- c) Georreferenciar e realizar análise espacial dos indivíduos infectados por SARS-CoV-2 no início da pandemia e ao final do ano de 2020 em Pernambuco;
- d) Analisar o padrão espacial dos casos de óbito ocorridos em 2020 no estado de Pernambuco;
- g) Descrever os principais achados clínicos, epidemiológicos e demográficos dos indivíduos que evoluíram para óbito no ano de 2020 com diagnóstico confirmado de COVID-19 e residentes no Estado de Pernambuco;
- h) Realizar análise de sobrevivência dos indivíduos que evoluíram para óbito durante o ano de 2020;

## 7. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### 7.1 DESENHO DO ESTUDO E POPULAÇÃO

Um total de 557 pacientes residentes no estado de Pernambuco com teste de ácido nucléico positivo para SARS-CoV-2 foram incluídos no estudo inicial que descreveu os primeiros casos de COVID-19 no estado. Posteriormente, fizemos a análise de todos os casos diagnosticados ao fim do ano de 2020. Os pacientes foram considerados como caso confirmado da infecção por COVID-19 se tivessem pelo menos um teste RT-qPCR positivo para SARS-CoV-2. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UPE sob o protocolo CAAE: 27607619.0.0000.5207 e foi realizado de acordo com as diretrizes e regulamentos pertinentes, incluindo a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). A exigência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi dispensada com base na natureza deste estudo retrospectivo observacional, no qual as informações de identificação dos pacientes foram mantidas em sigilo.

### 7.2 COLETA DE DADOS

As informações epidemiológicas dos pacientes, características demográficas e clínicas, incluindo história médica, sinais e sintomas, achados laboratoriais, comorbidades e data de início da doença, foram obtidas nos prontuários eletrônicos do Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco (LACEN) e analisadas. Os dados do desfecho do paciente foram obtidos até 05 de dezembro 2020, data final do acompanhamento.

### 7.3 CONFIRMAÇÃO LABORATORIAL

Todos os pacientes com COVID-19 incluídos neste estudo foram diagnosticados de acordo com as orientações provisórias da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2020). A confirmação laboratorial foi realizada no LACEN de Pernambuco, um dos laboratórios designados para o diagnóstico da SARS-CoV-2 no estado. Swabs nasofaríngeos e orofaríngeos foram coletados de pacientes com sinais respiratórios de doença compatível com COVID-19. Após a coleta da amostra, o RNA viral foi extraído usando o kit ReliaPrep Viral TNA Miniprep System (Promega, Madison, WI, EUA), de acordo com as instruções dos fabricantes e o RNA

foi submetido a RT-qPCR seguindo o protocolo para detecção de SARS-CoV-2 estabelecida por Corman e colaboradores (CORMAN; LANDT; KAISER; MOLENKAMP *et al.*).

#### 7.4 ANÁLISE ESPACIAL

Para o estudo inicial, as análises espaciais foram feitas por georreferenciamento apenas dos endereços de indivíduos residentes em Recife (n = 306), capital do estado de Pernambuco, cidade com maior número de casos confirmados de COVID-19 à época desta análise. Ao fim do ano de 2020, dos 26803 indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19 no estado, usamos novamente os endereços dos casos que residiam em Recife (n = 9269), pois a capital permaneceu com o maior número de infecções e assim possibilitou uma análise mais detalhada. Para tanto, o software QGIS (<https://qgis.org/en/site/>) foi utilizado para georreferenciar os endereços residenciais e o método *Kernel Density Estimation* foi aplicado para identificar os bairros com maior concentração de casos de COVID-19. Também foi calculada a incidência da infecção nos bairros e o resultado exibido em um mapa de calor. A localização dos endereços georreferenciados foi produzida propositalmente em escalas que não permitiram a identificação exata da residência do indivíduo, como por exemplo na escala de 1:215.000, o que significa que no mapa, a localização dos endereços apresenta um erro de aproximadamente 0,4 mm (40m na escala real). Neste exemplo, os endereços físicos das pessoas localizaram-se em uma área de aproximadamente 2.500 m<sup>2</sup>. Por ser Recife uma cidade urbanizada, as preocupações éticas não são aplicáveis, pois não é possível verificar a localização exata de cada residência. A base cartográfica utilizada foi adquirida em formato *shapefile* no site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas (SIRGAS) 2000. Além disso, foi construído um mapa graduado com informações sobre a receita de domicílios dos bairros da cidade de Recife e classificamos os bairros com base no valor dos salários mínimos recebidos para correlacionar a distribuição dos casos de COVID-19 nas diferentes faixas de renda domiciliar da população estudada. Foram utilizados dados de salários mínimos e rendimento nominal médio mensal por domicílio do último censo brasileiro (<http://censo2010.ibge.gov.br/>).

#### 7.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O Microsoft Office Excel (versão 2010) foi usado para construir um banco de dados com as informações do paciente. O processamento e a análise dos dados foram feitos no *GraphPad*

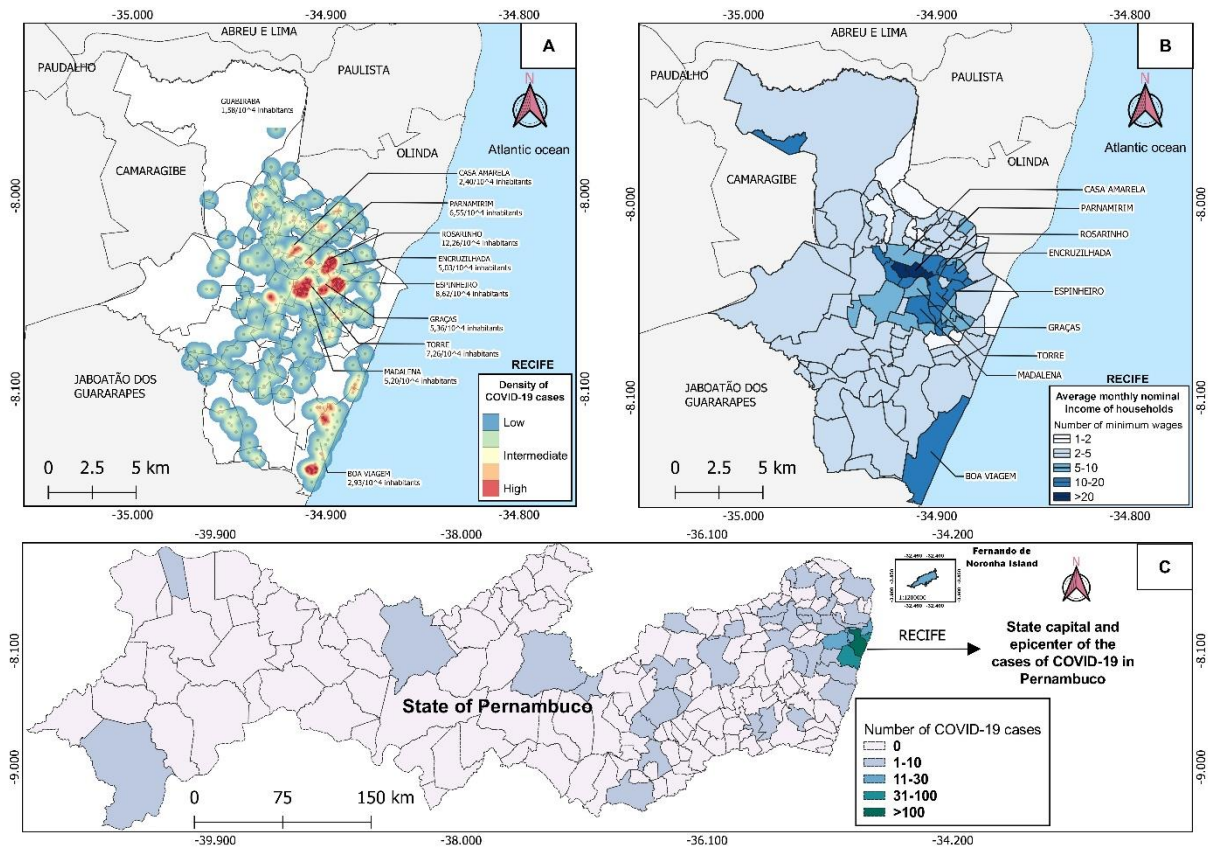


*Prism* versão 6.0 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA). As variáveis contínuas foram expressas como medianas e intervalos interquartis, conforme apropriado. As variáveis categóricas foram resumidas como contagens e porcentagens. O teste do qui-quadrado foi utilizado para verificar o nível de associação entre as variáveis. Diferenças estatisticamente significativas foram definidas como  $p < 0,05$ . Para a análise de sobrevida, foram utilizados os testes de *Kaplan-Meier e Hazard Ratio* (HR), com intervalo de confiança (IC) de 95%.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

De 12 de março a 22 de abril de 2020, um total de 2.772 casos suspeitos - 1.616 mulheres (58,30%) e 1.156 homens (41,70%) - foram coletados e testados para SARS-CoV-2 no LACEN de Pernambuco por RT-qPCR. Do total de casos, 557 (20,09%) foram positivos para SARS-COV-2. Esses foram os primeiros casos de COVID-19 notificados no estado. A Figura 11 ilustra a distribuição da epidemia no estado de Pernambuco. O maior número de casos ( $n = 306$ , 54,58%) ocorreu na cidade de Recife, capital de Pernambuco, seguida das cidades metropolitanas Jaboatão dos Guararapes ( $n = 43$ , 7,2%), Olinda ( $n = 43$ , 7,2%), Paulista ( $n = 30$ , 5,39%), São Lourenço da Mata ( $n = 23$ , 4,13%) e Camaragibe ( $n = 16$ , 2,87%). Já ao final de 2020 Pernambuco notificou um total de 26803 casos de COVID-19, onde 13198 (49,24%) eram do sexo feminino e 13605 (50,76%) eram do sexo masculino. A cidade de Recife permaneceu com o maior número de casos (9269, 34,58%) seguida das cidades Jaboatão dos Guararapes (2673, 9,97%), Olinda (1842, 6,87%) e Paulista (1460, 5,44%). As cidades do interior com maior número de casos foram Caruaru (1001, 3,73%), Petrolina (322, 1,20%), Garanhuns (207, 0,77%) e Serra Talhada (166, 0,61%).

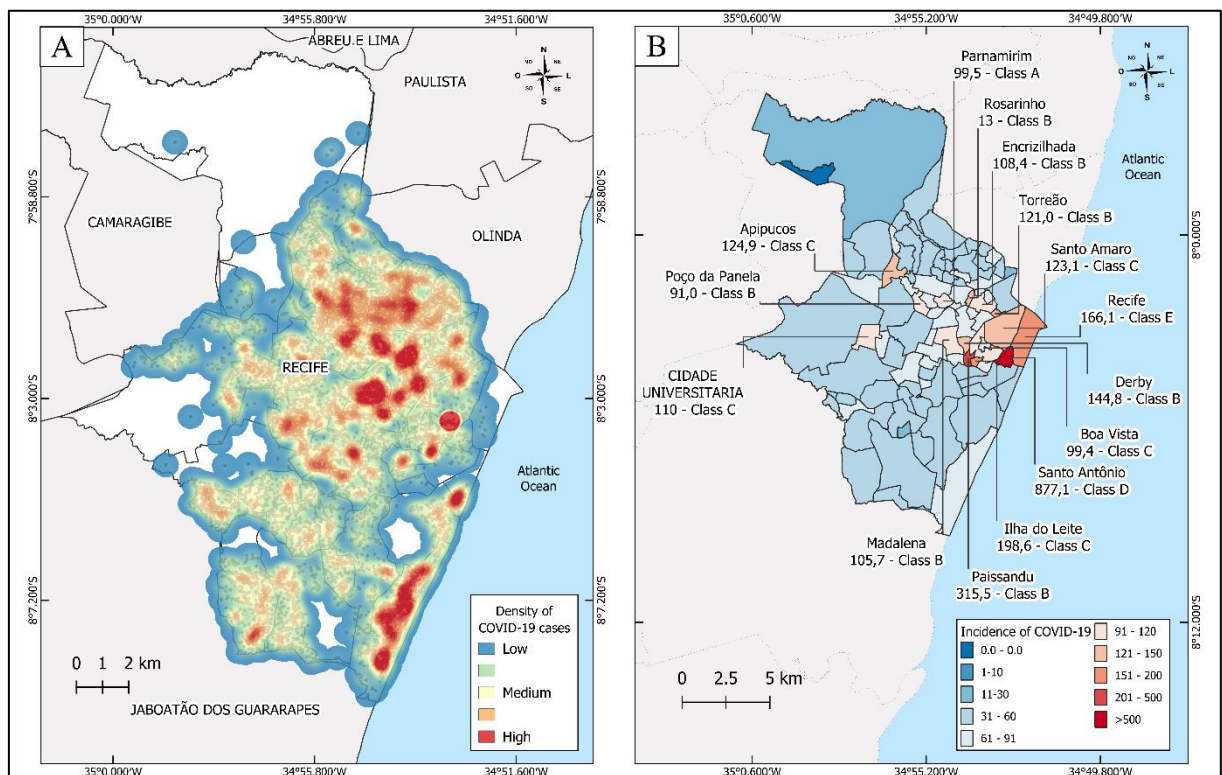


**Figura 11** – Análise espacial dos casos COVID-19 no estado de Pernambuco, Brasil. A Fig. 1A mostra a distribuição espacial dos casos COVID-19 em Recife, capital de Pernambuco, como mapa de calor. A estimativa de densidade do kernel foi usada para mostrar as áreas com maior concentração de casos associados à incidência da doença em alguns bairros. A Fig. 1B mostra um mapa graduado com informações sobre a renda familiar mensal nominal média convertido em valor de salários mínimos. A Fig. 1C mostra os municípios com casos positivos para COVID-19 no Estado de Pernambuco. Produzida pelo autor.

## 8.2 ANÁLISE ESPACIAL

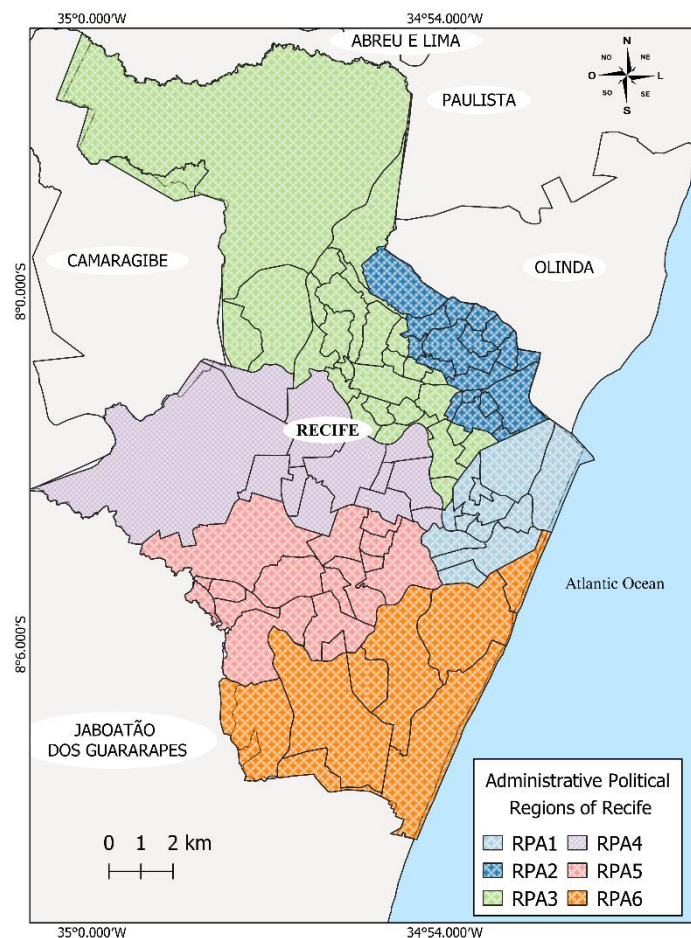
Os primeiros 306 casos de COVID-19 em Recife foram georreferenciados e analisados pela Estimativa de Densidade de Kernel. O maior número de casos ocorreu nos bairros Casa Amarela, Parnamirim, Rosarinho, Encruzilhada, Espinheiro, Graças, Torre, Madalena e Boa Viagem (Figura 11A). O bairro do Rosarinho teve a maior incidência de COVID-19 (12,26/10<sup>4</sup> habitantes) e também apresentou o maior número de casos por quilômetro quadrado (20/km<sup>2</sup>), enquanto o bairro da Guabiraba teve a menor incidência (1,58/10<sup>4</sup> habitantes) e o menor número de casos por quilômetro quadrado (0,02/km<sup>2</sup>). Em relação à distribuição dos casos de COVID-19 nas diferentes faixas de renda domiciliar (Figura 11B), constatamos que as infecções por SARS-CoV-2 ocorreram em bairros de maior poder aquisitivo. Dos nove bairros destacados no mapa de calor, sete possuíam domicílios com renda superior a 10 salários mínimos, demonstrando que os primeiros casos de COVID-19 em Pernambuco foram direcionados à

população de alta renda. Ao final de 2020 georreferenciamos 9269 casos de COVID-19 na cidade de Recife e avaliamos os aglomerados de casos nos bairros usando também a Estimativa de Densidade de Kernel (figura 12A), demonstrando a incidência por bairro associada a classe de renda domiciliar média mensal dos bairros (figura 12B). Dos 15 bairros com as maiores incidências evidenciados no mapa, 53,3% eram de bairros de Classe A e B, como por exemplo Paissandu ( $315,5/10^4$  habitantes) e Parnamirim ( $99,5/10^4$  habitantes), evidenciando que as classes de maior poder aquisitivo ainda permaneceram com maior disseminação viral. Contudo, ainda podemos observar na figura 12B que bairros de classe C, D e E estavam envolvidos com altas incidências, como no bairro de Santo Antônio (Classe D,  $877,1/10^4$  habitantes), a maior encontrada neste estudo.



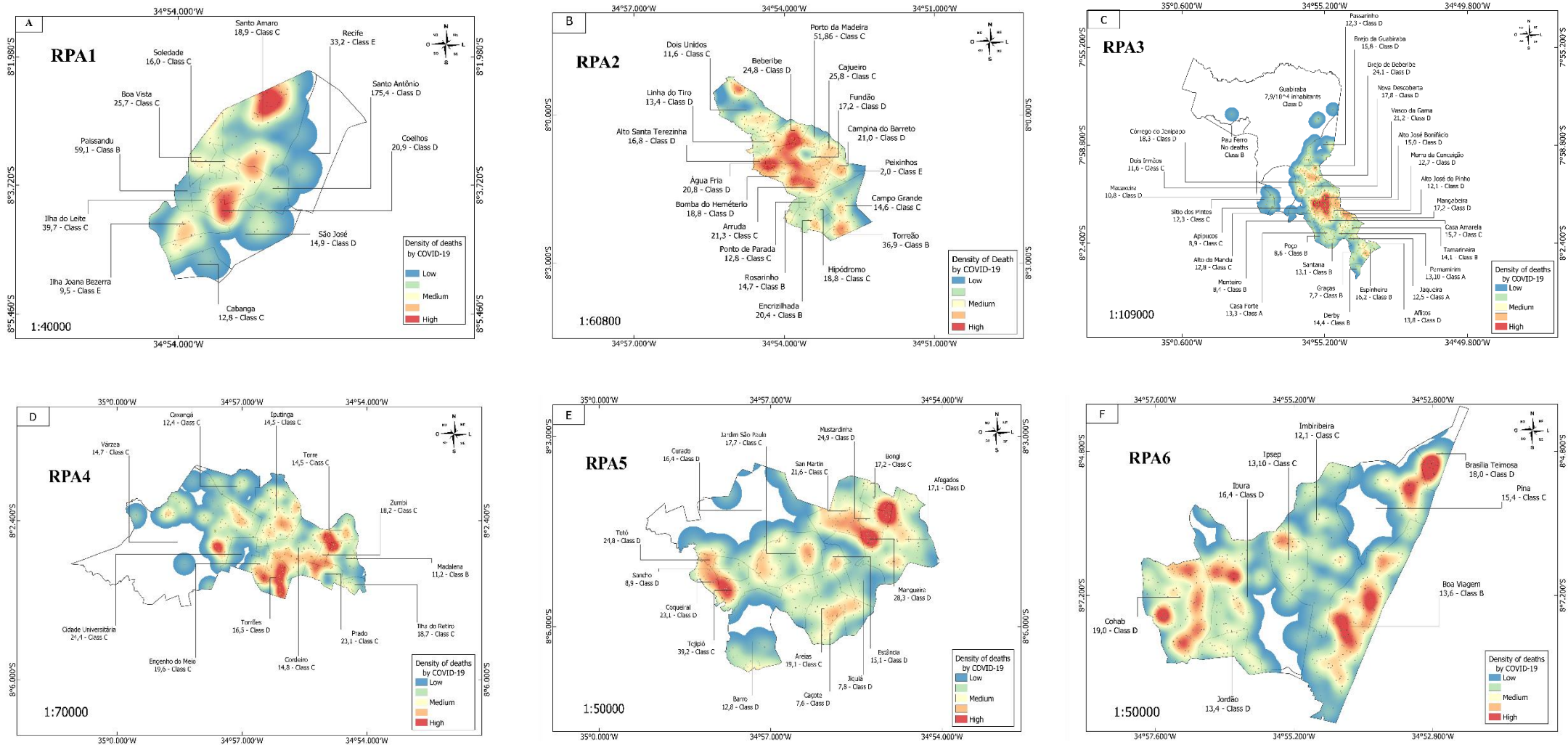
**Figura 12** – A figura A demonstra a dispersão dos casos de COVID-19 na cidade do Recife evidenciando as regiões com maior concentração de indivíduos infectados. A figura B demonstra as maiores incidências (casos/ $10^4$  habitantes) encontradas nos bairros. As letras maiúsculas A (20 ou mais), B (10-20), C (5-10), D (2-5) e E (1-2) ao lado das incidências refletem a classe salarial de renda média de cada domicílio (em salários mínimos brasileiros) do referido bairro de acordo com dados do último censo brasileiro. Produzida pelo autor.

Para detalhar a análise dos óbitos de indivíduos residentes em Recife, fizemos um mapa temático separando as Regiões Político Administrativas (RPA) da capital do estado (figura 13) e analisamos os aglomerados de casos através da Estimativa de Densidade de Kernel, bem com a incidência de casos fatais. Estavam disponíveis para georreferenciamento 2494 endereços de indivíduos que evoluíram para o óbito e residiam na cidade do Recife. Na RPA1 os bairros envolvidos com aglomerados de casos fatais foram Boa Vista, Coelhos, Santo Amaro e Ilha Joana Bezerra, todos de classe C, D e E (figura 14A). Todavia, os bairros com maiores incidências de óbito foram Santo Antônio (classe D,  $175,4/10^4$ ), Paissandu (classe B,  $59,1$ ), Ilha do Leite (classe C,  $39,7/10^4$ ), Recife (classe E,  $33,2/10^4$ ) e Boa Vista (classe C,  $25,7/10^4$ ). Na RPA2 os aglomerados de casos fatais se localizaram nos bairros de Água Fria, Alto Santa Terezinha, Bomba do Hemetério, Arruda, Beberibe, Porto da Madeira, Fundão, Cajueiro e Dois Unidos, todos de classe C, D ou E (figura 14B). Os bairros com maior incidência foram Porto da Madeira (classe C,  $51,86/10^4$ ), Torreão (classe B,  $36,9/10^4$ ), Cajueiro (classe C,  $25,8/10^4$ ), Beberibe (classe D,  $24,8/10^4$ ), Arruda (classe C,  $21,3/10^4$ ) e Água Fria (classe D,  $20,8/10^4$ ).



**Figura 13** – Regiões Político Administrativas da cidade do Recife. A capital do estado de Pernambuco é dividida em 6 RPAs. Produzida pelo autor.



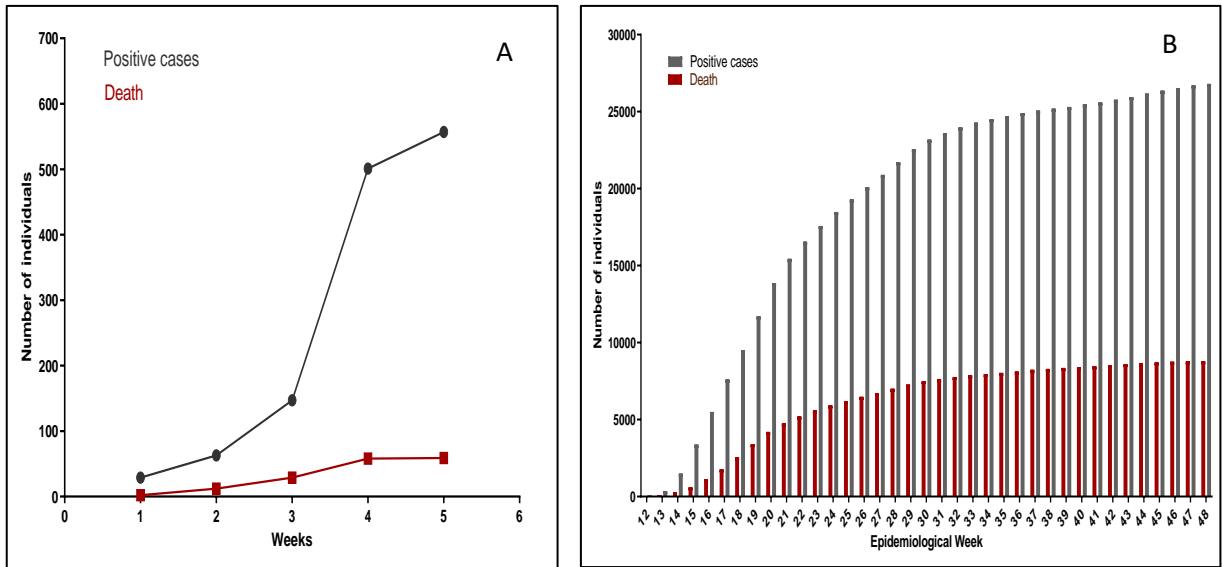


**Figura 14** – Análise da Densidade de Kernel das seis RPAs do Recife, incidência por bairro apresentada em número de casos a cada 10 mil habitantes e suas respectivas classes de renda. Produzida pelo autor.

A RPA3 possui o maior número de bairros (28) e é a segunda mais populosa. Nesta RPA os principais aglomerados de casos envolveram os bairros de Vasco da Gama, Nova Descoberta, Alto José Bonifácio e Macaxeira, todos de classe D (figura 14C). As maiores incidências ocorreram em Brejo de Beberibe (classe D, 24,1/10<sup>4</sup>), Vasco da Gama (classe D, 21,2/10<sup>4</sup>) e Córrego do Jenipapo (Classe D, 18,3/10<sup>4</sup>). A RPA4 apresentou aglomerados nos bairros de Torrões, Engenho do Meio, Várzea, Torre, Zumbi, Madalena e Prado, todos de classe C e D, exceto Madalena, de classe B (figura 14D). As maiores incidências desta RPA foram em Cidade Universitária (classe C, 24,4/10<sup>4</sup>), Prado (classe C, 23,1/10<sup>4</sup>) e Engenho do Meio (classe C, 19,6/10<sup>4</sup>). Os principais aglomerados de casos fatais na RPA5 ocorreram nos bairros Totó, Coqueiral, Tejipió, Bongí, Mustardinha e Mangueira, todos de classe C e D (figura 14E). Em relação a incidência nesta RPA, incidiram principalmente em Tejipió (classe C, 39,2/10<sup>4</sup>), Mangueira (classe D, 28,3/10<sup>4</sup>), Mustardinha (classe D, 24,9/10<sup>4</sup>), Totó (classe D, 24,8/10<sup>4</sup>) e Coqueiral (classe D, 23,1/10<sup>4</sup>). Por último, na RPA6 os bairros Ibura, Cohab, Brasília Teimosa, Pina e Boa Viagem, todos de classe D e C, exceto Boa Viagem, apresentaram os principais aglomerados de casos fatais (figura 14F). Em relação a incidência nesta RPA, os maiores índices ocorreram em Cohab (classe D, 19,0/10<sup>4</sup>), Brasília Teimosa (classe D, 18,0/10<sup>4</sup>) e Ibura (classe D, 16,4/10<sup>4</sup>).

### 8.3 NÚMERO CUMULATIVO DE CASOS DE COVID-19

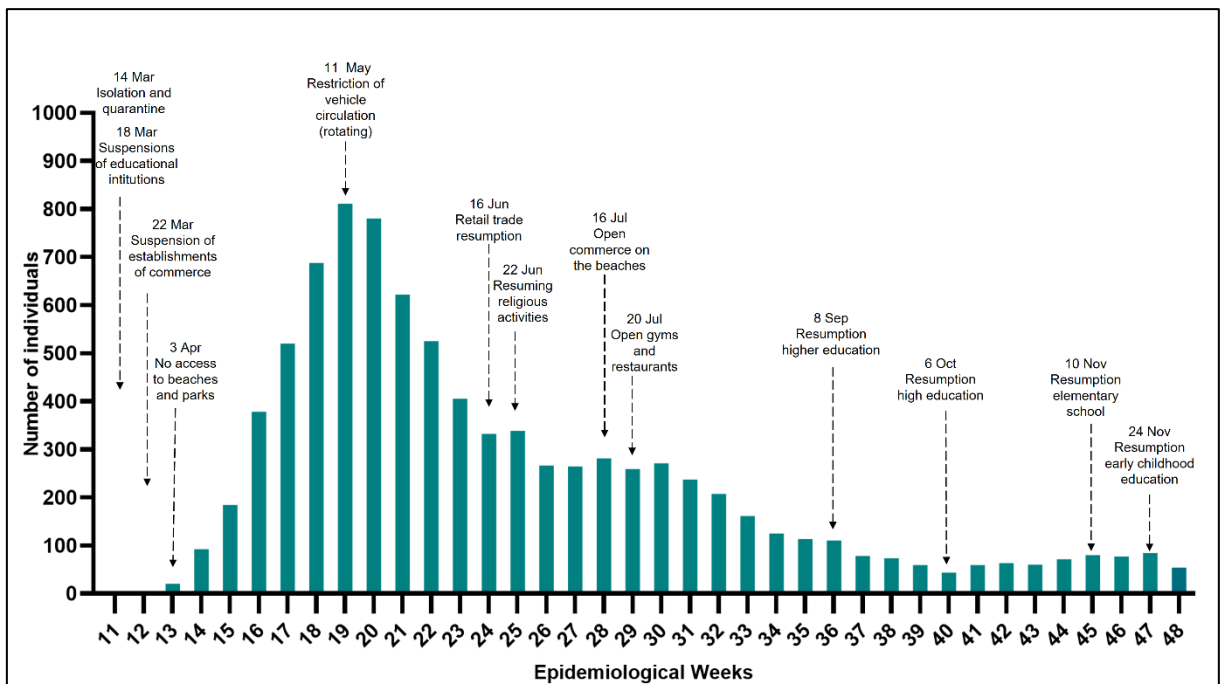
A Figura 15A apresenta o número cumulativo de casos de COVID-19 registrados semanalmente com a notificação dos primeiros 557 casos relatados no artigo já publicado. O primeiro caso positivo para SARS-CoV-2 no estado de Pernambuco foi notificado em 12 de março de 2020. Na primeira semana, foram registrados 29 (5,20%) casos e 2 (3,38%) óbitos. A quarta semana (de 7 a 14 de abril) registrou o maior aumento no número de casos e óbitos. No período, foram registrados 354 (63,55%) casos e 29 (49,15%) óbitos, o que correspondeu a 501 (89,94 %) casos positivos acumulados e 58 (98,30%) óbitos. Ao final de 2020 em todo estado de Pernambuco foram registrados 26803 casos positivos para SARS-CoV-2. A figura 15B mostra a ordem cronológica das notificações cumulativas dos casos confirmados durante as semanas epidemiológicas, onde a semana 19 foi a mais crítica, pois apresentou o maior número de casos em uma única semana (2209 casos) e 860 óbitos confirmados para COVID-19 em todo estado de Pernambuco.



**Figura 15** – Curva epidêmica das notificações de COVID-19 em Pernambuco. A) Número cumulativo de pacientes infectados e óbitos por COVID-19 registrados semanalmente desde o primeiro caso diagnosticado. B) Notificações por semana epidemiológica do número cumulativo de casos. Produzida pelo autor.

#### 8.4 CURVA EPIDÊMICA DE ÓBITOS E MEDIDAS DE CONTENÇÃO

A Figura 16 apresenta a curva epidêmica mais detalhada dos casos de óbitos por COVID-19 de acordo com a semana epidemiológica e cronograma das principais intervenções



**Figura 16** – Mendes *et al.* (Dados não publicados). Curva epidêmica dos casos de óbito e medidas de controle implementadas pelo governo de Pernambuco. Produzida pelo autor.

de controle estabelecidas pelo estado de Pernambuco. O primeiro caso de óbito foi registrado em 25 de março de 2020, referente à 12ª semana epidemiológica. Na mesma semana, foram suspensas atividades com alta concentração de pessoas, como reuniões, concertos (ao vivo e cinema), eventos desportivos/treino com o público, encerramento de escolas e quaisquer outros eventos que pudessem originar aglomeração de pessoas, garantindo distância social. O número de óbitos atingiu o pico na 19ª semana epidemiológica compreendendo 9 de maio a 15 de maio de 2020 com 860 casos letais. Com isso, no dia 11 de maio, o governo de Pernambuco adotou medidas mais severas de combate à COVID-19 no estado, com a restrição de veículos onde estava previsto sistema de rodízio. Após a implementação dessa medida, o número de indivíduos que evoluíam para óbito diminuiu gradativamente e, após mais algumas semanas, os estabelecimentos começaram a reabrir gradativamente.

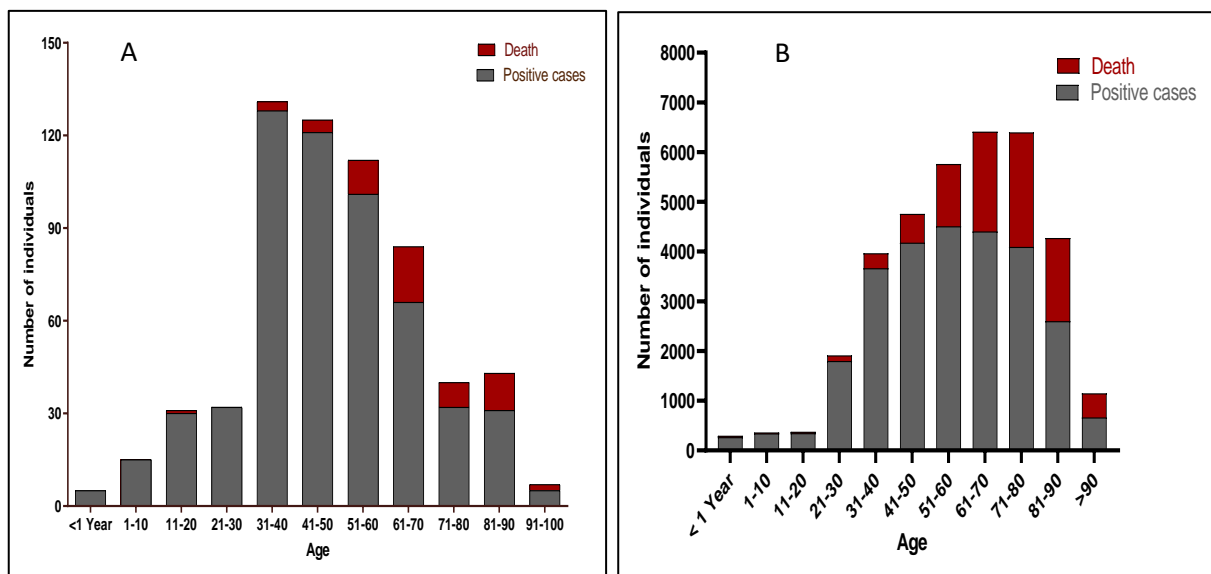
## 8.5 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS PACIENTES

A idade dos pacientes infectados com SARS-CoV-2 no início da pandemia em Pernambuco variou de 27 dias a 97 anos, com média de 48,57 anos e mediana de 47 (interquartil, 32 a 68). Ao final de 2020 a idade variou de 1 dia até 114 anos, com média de 56,17 anos e mediana de 57 (interquartil, 41 a 72). A proporção de homens para mulheres no grupo de infectado com SARS-CoV-2 nos primeiros casos foi de 0,83:1 (45,42% homens/54,58% mulheres; teste do qui-quadrado,  $p=0,46$ ), mostrando uma incidência ligeiramente maior em mulheres do que em homens. Já ao final de 2020 essa proporção foi de 1,03:1 (50,76% homens/49,24% mulheres; teste do qui-quadrado,  $p=0,07$ ) mostrando uma discreta inversão em comparação aos primeiros casos. Inicialmente o maior número de casos ocorreu em pacientes de 31 a 40 anos ( $n=128$ , 22,98%), seguido pela faixa etária de 41 a 50 anos ( $n = 121$ , 21,72%), e o grupo que abrange pacientes de 51 a 60 anos ( $n=101$ , 18,13%). Ao final de 2020 o grupo com maior número de casos foi de 51 a 60 anos ( $n=4504$ , 16,80%) seguido dos grupos de 61 a 70 anos ( $n=4398$ , 16,40%) e 41 a 50 anos ( $n=4172$ , 15,56%), ver figura 17A.

Durante o período do estudo dos primeiros 557 casos, um total de 59 mortes ocorreram. Destes, 51 (86,44%) eram pacientes com mais de 51 anos. Embora a incidência tenha sido mais elevada no sexo feminino, o número de óbitos tendeu a ser maior no sexo masculino (55,93% versus 44,06%), apesar da diferença não atingir significância estatística (teste do qui-quadrado,  $p = 0,87$ ). Ao final de 2020 um total de 8791 óbitos foram confirmados pela técnica de RT-PCR em tempo real. Destes, 7624 (86,72%) eram de indivíduos com mais de 51 anos. A incidência de óbitos na população ao final de 2020 foi maior no sexo masculino ( $n=4840$ , 55,06%) do que



no sexo feminino ( $n=3951$ , 44,94%) com valor de  $p=1,9$  (teste do qui-quadrado). A média de idade dos pacientes que morreram no estudo inicial foi de 66,06 anos e a mediana foi de 65 (intervalo interquartil, 51,5 - 82,5). Já ao final de 2020 a média de idade foi de 68,82 anos com mediana de 71 anos (intervalo interquartil, 60 - 80). Inicialmente a maior taxa de mortalidade foi observada em pacientes na faixa etária de 61 a 70 anos ( $n = 18$ , 30,50%), seguida pela faixa de 51 a 60 anos ( $n = 11$ , 18,64%), figura 17A. Ao final de 2020 o grupo de 71 a 80 anos apresentou a maior taxa de óbito entre as faixas etárias ( $n=2307$ , 26,24%) e ainda a maior taxa de óbito dentro de sua faixa etária (56,47%), figura 17B.

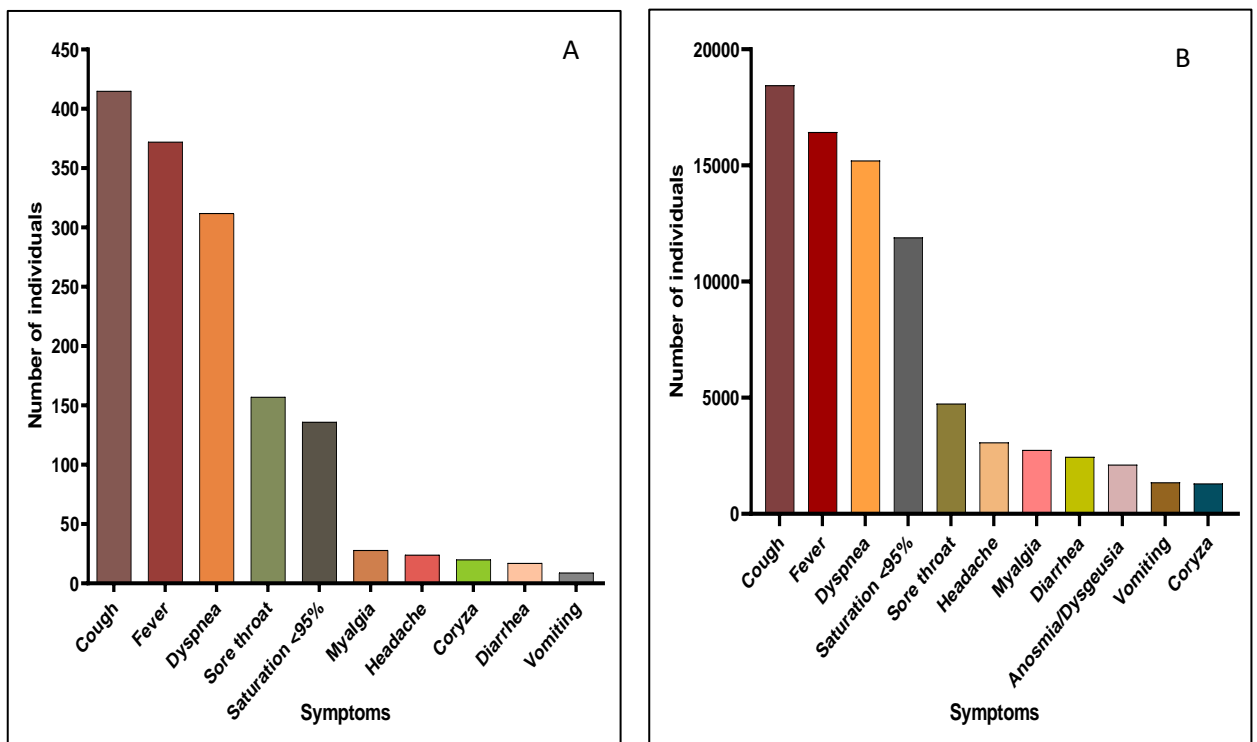


**Figura 17** – Distribuição por idade de casos letais e não letais de COVID-19 nos primeiros 557 casos diagnosticados em Pernambuco (A) e com todos os casos notificados no ano de 2020 até o dia 05/12/2021 (B). Produzida pelo autor.

## 8.5 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

A Figura 18A resume os principais sintomas apresentados no momento da notificação dos pacientes. Nos primeiros 557 casos o sintoma mais comum foi tosse ( $n = 415$ , 74,51%), seguido por febre ( $n = 372$ , 66,79%), dispneia ( $n = 312$ , 56,01%), dor de garganta ( $n = 157$ , 28,19%) e saturação de  $O_2 < 95\%$  ( $N = 136$ , 24,42%). Alguns pacientes também apresentavam mialgia ( $n = 28$ , 5,03%), cefaleia ( $n = 24$ , 4,31%), coriza ( $n = 20$ , 3,59%), diarreia ( $n = 17$ , 3,05%) e vômitos ( $n = 9$ , 1,62%). Para os 26803 casos notificados ao fim de 2020 o sintoma mais comum continuou a ser a tosse ( $n=18595$ , 69,37%) seguido de febre ( $n=16451$ , 61,37%),

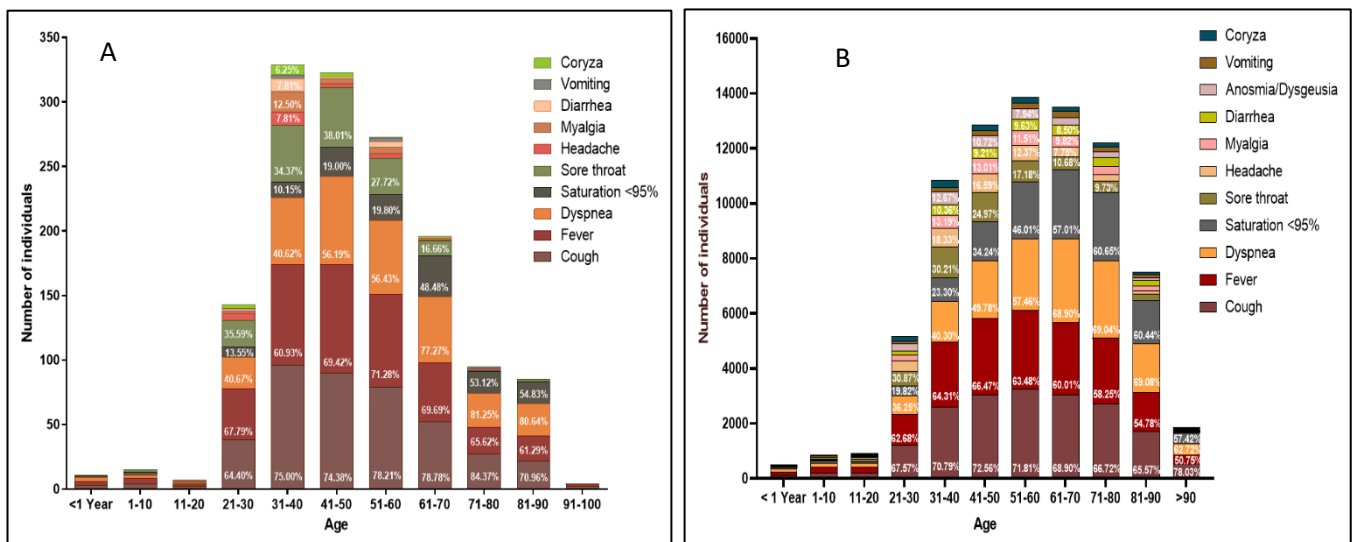
dispneia (15282, 57,01%) e diferentemente das análises dos primeiros casos, a saturação de O<sub>2</sub> <95% se apresentou em quarto lugar (n=11895, 44,37%) seguida da dor de garganta com n=4758, 17,7% (figura 18B). Outros sintomas também sofreram mudanças na classificação em comparação aos primeiros casos, tais como a dor de cabeça (n=3081, 11,49%) que foi relatada mais vezes que a mialgia (n=2749, 10,25%). Seguindo a classificação dos sintomas mais relatados temos a diarreia (n=2453, 9,15%) seguida de anosmia/ageusia (n=2108, 7,86%), sintoma que não tinha sido relatado de forma relevante nos primeiros casos de COVID-19 em Pernambuco e que em seguida foi relatado mais vezes com o aumento no número de notificações. Por último temos os sintomas de vômito (n=1350, 5,03%) e coriza (n=1324, 4,93%).



**Figura 18** – Principais sintomas apresentados pelos pacientes infectados por SARS-CoV-2 no momento da notificação. Na figura A temos os sintomas dos primeiros 557 casos e na figura B demonstramos os sintomas mais comuns dos 26803 casos de COVID-19 notificados até 05/12/2020.

Produzida pelo autor.

A Figura 19 mostra os sintomas de acordo com as faixas etárias. Os sintomas mais prevalentes em pacientes com menos de 20 anos foram febre, tosse e dispneia tanto nos primeiros 557 casos (19A) quanto nas notificações ao final de 2020 (19B). Além desses sintomas, dor de garganta, mialgia, cefaleia, diarreia, vômitos e coriza também foram mais comuns em pessoas com mais de 20 anos em ambos os períodos analisados. A maior quantidade de pacientes com saturação <95% foi encontrada em indivíduos com idade superior a 61 anos nos primeiros 557 casos, mas ao final de 2020 46,1% dos indivíduos na faixa etária de 51 a 60 anos também apresentaram este sintoma (figura 19B). O tempo médio do início dos sintomas até a data da notificação foi de 4,85 dias para os primeiros 557 casos e 6,89 para todos os casos ao final de 2020, enquanto entre os pacientes que evoluíram a óbito esse número foi de 4,52 dias para os 57 casos fatais iniciais e 7,15 para todos os casos de óbito ao final do estudo.

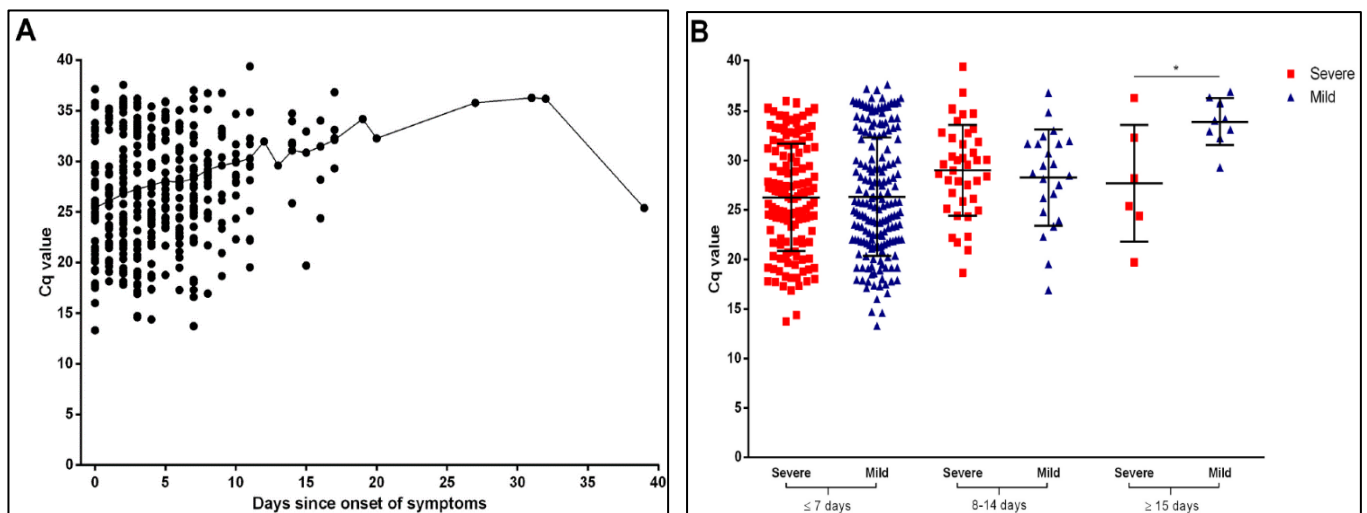


**Figura 19** –Distribuição dos sintomas de acordo com a faixa etária. Figura A representa os sintomas dos primeiros 557 casos e a figura B representa os 26803 casos ao final de 2020 até 05/12/2020. Produzida pelo autor.

## 8.6 PADRÕES DE EXCREÇÃO VIRAL

Em seguida, procuramos investigar o padrão de excreção do vírus em pacientes no momento do diagnóstico. Informações sobre o ciclo de quantificação (Cq) estavam disponíveis para 388 pacientes. O valor Cq foi utilizado para estimar a carga viral das amostras nasofaríngeas do paciente, em que valores menores de Cq indicam maior quantidade de vírus. A mediana do Cq dos pacientes foi de 26,3 (DP = 5,7) e variou de 13,3 a 39,3. Para avaliar os padrões de excreção de SARS-CoV-2 nesta coorte, os dados foram posteriormente

estratificados de acordo com o dia do início dos sintomas no momento da amostragem. O tempo médio desde o início da doença até a coleta da amostra foi de 4,0 dias (DP = 4,7), com um intervalo de 0 a 39 dias (Figura 20A). Em seguida, comparamos a carga viral dos casos graves (pacientes que foram internados na UTI e os que faleceram) com os casos leves em dias diferentes desde o início dos sintomas (Figura 20B). Não houve diferença estatisticamente significativa na carga viral no momento do diagnóstico de pacientes com COVID-19 leve ou grave até 14 dias do início dos sintomas. No entanto, pacientes com doença grave diagnosticada após 14 dias do início dos sintomas apresentaram carga viral maior do que pacientes com doença leve ( $p = 0,0218$ ).



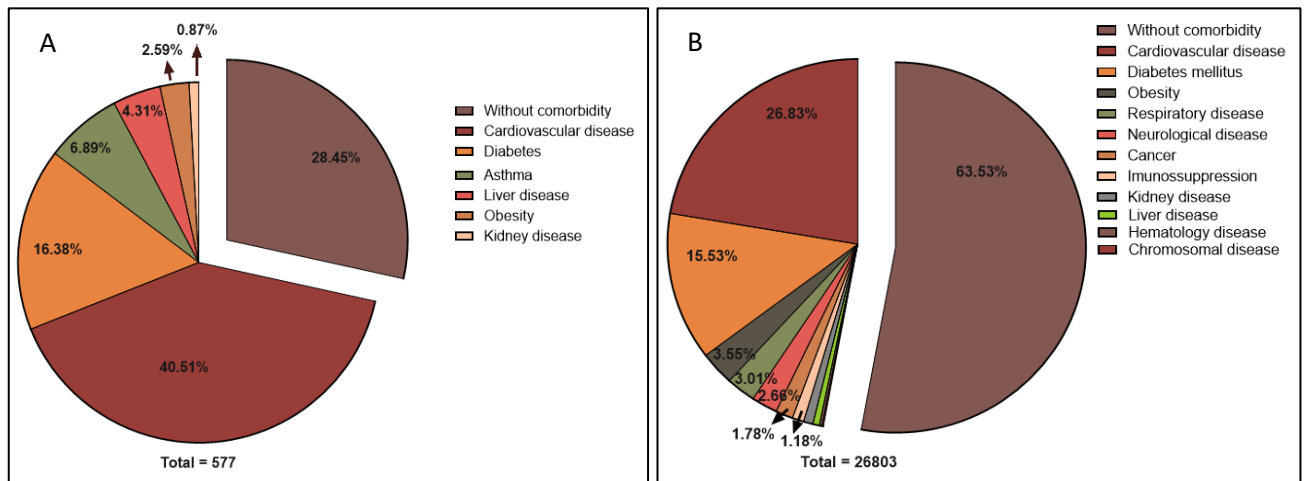
**Figura 20** – Padrões de excreção do vírus no momento da coleta/diagnóstico. A) Carga viral em swabs nasofaríngeos de acordo com a data de início dos sintomas. B) Carga viral em pacientes graves e leves de acordo com a data de início dos sintomas. \*  $p < 0,05$ .

Fonte: Produzida pelo autor.

## 8.7 COMORBIDADES ASSOCIADAS

Inicialmente descrevemos as comorbidades dos primeiros 557 casos. Um total de 72,27% dos pacientes relatou comorbidades. A comorbidade mais comum foi hipertensão arterial mostrada na figura incluída nas doenças cardiovascular (40,51%), seguida de diabetes mellitus (16,38%), asma (6,89%), doenças pulmonares (4,31%), obesidade (2,59%) e doenças renais (0,87%) (Figura 21A). Em relação aos 26803 indivíduos notificados ao final de 2020, 36,47% relatou algum tipo de comorbidade. A figura 21B demonstra as comorbidades mais comuns, onde a doença cardiovascular (26,83%) também foi a mais relatada entre os 26803 indivíduos,

seguida do diabetes mellitus (15,53%) e obesidade apareceu mais destacadamente ao final do ano de 2020 (3,55%) em comparação com os primeiros casos. Outras comorbidades, tais como doenças neurológicas, câncer, imunossupressão, doenças hematológicas, respiratórias, renais e cromossomais também foram relatadas.



**Figura 21** – Comorbidades em pacientes COVID-19 positivos. Em A estão listadas as comorbidades encontradas nos indivíduos incluídos na coorte do início dos casos em Pernambuco (577) e em B estão listadas as comorbidades ao final de 2020 na coorte com 26.803 indivíduos. Produzida pelo autor.

## 8.8 ANÁLISE DE SOBREVIDA DE CASOS FATAIS

Analizamos o tempo de sobrevida de casos fatais buscando associação com os dados disponíveis em uma coorte com 8736 indivíduos residentes em todo estado de Pernambuco. A faixa etária de indivíduos com mais de 75 anos foi a mais prevalente entre os óbitos, seguida das faixas etárias de 40 a 64 anos e menores de 40 anos (tabela 1).

Tabela 1. Perfil da população em estudo – óbitos por COVID-19

Características	Estatísticas
<b>Número de óbitos</b>	8.736
<b>Sexo: Feminino</b>	3926 (44,94%)
Masculino	4810 (55,06%)
<b>Idade (mediana (P<sub>25</sub> - P<sub>75</sub>))</b>	71 (60 – 80)
<b>Faixa etária</b>	
Menores de 40 anos	448 (5,1%)

40 a 64 anos	2.533 (29,0%)
65 a 75 anos	2.466 (28,2%)
Mais de 75 anos	3.289 (37,7%)
<b>Cor da pele:</b>	
Branco	1.765 (25,7%)
Pardos	4.613 (52,8%)
Pretos	378 (4,3%)
Outros	118 (1,2%)
Sem informação	1.862
<b>Município de Residência</b>	
Recife	2.537 (29,0%)
Região metropolitana	2.987 (34,2%)
Outras regiões	3.212 (36,8%)

Em relação a cor da pele, as notificações relataram que houve predominância da cor parda (52,8%) entre os óbitos, seguida da cor branca (25,7%), cor preta (4,3%) e outros tipos de cor de pele (1,2%). 16% dos indivíduos não tinham informação da cor da pele. A principal comorbidade relatada entre os óbitos, assim como nos casos torais, foram as doenças cardiovasculares (48,9%), seguida de diabetes (29,3%) e doença respiratória (8,1%). Na tabela 2 podemos observar outras comorbidades presentes nos indivíduos dessa coorte de óbitos.

Tabela 2. Comorbidades em óbitos por COVID-19

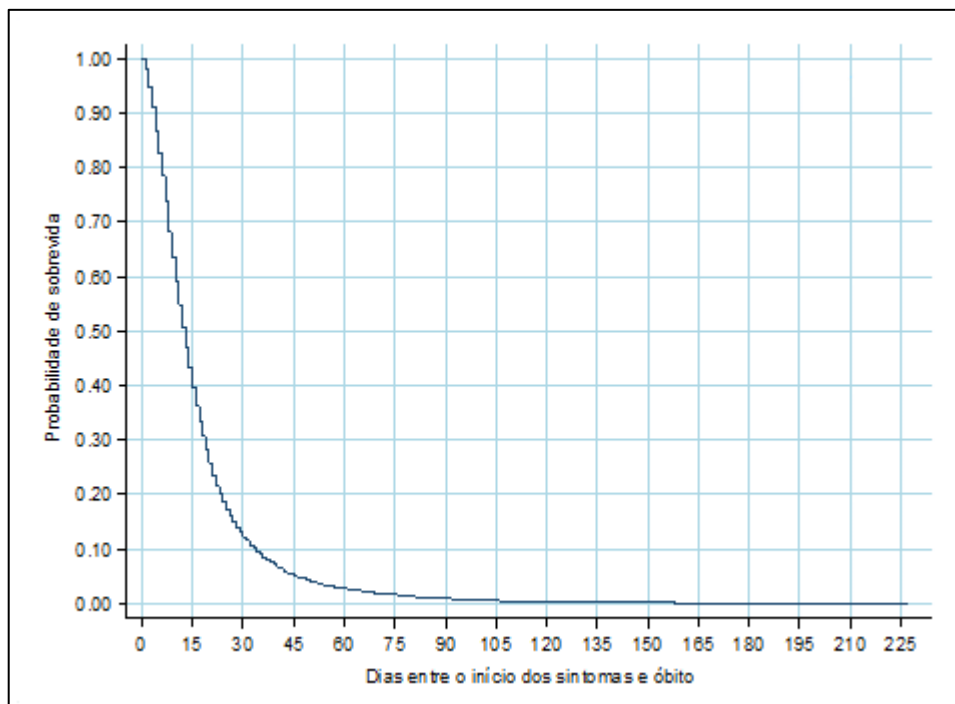
<b>Comorbidades</b>	<b>Número (%)</b>
Diabetes	2.559 (29,3%)
Doença hepática	116 (1,3%)
Doença cardiovascular	4.273 (48,9%)
Doença renal	535 (6,1%)
Doença respiratória	704 (8,1%)
Imunossupressão	158 (1,8%)
Doença cromossômica	16 (0,2%)
Obesidade	507 (5,8%)
Doença neurológica	536 (6,1%)
Câncer	357 (4,1%)

Verificamos o tempo que um indivíduo evoluía para o óbito tomando como referencia a data do início dos sintomas até o desfecho (tabela 3). Observamos que a mediana do tempo

de acompanhamento (início dos sintomas até o desfecho) foi de 13 dias, variando de 1 dia até 227 dias. Ainda verificamos que a probabilidade de morte até o 5º dia após o início dos sintomas foi de 13,3%, mas quando os indivíduos tinham mais de 20 dias após o início dos sintomas essa probabilidade era elevada (71,7%). Ver tabela 3 e figura 22.

Tabela 3. Descrição da sobrevida

Descrição	Estatísticas
<b>Tempo de acompanhamento (em dias)</b>	
Mediana (Mínimo - Máximo)	13 (1 - 227)
<b>Probabilidade de morte</b>	
Até o 5º dia após o início dos sintomas	13,3%
Até o 10º dia após o início dos sintomas	36,4%
Até o 15º dia após o início dos sintomas	56,8%
Até o 20º dia após o início dos sintomas	71,7%



**Figura 22** – Probabilidade de morte a partir do início dos primeiros sintomas (Método de *Kaplan-Meyer*). Produzida pelo autor.

Em seguida associamos o tempo até o óbito com as variáveis listadas na tabela 4. Verificamos que o sexo feminino tendeu a evoluir mais rapidamente para o óbito do que o sexo masculino ( $p=0,012$ ). A faixa etária de 75 anos ( $p=>0,001$ ), quando comparada com a referência

(menores de 64 anos), evoluiu mais rapidamente para o desfecho, assim como as pessoas que relataram possuir a cor de pele preta ( $p=0,001$ ) ou parda ( $p=0,014$ ) também evoluem para o óbito mais rapidamente em comparação com a referência (pele branca). Não houve significância estatística quando avaliado o município de residência dos indivíduos em comparação com a referência (tabela 4).

Tabela 4. Associação com o tempo até o óbito – Análise de sobrevida

<b>Características</b>	<b>Hazard ratio (IC 95%)</b>	<b>p-valor</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	Referência	-
Feminino	1,06 (1,01 – 1,10)	0,012
<b>Faixa etária</b>		
Menores de 64 anos	Referência	-
65 a 75 anos	1,05 (1,0 – 1,11)	0,054
Mais de 75 anos	1,13 (1,08 – 1,19)	<0,001
<b>Cor da pele:</b>		
Branco	Referência	-
Pardos	1,07 (1,01 – 1,13)	0,014
Pretos	1,20 (1,07 – 1,34)	0,001
Outros	0,93 (0,77 – 1,12)	0,432
<b>Município de Residência</b>		
Região metropolitana	Referência	-
Recife	0,98 (0,93 – 1,03)	0,382
Outras regiões	0,98 (0,93 – 1,03)	0,471

\* HR>1 significa morte precoce / HR<1 – Morte tardia

## 9. DISCUSSÃO

O Brasil continua sendo o terceiro país mais afetado, depois dos EUA e da Índia. Após sua detecção inicial em 26 de fevereiro de 2020, o SARS-CoV-2 se espalhou por todos os seus 26 estados e pelo distrito federal. Aqui, descrevemos pela primeira vez as características epidemiológicas e clínicas dos primeiros 557 pacientes consecutivos com diagnóstico de SARS-CoV-2 no estado de Pernambuco (artigo publicado) entre 12 de março e 22 de abril de 2020 e ainda comparamos esses dados com um número expressivo de casos confirmados ao final de 2020. Os primeiros pacientes com diagnóstico de SARS-CoV-2 em Pernambuco eram



um casal de idosos (homem de 71 anos e mulher de 66 anos) que retornava de Roma, Itália, no dia 29 de fevereiro e cujo diagnóstico foi confirmado no dia 12 de março. O casal morava em Boa Viagem, bairro de alta renda localizado na zona sul da cidade (Figura 11). Esse casal havia retornado de uma viagem à Itália e procurado atendimento médico em 5 de março de 2020, quando a Itália já apresentava 3.858 casos confirmados de COVID-19 segundo a OMS. Em 17 de março, Pernambuco notificou a transmissão local do SARS-CoV-2 pela primeira vez e, desde então, o número de novos casos aumentou constantemente, primeiro na área metropolitana e, em seguida, se espalhando para as cidades do interior. A capital do estado, Recife, apresentou o maior número de casos de COVID-19 no período do estudo tanto no início da pandemia quanto ao final do período analisado (05/12/2020). Conforme mostrado na Figura 11B, os primeiros casos de SARS-CoV-2 concentraram-se em bairros com maior renda domiciliar média mensal, como os bairros Rosarinho, Espinheiro e Boa Viagem, que tinham rendimentos médios acima de 10 salários mínimos. Nossos dados estão de acordo com estudo realizado no Rio de Janeiro, Brasil, no qual as maiores taxas de COVID-19 foram observadas nas regiões mais ricas (RAFAEL; NETO; DEPRET; GIL *et al.*, 2020.)

Apesar das evidências epidemiológicas e da primeira detecção do SARS-CoV-2 no bairro de Boa Viagem com posterior disseminação principalmente para bairros de alta renda, não é possível afirmar com certeza que as infecções do SARS-CoV-2 em Pernambuco se iniciaram nesses locais. Para tanto, análises filogeográficas robustas baseadas nas sequências genômicas do SARS-CoV-2 desses pacientes seriam necessárias para compreender definitivamente sua dinâmica de transmissão e associá-la a dados clínicos e epidemiológicos. No entanto, indivíduos com alta renda familiar são mais propensos a fazer viagens internacionais de custo elevado e, portanto, estão expostos ao risco de adquirir uma infecção no exterior. De fato, o caso índice COVID-19 no Brasil foi diagnosticado em São Paulo em paciente retornando de uma viagem da Itália. Análises filogenéticas dos primeiros pacientes em São Paulo, juntamente com informações do histórico de viagens, confirmaram várias importações independentes da Itália e disseminação local durante o estágio inicial de transmissão da SARS-CoV-2 no país (JESUS; SACCHI; CANDIDO; CLARO *et al.*, 2020). A análise dos nossos resultados iniciais destaca a importância de fortalecer os programas de doenças emergentes e evitar que pessoas que viajaram para diferentes locais do mundo retornem a seus países sem passar por quarentena e testes ao retornar ao seu país de origem.

Como senso comum, imaginávamos que ao final de 2020 as maiores incidências estariam ocorrendo em bairros com renda domiciliar média mensal menor (classe C, D e E) devido ao fato dos mesmos serem bastante populosos em comparação a bairros de classe média alta (classe

A e B) e terem menos acesso à informação, a compra de máscaras e outros produtos que ajudam a combater coletiva e individualmente o vírus, como o álcool em gel. Contudo, ao realizarmos a análise espacial e verificação das maiores incidências nos bairros de Recife, verificamos que ainda existe uma predominância de infecções em bairros de classe A e B, pois 53,3% das maiores incidências ocorreram em bairros dessas classes (figura 12A). Isso pode refletir uma baixa adesão às medidas de controle coletivo e individual recomendadas pelo governo estadual e órgãos internacionais como a OMS e Centro de Controle de Doenças do Estados Unidos. De fato, diversos protestos contra o uso de máscaras, uso de medicamentos ineficazes contra COVID-19, o negacionismo crescente e movimentos anti-vacina com a participação de muitos indivíduos da alta sociedade foram relatados pela imprensa local em vários veículos de comunicação. Esses fatores associados à capacidade de transmissão viral, podem ter sido decisivos para que os bairros de classe média-alta, ao final de 2020, ainda fossem responsáveis por altas incidências, apesar de serem menos populosos (em comparação a maioria dos bairros de classe C, D e E), terem acesso facilitado à informação e a medidas de higiene como álcool em gel entre outros.

Na figura 14 nós detalhamos a análise espacial dos casos de óbito ocorridos na cidade do Recife pelo fato da mesma apresentar o maior número de casos letais e permitir uma análise mais aprofundada sobre as possíveis associações de notificações de óbito com a região em que as mesmas ocorreram. Para isso, usamos a classificação da divisão da cidade do Recife em Regiões Político Administrativas para melhor compreender os aglomerados de casos e demonstrar as incidências. Apesar de termos verificado que os bairros de classe A e B ainda continuavam responsáveis pelas maiores incidências de casos totais, esse fato não se repetiu quando analisamos a incidência de óbitos. A maior incidência de óbitos ocorreu no bairro de Santo Antônio ( $175,4/10^4$  habitantes) situado na RPA1 (figura 14A). Além disso, é possível verificar que ocorreram aglomerados de casos (áreas mais avermelhadas na figura 14A) em outros bairros desta RPA, podendo significar transmissão sustentada em indivíduos que residem em regiões com população mais vulnerável ao vírus, devido a idade elevada dos indivíduos e presença de comorbidades por exemplo. Na RPA2 (figura 14B) o bairro com maior incidência foi o Porto da Madeira ( $51,86/10^4$  habitantes, classe C) e os aglomerados de óbitos ocorreram principalmente em Água Fria ( $20,8/10^4$  habitantes, classe D), Beberibe ( $24,8/10^4$  habitantes, classe D), Arruda ( $21,3/10^4$  habitantes, classe C), Bomba do Hemetério ( $18,8/10^4$  habitantes, classe D) e Alto Santa Terezinha ( $16,8/10^4$  habitantes, classe D). A figura 14C mostra a RPA3, onde o bairro Brejo do Beberibe apresentou a maior incidência desta RPA ( $24,1/10^4$  habitantes, classe D) e foi a única RPA que apresentou um bairro (Pau Ferro) que não notificou nenhum

óbito por COVID-19 até 05/12/2020. Nas RPAs 4, 5 e 6, os bairros com maior incidência foram Cidade Universitária ( $24,4/10^4$  habitantes, classe C), Tejipió ( $39,2/10^4$  habitantes, classe C) e Cohab ( $19,0/10^4$  habitantes, classe D) respectivamente. Esses últimos bairros também apresentaram muitos aglomerados de óbitos, demonstrando áreas específicas que merecem maior atenção do governo. Nossos achados podem ajudar a evitar o aumento desses eventos que podem vir a ocorrer novamente por desaparecimento de imunidade protetora, devido ao tempo da última exposição, e o surgimento de novas variantes. Medidas de prevenção, combate, auxílios sociais entre outros, podem ajudar a controlar as infecções e as mortes na população que reside nessas regiões. Sugerimos uma análise mais aprofundada do perfil dos indivíduos que residem nessas regiões para que as medidas possam ser melhor direcionadas para população alvo. Assim, a análise espacial realizada neste estudo evidenciou diversas regiões que podem ser beneficiadas com o direcionamento de intervenções específicas para as regiões mais afetadas.

As principais medidas de contenção recomendadas pelo CDC incluem o uso de máscara, manter distância física entre as pessoas, evitar espaços internos não essenciais e com aglomeração mesmo que sejam ao ar livre e uso de equipamentos de proteção individual. Para conter a disseminação da doença, a aplicação de medidas como o isolamento social foram imediatamente recomendadas pelas autoridades governamentais a todos os residentes de Pernambuco. Após a confirmação dos dois primeiros casos notificados de COVID-19, o estado publicou seu primeiro decreto-lei, com medidas de distanciamento social em diversos aspectos. A pandemia atingiu seu pico na 19<sup>a</sup> semana epidemiológica. Naquela mesma semana, um bloqueio geral de rodízio de carros foi implementado no estado, e então uma diminuição de novos casos observado nas semanas subsequentes, sugerindo que as intervenções aprovadas pelo governo podem ter contribuído para diminuição do número de mortes durante o período estudado (figura 16).

A mediana de idade dos pacientes incluídos nos primeiros 557 casos foi de 47 anos (IQR 32 a 68), variando de 27 dias a 97 anos. No entanto, a mediana de idade dos pacientes falecidos foi de 65 anos. Para os 26803 casos ao final de 2020, a mediana de idade foi 57 anos (IQR 41-72) para os casos totais e para os óbitos foi de 71 anos. No estudo inicial, apenas 14 casos (2,51% do total) foram notificados em pacientes com idade inferior a 20 anos em comparação aos 5728 (21,37%). Enquanto que nos primeiros casos uma maior proporção ocorreu (44,70% do total) em pacientes com idades entre 31 e 50 anos, essa mesma faixa foi responsável por 29,20% do total de casos ao fim de 2020. Os casos letais na coorte inicial concentraram-se em pacientes com mais de 51 anos, que responderam por 86,44% do total de óbitos, fato que se

repetiu na coorte maior onde na faixa acima dos 51 anos foram notificados pelo menos 1000 óbitos em cada faixa etária subsequente, com destaque a faixa dos 71 a 80 anos que notificou 2307 óbitos. Alguns dos nossos achados também foram vistos em um estudo realizado por Guan et al. onde a mediana de idade dos pacientes infectados com SARS-CoV-2 era 47 anos (IQR: 35 a 58) e apenas 0,9% dos pacientes tinham menos de 15 anos (GUAN; NI; HU; LIANG *et al.*, 2020). Em outro estudo realizado na China, os pacientes mais afetados estavam na faixa de 50 a 59 anos, enquanto os casos fatais se concentravam na faixa de 70 a 79 anos (VERITY; OKELL; DORIGATTI; WINSKILL *et al.*, 2020).

Neste estudo, uma proporção maior de mulheres procurou atendimento médico ao suspeitar de doença respiratória (58,30% mulheres e 41,70% homens) e a positividade do SARS-CoV-2 foi maior no sexo feminino (54,58%) do que no masculino (45,42%) na análise da coorte inicial. Os dados estão de acordo com 102.646 casos de COVID-19 relatados no Canadá, nos quais 56% ocorreram em mulheres (CANADA, 2020). Essa discrepância de sexo na coorte inicial pode ser devido ao estilo de vida em que as mulheres são mais propensas a procurar atendimento médico aos primeiros sinais de doença do que os homens. Já na coorte ao fim de 2020 tivemos uma mudança discreta na proporção de homens (50,76%) para mulheres (49,24%) notificadas com COVID-19, mas também não houve significância estatística. A letalidade do COVID-19 na coorte inicial apresentou tendência maior no sexo masculino do que no feminino (55,93% versus 44,06%) permanecendo assim na coorte com 26803 casos 55,06% para o sexo masculino e 44,94% para o feminino, também sem significância estatística. Em geral, a proporção de homens para mulheres da prevalência de COVID-19 é a mesma, mas homens com COVID-19 tendem a ter maior risco de desenvolver as formas graves da doença e morrer por ela (GEBHARD; REGITZ-ZAGROSEK; NEUHAUSER; MORGAN *et al.*, 2020; JIN; BAI; HE; WU *et al.*, 2020).

Descobrimos que tanto na coorte inicial quanto ao final de 2020 a tosse, febre e dispneia foram os sintomas mais comuns. Os principais sintomas apresentados em nosso estudo também foram relatados por outros (CHEN; ZHOU; DONG; QU *et al.*, 2020; WANG; HU; HU; ZHU *et al.*, 2020; ZHANG; DONG; CAO; YUAN *et al.*, 2020; ZHOU; YU; DU; FAN *et al.*, 2020). Wan et al, 2020 demonstraram que febre (88,9%) e tosse (76,5%) também foram os sintomas mais comuns, porém, dispneia esteve presente em apenas 13,3% dos pacientes (WAN; XIANG; FANG; ZHENG *et al.*, 2020). As manifestações gastrointestinais foram menos prevalentes. A frequência mais baixa de sintomas gastrointestinais também é mostrada em outros estudos (GUAN; NI; HU; LIANG *et al.*, 2020; WANG; HU; HU; ZHU *et al.*, 2020).

O padrão de inferência de carga viral em pacientes no momento do diagnóstico foi investigado neste estudo apenas para a coorte inicial, devido a disponibilidade dos dados. Nossos dados demonstraram que o tempo médio desde o início dos sintomas até a liberação do RNA viral foi de 4 dias, variando de 0 a 39 dias. Esses dados estão de acordo com um estudo em Wuhan, no qual a maior duração da eliminação viral em sobreviventes foi de 37 dias (ZHOU; YU; DU; FAN *et al.*, 2020). A comparação da carga de SARS-CoV-2 de casos graves com casos leves em dias diferentes desde o início dos sintomas não encontrou uma diferença estatisticamente significativa até 14 dias do início dos sintomas, mas os pacientes diagnosticados após 14 dias tinham carga viral maior do que pacientes com doença leve ( $p = 0,0218$ ). Recentemente, Liu e colaboradores estudaram a dinâmica viral em casos leves e graves de COVID-19 e descobriram que pacientes com doença grave tinham carga viral cerca de 60 vezes maior do que a de casos leves (LIU; YAN; WAN; XIANG *et al.*, 2020), independentemente do dia de início dos sintomas.

Na coorte inicial, 10,59% dos pacientes morreram de COVID-19, enquanto que na coorte ao final de 2020 com 26803 casos a mortalidade foi de 32,79% dos indivíduos infectados por SARS-CoV-2. As altas taxas de letalidade podem estar superestimadas devido à escassez de testes no Brasil em comparação com os países desenvolvidos. Por exemplo, o Brasil realizou apenas 68143 exames por milhão de habitantes em boa parte dos meses de 2020, enquanto nos países desenvolvidos essa taxa foi superior a 100 mil por milhão de habitantes. Em 05 de dezembro de 2020 (período final da inclusão de casos em nosso coorte) a taxa de letalidade do COVID-19 mundialmente era 2,41%, com 67.793.134 casos e 1.634.906 mortes confirmados em todo o mundo (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). Uma proporção significativa de casos (72,27%) na coorte inicial relatou comorbidades, já a coorte ao final de 2020 algum tipo de comorbidade foi relatada em 26,47% dos casos, onde em ambas as coortes as doenças cardiovasculares foram a condição mais comum encontrada nos indivíduos com COVID-19, seguida por diabetes mellitus. Nossos achados estão de acordo com um estudo que investigou os primeiros 1000 pacientes consecutivos em Nova York (ARGENZIANO; BRUCE; SLATER; TIAO *et al.*, 2020) e também em outras regiões do mundo (GOLD; SEHAYEK; GABRIELLI; ZHANG *et al.*, 2020).

Com o objetivo de avaliarmos a sobrevida de indivíduos que evoluíram para o óbito em uma coorte de 8736 pacientes residentes no estado de Pernambuco, nós usamos o método de *Kaplan Meyer* para calcular a probabilidade do desfecho de acordo com o tempo de vida e associamos as variáveis sexo, idade, cor da pele e município de residência. Verificamos que a mediana do tempo entre o início dos sintomas até o desfecho foi de 13 dias, significando morte

nas duas primeiras semanas da doença. Além da faixa etária de pacientes com mais de 75 anos ser a que apresentou o maior número de óbitos, também foi a faixa etária onde os indivíduos evoluíram mais rapidamente para o óbito, quando comparado a faixa etária < 64 anos (grupo referência). Em seguida mostramos que ter pele de cor preta ou parda diminui a sobrevivência desses indivíduos em comparação com os de pele branca e que o município de residência desses indivíduos não influenciou o tempo até o desfecho. Além disso, mostramos que na nossa coorte as mulheres tenderam a evoluir ao óbito mais rapidamente. Nossos dados se assemelham a um estudo realizado no estado do Rio Grande do Norte (GALVÃO; RONCALLI, 2021) que observou que pessoas de pele não branca tem risco aumentado de óbito em comparação a pessoas de pele branca. O estudo de GALVÃO *et al* demonstrou que o município de residência dos indivíduos influenciou na sobrevivência, mas essa variável não foi relevante em nossa coorte. Um outro estudo mostrou que fatores sociodemográficos contextuais relacionados a cor da pele e renda contribuiu nas taxas de mortalidade em idosos (BARBOSA; GALVÃO; SOUZA; GOMES *et al.*, 2020). Segundo Gebhard e Jin (2020), em geral, a proporção de homens para mulheres em relação a prevalência de COVID-19 é a mesma, mas homens com COVID-19 tendem a ter maior risco de desenvolver as formas graves da doença e morrer por ela. No entanto, no nosso estudo avaliamos uma abordagem diferente onde mostramos o tempo até o desfecho (óbito) e verificamos que os indivíduos do sexo feminino tiveram uma sobrevivência menor em comparação aos indivíduos do sexo masculino. Vale ressaltar que diferentemente de Gebhard e Jin, em nossa análise incluímos apenas indivíduos que faleceram fazendo uma análise do tempo entre o início dos sintomas até o óbito. Com isso, sugerimos que mais estudos sejam realizados a fim de verificar populações vulneráveis, as quais têm risco aumentado de óbito, como os evidenciados nesta coorte. Isso pode contribuir para um melhor direcionamento das condutas de acompanhamento desses indivíduos, diminuir o número de óbitos e conduzir casos graves para desfechos de cura ou sobrevivência prolongada.

## 10. CONCLUSÃO

O SARS-CoV-2 continua a se espalhar no Brasil, causando desafios sem precedentes ao sistema de saúde do país. Aqui, descrevemos as manifestações epidemiológicas e clínicas dos primeiros 557 pacientes consecutivos com COVID-19 no estado de Pernambuco e de um número expressivo de casos ao final do ano de 2020. Nosso estudo verificou que o perfil clínico dos indivíduos infectados por SARS-CoV-2 não sofreu importantes mudanças no que se refere aos principais sintomas e comorbidades apresentados, mas apesar dos bairros com classes mais

altas terem sido ainda responsáveis pelas maiores incidências de casos totais, verificamos, através do perfil espacial dos óbitos, que ocorreram em bairros de classes mais baixas. Diante disso, este estudo forneceu informações importantes sobre a demografia, clínica e epidemiologia do COVID-19 no mundo tropical e ajudará médicos, funcionários da saúde e gestores a enfrentar a pandemias atual e a estar mais bem preparados para combater futuras incursões de patógenos respiratórios altamente transmissíveis na população humana.

## 11. REFERÊNCIAS

- ABDOOL KARIM, S. S.; DE OLIVEIRA, T.; LOOTS, G. Appropriate names for COVID-19 variants. *Science*, 371, n. 6535, p. 1215, 03 2021.
- ABRAHÃO, J. S.; SACCHETTO, L.; REZENDE, I. M.; RODRIGUES, R. A. L. et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA on public surfaces in a densely populated urban area of Brazil: A potential tool for monitoring the circulation of infected patients. *Sci Total Environ*, 766, p. 142645, Apr 2021.
- ABU-RADDAD, L. J.; CHEMAITELLY, H.; BUTT, A. A.; VACCINATION, N. S. G. F. C.-. Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. *N Engl J Med*, 385, n. 2, p. 187-189, 07 2021.
- ACHARYA, D.; LIU, G.; GACK, M. U. Dysregulation of type I interferon responses in COVID-19. *Nat Rev Immunol*, 20, n. 7, p. 397-398, 07 2020.
- AHMED, S. F.; QUADEER, A. A.; MCKAY, M. R. Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*, 12, n. 3, 02 2020.
- AHN, D. G.; CHOI, J. K.; TAYLOR, D. R.; OH, J. W. Biochemical characterization of a recombinant SARS coronavirus nsp12 RNA-dependent RNA polymerase capable of copying viral RNA templates. *Arch Virol*, 157, n. 11, p. 2095-2104, Nov 2012.
- ALCOBA-FLOREZ, J.; GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; ÍÑIGO-CAMPOS, A.; DE ARTOLA, D. G. et al. Fast SARS-CoV-2 detection by RT-qPCR in preheated nasopharyngeal swab samples. *Int J Infect Dis*, 97, p. 66-68, Aug 2020.
- ALEKSEENKO, A.; BARRETT, D.; PAREJA-SANCHEZ, Y.; HOWARD, R. J. et al. Direct detection of SARS-CoV-2 using non-commercial RT-LAMP reagents on heat-inactivated samples. *Sci Rep*, 11, n. 1, p. 1820, 01 19 2021.
- ALMEIDA, J. Virology: Coronaviruses. *Nature*, Disponível em: <https://www.nature.com/articles/220650b0>.
- AMALFITANO, E.; KARLIKOW, M.; NOROUZI, M.; JAENES, K. et al. A glucose meter interface for point-of-care gene circuit-based diagnostics. *Nat Commun*, 12, n. 1, p. 724, 02 2021.
- AMARAL, C.; ANTUNES, W.; MOE, E.; DUARTE, A. G. et al. A molecular test based on RT-LAMP for rapid, sensitive and inexpensive colorimetric detection of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Sci Rep*, 11, n. 1, p. 16430, 08 12 2021.
- AMIN, M. COVID-19 and the liver: overview. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 33, n. 3, p. 309-311, 03 01 2021.
- ANDERSEN, K. G.; RAMBAUT, A.; LIPKIN, W. I.; HOLMES, E. C. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*, 26, n. 4, p. 450-452, 04 2020.



ANDERSEN, K.; RAMBAUT, A.; LIPKIN, I.; HOLMES, E. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>.

ANDERSON, D. E.; TAN, C. W.; CHIA, W. N.; YOUNG, B. E. et al. Lack of cross-neutralization by SARS patient sera towards SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect*, 9, n. 1, p. 900-902, Dec 2020.

ANGELINI, M. M.; AKHLAGHPOUR, M.; NEUMAN, B. W.; BUCHMEIER, M. J. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles. *mBio*, 4, n. 4, Aug 13 2013.

ARACHCHILLAGE, D. R. J.; LAFFAN, M. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*, 18, n. 5, p. 1233-1234, 05 2020.

ARGENZIANO, M. G.; BRUCE, S. L.; SLATER, C. L.; TIAO, J. R. et al. Characterization and clinical course of 1000 patients with coronavirus disease 2019 in New York: retrospective case series. *Bmj*, 369, 2020.

AZZI, L.; CARCANO, G.; GIANFAGNA, F.; GROSSI, P. et al. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. *J Infect*, 81, n. 1, p. e45-e50, 07 2020.

BAEK, Y. H.; UM, J.; ANTIGUA, K. J. C.; PARK, J. H. et al. Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect*, p. 1-31, Apr 2020.

BAI, Y.; YAO, L.; WEI, T.; TIAN, F. et al. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *JAMA*, 323, n. 14, p. 1406-1407, Apr 14 2020.

BAIG, A. M. Neurological manifestations in COVID-19 caused by SARS-CoV-2. *CNS Neurosci Ther*, 26, n. 5, p. 499-501, 05 2020.

BAL, A.; DESTRAS, G.; GAYMARD, A.; STEFIC, K. et al. Two-step strategy for the identification of SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 and other variants with spike deletion H69-V70, France, August to December 2020. *Euro Surveill*, 26, n. 3, 01 2021.

BARBOSA, I. R.; GALVÃO, M. H. R.; SOUZA, T. A. D.; GOMES, S. M. et al. Incidence of and mortality from COVID-19 in the older Brazilian population and its relationship with contextual indicators: an ecological study. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 23, 2020.

BARNES, B. J.; ADROVER, J. M.; BAXTER-STOLTZFUS, A.; BORCZUK, A. et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*, 217, n. 6, 06 2020.

BARRERO-CASTILLERO, A.; BEAM, K. S.; BERNARDINI, L. B.; RAMOS, E. G. C. et al. COVID-19: neonatal-perinatal perspectives. *J Perinatol*, 41, n. 5, p. 940-951, 05 2021.

BEACHBOARD, D. C.; ANDERSON-DANIELS, J. M.; DENISON, M. R. Mutations across murine hepatitis virus nsp4 alter virus fitness and membrane modifications. *J Virol*, 89, n. 4, p. 2080-2089, Feb 2015.

BELLOS, I.; PANDITA, A.; PANZA, R. Maternal and perinatal outcomes in pregnant women infected by SARS-CoV-2: A meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 256, p. 194-204, Jan 2021.

BENVENUTO, D.; ANGELETTI, S.; GIOVANETTI, M.; BIANCHI, M. et al. Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of Non-Structural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy. *J Infect*, 81, n. 1, p. e24-e27, 07 2020.

BEZERRA, M. F.; MACHADO, L. C.; DE CARVALHO, V. D. C. V.; DOCENA, C. et al. A Sanger-based approach for scaling up screening of SARS-CoV-2 variants of interest and concern. *Infect Genet Evol*, 92, p. 104910, 08 2021.

BHARDWAJ, K.; SUN, J.; HOLZENBURG, A.; GUARINO, L. A. et al. RNA recognition and cleavage by the SARS coronavirus endoribonuclease. *J Mol Biol*, 361, n. 2, p. 243-256, Aug 11 2006.

BHIMRAJ, A.; MORGAN, R. L.; SHUMAKER, A. H.; LAVERGNE, V. et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. *Clin Infect Dis*, Apr 27 2020.

BHOYAR, R. C.; JAIN, A.; SEHGAL, P.; DIVAKAR, M. K. et al. High throughput detection and genetic epidemiology of SARS-CoV-2 using COVIDSeq next-generation sequencing. *PLoS One*, 16, n. 2, p. e0247115, 2021.

BIKDELI, B.; MADHAVAN, M. V.; JIMENEZ, D.; CHUICH, T. et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*, 75, n. 23, p. 2950-2973, 06 16 2020.

BILLAH, M. A.; MIAH, M. M.; KHAN, M. N. Reproductive number of coronavirus: A systematic review and meta-analysis based on global level evidence. *PLoS One*, 15, n. 11, p. e0242128, 2020.

BLOOM, J. S.; SATHE, L.; MUNUGALA, C.; JONES, E. M. et al. Massively scaled-up testing for SARS-CoV-2 RNA via next-generation sequencing of pooled and barcoded nasal and saliva samples. *Nat Biomed Eng*, 5, n. 7, p. 657-665, 07 2021.

BORDI, L.; NICASTRI, E.; SCORZOLINI, L.; DI CARO, A. et al. Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020. *Euro Surveill*, 25, n. 8, 02 2020.

BORGES, L.; PITHON-CURI, T. C.; CURI, R.; HATANAKA, E. COVID-19 and Neutrophils: The Relationship between Hyperinflammation and Neutrophil Extracellular Traps. *Mediators Inflamm*, 2020, p. 8829674, 2020.

BOUAYAD, A. Innate immune evasion by SARS-CoV-2: Comparison with SARS-CoV. *Rev Med Virol*, 30, n. 6, p. 1-9, 11 2020.

BOUVET, M.; IMBERT, I.; SUBISSI, L.; GLUAIS, L. et al. RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, n. 24, p. 9372-9377, Jun 12 2012.

BOUVET, M.; LUGARI, A.; POSTHUMA, C. C.; ZEVENHOVEN, J. C. et al. Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes. *J Biol Chem*, 289, n. 37, p. 25783-25796, Sep 12 2014.

BRANDSMA, E.; VERHAGEN, H. J. M. P.; VAN DE LAAR, T. J. W.; CLAAS, E. C. J. et al. Rapid, sensitive and specific SARS coronavirus-2 detection: a multi-center comparison between standard qRT-PCR and CRISPR based DETECTR. *J Infect Dis*, Oct 10 2020.

BROUGHTON, J. P.; DENG, X.; YU, G.; FASCHING, C. L. et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol*, Apr 2020.

BRÜMMER, L. E.; KATZENSCHLAGER, S.; GAEDDERT, M.; ERDMANN, C. et al. Accuracy of novel antigen rapid diagnostics for SARS-CoV-2: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*, 18, n. 8, p. e1003735, 08 2021.

BULLARD, J.; DUST, K.; FUNK, D.; STRONG, J. E. et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis*, May 2020.

CALISTRI, P.; AMATO, L.; PUGLIA, I.; CITO, F. et al. Infection sustained by lineage B.1.1.7 of SARS-CoV-2 is characterised by longer persistence and higher viral RNA loads in nasopharyngeal swabs. *Int J Infect Dis*, 105, p. 753-755, 04 2021.

CALLAWAY, E. 'A bloody mess': Confusion reigns over naming of new COVID variants. *Nature*, 589, n. 7842, p. 339, 01 2021.

CAMPBELL, F.; ARCHER, B.; LAURENSEN-SCHAFFER, H.; JINNAI, Y. et al. Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2021. *Euro Surveill*, 26, n. 24, Jun 2021.

CANADA. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): epidemiology update 2020. 2020. Acesso em: 28 June 2020.

CAPOBIANCO, G.; SADERI, L.; ALIBERTI, S.; MONDONI, M. et al. COVID-19 in pregnant women: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 252, p. 543-558, Sep 2020.

CAPOTOSTO, L.; NGUYEN, B. L.; CIARDI, M. R.; MASTROIANNI, C. et al. Heart, COVID-19, and echocardiography. *Echocardiography*, 37, n. 9, p. 1454-1464, 09 2020.

CDC. How to protect yourself and others. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/prevention-H.pdf>.

CDC. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>.

CDC. Research use only 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time RT-PCR primers and probes. WHO, Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>.

CDC. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. CDC, Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>.

CEVIK, M.; KUPPALLI, K.; KINDRACHUK, J.; PEIRIS, M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*, 371, p. m3862, 10 2020.

CEVIK, M.; TATE, M.; LLOYD, O.; MARAOLO, A. E. et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe*, 2, n. 1, p. e13-e22, Jan 2021.

CHALLEN, R.; BROOKS-POLLOCK, E.; READ, J. M.; DYSON, L. et al. Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ*, 372, p. n579, 03 2021.

CHAN, J. F.; KOK, K. H.; ZHU, Z.; CHU, H. et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect*, 9, n. 1, p. 221-236, Dec 2020.

CHAN, L.; CHAUDHARY, K.; SAHA, A.; CHAUHAN, K. et al. AKI in Hospitalized Patients with COVID-19. *J Am Soc Nephrol*, 32, n. 1, p. 151-160, 01 2021.

CHANG, L. J.; CHEN, T. H. NSP16 2'-O-MTase in Coronavirus Pathogenesis: Possible Prevention and Treatments Strategies. *Viruses*, 13, n. 4, 03 24 2021.

CHANNAPPANAVAR, R.; FEHR, A. R.; ZHENG, J.; WOHLFORD-LENANE, C. et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J Clin Invest*, 129, n. 9, p. 3625-3639, 07 2019.

CHAN-YEUNG, M.; XU, R. H. SARS: epidemiology. *Respirology*, 8 Suppl, p. S9-14, Nov 2003.

CHEN, H.; GUO, J.; WANG, C.; LUO, F. et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet*, 395, n. 10226, p. 809-815, 03 2020.

CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X.; QU, J. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 395, n. 10223, p. 507-513, 02 2020.

CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X.; QU, J. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, 395, n. 10223, p. 507-513, 2020.

CHEN, R. E.; ZHANG, X.; CASE, J. B.; WINKLER, E. S. et al. Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat Med*, 27, n. 4, p. 717-726, 04 2021.

CHEN, T.; WU, D.; CHEN, H.; YAN, W. et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*, 368, p. m1091, 03 2020.

CHEN, Y.; CAI, H.; PAN, J.; XIANG, N. et al. Functional screen reveals SARS coronavirus nonstructural protein nsp14 as a novel cap N7 methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, n. 9, p. 3484-3489, Mar 03 2009.

CHEN, Y.; LIU, Q.; GUO, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*, 92, n. 4, p. 418-423, 04 2020.

CHEN, Y.; SU, C.; KE, M.; JIN, X. et al. Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. *PLoS Pathog*, 7, n. 10, p. e1002294, Oct 2011.

CHENG, V. C.; LAU, S. K.; WOO, P. C.; YUEN, K. Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev*, 20, n. 4, p. 660-694, Oct 2007.

CHENG, Y.; MA, N.; WITT, C.; RAPP, S. et al. Face masks effectively limit the probability of SARS-CoV-2 transmission. *Science*, May 20 2021.

CHERIAN, S.; POTDAR, V.; JADHAV, S.; YADAV, P. et al. SARS-CoV-2 Spike Mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the Second Wave of COVID-19 in Maharashtra, India. *Microorganisms*, 9, n. 7, Jul 20 2021.

CHEVRIER, S.; ZURBUCHEN, Y.; CERVIA, C.; ADAMO, S. et al. A distinct innate immune signature marks progression from mild to severe COVID-19. *Cell Rep Med*, 2, n. 1, p. 100166, Jan 19 2021.

CHIA, P. Virological and serological kinetics of SARS-CoV-2 Delta variant vaccine-breakthrough infections: a multi-center cohort study. *medRxiv*, Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.28.21261295v1>.

CHIA, P. Y.; COLEMAN, K. K.; TAN, Y. K.; ONG, S. W. X. et al. Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. *Nat Commun*, 11, n. 1, p. 2800, 05 2020.

CHIN, A. W. H.; CHU, J. T. S.; PERERA, M. R. A.; HUI, K. P. Y. et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe*, 1, n. 1, p. e10, May 2020.

CHINA, C. Specific primers and probes for detection 2019 novel coronavirus. 2020.

CHU, D. K. W.; PAN, Y.; CHENG, S. M. S.; HUI, K. P. Y. et al. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clin Chem*, 66, n. 4, p. 549-555, 04 01 2020.

CHU, D. K.; AKL, E. A.; DUDA, S.; SOLO, K. et al. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 395, n. 10242, p. 1973-1987, 06 2020.

CHU, H.; CHAN, J. F.; WANG, Y.; YUEN, T. T. et al. Comparative Replication and Immune Activation Profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in Human Lungs: An Ex Vivo Study With Implications for the Pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis*, 71, n. 6, p. 1400-1409, 09 12 2020.

CMMID Repository, Disponível em: <https://cmmid.github.io/topics/covid19/sa-novel-variant.html>.

COLANERI, M.; SEMINARI, E.; NOVATI, S.; ASPERGES, E. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA contamination of inanimate surfaces and virus viability in a health care emergency unit. *Clin Microbiol Infect*, 26, n. 8, p. 1094.e1091-1094.e1095, Aug 2020.

COLAVITA, F.; LAPA, D.; CARLETTI, F.; LALLE, E. et al. SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection. *Ann Intern Med*, Apr 2020.

COLLING, M. E.; KANTHI, Y. COVID-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms. *Vasc Med*, 25, n. 5, p. 471-478, 10 2020.

CONSIGLIO, C. R.; COTUGNO, N.; SARDH, F.; POU, C. et al. The Immunology of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children with COVID-19. *Cell*, 183, n. 4, p. 968-981.e967, 11 12 2020.

CORMAN, V. M.; LANDT, O.; KAISER, M.; MOLENKAMP, R. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*, 25, n. 3, 01 2020.

CORMAN, V. M.; RASCHE, A.; BARONTI, C.; ALDABBAGH, S. et al. Assay optimization for molecular detection of Zika virus. *Bull World Health Organ*, 94, n. 12, p. 880-892, Dec 2016.

CORMAN, V.; LANDT, O.; KAISER, M.; MOLENKAMP, R. et al. & Drosten, C.(2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25, n. 3, p. 2000045.

COSTA, K. V. T. D.; CARNAÚBA, A. T. L.; ROCHA, K. W.; ANDRADE, K. C. L. et al. Olfactory and taste disorders in COVID-19: a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol*, 86, n. 6, p. 781-792, 2020 Nov - Dec 2020.

COTTAM, E. M.; WHEL BAND, M. C.; WILEMAN, T. Coronavirus NSP6 restricts autophagosome expansion. *Autophagy*, 10, n. 8, p. 1426-1441, Aug 2014.

COUTARD, B.; VALLE, C.; DE LAMBALLERIE, X.; CANARD, B. et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res*, 176, p. 104742, 04 2020.

CUEVAS, A. M.; CLARK, J. M.; POTTER, J. J. Increased TLR/MyD88 signaling in patients with obesity: is there a link to COVID-19 disease severity? *Int J Obes (Lond)*, 45, n. 5, p. 1152-1154, 05 2021.

CUI, J.; LI, F.; SHI, Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*, 17, n. 3, p. 181-192, 03 2019.

DA SILVA, S. J. R.; DA SILVA, C. T. A.; MENDES, R. P. G.; PENA, L. Role of Nonstructural Proteins in the Pathogenesis of SARS-CoV-2. *J Med Virol*, Apr 2020.

DA SILVA, S. J. R.; PARDEE, K.; BALASURIYA, U. B. R.; PENA, L. Development and validation of a one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for rapid detection of ZIKV in patient samples from Brazil. *Sci Rep*, 11, n. 1, p. 4111, Feb 18 2021.

D'AMICO, F.; BAUMGART, D. C.; DANESE, S.; PEYRIN-BIROULET, L. Diarrhea During COVID-19 Infection: Pathogenesis, Epidemiology, Prevention, and Management. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 18, n. 8, p. 1663-1672, 07 2020.

DAO THI, V. L.; HERBST, K.; BOERNER, K.; MEURER, M. et al. A colorimetric RT-LAMP assay and LAMP-sequencing for detecting SARS-CoV-2 RNA in clinical samples. *Sci Transl Med*, 12, n. 556, 08 12 2020.

DASHRAATH, P.; WONG, J. L. J.; LIM, M. X. K.; LIM, L. M. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 222, n. 6, p. 521-531, 06 2020.

DATTA, S. D.; TALWAR, A.; LEE, J. T. A Proposed Framework and Timeline of the Spectrum of Disease Due to SARS-CoV-2 Infection: Illness Beyond Acute Infection and Public Health Implications. *JAMA*, 324, n. 22, p. 2251-2252, Dec 08 2020.

DAVIES, N. G.; ABBOTT, S.; BARNARD, R. C.; JARVIS, C. I. et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*, 372, n. 6538, 04 2021.

DAVIES, N. G.; JARVIS, C. I.; EDMUNDS, W. J.; JEWELL, N. P. et al. Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7. *Nature*, 593, n. 7858, p. 270-274, 05 2021.

DE PUIG, H.; LEE, R. A.; NAJJAR, D.; TAN, X. et al. Minimally instrumented SHERLOCK (miSHERLOCK) for CRISPR-based point-of-care diagnosis of SARS-CoV-2 and emerging variants. *Sci Adv*, 7, n. 32, Aug 2021.

DECROLY, E.; DEBARNOT, C.; FERRON, F.; BOUVET, M. et al. Crystal structure and functional analysis of the SARS-coronavirus RNA cap 2'-O-methyltransferase nsp10/nsp16 complex. *PLoS Pathog*, 7, n. 5, p. e1002059, May 2011.

DEJNIRATTISAI, W.; ZHOU, D.; SUPASA, P.; LIU, C. et al. Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. *Cell*, 184, n. 11, p. 2939-2954.e2939, 05 2021.

DENG, S. Q.; PENG, H. J. Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. *J Clin Med*, 9, n. 2, Feb 20 2020.

DENG, X.; HACKBART, M.; METTELMAN, R. C.; O'BRIEN, A. et al. Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114, n. 21, p. E4251-E4260, 05 23 2017.

DI CARLO, P.; CHIACCHIARETTA, P.; SINJARI, B.; ARUFFO, E. et al. Air and surface measurements of SARS-CoV-2 inside a bus during normal operation. *PLoS One*, 15, n. 11, p. e0235943, 2020.

DING, S.; LIANG, T. J. Is SARS-CoV-2 Also an Enteric Pathogen With Potential Fecal-Oral Transmission? A COVID-19 Virological and Clinical Review. *Gastroenterology*, 159, n. 1, p. 53-61, 07 2020.

DOMINGUEZ-SANTAS, M.; DIAZ-GUIMARAENS, B.; GARCIA ABELLAS, P.; MORENO-GARCIA DEL REAL, C. et al. Cutaneous small-vessel vasculitis associated with novel 2019 coronavirus SARS-CoV-2 infection (COVID-19). *J Eur Acad Dermatol Venereol*, May 2020.

DONG, E.; DU, H.; GARDNER, L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis*, 20, n. 5, p. 533-534, 05 2020.

DROSTEN, C.; GÜNTHER, S.; PREISER, W.; VAN DER WERF, S. et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*, 348, n. 20, p. 1967-1976, May 2003.

DU, L.; HE, Y.; ZHOU, Y.; LIU, S. et al. The spike protein of SARS-CoV--a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol*, 7, n. 3, p. 226-236, Mar 2009.

DU, L.; TAI, W.; YANG, Y.; ZHAO, G. et al. Introduction of neutralizing immunogenicity index to the rational design of MERS coronavirus subunit vaccines. *Nat Commun*, 7, p. 13473, 11 2016.

DU, L.; YANG, Y.; ZHOU, Y.; LU, L. et al. MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. *Expert Opin Ther Targets*, 21, n. 2, p. 131-143, Feb 2017.

DU, R. H.; LIANG, L. R.; YANG, C. Q.; WANG, W. et al. Predictors of Mortality for Patients with COVID-19 Pneumonia Caused by SARS-CoV-2: A Prospective Cohort Study. *Eur Respir J*, Apr 2020.

ECDC. Emergence of SARS-CoV-2 B.1.617 variants

ECKERLE, L. D.; BECKER, M. M.; HALPIN, R. A.; LI, K. et al. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog*, 6, n. 5, p. e1000896, May 06 2010.



EDARA, V. V.; NORWOOD, C.; FLOYD, K.; LAI, L. et al. Infection- and vaccine-induced antibody binding and neutralization of the B.1.351 SARS-CoV-2 variant. *Cell Host Microbe*, 29, n. 4, p. 516-521.e513, 04 2021.

EGLOFF, M. P.; FERRON, F.; CAMPANACCI, V.; LONGHI, S. et al. The severe acute respiratory syndrome-coronavirus replicative protein nsp9 is a single-stranded RNA-binding subunit unique in the RNA virus world. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, n. 11, p. 3792-3796, Mar 16 2004.

ELMAS, Ö.; DEMIRBAŞ, A.; ÖZYURT, K.; ATASOY, M. et al. Cutaneous manifestations of COVID-19: A review of the published literature. *Dermatol Ther*, May 2020.

EMARY, K. R. W.; GOLUBCHIK, T.; ALEY, P. K.; ARIANI, C. V. et al. Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B.1.1.7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial. *Lancet*, 397, n. 10282, p. 1351-1362, 04 2021.

RAMBAUT, A.; LOMAN, N.; PYBUS, O.; BARCLAY, W. et al. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. *Genom. Epidemiol*, p. 1-5, 2020.

ESPEJO, A. P.; AKGUN, Y.; AL MANA, A. F.; TJENDRA, Y. et al. Review of Current Advances in Serologic Testing for COVID-19. *Am J Clin Pathol*, 154, n. 3, p. 293-304, 08 05 2020.

FABIANI, M.; MARGIOTTI, K.; VIOLA, A.; MESORACA, A. et al. Mild Symptomatic SARS-CoV-2 P.1 (B.1.1.28) Infection in a Fully Vaccinated 83-Year-Old Man. *Pathogens*, 10, n. 5, May 2021.

FAHMI, M.; KUBOTA, Y.; ITO, M. Nonstructural proteins NS7b and NS8 are likely to be phylogenetically associated with evolution of 2019-nCoV. *Infect Genet Evol*, 81, p. 104272, Mar 2020.

FAJGENBAUM, D. C.; JUNE, C. H. Cytokine Storm. *N Engl J Med*, 383, n. 23, p. 2255-2273, 12 03 2020.

FALAHI, S.; KENARKOOHI, A. Transmission routes for SARS-CoV-2 infection: review of evidence. *New Microbes New Infect*, 38, p. 100778, Nov 2020.

FANG, S. G.; SHEN, H.; WANG, J.; TAY, F. P. et al. Proteolytic processing of polyproteins 1a and 1ab between non-structural proteins 10 and 11/12 of Coronavirus infectious bronchitis virus is dispensable for viral replication in cultured cells. *Virology*, 379, n. 2, p. 175-180, Sep 30 2008.

FARIA, N. R.; MELLAN, T. A.; WHITTAKER, C.; CLARO, I. M. et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*, Apr 2021.

FDA. EUA Authorized Serology Test Performance. Disponível em: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>.

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*, 1282, p. 1-23, 2015.

FELDSTEIN, L. R.; TENFORDE, M. W.; FRIEDMAN, K. G.; NEWHAMS, M. et al. Characteristics and Outcomes of US Children and Adolescents With Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Compared With Severe Acute COVID-19. *JAMA*, 325, n. 11, p. 1074-1087, 03 16 2021.

FERRAZ DE MAGALHÃES, J. J.; GERMANO MENDES, R. P.; ALVES DA SILVA, C. T.; RIBEIRO DA SILVA, S. J. et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of the First 557 Successive Patients with COVID-19 in Pernambuco State, Northeast Brazil. *Travel Med Infect Dis*, p. 101884, Sep 2020.

FIGUEIREDO, L. T. M. Human Urban Arboviruses Can Infect Wild Animals and Jump to Sylvatic Maintenance Cycles in South America. *Front Cell Infect Microbiol*, 9, p. 259, 2019.

FLORES-ALANIS, A.; CRUZ-RANGEL, A.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F.; GONZÁLEZ, J. et al. Molecular Epidemiology Surveillance of SARS-CoV-2: Mutations and Genetic Diversity One Year after Emerging. *Pathogens*, 10, n. 2, Feb 2021.

FOMSGAARD, A. S.; ROSENSTIERNE, M. W. An alternative workflow for molecular detection of SARS-CoV-2 - escape from the NA extraction kit-shortage, Copenhagen, Denmark, March 2020. *Euro Surveill*, 25, n. 14, 04 2020.

FOX, S. E.; AKMATBEKOV, A.; HARBERT, J. L.; LI, G. et al. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med*, 8, n. 7, p. 681-686, 07 2020.

FRAMPTON, D.; RAMPLING, T.; CROSS, A.; BAILEY, H. et al. Genomic characteristics and clinical effect of the emergent SARS-CoV-2 B.1.1.7 lineage in London, UK: a whole-genome sequencing and hospital-based cohort study. *Lancet Infect Dis*, Apr 2021.

FU, Y.; CHENG, Y.; WU, Y. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Virol Sin*, Mar 2020.

FUNK, T.; PHARRIS, A.; SPITERI, G.; BUNDLE, N. et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Euro Surveill*, 26, n. 16, 04 2021.

GADHAVE, K.; KUMAR, P.; KUMAR, A.; BHARDWAJ, T. et al. Conformational dynamics of 13 amino acids long NSP11 of SARS-CoV-2 under membrane mimetics and different solvent conditions. *Microb Pathog*, 158, p. 105041, Jun 10 2021.

GADLAGE, M. J.; SPARKS, J. S.; BEACHBOARD, D. C.; COX, R. G. et al. Murine hepatitis virus nonstructural protein 4 regulates virus-induced membrane modifications and replication complex function. *J Virol*, 84, n. 1, p. 280-290, Jan 2010.

GALVÃO, M. H. R.; RONCALLI, A. G. Factors associated with increased risk of death from covid-19: a survival analysis based on confirmed cases. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 23, 2021.

GARCIA-BELTRAN, W. F.; LAM, E. C.; ST DENIS, K.; NITIDO, A. D. et al. Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell*, 184, n. 9, p. 2372-2383.e2379, 04 2021.

GARG, S.; KIM, L.; WHITAKER, M.; O'HALLORAN, A. et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 69, n. 15, p. 458-464, Apr 2020.

GATTI, A.; RADRIZZANI, D.; VIGANÒ, P.; MAZZONE, A. et al. Decrease of Non-Classical and Intermediate Monocyte Subsets in Severe Acute SARS-CoV-2 Infection. *Cytometry A*, 97, n. 9, p. 887-890, 09 2020.

GAYTHORPE, K. A. M.; BHATIA, S.; MANGAL, T.; UNWIN, H. J. T. et al. Children's role in the COVID-19 pandemic: a systematic review of early surveillance data on susceptibility, severity, and transmissibility. *Sci Rep*, 11, n. 1, p. 13903, 07 06 2021.

GEBHARD, C.; REGITZ-ZAGROSEK, V.; NEUHAUSER, H. K.; MORGAN, R. et al. Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biology of sex differences*, 11, p. 1-13, 2020.

GHOSH, N.; SAHA, I.; SARKAR, J. P.; MAULIK, U. Strategies for COVID-19 Epidemiological Surveillance in India: Overall Policies Till June 2021. *Front Public Health*, 9, p. 708224, 2021.

GIACOMELLI, A.; PEZZATI, L.; CONTI, F.; BERNACCHIA, D. et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. *Clin Infect Dis*, 71, n. 15, p. 889-890, 07 28 2020.

GOLD, M. S.; SEHAYEK, D.; GABRIELLI, S.; ZHANG, X. et al. COVID-19 and comorbidities: a systematic review and meta-analysis. *Postgraduate medicine*, 132, n. 8, p. 749-755, 2020.

GOLDFARB, D. M.; TILLEY, P.; AL-RAWAHI, G. N.; SRIGLEY, J. A. et al. Self-Collected Saline Gargle Samples as an Alternative to Health Care Worker-Collected Nasopharyngeal Swabs for COVID-19 Diagnosis in Outpatients. *J Clin Microbiol*, 59, n. 4, 03 19 2021.

GOOTENBERG, J. S.; ABUDAYYEH, O. O.; KELLNER, M. J.; JOUNG, J. et al. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science*, 360, n. 6387, p. 439-444, 04 2018.

GOOTENBERG, J. S.; ABUDAYYEH, O. O.; LEE, J. W.; ESSLETZBICHLER, P. et al. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, 356, n. 6336, p. 438-442, 04 2017.

GÖTZINGER, F.; SANTIAGO-GARCÍA, B.; NOGUERA-JULIÁN, A.; LANASPA, M. et al. COVID-19 in children and adolescents in Europe: a multinational, multicentre cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*, 4, n. 9, p. 653-661, 09 2020.

- GRAHAM, M. S.; SUDRE, C. H.; MAY, A.; ANTONELLI, M. et al. Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. *Lancet Public Health*, 6, n. 5, p. e335-e345, 05 2021.
- GRASSELLI, G.; ZANGRILLO, A.; ZANELLA, A.; ANTONELLI, M. et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*, 323, n. 16, p. 1574-1581, 04 28 2020.
- GREEN, A. A.; SILVER, P. A.; COLLINS, J. J.; YIN, P. Toehold switches: de-novo-designed regulators of gene expression. *Cell*, 159, n. 4, p. 925-939, Nov 2014.
- GREENHALGH, T.; JIMENEZ, J. L.; PRATHER, K. A.; TUFEKCI, Z. et al. Ten scientific reasons in support of airborne transmission of SARS-CoV-2. *Lancet*, Apr 2021.
- GREENHALGH, T.; KNIGHT, M.; A'COURT, C.; BUXTON, M. et al. Management of post-acute covid-19 in primary care. *BMJ*, 370, p. m3026, 08 11 2020.
- GRIFONI, A.; SIDNEY, J.; ZHANG, Y.; SCHEUERMANN, R. H. et al. A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe*, Mar 2020.
- GROß, R.; CONZELMANN, C.; MÜLLER, J. A.; STENGER, S. et al. Detection of SARS-CoV-2 in human breastmilk. *Lancet*, 395, n. 10239, p. 1757-1758, 06 2020.
- GUAN, W. J.; NI, Z. Y.; HU, Y.; LIANG, W. H. et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, Feb 2020.
- GUAN, W.-J.; NI, Z.-Y.; HU, Y.; LIANG, W.-H. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*, 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020.
- GUBLER, D. J.; VASILAKIS, N.; MUSSO, D. History and Emergence of Zika Virus. *J Infect Dis*, 216, n. suppl\_10, p. S860-S867, 12 2017.
- GUO, Y. R.; CAO, Q. D.; HONG, Z. S.; TAN, Y. Y. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res*, 7, n. 1, p. 11, 03 2020.
- GUPTA, A.; MADHAVAN, M. V.; SEHGAL, K.; NAIR, N. et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*, 26, n. 7, p. 1017-1032, 07 2020.
- GUPTA, M.; AZUMAYA, C. M.; MORITZ, M.; POURMAL, S. et al. CryoEM and AI reveal a structure of SARS-CoV-2 Nsp2, a multifunctional protein involved in key host processes. *bioRxiv*, May 11 2021.
- GUSHCHIN, V. A.; DOLZHIKOVA, I. V.; SHCHETININ, A. M.; ODINTSOVA, A. S. et al. Neutralizing Activity of Sera from Sputnik V-Vaccinated People against Variants of Concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow Endemic SARS-CoV-2 Variants. *Vaccines (Basel)*, 9, n. 7, Jul 12 2021.
- HABLI, Z.; SALEH, S.; ZARAKET, H.; KHRAICHE, M. L. COVID-19. *Front Bioeng Biotechnol*, 8, p. 605702, 2020.

HALFMANN, P. J.; HATTA, M.; CHIBA, S.; MAEMURA, T. et al. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*, 383, n. 6, p. 592-594, 08 06 2020.

HAMRE, D.; PROCKNOW, J. J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med*, 121, n. 1, p. 190-193, Jan 1966.

HANSON, K. E.; CALIENDO, A. M.; ARIAS, C. A.; ENGLUND, J. A. et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. *Clin Infect Dis*, Sep 2020.

HAO, W.; WOJDYLA, J. A.; ZHAO, R.; HAN, R. et al. Crystal structure of Middle East respiratory syndrome coronavirus helicase. *PLoS Pathog*, 13, n. 6, p. e1006474, Jun 2017.

HARIHARAN, A.; HAKEEM, A. R.; RADHAKRISHNAN, S.; REDDY, M. S. et al. The Role and Therapeutic Potential of NF-kappa-B Pathway in Severe COVID-19 Patients. *Inflammopharmacology*, 29, n. 1, p. 91-100, Feb 2021.

HARRISON, A. G.; LIN, T.; WANG, P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol*, 41, n. 12, p. 1100-1115, 12 2020.

HASSAN, A. O.; CASE, J. B.; WINKLER, E. S.; THACKRAY, L. B. et al. A SARS-CoV-2 Infection Model in Mice Demonstrates Protection by Neutralizing Antibodies. *Cell*, 182, n. 3, p. 744-753.e744, 08 2020.

HE, X.; LAU, E. H. Y.; WU, P.; DENG, X. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*, 26, n. 5, p. 672-675, 05 2020.

HENRY, B. M.; DE OLIVEIRA, M. H. S.; BENOIT, S.; PLEBANI, M. et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*, 58, n. 7, p. 1021-1028, 06 25 2020.

HILLE, F.; RICHTER, H.; WONG, S. P.; BRATOVIČ, M. et al. The Biology of CRISPR-Cas: Backward and Forward. *Cell*, 172, n. 6, p. 1239-1259, 03 08 2018.

HILLEN, H. S.; KOKIC, G.; FARNUNG, L.; DIENEMANN, C. et al. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. *Nature*, 584, n. 7819, p. 154-156, 08 2020.

HITCHINGS, M.; ETAL. Effectiveness of CoronaVac among healthcare workers in the setting of high SARS-CoV-2 Gamma variant transmission in Manaus, Brazil: A test-negative case-control study. *Disponível em:* <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.04.07.21255081v4>.

HOFFMANN, M.; ARORA, P.; GROß, R.; SEIDEL, A. et al. SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies. *Cell*, Mar 2021.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRÜGER, N. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, Mar 2020.

HOU, H.; WANG, T.; ZHANG, B.; LUO, Y. et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunology*, 9, n. 5, p. e01136, May 2020.

HOWARD, J.; HUANG, A.; LI, Z.; TUFEKCI, Z. et al. An evidence review of face masks against COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118, n. 4, 01 26 2021.

HU, B.; GUO, H.; ZHOU, P.; SHI, Z. L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*, 19, n. 3, p. 141-154, 03 2021.

HU, B.; HUANG, S.; YIN, L. The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol*, 93, n. 1, p. 250-256, 01 2021.

HUANG, B. Neutralization of SARS-CoV-2 VOC 501Y.V2 by human antisera elicited both inactivated BBIBP-CorV and recombinant dimeric RDB ZF2001 vaccines. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.01.429069v1>.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 395, n. 10223, p. 497-506, 02 2020.

HUANG, W. E.; LIM, B.; HSU, C. C.; XIONG, D. et al. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Microb Biotechnol*, Apr 2020.

HUI, D. S.; I AZHAR, E.; MADANI, T. A.; NTOUMI, F. et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health - The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis*, 91, p. 264-266, 02 2020.

IKEGAME, S.; SIDDIQUEY, M.; HUNG, C. T.; HAAS, G. et al. Neutralizing activity of Sputnik V vaccine sera against SARS-CoV-2 variants. *Res Sq*, Apr 2021.

in India and situation in the EU/EEA. Disponível em: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Emergence-of-SARS-CoV-2-B.1.617-variants-in-India-and-situation-in-the-EUEEA\\_0.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Emergence-of-SARS-CoV-2-B.1.617-variants-in-India-and-situation-in-the-EUEEA_0.pdf).

IULIANO, A. D.; CHANG, H. H.; PATEL, N. N.; THRELKEL, R. et al. Estimating Under-recognized COVID-19 Deaths, United States, March 2020-May 2021 using an Excess Mortality Modelling Approach. *Lancet Reg Health Am*, p. 100019, Jul 13 2021.

JAFARZADEH, A.; CHAUHAN, P.; SAHA, B.; JAFARZADEH, S. et al. Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID-19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. *Life Sci*, 257, p. 118102, Sep 2020.

JESUS, J. G. D.; SACCHI, C.; CANDIDO, D. D. S.; CLARO, I. M. et al. Importation and early local transmission of COVID-19 in Brazil, 2020. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 62, 2020.

JIA, Z.; YAN, L.; REN, Z.; WU, L. et al. Delicate structural coordination of the Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus Nsp13 upon ATP hydrolysis. *Nucleic Acids Res*, 47, n. 12, p. 6538-6550, 07 09 2019.

- JIANG, S.; DU, L.; SHI, Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg Microbes Infect*, 9, n. 1, p. 275-277, 2020.
- JIANG, S.; HILLYER, C.; DU, L. Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses. *Trends Immunol*, 41, n. 5, p. 355-359, 05 2020.
- JIN, J.-M.; BAI, P.; HE, W.; WU, F. et al. Gender differences in patients with COVID-19: focus on severity and mortality. *Frontiers in public health*, 8, p. 152, 2020.
- JIN, Y.; YANG, H.; JI, W.; WU, W. et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*, 12, n. 4, 03 2020.
- JOHANSSON, M. A.; QUANDELACY, T. M.; KADA, S.; PRASAD, P. V. et al. SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. *JAMA Netw Open*, 4, n. 1, p. e2035057, 01 2021.
- JONGENEELLEN, M. Ad26.COV2.S elicited neutralizing activity against Delta and other SARS-CoV-2 variants of concern. *bioRxiv*, Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.07.01.450707v1>.
- JOUNG, J.; LADHA, A.; SAITO, M.; KIM, N. G. et al. Detection of SARS-CoV-2 with SHERLOCK One-Pot Testing. *N Engl J Med*, 383, n. 15, p. 1492-1494, 10 08 2020.
- KAMINSKI, M. M.; ABUDAYYEH, O. O.; GOOTENBERG, J. S.; ZHANG, F. et al. CRISPR-based diagnostics. *Nat Biomed Eng*, 5, n. 7, p. 643-656, Jul 2021.
- KANG, M. Effectiveness of Inactivated COVID-19 Vaccines Against COVID-19 Pneumonia and Severe Illness Caused by the B.1.617.2 (Delta) Variant: Evidence from an Outbreak in Guangdong, China. *SSRN*, Disponível em: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3895639](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3895639).
- KARIYAWASAM, J. C.; JAYARAJAH, U.; RIZA, R.; ABEYSURIYA, V. et al. Gastrointestinal manifestations in COVID-19. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, Mar 16 2021.
- KAUR, S.; BHERWANI, H.; GULIA, S.; VIJAY, R. et al. Understanding COVID-19 transmission, health impacts and mitigation: timely social distancing is the key. *Environ Dev Sustain*, p. 1-17, Jul 2020.
- KELLUM, J. A.; VAN TILL, J. W. O.; MULLIGAN, G. Targeting acute kidney injury in COVID-19. *Nephrol Dial Transplant*, 35, n. 10, p. 1652-1662, 10 01 2020.
- KEVADIYA, B. D.; MACHHI, J.; HERSKOVITZ, J.; OLEYNIKOV, M. D. et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat Mater*, 20, n. 5, p. 593-605, 05 2021.
- KIM, J. M.; CHUNG, Y. S.; JO, H. J.; LEE, N. J. et al. Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19. *Osong Public Health Res Perspect*, 11, n. 1, p. 3-7, Feb 2020.
- KIM, L.; WHITAKER, M.; O'HALLORAN, A.; KAMBHAMPATI, A. et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Children Aged <18 Years Hospitalized with Laboratory-

Confirmed COVID-19 - COVID-NET, 14 States, March 1-July 25, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 69, n. 32, p. 1081-1088, Aug 14 2020.

KIM, Y. I.; KIM, S. G.; KIM, S. M.; KIM, E. H. et al. Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell Host Microbe*, 27, n. 5, p. 704-709.e702, 05 2020.

KIPKORIR, V.; CHERUIYOT, I.; NGURE, B.; MISIANI, M. et al. Prolonged SARS-CoV-2 RNA detection in anal/rectal swabs and stool specimens in COVID-19 patients after negative conversion in nasopharyngeal RT-PCR test. *J Med Virol*, 92, n. 11, p. 2328-2331, 11 2020.

KIRCHDOERFER, R. N.; WARD, A. B. Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. *Nat Commun*, 10, n. 1, p. 2342, 05 28 2019.

KITAGAWA, Y.; ORIHARA, Y.; KAWAMURA, R.; IMAI, K. et al. Evaluation of rapid diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19) using loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Virol*, 129, p. 104446, 08 2020.

KONTOU, P. I.; BRALIOU, G. G.; DIMOU, N. L.; NIKOLOPOULOS, G. et al. Antibody Tests in Detecting SARS-CoV-2 Infection: A Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel)*, 10, n. 5, May 2020.

KORBER, B.; FISCHER, W. M.; GNANAKARAN, S.; YOON, H. et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*, 182, n. 4, p. 812-827.e819, 08 2020.

KRAFCIKOVA, P.; SILHAN, J.; NENCKA, R.; BOURA, E. Structural analysis of the SARS-CoV-2 methyltransferase complex involved in RNA cap creation bound to sinefungin. *Nat Commun*, 11, n. 1, p. 3717, 07 24 2020.

KUPPALLI, K.; GALA, P.; CHERABUDDI, K.; KALANTRI, S. P. et al. India's COVID-19 crisis: a call for international action. *Lancet*, 397, n. 10290, p. 2132-2135, 06 05 2021.

KUTTER, J. S.; SPRONKEN, M. I.; FRAAIJ, P. L.; FOUCHIER, R. A. et al. Transmission routes of respiratory viruses among humans. *Curr Opin Virol*, 28, p. 142-151, 02 2018.

KUZMINA, A.; KHALAILA, Y.; VOLOSHIN, O.; KEREN-NAUS, A. et al. SARS-CoV-2 spike variants exhibit differential infectivity and neutralization resistance to convalescent or post-vaccination sera. *Cell Host Microbe*, 29, n. 4, p. 522-528.e522, 04 2021.

LAFORGE, M.; ELBIM, C.; FRÈRE, C.; HÉMADI, M. et al. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nat Rev Immunol*, 20, n. 9, p. 515-516, 09 2020.

LALLI, M. A.; LANGMADE, J. S.; CHEN, X.; FRONICK, C. C. et al. Rapid and Extraction-Free Detection of SARS-CoV-2 from Saliva by Colorimetric Reverse-Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Clin Chem*, 67, n. 2, p. 415-424, 01 30 2021.

LAM, T. T.; SHUM, M. H.; ZHU, H. C.; TONG, Y. G. et al. Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, Mar 2020.

LAMB, L. E.; BARTOLONE, S. N.; WARD, E.; CHANCELLOR, M. B. Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by



reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *PLoS One*, 15, n. 6, p. e0234682, 2020.

LAN, J.; GE, J.; YU, J.; SHAN, S. et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581, n. 7807, p. 215-220, 05 2020.

LAUER, S. A.; GRANTZ, K. H.; BI, Q.; JONES, F. K. et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*, 172, n. 9, p. 577-582, May 05 2020.

LAURING, A. S.; HODCROFT, E. B. Genetic Variants of SARS-CoV-2-What Do They Mean? *JAMA*, 325, n. 6, p. 529-531, Feb 2021.

LEBLANC, J. J.; GUBBAY, J. B.; LI, Y.; NEEDLE, R. et al. Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection in Canadian laboratories. *J Clin Virol*, 128, p. 104433, 07 2020.

LECHIEN, J. R.; CHIESA-ESTOMBA, C. M.; DE SIATI, D. R.; HOROI, M. et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 277, n. 8, p. 2251-2261, Aug 2020.

LEE, C.; CHOI, W. J. Overview of COVID-19 inflammatory pathogenesis from the therapeutic perspective. *Arch Pharm Res*, 44, n. 1, p. 99-116, Jan 2021.

LEI, J.; KUSOV, Y.; HILGENFELD, R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral Res*, 149, p. 58-74, 01 2018.

LEUNG, N. H. L. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. *Nat Rev Microbiol*, 19, n. 8, p. 528-545, 08 2021.

LEUNG, N. H. L.; CHU, D. K. W.; SHIU, E. Y. C.; CHAN, K. H. et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med*, 26, n. 5, p. 676-680, 05 2020.

LI, C. X.; WU, B.; LUO, F.; ZHANG, N. [Clinical Study and CT Findings of a Familial Cluster of Pneumonia with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 51, n. 2, p. 155-158, Mar 2020.

LI, D.; JIN, M.; BAO, P.; ZHAO, W. et al. Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw Open*, 3, n. 5, p. e208292, 05 2020.

LI, F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol*, 3, n. 1, p. 237-261, 09 2016.

LI, F.; LI, W.; FARZAN, M.; HARRISON, S. C. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*, 309, n. 5742, p. 1864-1868, Sep 2005.

LI, H.; LIU, S. M.; YU, X. H.; TANG, S. L. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents*, p. 105951, Mar 2020.

LI, Q.; GUAN, X.; WU, P.; WANG, X. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*, Jan 2020.

- LI, W.; MOORE, M. J.; VASILIEVA, N.; SUI, J. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426, n. 6965, p. 450-454, Nov 2003.
- LIANG, W.; GUAN, W.; CHEN, R.; WANG, W. et al. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*, 21, n. 3, p. 335-337, 03 2020.
- LIM, Y. X.; NG, Y. L.; TAM, J. P.; LIU, D. X. Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases*, 4, n. 3, Jul 2016.
- LIN, Q.; WEN, D.; WU, J.; LIU, L. et al. Microfluidic Immunoassays for Sensitive and Simultaneous Detection of IgG/IgM/Antigen of SARS-CoV-2 within 15 min. *Anal Chem*, 92, n. 14, p. 9454-9458, 07 21 2020.
- LIU, C.; GINN, H. M.; DEJNIRATTISAI, W.; SUPASA, P. et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.617 by vaccine and convalescent serum. *Cell*, 184, n. 16, p. 4220-4236.e4213, 08 05 2021.
- LIU, C.; MENDONÇA, L.; YANG, Y.; GAO, Y. et al. The Architecture of Inactivated SARS-CoV-2 with Postfusion Spikes Revealed by Cryo-EM and Cryo-ET. *Structure*, 28, n. 11, p. 1218-1224.e1214, 11 03 2020.
- LIU, J.; LIU, Y.; XIA, H.; ZOU, J. et al. BNT162b2-elicited neutralization of B.1.617 and other SARS-CoV-2 variants. *Nature*, 596, n. 7871, p. 273-275, 08 2021.
- LIU, P.; JIANG, J. Z.; WAN, X. F.; HUA, Y. et al. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? *PLoS Pathog*, 16, n. 5, p. e1008421, 05 2020.
- LIU, R.; YI, S.; ZHANG, J.; LV, Z. et al. Viral Load Dynamics in Sputum and Nasopharyngeal Swab in Patients with COVID-19. *J Dent Res*, 99, n. 11, p. 1239-1244, 10 2020.
- LIU, S.; XIAO, G.; CHEN, Y.; HE, Y. et al. Interaction between heptad repeat 1 and 2 regions in spike protein of SARS-associated coronavirus: implications for virus fusogenic mechanism and identification of fusion inhibitors. *Lancet*, 363, n. 9413, p. 938-947, Mar 2004.
- LIU, Y.; GAYLE, A. A.; WILDER-SMITH, A.; ROCKLÖV, J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J Travel Med*, 27, n. 2, 03 2020.
- LIU, Y.; NING, Z.; CHEN, Y.; GUO, M. et al. Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature*, 582, n. 7813, p. 557-560, 06 2020.
- LIU, Y.; YAN, L. M.; WAN, L.; XIANG, T. X. et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis*, 20, n. 6, p. 656-657, 06 2020.
- LIU, Y.; YAN, L.-M.; WAN, L.; XIANG, T.-X. et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *The Lancet infectious diseases*, 20, n. 6, p. 656-657, 2020.
- LONG, Q. X.; LIU, B. Z.; DENG, H. J.; WU, G. C. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med*, Apr 2020.

- LOPEZ BERNAL, J.; ANDREWS, N.; GOWER, C.; GALLAGHER, E. et al. Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. *N Engl J Med*, 385, n. 7, p. 585-594, 08 12 2021.
- LU, G.; HU, Y.; WANG, Q.; QI, J. et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26. *Nature*, 500, n. 7461, p. 227-231, Aug 2013.
- LU, L.; LIU, Q.; ZHU, Y.; CHAN, K. H. et al. Structure-based discovery of Middle East respiratory syndrome coronavirus fusion inhibitor. *Nat Commun*, 5, p. 3067, 2014.
- LU, R.; WU, X.; WAN, Z.; LI, Y. et al. A Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2. *Int J Mol Sci*, 21, n. 8, Apr 2020.
- LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 395, n. 10224, p. 565-574, 02 2020.
- LU, S.; ZHAO, Y.; YU, W.; YANG, Y. et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. *Signal Transduct Target Ther*, 5, n. 1, p. 157, 10 19 2020.
- LUDWIG, K. U.; SCHMITHAUSEN, R. M.; LI, D.; JACOBS, M. L. et al. LAMP-Seq enables sensitive, multiplexed COVID-19 diagnostics using molecular barcoding. *Nat Biotechnol*, Jun 29 2021.
- LUO, L.; LIU, D.; ZHANG, H.; LI, Z. et al. Air and surface contamination in non-health care settings among 641 environmental specimens of 39 COVID-19 cases. *PLoS Negl Trop Dis*, 14, n. 10, p. e0008570, 10 2020.
- LUSTIG, Y.; ZUCKERMAN, N.; NEMET, I.; ATARI, N. et al. Neutralising capacity against Delta (B.1.617.2) and other variants of concern following Comirnaty (BNT162b2, BioNTech/Pfizer) vaccination in health care workers, Israel. *Euro Surveill*, 26, n. 26, 07 2021.
- MA, Y.; WU, L.; SHAW, N.; GAO, Y. et al. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112, n. 30, p. 9436-9441, Jul 28 2015.
- MACHHI, J.; HERSKOVITZ, J.; SENAN, A. M.; DUTTA, D. et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J Neuroimmune Pharmacol*, 15, n. 3, p. 359-386, 09 2020.
- MADHI, S. A.; BAILLIE, V.; CUTLAND, C. L.; VOYSEY, M. et al. Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 Covid-19 Vaccine against the B.1.351 Variant. *N Engl J Med*, 384, n. 20, p. 1885-1898, 05 2021.
- MADHI, S. A.; NEL, J. Epidemiology of severe COVID-19 from South Africa. *Lancet HIV*, Aug 04 2021.
- MAK, G. C.; CHENG, P. K.; LAU, S. S.; WONG, K. K. et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *J Clin Virol*, 129, p. 104500, 08 2020.

- MALIK, P.; PATEL, U.; MEHTA, D.; PATEL, N. et al. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. *BMJ Evid Based Med*, 26, n. 3, p. 107-108, 06 2021.
- MALIK, Y. S.; SIRCAR, S.; BHAT, S.; SHARUN, K. et al. Emerging novel coronavirus (2019-nCoV)-current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Vet Q*, 40, n. 1, p. 68-76, Dec 2020.
- MALTA, M.; VETTORE, M. V.; DA SILVA, C. M. F. P.; SILVA, A. B. et al. The foreseen loss of the battle against COVID-19 in South America: A foretold tragedy. *EClinicalMedicine*, 39, p. 101068, Sep 2021.
- MANGHWAR, H.; LI, B.; DING, X.; HUSSAIN, A. et al. CRISPR/Cas Systems in Genome Editing: Methodologies and Tools for sgRNA Design, Off-Target Evaluation, and Strategies to Mitigate Off-Target Effects. *Adv Sci (Weinh)*, 7, n. 6, p. 1902312, Mar 2020.
- MARICIC, T.; NICKEL, O.; AXIMU-PETRI, A.; ESSEL, E. et al. A direct RT-qPCR approach to test large numbers of individuals for SARS-CoV-2. *PLoS One*, 15, n. 12, p. e0244824, 2020.
- MARQUÈS, M.; DOMINGO, J. L. Contamination of inert surfaces by SARS-CoV-2: Persistence, stability and infectivity. A review. *Environ Res*, 193, p. 110559, Feb 2021.
- MATSUMURA, Y.; SHIMIZU, T.; NOGUCHI, T.; NAKANO, S. et al. Comparison of 12 Molecular Detection Assays for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *J Mol Diagn*, 23, n. 2, p. 164-170, 02 2021.
- MATSUYAMA, S.; TAGUCHI, F. Two-step conformational changes in a coronavirus envelope glycoprotein mediated by receptor binding and proteolysis. *J Virol*, 83, n. 21, p. 11133-11141, Nov 2009.
- MATTHEWS, Q.; DA SILVA, S. J. R.; NOROUZI, M.; PENA, L. J. et al. Adaptive, diverse and de-centralized diagnostics are key to the future of outbreak response. *BMC Biol*, 18, n. 1, p. 153, 10 2020.
- MATTIOLI, I. A.; HASSAN, A.; OLIVEIRA, O. N.; CRESPILO, F. N. On the Challenges for the Diagnosis of SARS-CoV-2 Based on a Review of Current Methodologies. *ACS Sens*, 5, n. 12, p. 3655-3677, 12 24 2020.
- MAVRIKOU, S.; MOSCHOPOULOU, G.; TSEKOURAS, V.; KINTZIOS, S. Development of a Portable, Ultra-Rapid and Ultra-Sensitive Cell-Based Biosensor for the Direct Detection of the SARS-CoV-2 S1 Spike Protein Antigen. *Sensors (Basel)*, 20, n. 11, May 2020.
- MCINTOSH, K. Coronaviruses in the limelight. *J Infect Dis*, 191, n. 4, p. 489-491, Feb 2005.
- MCINTOSH, K.; CHAO, R. K.; KRAUSE, H. E.; WASIL, R. et al. Coronavirus infection in acute lower respiratory tract disease of infants. *J Infect Dis*, 130, n. 5, p. 502-507, Nov 1974.
- MEHTA, P.; MCAULEY, D. F.; BROWN, M.; SANCHEZ, E. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 395, n. 10229, p. 1033-1034, 03 28 2020.

- MERAD, M.; MARTIN, J. C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol*, 20, n. 6, p. 355-362, 06 2020.
- MEREDITH, L. W.; HAMILTON, W. L.; WARNE, B.; HOULDCROFT, C. J. et al. Rapid implementation of SARS-CoV-2 sequencing to investigate cases of health-care associated COVID-19: a prospective genomic surveillance study. *Lancet Infect Dis*, 20, n. 11, p. 1263-1271, 11 2020.
- MERINDOL, N.; PÉPIN, G.; MARCHAND, C.; RHEAULT, M. et al. SARS-CoV-2 detection by direct rRT-PCR without RNA extraction. *J Clin Virol*, 128, p. 104423, 07 2020.
- MIDDLETON, E. A.; HE, X. Y.; DENORME, F.; CAMPBELL, R. A. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*, 136, n. 10, p. 1169-1179, 09 03 2020.
- MINSKAIA, E.; HERTZIG, T.; GORBALENYA, A. E.; CAMPANACCI, V. et al. Discovery of an RNA virus 3'->5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, n. 13, p. 5108-5113, Mar 28 2006.
- MLCOCHOVA, P. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication, sensitivity to neutralising antibodies and vaccine breakthrough. *BioRxiv*, Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.05.08.443253v5>.
- MOJICA, F. J.; DÍEZ-VILLASEÑOR, C.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.; SORIA, E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol*, 60, n. 2, p. 174-182, Feb 2005.
- MOORE, J. B.; JUNE, C. H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368, n. 6490, p. 473-474, 05 01 2020.
- MORENO-PÉREZ, O.; MERINO, E.; LEON-RAMIREZ, J. M.; ANDRES, M. et al. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study. *J Infect*, 82, n. 3, p. 378-383, 03 2021.
- MORI, Y.; NOTOMI, T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J Infect Chemother*, 15, n. 2, p. 62-69, Apr 2009.
- MORIGUCHI, T.; HARI, N.; GOTO, J.; HARADA, D. et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis*, 94, p. 55-58, May 2020.
- MUIK, A.; WALLISCH, A. K.; SÄNGER, B.; SWANSON, K. A. et al. Neutralization of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 pseudovirus by BNT162b2 vaccine-elicited human sera. *Science*, 371, n. 6534, p. 1152-1153, 03 2021.
- MUÑOZ-FONTELA, C.; DOWLING, W. E.; FUNNELL, S. G. P.; GSELL, P. S. et al. Animal models for COVID-19. *Nature*, 586, n. 7830, p. 509-515, 10 2020.

NALBANDIAN, A.; SEHGAL, K.; GUPTA, A.; MADHAVAN, M. V. et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*, 27, n. 4, p. 601-615, 04 2021.

NALLA, A. K.; CASTO, A. M.; HUANG, M. W.; PERCHETTI, G. A. et al. Comparative Performance of SARS-CoV-2 Detection Assays Using Seven Different Primer-Probe Sets and One Assay Kit. *J Clin Microbiol*, 58, n. 6, 05 26 2020.

NARAYANAN, K.; HUANG, C.; LOKUGAMAGE, K.; KAMITANI, W. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 suppresses host gene expression, including that of type I interferon, in infected cells. *J Virol*, 82, n. 9, p. 4471-4479, May 2008.

NASIR, J. A.; KOZAK, R. A.; AFTANAS, P.; RAPHENYA, A. R. et al. A Comparison of Whole Genome Sequencing of SARS-CoV-2 Using Amplicon-Based Sequencing, Random Hexamers, and Bait Capture. *Viruses*, 12, n. 8, 08 15 2020.

NASREEN, S. Effectiveness of COVID-19 vaccines against variants of concern in Ontario, Canada. medRxiv, Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.06.28.21259420v2>.

NAVECA, F. G.; NASCIMENTO, V.; DE SOUZA, V. C.; CORADO, A. L. et al. COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. *Nat Med*, May 2021.

NAVECA, F.; COSTA, C.; NASCIMENTO, V.; ETAL. SARS-CoV-2

NEUMAN, B. W.; ADAIR, B. D.; YOSHIOKA, C.; QUISPE, J. D. et al. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *J Virol*, 80, n. 16, p. 7918-7928, Aug 2006.

NI, L.; YE, F.; CHENG, M. L.; FENG, Y. et al. Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals. *Immunity*, 52, n. 6, p. 971-977.e973, 06 16 2020.

NICOLAI, L.; LEUNIG, A.; BRAMBS, S.; KAISER, R. et al. Immunothrombotic Dysregulation in COVID-19 Pneumonia Is Associated With Respiratory Failure and Coagulopathy. *Circulation*, 142, n. 12, p. 1176-1189, 09 22 2020.

NIID. New Variant Strain of SARS-CoV-2 Identified in Travelers from Brazil. Disponível em: <https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/10108-covid19-33-en.html>.

NOTOMI, T.; OKAYAMA, H.; MASUBUCHI, H.; YONEKAWA, T. et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*, 28, n. 12, p. E63, Jun 2000.

O'BRIEN, T. R.; THOMAS, D. L.; JACKSON, S. S.; PROKUNINA-OLSSON, L. et al. Weak Induction of Interferon Expression by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Supports Clinical Trials of Interferon- $\lambda$  to Treat Early Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*, 71, n. 6, p. 1410-1412, 09 2020.

- OGANDO, N. S.; FERRON, F.; DECROLY, E.; CANARD, B. et al. The Curious Case of the Nidovirus Exoribonuclease: Its Role in RNA Synthesis and Replication Fidelity. *Front Microbiol*, 10, p. 1813, 2019.
- OGANDO, N. S.; ZEVENHOVEN-DOBBE, J. C.; VAN DER MEER, Y.; BREDENBEEK, P. J. et al. The Enzymatic Activity of the nsp14 Exoribonuclease Is Critical for Replication of MERS-CoV and SARS-CoV-2. *J Virol*, 94, n. 23, 11 09 2020.
- OKBA, N. M. A.; MÜLLER, M. A.; LI, W.; WANG, C. et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients. *Emerg Infect Dis*, 26, n. 7, Apr 2020.
- OLESZAK, F.; MARYNIAK, A.; BOTTI, E.; ABRAHIM, C. et al. Myocarditis Associated With COVID-19. *Am J Med Case Rep*, 8, n. 12, p. 498-502, 2020.
- ONG, S. Clinical and Virological Features of SARS-CoV-2 Variants of Concern: A Retrospective Cohort Study Comparing B.1.1.7 (Alpha), B.1.315 (Beta) and B.1.617.2 (Delta). Disponível em: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3861566](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3861566).
- ONG, S. W. X.; TAN, Y. K.; CHIA, P. Y.; LEE, T. H. et al. Air, Surface Environmental, and Personal Protective Equipment Contamination by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) From a Symptomatic Patient. *JAMA*, Mar 2020.
- ORESHKOVA, N.; MOLENAAR, R. J.; VREMAN, S.; HARDERS, F. et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill*, 25, n. 23, 06 2020.
- O'SHEA, P. M.; LEE, G. R.; GRIFFIN, T. P.; TORMEY, V. et al. COVID-19 in adults: test menu for hospital blood science laboratories. *Ir J Med Sci*, 189, n. 4, p. 1147-1152, Nov 2020.
- OU, X.; LIU, Y.; LEI, X.; LI, P. et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*, 11, n. 1, p. 1620, 03 2020.
- OWUSU, M.; SYLVERKEN, A. A.; EL-DUAH, P.; AYISI-BOATENG, N. K. et al. Low risk of SARS-CoV-2 in blood transfusion. *PLoS One*, 16, n. 4, p. e0249069, 2021.
- PAIVA, M. H. S.; GUEDES, D. R. D.; DOCENA, C.; BEZERRA, M. F. et al. Multiple Introductions Followed by Ongoing Community Spread of SARS-CoV-2 at One of the Largest Metropolitan Areas of Northeast Brazil. *Viruses*, 12, n. 12, 12 09 2020.
- PAN, Y.; ZHANG, D.; YANG, P.; POON, L. L. M. et al. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis*, 20, n. 4, p. 411-412, 04 2020.
- PANIZ-MONDOLFI, A.; BRYCE, C.; GRIMES, Z.; GORDON, R. E. et al. Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *J Med Virol*, 92, n. 7, p. 699-702, Jul 2020.
- PARASKEVIS, D.; KOSTAKI, E. G.; MAGIORKINIS, G.; PANAYIOTAKOPOULOS, G. et al. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the

hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect Genet Evol*, 79, p. 104212, 04 2020.

PARDEE, K.; GREEN, A. A.; FERRANTE, T.; CAMERON, D. E. et al. Paper-based synthetic gene networks. *Cell*, 159, n. 4, p. 940-954, Nov 2014.

PARDEE, K.; GREEN, A. A.; TAKAHASHI, M. K.; BRAFF, D. et al. Rapid, Low-Cost Detection of Zika Virus Using Programmable Biomolecular Components. *Cell*, 165, n. 5, p. 1255-1266, May 2016.

PARK, G. S.; KU, K.; BAEK, S. H.; KIM, S. J. et al. Development of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays Targeting SARS-CoV-2. *J Mol Diagn*, Apr 2020.

PARK, W. B.; KWON, N. J.; CHOI, S. J.; KANG, C. K. et al. Virus Isolation from the First Patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J Korean Med Sci*, 35, n. 7, p. e84, Feb 2020.

PASCARELLA, S.; CICCOCCHI, M.; ZELLA, D.; BIANCHI, M. et al. SARS-CoV-2 B.1.617 Indian variants: Are electrostatic potential changes responsible for a higher transmission rate? *J Med Virol*, Jul 14 2021.

PATCHSUNG, M.; JANTARUG, K.; PATTAMA, A.; APHICHO, K. et al. Clinical validation of a Cas13-based assay for the detection of SARS-CoV-2 RNA. *Nat Biomed Eng*, 4, n. 12, p. 1140-1149, 12 2020.

PEACOCK, T. P.; GOLDHILL, D. H.; ZHOU, J.; BAILLON, L. et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. *Nat Microbiol*, 6, n. 7, p. 899-909, 07 2021.

PEARSON, C.; RUSSELL, T.; DAVIES, N.; ETAL. Estimates of severity and transmissibility of novel SARS-CoV-2 variant 501Y.V2 in South Africa

PEIRIS, J. S.; GUAN, Y.; YUEN, K. Y. Severe acute respiratory syndrome. *Nat Med*, 10, n. 12 Suppl, p. S88-97, Dec 2004.

PEÑARRUBIA, L.; RUIZ, M.; PORCO, R.; RAO, S. N. et al. Multiple assays in a real-time RT-PCR SARS-CoV-2 panel can mitigate the risk of loss of sensitivity by new genomic variants during the COVID-19 outbreak. *Int J Infect Dis*, 97, p. 225-229, Aug 2020.

PENG, L.; LIU, J.; XU, W.; LUO, Q. et al. SARS-CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. *J Med Virol*, 92, n. 9, p. 1676-1680, 09 2020.

PERLMAN, S. Another Decade, Another Coronavirus. *N Engl J Med*, 382, n. 8, p. 760-762, 02 2020.

PETRILLI, C. M.; JONES, S. A.; YANG, J.; RAJAGOPALAN, H. et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ*, 369, p. m1966, May 22 2020.



- PLANAS, D.; BRUEL, T.; GRZELAK, L.; GUIVEL-BENHASSINE, F. et al. Sensitivity of infectious SARS-CoV-2 B.1.1.7 and B.1.351 variants to neutralizing antibodies. *Nat Med*, 27, n. 5, p. 917-924, 05 2021.
- PLANT, E. P.; PÉREZ-ALVARADO, G. C.; JACOBS, J. L.; MUKHOPADHYAY, B. et al. A three-stemmed mRNA pseudoknot in the SARS coronavirus frameshift signal. *PLoS Biol*, 3, n. 6, p. e172, Jun 2005.
- PLANTE, J. A.; LIU, Y.; LIU, J.; XIA, H. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*, 592, n. 7852, p. 116-121, 04 2021.
- PORTE, L.; LEGARRAGA, P.; VOLLRATH, V.; AGUILERA, X. et al. Evaluation of a novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis*, 99, p. 328-333, Oct 2020.
- POYIADJI, N.; SHAHIN, G.; NOUJAIM, D.; STONE, M. et al. COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: Imaging Features. *Radiology*, 296, n. 2, p. E119-E120, 08 2020.
- PREMKUMAR, L.; SEGOVIA-CHUMBEZ, B.; JADI, R.; MARTINEZ, D. R. et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol*, 5, n. 48, 06 2020.
- PYRC, K.; BERKHOUT, B.; VAN DER HOEK, L. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1. *J Virol*, 81, n. 7, p. 3051-3057, Apr 2007.
- QIN, Z.; PENG, R.; BARAVIK, I. K.; LIU, X. Fighting COVID-19: Integrated Micro- and Nanosystems for Viral Infection Diagnostics. *Matter*, 3, n. 3, p. 628-651, Sep 02 2020.
- RADIA, T.; WILLIAMS, N.; AGRAWAL, P.; HARMAN, K. et al. Multi-system inflammatory syndrome in children & adolescents (MIS-C): A systematic review of clinical features and presentation. *Paediatr Respir Rev*, 38, p. 51-57, Jun 2021.
- RAFAEL, R. D. M. R.; NETO, M.; DEPRET, D. G.; GIL, A. C. et al. Effect of income on the cumulative incidence of COVID-19: an ecological study. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 28, 2020.
- RAHIMI, F.; TALEBI BEZMIN ABADI, A. Implications of the Emergence of a New Variant of SARS-CoV-2, VUI-202012/01. *Arch Med Res*, Jan 2021.
- RAJ, V. S.; OSTERHAUS, A. D.; FOUCHIER, R. A.; HAAGMANS, B. L. MERS: emergence of a novel human coronavirus. *Curr Opin Virol*, 5, p. 58-62, Apr 2014.
- RAMBAUT, A.; HOLMES, E. C.; O'TOOLE, Á.; HILL, V. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol*, 5, n. 11, p. 1403-1407, 11 2020.
- RAMBAUT, A.; LOMAN, N.; PYBUS, O.; ETAL. Preliminary genomic characterisation of an
- RANA, D. R.; POKHREL, N. Sequence mismatch in PCR probes may mask the COVID-19 detection in Nepal. *Mol Cell Probes*, p. 101599, May 2020.

RAVINDRAN, R.; MCREYNOLDS, C.; YANG, J.; HAMMOCK, B. D. et al. Immune response dynamics in COVID-19 patients to SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *PLoS One*, 16, n. 7, p. e0254367, 2021.

RECALCATI, S. Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 34, n. 5, p. e212-e213, 05 2020.

REES-SPEAR, C.; MUIR, L.; GRIFFITH, S. A.; HEANEY, J. et al. The effect of spike mutations on SARS-CoV-2 neutralization. *Cell Rep*, 34, n. 12, p. 108890, 03 2021.

NAVECA, F.; DA COSTA, C.; NASCIMENTO, V.; SOUZA, V. et al. SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P. 1 in Amazonas, Brazil. *virological.org*, 2021.

RELMAN, D. A. Opinion: To stop the next pandemic, we need to unravel the origins of COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, n. 47, p. 29246-29248, 11 24 2020.

RICHARDSON, S.; HIRSCH, J. S.; NARASIMHAN, M.; CRAWFORD, J. M. et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*, Apr 2020.

RIDDELL, S.; GOLDIE, S.; HILL, A.; EAGLES, D. et al. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Viol J*, 17, n. 1, p. 145, 10 2020.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J.; CARDONA-OSPINA, J. A.; GUTIÉRREZ-OCAMPO, E.; VILLAMIZAR-PENÑA, R. et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*, 34, p. 101623, 2020 Mar - Apr 2020.

ROMANO, C. M.; FELIX, A. C.; PAULA, A. V.; JESUS, J. G. et al. SARS-CoV-2 reinfection caused by the P.1 lineage in Araraquara city, Sao Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 63, p. e36, 2021.

RONDINONE, V.; PACE, L.; FASANELLA, A.; MANZULLI, V. et al. VOC 202012/01 Variant Is Effectively Neutralized by Antibodies Produced by Patients Infected before Its Diffusion in Italy. *Viruses*, 13, n. 2, 02 2021.

ROSA, R. B.; DANTAS, W. M.; DO NASCIMENTO, J. C. F.; DA SILVA, M. V. et al. In Vitro and In Vivo Models for Studying SARS-CoV-2, the Etiological Agent Responsible for COVID-19 Pandemic. *Viruses*, 13, n. 3, 02 27 2021.

ROTHER, C.; SCHUNK, M.; SOTHMANN, P.; BRETZEL, G. et al. Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med*, 382, n. 10, p. 970-971, 03 2020.

RUAN, Q.; YANG, K.; WANG, W.; JIANG, L. et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*, 46, n. 5, p. 846-848, 05 2020.

SA RIBERO, M.; JOUVENET, N.; DREUX, M.; NISOLE, S. Interplay between SARS-CoV-2 and the type I interferon response. *PLoS Pathog*, 16, n. 7, p. e1008737, 07 2020.

SABINO, E. C.; BUSS, L. F.; CARVALHO, M. P. S.; PRETE, C. A. et al. Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence. *Lancet*, 397, n. 10273, p. 452-455, 02 2021.

SAFIABADI TALI, S. H.; LEBLANC, J. J.; SADIQ, Z.; OYEWUNMI, O. D. et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*, 34, n. 3, 06 16 2021.

SANDER, J. D.; JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol*, 32, n. 4, p. 347-355, Apr 2014.

SANTARPIA, J. L.; RIVERA, D. N.; HERRERA, V. L.; MORWITZER, M. J. et al. Aerosol and surface contamination of SARS-CoV-2 observed in quarantine and isolation care. *Sci Rep*, 10, n. 1, p. 12732, 07 2020.

SAPKAL, G. N.; YADAV, P. D.; ELLA, R.; DESHPANDE, G. R. et al. Inactivated COVID-19 vaccine BBV152/COVAXIN effectively neutralizes recently emerged B.1.1.7 variant of SARS-CoV-2. *J Travel Med*, 28, n. 4, Jun 2021.

SAÚDE. COVID-19 - Painel coronavirus. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>.

SAVIANO, A.; WRENSCH, F.; GHANY, M. G.; BAUMERT, T. F. Liver Disease and Coronavirus Disease 2019: From Pathogenesis to Clinical Care. *Hepatology*, Dec 17 2020.

SCHERMER, B.; FABRETTI, F.; DAMAGNEZ, M.; DI CRISTANZIANO, V. et al. Rapid SARS-CoV-2 testing in primary material based on a novel multiplex RT-LAMP assay. *PLoS One*, 15, n. 11, p. e0238612, 2020.

SCHÖNRICH, G.; RAFTERY, M. J.; SAMSTAG, Y. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Adv Biol Regul*, 77, p. 100741, 08 2020.

SCHUBERT, K.; KAROUSIS, E. D.; JOMAA, A.; SCAIOLA, A. et al. SARS-CoV-2 Nsp1 binds the ribosomal mRNA channel to inhibit translation. *Nat Struct Mol Biol*, 27, n. 10, p. 959-966, 10 2020.

SCHULTZE, J. L.; ASCHENBRENNER, A. C. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell*, 184, n. 7, p. 1671-1692, 04 2021.

SERRANO, P.; JOHNSON, M. A.; CHATTERJEE, A.; NEUMAN, B. W. et al. Nuclear magnetic resonance structure of the nucleic acid-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein 3. *J Virol*, 83, n. 24, p. 12998-13008, Dec 2009.

SETHURAMAN, N.; JEREMIAH, S. S.; RYO, A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 323, n. 22, p. 2249-2251, Jun 09 2020.

SETO, W. H.; TSANG, D.; YUNG, R. W.; CHING, T. Y. et al. Effectiveness of precautions against droplets and contact in prevention of nosocomial transmission of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Lancet*, 361, n. 9368, p. 1519-1520, May 03 2003.

SHAH, W.; HILLMAN, T.; PLAYFORD, E. D.; HISHMEH, L. Managing the long term effects of covid-19: summary of NICE, SIGN, and RCGP rapid guideline. *BMJ*, 372, p. n136, 01 22 2021.

SHANG, J.; WAN, Y.; LUO, C.; YE, G. et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, n. 21, p. 11727-11734, 05 2020.

SHANG, Z.; CHAN, S. Y.; LIU, W. J.; LI, P. et al. Recent Insights into Emerging Coronavirus: SARS-CoV-2. *ACS Infect Dis*, 7, n. 6, p. 1369-1388, 06 11 2021.

SHEIKH, A.; MCMENAMIN, J.; TAYLOR, B.; ROBERTSON, C. et al. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. *Lancet*, 397, n. 10293, p. 2461-2462, 06 26 2021.

SHI, J.; WEN, Z.; ZHONG, G.; YANG, H. et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*, 368, n. 6494, p. 1016-1020, 05 29 2020.

SHI, P.; SU, Y.; LI, R.; LIANG, Z. et al. PEDV nsp16 negatively regulates innate immunity to promote viral proliferation. *Virus Res*, 265, p. 57-66, 05 2019.

SHI, S.; QIN, M.; SHEN, B.; CAI, Y. et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol*, 5, n. 7, p. 802-810, 07 01 2020.

SHIMABUKURO-VORNHAGEN, A.; GÖDEL, P.; SUBKLEWE, M.; STEMMLER, H. J. et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer*, 6, n. 1, p. 56, 06 15 2018.

SHOKRI, S.; MAHMOUDVAND, S.; TAHERKHANI, R.; FARSHADPOUR, F. Modulation of the immune response by Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Cell Physiol*, 234, n. 3, p. 2143-2151, 03 2019.

SHU, T.; HUANG, M.; WU, D.; REN, Y. et al. SARS-Coronavirus-2 Nsp13 Possesses NTPase and RNA Helicase Activities That Can Be Inhibited by Bismuth Salts. *Virology*, 35, n. 3, p. 321-329, Jun 2020.

SILVA, F. A. F. D.; BRITO, B. B.; SANTOS, M. L. C.; MARQUES, H. S. et al. COVID-19 gastrointestinal manifestations: a systematic review. *Rev Soc Bras Med Trop*, 53, p. e20200714, 2020.

SILVA, S. J. R. D.; GERMANO MENDES, R. P.; ALVES DA SILVA, C. T.; LORUSSO, A. et al. Insights into SARS-CoV-2, the Coronavirus Underlying COVID-19: Recent Genomic Data and the Development of Reverse Genetics Systems. *J Gen Virol*, Jun 2020.

SILVA, S. J. R. D.; MAGALHÃES, J. J. F.; PENA, L. Simultaneous Circulation of DENV, CHIKV, ZIKV and SARS-CoV-2 in Brazil: an Inconvenient Truth. *One Health*, 12, p. 100205, Jun 2021.

SILVA, S. J. R. D.; PAIVA, M. H. S.; GUEDES, D. R. D.; KROKOVSKY, L. et al. Development and Validation of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) for Rapid Detection of ZIKV in Mosquito Samples from Brazil. *Sci Rep*, 9, n. 1, p. 4494, Mar 2019.

SILVA, S. J. R. D.; PARDEE, K.; PENA, L. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for the Diagnosis of Zika Virus: A Review. *Viruses*, 12, n. 1, Dec 2019.

SILVA, S. J. R. D.; PENA, L. Collapse of the public health system and the emergence of new variants during the second wave of the COVID-19 pandemic in Brazil. *One Health*, 13, p. 100287, Dec 2021.

SILVA, S. J. R. D.; PENA, L. J. A word of caution in interpreting COVID-19 diagnostics tests. *J Med Virol*, 93, n. 2, p. 717-718, 02 2021.

SILVA, S. J. R. D.; SILVA, C.; GUARINES, K.; MENDES, R. et al. Clinical and Laboratory Diagnosis of SARS-CoV-2, the Virus Causing COVID-19. *ACS Infect Dis*, Aug 2020.

SILVA, S. Widespread Contamination of SARS-CoV-2 on Highly Touched Surfaces in Brazil During the Second Wave of the COVID-19 Pandemic. *medRxiv*, Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.06.14.21258894v1>.

SINGHAL, T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr*, 87, n. 4, p. 281-286, 04 2020.

SMYRLAKI, I.; EKMAN, M.; LENTINI, A.; RUFINO DE SOUSA, N. et al. Massive and rapid COVID-19 testing is feasible by extraction-free SARS-CoV-2 RT-PCR. *Nat Commun*, 11, n. 1, p. 4812, 09 23 2020.

SONG, E.; ZHANG, C.; ISRAELOW, B.; LU-CULLIGAN, A. et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain. *J Exp Med*, 218, n. 3, 03 01 2021.

SOROKA, M.; WASOWICZ, B.; RYMASZEWSKA, A. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): The Better Sibling of PCR? *Cells*, 10, n. 8, 07 29 2021.

STADLBAUER, D.; AMANAT, F.; CHROMIKOVA, V.; JIANG, K. et al. SARS-CoV-2 Seroconversion in Humans: A Detailed Protocol for a Serological Assay, Antigen Production, and Test Setup. *Curr Protoc Microbiol*, 57, n. 1, p. e100, 06 2020.

STADNYTSKYI, V.; BAX, C. E.; BAX, A.; ANFINRUD, P. The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, n. 22, p. 11875-11877, 06 2020.

STEGEMAN, I.; OCHODO, E. A.; GULEID, F.; HOLTMAN, G. A. et al. Routine laboratory testing to determine if a patient has COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev*, 11, p. CD013787, 11 19 2020.

STOBART, C. C.; SEXTON, N. R.; MUNJAL, H.; LU, X. et al. Chimeric exchange of coronavirus nsp5 proteases (3CLpro) identifies common and divergent regulatory determinants of protease activity. *J Virol*, 87, n. 23, p. 12611-12618, Dec 2013.

SU, S.; WONG, G.; SHI, W.; LIU, J. et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol*, 24, n. 6, p. 490-502, 06 2016.

SUN, Y.; ABRIOLA, L.; NIEDERER, R. O.; PEDERSEN, S. F. et al. Restriction of SARS-CoV-2 replication by targeting programmed -1 ribosomal frameshifting. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118, n. 26, 06 29 2021.

SUTTON, G.; FRY, E.; CARTER, L.; SAINSBURY, S. et al. The nsp9 replicase protein of SARS-coronavirus, structure and functional insights. *Structure*, 12, n. 2, p. 341-353, Feb 2004.

TAI, W.; HE, L.; ZHANG, X.; PU, J. et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*, Mar 2020a.

TAI, W.; HE, L.; ZHANG, X.; PU, J. et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*, 17, n. 6, p. 613-620, 06 2020b.

TAMMARO, A.; ADEBANJO, G. A. R.; PARISELLA, F. R.; PEZZUTO, A. et al. Cutaneous manifestations in COVID-19: the experiences of Barcelona and Rome. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Apr 2020.

TANG, J. W.; NICOLLE, A. D.; KLETTNER, C. A.; PANTELIC, J. et al. Airflow dynamics of human jets: sneezing and breathing - potential sources of infectious aerosols. *PLoS One*, 8, n. 4, p. e59970, 2013.

TANG, N.; BAI, H.; CHEN, X.; GONG, J. et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*, 18, n. 5, p. 1094-1099, 05 2020.

TANG, Y. W.; SCHMITZ, J. E.; PERSING, D. H.; STRATTON, C. W. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol*, 58, n. 6, 05 2020.

TE VELTHUIS, A. J.; ARNOLD, J. J.; CAMERON, C. E.; VAN DEN WORM, S. H. et al. The RNA polymerase activity of SARS-coronavirus nsp12 is primer dependent. *Nucleic Acids Res*, 38, n. 1, p. 203-214, Jan 2010.

TE VELTHUIS, A. J.; VAN DEN WORM, S. H.; SNIJDER, E. J. The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. *Nucleic Acids Res*, 40, n. 4, p. 1737-1747, Feb 2012.

TEGALLY, H.; WILKINSON, E.; GIOVANETTI, M.; IRANZADEH, A. et al. Emergence of a SARS-CoV-2 variant of concern with mutations in spike glycoprotein. *Nature*, Mar 2021.

TINAFAR, A.; JAENES, K.; PARDEE, K. Synthetic Biology Goes Cell-Free. *BMC Biol*, 17, n. 1, p. 64, 08 08 2019.

TOMS, D.; LI, J.; CAI, H. Evaluation of WHO listed COVID-19 qPCR primers and probe in silico with 375 SERS-CoV-2 full genome sequences. *medRxiv*, DOI: 10.1101/2020.04.22.20075697.

- TOPOL, E. J. COVID-19 can affect the heart. *Science*, 370, n. 6515, p. 408-409, 10 23 2020.
- TOTURA, A. L.; BARIC, R. S. SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol*, 2, n. 3, p. 264-275, Jun 2012.
- TSINDA, E. K.; MMBANDO, G. S. Recent updates on the possible reasons for the low incidence and morbidity of COVID-19 cases in Africa. *Bull Natl Res Cent*, 45, n. 1, p. 133, 2021.
- TYRRELL, D. A.; ALMEIDA, J. D.; CUNNINGHAM, C. H.; DOWDLE, W. R. et al. Coronaviridae. *Intervirology*, 5, n. 1-2, p. 76-82, 1975.
- UDUGAMA, B.; KADHIRESAN, P.; KOZLOWSKI, H. N.; MALEKJAHANI, A. et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*, 14, n. 4, p. 3822-3835, 04 28 2020.
- UNGARO, R. C.; SULLIVAN, T.; COLOMBEL, J. F.; PATEL, G. What Should Gastroenterologists and Patients Know About COVID-19? *Clin Gastroenterol Hepatol*, Mar 2020.
- VAN DER HOEK, L.; PYRC, K.; JEBBINK, M. F.; VERMEULEN-OOST, W. et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*, 10, n. 4, p. 368-373, Apr 2004.
- VAN DOREMALEN, N.; BUSHMAKER, T.; MORRIS, D. H.; HOLBROOK, M. G. et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*, Mar 2020.
- VARGA, Z.; FLAMMER, A. J.; STEIGER, P.; HABERECKER, M. et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*, 395, n. 10234, p. 1417-1418, 05 02 2020.
- VAZQUEZ, C.; SWANSON, S. E.; NEGATU, S. G.; DITTMAR, M. et al. SARS-CoV-2 viral proteins NSP1 and NSP13 inhibit interferon activation through distinct mechanisms. *PLoS One*, 16, n. 6, p. e0253089, 2021.
- VERAS, F. P.; PONTELLI, M. C.; SILVA, C. M.; TOLLER-KAWAHISA, J. E. et al. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *J Exp Med*, 217, n. 12, 12 07 2020.
- VERDONI, L.; MAZZA, A.; GERVASONI, A.; MARTELLI, L. et al. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet*, 395, n. 10239, p. 1771-1778, 06 06 2020.
- VERITY, R.; OKELL, L. C.; DORIGATTI, I.; WINSKILL, P. et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *The Lancet infectious diseases*, 20, n. 6, p. 669-677, 2020.
- VIRUSES, C. S. G. O. T. I. C. O. T. O. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, 5, n. 4, p. 536-544, 04 2020.

VITHANI, N.; WARD, M. D.; ZIMMERMAN, M. I.; NOVAK, B. et al. SARS-CoV-2 Nsp16 activation mechanism and a cryptic pocket with pan-coronavirus antiviral potential. *Biophys J*, 120, n. 14, p. 2880-2889, 07 20 2021.

V'KOVSKI, P.; KRATZEL, A.; STEINER, S.; STALDER, H. et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*, 19, n. 3, p. 155-170, 03 2021.

VOGELS, C. B. F.; BREBAN, M. I.; OTT, I. M.; ALPERT, T. et al. Multiplex qPCR discriminates variants of concern to enhance global surveillance of SARS-CoV-2. *PLoS Biol*, 19, n. 5, p. e3001236, 05 2021.

VOGELS, C. B. F.; BRITO, A. F.; WYLLIE, A. L.; FAUVER, J. R. et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets. *Nat Microbiol*, 5, n. 10, p. 1299-1305, 10 2020.

VON WINTERSDORFF, C. Infections caused by the Delta variant (B.1.617.2) of SARS-CoV-2 are associated with increased viral loads compared to infections with the Alpha variant (B.1.1.7) or non-Variants of Concern. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-777577/v1>.

WACHARAPLUESADEE, S.; TAN, C. W.; MANEEORN, P.; DUENGKAE, P. et al. Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nat Commun*, 12, n. 1, p. 972, 02 09 2021.

WALL, E. C.; WU, M.; HARVEY, R.; KELLY, G. et al. Neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 VOCs B.1.617.2 and B.1.351 by BNT162b2 vaccination. *Lancet*, 397, n. 10292, p. 2331-2333, 06 19 2021.

WALLS, A. C.; PARK, Y. J.; TORTORICI, M. A.; WALL, A. et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, Mar 2020.

WAN, S.; XIANG, Y.; FANG, W.; ZHENG, Y. et al. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing. *Journal of medical virology*, 92, n. 7, p. 797-806, 2020.

WANG, D.; HU, B.; HU, C.; ZHU, F. et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, Feb 2020.

WANG, D.; HU, B.; HU, C.; ZHU, F. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *Jama*, 323, n. 11, p. 1061-1069, 2020.

WANG, G. L.; WANG, Z. Y.; DUAN, L. J.; MENG, Q. C. et al. Susceptibility of Circulating SARS-CoV-2 Variants to Neutralization. *N Engl J Med*, 384, n. 24, p. 2354-2356, 06 2021.

WANG, J.; LI, Q.; YIN, Y.; ZHANG, Y. et al. Excessive Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps in COVID-19. *Front Immunol*, 11, p. 2063, 2020.

WANG, K.; CHEN, W.; ZHANG, Z.; DENG, Y. et al. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. *Signal Transduct Target Ther*, 5, n. 1, p. 283, 12 2020.



- WANG, K.; KANG, S.; TIAN, R.; ZHANG, X. et al. Imaging manifestations and diagnostic value of chest CT of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the Xiaogan area. *Clin Radiol*, 75, n. 5, p. 341-347, 05 2020.
- WANG, P.; CASNER, R. G.; NAIR, M. S.; WANG, M. et al. Increased resistance of SARS-CoV-2 variant P.1 to antibody neutralization. *Cell Host Microbe*, 29, n. 5, p. 747-751.e744, 05 2021.
- WANG, P.; NAIR, M. S.; LIU, L.; IKETANI, S. et al. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature*, 593, n. 7857, p. 130-135, 05 2021.
- WANG, Q.; WONG, G.; LU, G.; YAN, J. et al. MERS-CoV spike protein: Targets for vaccines and therapeutics. *Antiviral Res*, 133, p. 165-177, 09 2016.
- WANG, W.; XU, Y.; GAO, R.; LU, R. et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, 323, n. 18, p. 1843-1844, 05 12 2020.
- WEI, S.; KOHL, E.; DJANDJI, A.; MORGAN, S. et al. Direct diagnostic testing of SARS-CoV-2 without the need for prior RNA extraction. *Sci Rep*, 11, n. 1, p. 2402, 01 28 2021.
- WEI, W. E.; LI, Z.; CHIEW, C. J.; YONG, S. E. et al. Presymptomatic Transmission of SARS-CoV-2 - Singapore, January 23-March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 69, n. 14, p. 411-415, Apr 10 2020.
- WEISS, S. R.; LEIBOWITZ, J. L. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res*, 81, p. 85-164, 2011.
- WHITTAKER, E.; BAMFORD, A.; KENNY, J.; KAFOROU, M. et al. Clinical Characteristics of 58 Children With a Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporally Associated With SARS-CoV-2. *JAMA*, 324, n. 3, p. 259-269, 07 21 2020.
- WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when COVID-19 is suspected. 2020. Acesso em: 28 June.
- WHO. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - Situation Report - 36. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200225-sitrep-36-covid-19.pdf?sfvrsn=2791b4e0\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200225-sitrep-36-covid-19.pdf?sfvrsn=2791b4e0_2).
- WHO. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) - Situation Report - 51. 2020b.
- WHO. MERS Situation Update. Disponível em: <http://applications.emro.who.int/docs/EMRPUB-CSR-241-2019-EN.pdf?ua=1&ua=1&ua=1>.
- WIERSINGA, W. J.; RHODES, A.; CHENG, A. C.; PEACOCK, S. J. et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*, 324, n. 8, p. 782-793, Aug 25 2020.
- WILLIAMS, G. H.; LLEWELYN, A.; BRANDAO, R.; CHOWDHARY, K. et al. SARS-CoV-2 testing and sequencing for international arrivals reveals significant cross border transmission of high risk variants into the United Kingdom. *EClinicalMedicine*, p. 101021, Jul 14 2021.

WITTE, K. H.; TAJIMA, M.; EASTERDAY, B. C. Morphologic characteristics and nucleic acid type of transmissible gastroenteritis virus of pigs. *Arch Gesamte Virusforsch*, 23, n. 1, p. 53-70, 1968.

WÖLFEL, R.; CORMAN, V. M.; GUGGEMOS, W.; SEILMAIER, M. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, Apr 2020.

WOLOSHIN, S.; PATEL, N.; KESSELHEIM, A. S. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection - Challenges and Implications. *N Engl J Med*, Jun 2020.

WONG, S. H.; LUI, R. N.; SUNG, J. J. Covid-19 and the digestive system. *J Gastroenterol Hepatol*, 35, n. 5, p. 744-748, May 2020.

WOO, P. C.; LAU, S. K.; CHU, C. M.; CHAN, K. H. et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol*, 79, n. 2, p. 884-895, Jan 2005.

WRAPP, D.; WANG, N.; CORBETT, K. S.; GOLDSMITH, J. A. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367, n. 6483, p. 1260-1263, 03 2020.

WRIGHT, A. V.; NUÑEZ, J. K.; DOUDNA, J. A. Biology and Applications of CRISPR Systems: Harnessing Nature's Toolbox for Genome Engineering. *Cell*, 164, n. 1-2, p. 29-44, Jan 14 2016.

WU, C.; CHEN, X.; CAI, Y.; XIA, J. et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*, 180, n. 7, p. 934-943, 07 01 2020.

WU, J.; SHI, Y.; PAN, X.; WU, S. et al. SARS-CoV-2 ORF9b inhibits RIG-I-MAVS antiviral signaling by interrupting K63-linked ubiquitination of NEMO. *Cell Rep*, 34, n. 7, p. 108761, 02 2021.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 323, n. 13, p. 1239-1242, 04 07 2020.

WYLLIE, A. L.; FOURNIER, J.; CASANOVAS-MASSANA, A.; CAMPBELL, M. et al. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*, 383, n. 13, p. 1283-1286, 09 24 2020.

XIA, H.; SHI, P. Y. Antagonism of Type I Interferon by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *J Interferon Cytokine Res*, 40, n. 12, p. 543-548, 12 2020.

XIAO, A. T.; TONG, Y. X.; ZHANG, S. Profile of RT-PCR for SARS-CoV-2: a preliminary study from 56 COVID-19 patients. *Clin Infect Dis*, Apr 2020.

XIAO, F.; TANG, M.; ZHENG, X.; LIU, Y. et al. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*, Mar 2020.

XIAO, K.; ZHAI, J.; FENG, Y.; ZHOU, N. et al. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*, 583, n. 7815, p. 286-289, 07 2020.

XIAO, S.; LI, Y.; SUNG, M.; WEI, J. et al. A study of the probable transmission routes of MERS-CoV during the first hospital outbreak in the Republic of Korea. *Indoor Air*, 28, n. 1, p. 51-63, Jan 2018.

XIAO, Y.; MA, Q.; RESTLE, T.; SHANG, W. et al. Nonstructural proteins 7 and 8 of feline coronavirus form a 2:1 heterotrimer that exhibits primer-independent RNA polymerase activity. *J Virol*, 86, n. 8, p. 4444-4454, Apr 2012.

XIE, X.; ZHONG, Z.; ZHAO, W.; ZHENG, C. et al. Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology*, 296, n. 2, p. E41-E45, 08 2020.

XU, Y. Unveiling the Origin and Transmission of 2019-nCoV. *Trends Microbiol*, 28, n. 4, p. 239-240, 04 2020.

XU, Z.; SHI, L.; WANG, Y.; ZHANG, J. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 8, n. 4, p. 420-422, 04 2020.

YADAV, P. Comparable neutralization of SARS-CoV-2 Delta AY.1 and Delta in individuals sera vaccinated with BBV152. *bioRxiv*, Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.07.30.454511v1>.

YAN, C.; CUI, J.; HUANG, L.; DU, B. et al. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin Microbiol Infect*, Apr 2020.

YAN, G.; LEE, C. K.; LAM, L. T. M.; YAN, B. et al. Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore. *Lancet Infect Dis*, Mar 2020.

YAN, R.; ZHANG, Y.; LI, Y.; XIA, L. et al. Structural basis for the recognition of the SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, Mar 2020.

YEO, C.; KAUSHAL, S.; YEO, D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 5, n. 4, p. 335-337, 04 2020.

YONGCHEN, Z.; SHEN, H.; WANG, X.; SHI, X. et al. Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*, 9, n. 1, p. 833-836, Dec 2020.

YOUNG, B. E.; ONG, S. W. X.; NG, L. F. P.; ANDERSON, D. E. et al. Viral dynamics and immune correlates of COVID-19 disease severity. *Clin Infect Dis*, Aug 28 2020.

YU, I. T.; LI, Y.; WONG, T. W.; TAM, W. et al. Evidence of airborne transmission of the severe acute respiratory syndrome virus. *N Engl J Med*, 350, n. 17, p. 1731-1739, Apr 2004.

YU, L.; WU, S.; HAO, X.; DONG, X. et al. Rapid Detection of COVID-19 Coronavirus Using a Reverse Transcriptional Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Diagnostic Platform. *Clin Chem*, 66, n. 7, p. 975-977, 07 01 2020.

ZAKI, A. M.; VAN BOHEEMEN, S.; BESTEBROER, T. M.; OSTERHAUS, A. D. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*, 367, n. 19, p. 1814-1820, Nov 2012.

ZALINGER, Z. B.; ELLIOTT, R.; ROSE, K. M.; WEISS, S. R. MDA5 Is Critical to Host Defense during Infection with Murine Coronavirus. *J Virol*, 89, n. 24, p. 12330-12340, Dec 2015.

ZENG, L.; XIA, S.; YUAN, W.; YAN, K. et al. Neonatal Early-Onset Infection With SARS-CoV-2 in 33 Neonates Born to Mothers With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Pediatr*, 174, n. 7, p. 722-725, 07 01 2020.

ZENG, Z.; DENG, F.; SHI, K.; YE, G. et al. Dimerization of Coronavirus nsp9 with Diverse Modes Enhances Its Nucleic Acid Binding Affinity. *J Virol*, 92, n. 17, 09 01 2018.

ZHAI, Y.; SUN, F.; LI, X.; PANG, H. et al. Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7-nsp8 hexadecamer. *Nat Struct Mol Biol*, 12, n. 11, p. 980-986, Nov 2005.

ZHANG, C.; WU, Z.; LI, J. W.; ZHAO, H. et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *Int J Antimicrob Agents*, 55, n. 5, p. 105954, May 2020.

ZHANG, D.; GUO, R.; LEI, L.; LIU, H. et al. Frontline Science: COVID-19 infection induces readily detectable morphologic and inflammation-related phenotypic changes in peripheral blood monocytes. *J Leukoc Biol*, 109, n. 1, p. 13-22, 01 2021.

ZHANG, J.-J.; DONG, X.; CAO, Y.-Y.; YUAN, Y.-D. et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*, 75, n. 7, p. 1730-1741, 2020.

ZHANG, K.; MIORIN, L.; MAKIO, T.; DEHGHAN, I. et al. Nsp1 protein of SARS-CoV-2 disrupts the mRNA export machinery to inhibit host gene expression. *Sci Adv*, 7, n. 6, 02 2021.

ZHANG, L.; LI, L.; YAN, L.; MING, Z. et al. Structural and Biochemical Characterization of Endoribonuclease Nsp15 Encoded by Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *J Virol*, 92, n. 22, 11 15 2018.

ZHANG, Q.; ZHANG, H.; GAO, J.; HUANG, K. et al. A serological survey of SARS-CoV-2 in cat in Wuhan. *Emerg Microbes Infect*, 9, n. 1, p. 2013-2019, Dec 2020.

ZHANG, R.; LI, Y.; ZHANG, A. L.; WANG, Y. et al. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117, n. 26, p. 14857-14863, 06 2020.

ZHANG, Y. Z.; HOLMES, E. C. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, 181, n. 2, p. 223-227, Apr 2020.

ZHAO, B. C.; LIU, W. F.; LEI, S. H.; ZHOU, B. W. et al. Prevalence and prognostic value of elevated troponins in patients hospitalised for coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care*, 8, n. 1, p. 88, Nov 23 2020.

ZHAO, H.; LU, X.; DENG, Y.; TANG, Y. et al. COVID-19: asymptomatic carrier transmission is an underestimated problem. *Epidemiol Infect*, 148, p. e116, 06 11 2020.

ZHAO, J.; YUAN, Q.; WANG, H.; LIU, W. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*, Mar 2020.

ZHENG, M.; SONG, L. Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS-CoV-2 compared to SARS-CoV. *Cell Mol Immunol*, 17, n. 5, p. 536-538, 05 2020.

ZHENG, S.; FAN, J.; YU, F.; FENG, B. et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*, 369, p. m1443, 04 2020.

ZHOU, D.; DEJNIRATTISAI, W.; SUPASA, P.; LIU, C. et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*, 184, n. 9, p. 2348-2361.e2346, 04 2021.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; FAN, G. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, Mar 2020.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; FAN, G. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The lancet*, 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020.

ZHOU, J.; OTTER, J. A.; PRICE, J. R.; CIMPEANU, C. et al. Investigating SARS-CoV-2 surface and air contamination in an acute healthcare setting during the peak of the COVID-19 pandemic in London. *Clin Infect Dis*, Jul 2020.

ZHOU, P.; YANG, X. L.; WANG, X. G.; HU, B. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579, n. 7798, p. 270-273, 03 2020.

ZHOU, Z.; GUO, D.; LI, C.; FANG, Z. et al. Coronavirus disease 2019: initial chest CT findings. *Eur Radiol*, Mar 2020.

ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X. et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*, 382, n. 8, p. 727-733, 02 2020.

ZHU, W.; XIE, K.; LU, H.; XU, L. et al. Initial clinical features of suspected Coronavirus Disease 2019 in two emergency departments outside of Hubei, China. *J Med Virol*, Mar 2020.

ZHU, X.; FANG, L.; WANG, D.; YANG, Y. et al. Porcine deltacoronavirus nsp5 inhibits interferon- $\beta$  production through the cleavage of NEMO. *Virology*, 502, p. 33-38, 02 2017.

ZHU, X.; WANG, D.; ZHOU, J.; PAN, T. et al. Porcine Deltacoronavirus nsp5 Antagonizes Type I Interferon Signaling by Cleaving STAT2. *J Virol*, 91, n. 10, 05 15 2017.

ZOU, L.; RUAN, F.; HUANG, M.; LIANG, L. et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*, 382, n. 12, p. 1177-1179, 03 2020.

ZOU, X.; CHEN, K.; ZOU, J.; HAN, P. et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*, Mar 2020.

ZUMLA, A.; HUI, D. S.; PERLMAN, S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet*, 386, n. 9997, p. 995-1007, Sep 05 2015.

## APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO

Travel Medicine and Infectious Disease 38 (2020) 101884



Contents lists available at ScienceDirect

Travel Medicine and Infectious Disease

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/tmaid](http://www.elsevier.com/locate/tmaid)



Original article

### Epidemiological and clinical characteristics of the first 557 successive patients with COVID-19 in Pernambuco state, Northeast Brazil

Jurandy Júnior Ferraz de Magalhães <sup>a,b,c,\*</sup>, Renata Pessoa Germano Mendes <sup>a,1</sup>,  
Caroline Targino Alves da Silva <sup>a</sup>, Severino Jefferson Ribeiro da Silva <sup>a</sup>,  
Klarissa Miranda Guarines <sup>a</sup>, Lindomar Pena <sup>a,\*</sup>, Others for the Pernambuco COVID-19 Research Group

<sup>a</sup> Department of Virology, Aggeu Magalhães Institute (IAM), Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil

<sup>b</sup> Department of Virology, Pernambuco State Central Laboratory (LACEN/PE), Recife, Pernambuco, Brazil

<sup>c</sup> University of Pernambuco (UPE), Serra Talhada Campus, Serra Talhada, Pernambuco, Brazil

#### ARTICLE INFO

##### Keywords:

Coronavirus disease 2019  
SARS-CoV-2  
Clinical characteristics  
Demographics  
Epidemiology  
Clinics

#### ABSTRACT

**Background:** South America is the current epicenter of COVID-19 pandemic. Yet, the epidemiological and clinical features of the disease have not been described in Brazil, the third most affected country in the world.

**Methods:** In this retrospective study, we describe the demographics, epidemiology and clinical features of the first 557 consecutive patients positive for SARS-CoV-2 living in Pernambuco state, Northeast Brazil.

**Results:** The first COVID-19 cases occurred in the high income population. The age of infected patients ranged from 27 days to 97 years with a median of 47 years. The ratio of males to female in the SARS-CoV-2-infected group was 0.83:1. The most common symptom was cough (74.51%), followed by fever (66.79%), dyspnea (56.01%), sore throat (28.19%) and O<sub>2</sub> saturation <95% (24.42%). 86.44% of the lethal cases were patients older than 51 years. The median time from illness onset to diagnosis was 4.0 days (range 0–39 days). Severe patients diagnosed after 14 days of symptoms onset had higher viral load than patients with mild disease.

**Conclusions:** Our study provides important information about COVID-19 in the tropics and will assist physicians and health officials to face the current pandemic as SARS-CoV-2 continues to spread in the human population.

#### 1. Introduction

In late December 2019, a cluster of severe pneumonia cases of unknown origin was reported in Wuhan, Hubei Province, China [1]. The disease, later named coronavirus disease 2019 (COVID-19), was caused by a novel coronavirus identified as severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) [2,3]. Similar to other highly pathogenic coronaviruses (CoVs -SARS-CoV and Middle East respiratory syndrome CoV (MERS-CoV), SARS-CoV-2 belongs to  $\beta$  genus within the Coronaviridae family and emerged from bats.

The rapid spread of SARS-CoV-2 around the world caused the World Health Organization (WHO) to declare COVID-19 as a pandemic on March 11, 2020 [4]. China was the first epicenter of pandemic, followed by Europe, the USA, and now South America. On February 26, 2020,

Brazil reported the first case in Latin America in a São Paulo patient returning home after a work trip to Italy from February 9th to 21st. The patient had a mild respiratory disease characterized by coryza, dry cough, and sore throat [5–7]. Since then, the number of COVID-19 cases in Brazil has increased steadily and the country has become the third most affected in the world after the USA and India. Given the paucity of diagnostic tests in developing countries, the actual incidence of COVID-19 in Brazil is heavily underestimated. For instance, while the USA has done 282,114 tests per million inhabitants, Brazil has performed only 68,143 tests/million people (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). As of September 15, 2020, Brazil has confirmed 4.3 million COVID-19 cases and 132,297 deaths (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). Pernambuco is one of the most affected state in Brazil with 137,869 cases and 7914 deaths [8].

\* Corresponding author. Department of Virology, Aggeu Magalhães Institute (IAM), Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Avenida Professor Moraes Rego, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.

E-mail address: [lindomar.pena@cpqam.fiocruz.br](mailto:lindomar.pena@cpqam.fiocruz.br) (L. Pena).

<sup>1</sup> These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101884>

Received 30 June 2020; Received in revised form 17 September 2020; Accepted 18 September 2020

Available online 21 September 2020

1477-8939/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

The emergence of SARS-CoV-2 caused a profound change in the global scenario and recruited public health authorities and research groups from different parts of the world to fill knowledge gaps in the biology and pathogenesis of this devastating pathogen. Although the epidemiological and clinical presentation of COVID-19 has been well documented in several countries of the Northern Hemisphere, information regarding the clinical features of COVID-19 in Latin America, especially in Brazil, remains scarce and limited. Thus, an updated analysis of cases could help to significantly improve our knowledge and consequently provide insights into COVID-19 in this region of the planet, given its unique climate, social dynamics, population genetics and political scenario [9].

Here, we describe for the first time the clinical, epidemiological and demographic features of the first 557 laboratory-confirmed COVID-19 cases in Pernambuco state, Northeast Brazil, who were diagnosed between March 12 and April 22, 2020.

## 2. Methods

### 2.1. Study design and participants involvement

A total of 557 patients living in Pernambuco state with a positive SARS-CoV-2 nucleic acid test were included in this study. Patients were considered to have confirmed COVID-19 infection if they had at least one positive RT-qPCR test for SARS-CoV-2. This study was approved by the UPE Institutional Review Board under protocol CAAE: 27607619.0.0000.5207 and was performed in accordance with relevant guidelines e regulations, including the Brazilian National Health Council (CNS) Resolution 466/2012. The requirement for informed consent study was waived based on the nature of this observational retrospective study, in which patient identifying information were kept confidential.

### 2.2. Data collection

Patient epidemiological information, demographic and clinical characteristics, including medical history, signs and symptoms, laboratory findings, underlying co-morbidities, and date of disease onset were obtained from electronic medical records of the Pernambuco Central Public Health Laboratory (LACEN) and analyzed. Patient outcome data were obtained from March 12 to 22 April 2020, the final date of follow-up.

### 2.3. Laboratory confirmation

All COVID-19 patients enrolled in this study were diagnosed according to World Health Organization interim guidance [10]. Laboratory confirmation was performed at the Pernambuco LACEN, which is one of the designated laboratories for the diagnosis of SARS-CoV-2 in this state. Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs were collected from patients presenting respiratory signs of disease compatible with COVID-19. After sample collection, viral RNA was extracted using the ReliaPrep Viral TNA Miniprep System Kit (Promega, Madison, WI, USA), according to the manufacturers' instructions and the RNA was used for RT-qPCR following the protocol for SARS-CoV-2 detection established by Corman and coworkers [11].

### 2.4. Spatial analysis

Spatial analysis were done by georeferencing only the addresses of individuals residing in Recife (n = 306), capital of the State of Pernambuco and city with the largest number of confirmed cases of COVID-19 at the time of this analysis. For that, the QGIS software (<https://qgis.org/en/site/>) was used to plot home addresses and the Kernel Density Estimation method was applied to identify the neighborhoods with the highest concentration of COVID-19 cases. We also calculated the incidence of infection in the neighborhoods and that concentration of cases

were displayed on a heat map. The location of the georeferenced addresses was produced on a scale of 1:215,000, which means that on the map, the location of the addresses presents an error of approximately 0.4 mm (40 m on the real scale). Therefore, the addresses of individuals are located in an area of approximately 2500 m<sup>2</sup>. As Recife is an urbanized city, ethical concerns are not applicable because it is not possible to verify the exact location of each residence. The cartographic base used was acquired in shapefile format at the website of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) in the Geocentric Reference System for the Americas (SIRGAS) 2000. In addition, we built a graduated map with information on the income of households in the neighborhoods from the city of Recife and we classified the neighborhoods based on the amount of minimum wages received to correlate the distribution of COVID-19 cases within the different ranges of household income of the studied population. We used data on minimum wages and average monthly nominal income per household from the last Brazilian census (<http://censo2010.ibge.gov.br/>).

### 2.5. Statistical analysis

Microsoft Office Excel (version 2010) was used to build a database with patient's information. Data process and analysis were made using the GraphPad Prism version 6.0 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Continuous variables were expressed as medians and interquartile ranges, as appropriate. Categorical variables were summarized as counts and percentages. A chi-square test was used to investigate the level of association among variables. Statistically significant differences were defined as  $p < 0.05$ .

## 3. Results

### 3.1. Study population

From 12 March to April 22, 2020, a total of 2772 suspected cases-1616 females (58.30%) and 1156 males (41.70%) - were collected and tested for SARS-CoV-2 at the Pernambuco LACEN by RT-qPCR. From total cases, 557 (20.09%) were positive for SARS-CoV-2. These were the first COVID-19 cases reported in the state. Fig. 1 illustrates the epidemic distribution in Pernambuco state. The highest number of cases (n = 304, 54.58%) occurred in the city of Recife, capital of Pernambuco, followed by the metropolitan cities Jabotão dos Guararapes (n = 43, 7.72%), Olinda (n = 43, 7.72%), Paulista (n = 30, 5.39%), São Lourenço da Mata (n = 23, 4.13%), and Camaragibe (n = 16, 2.87%).

### 3.2. Spatial analysis

The first 304 cases of COVID-19 in Recife were georeferenced using the Kernel Density Estimate. The highest case numbers were concentrated in the neighborhoods of Casa Amarela, Parnamirim, Rosarinho, Encruzilhada, Espinheiro, Graças, Torre, Madalena, and Boa Viagem (Fig. 1A). The Rosarinho neighborhood had the highest incidence of COVID-19 (12.26/10<sup>4</sup> inhabitants) and also had the highest number of cases per square kilometer (20/km<sup>2</sup>), while the Guabiraba neighborhood had the lowest incidence (1.58/10<sup>4</sup> inhabitants) and a lower number of cases per square kilometer (0.02/km<sup>2</sup>). Regarding the distribution of COVID-19 cases in the different household income ranges (Fig. 1B), we found that SARS-CoV-2 infections occurred in neighborhoods with greater purchasing power. Of the nine neighborhoods highlighted on the heat map, seven had households with earnings greater than 10 minimum wages, demonstrating that the first COVID-19 cases in Pernambuco target the high income population.

### 3.3. Cumulative number of COVID-19 cases

Fig. 2A presents the cumulative number of COVID-19 cases recorded weekly. The first positive case for SARS-CoV-2 in the state of



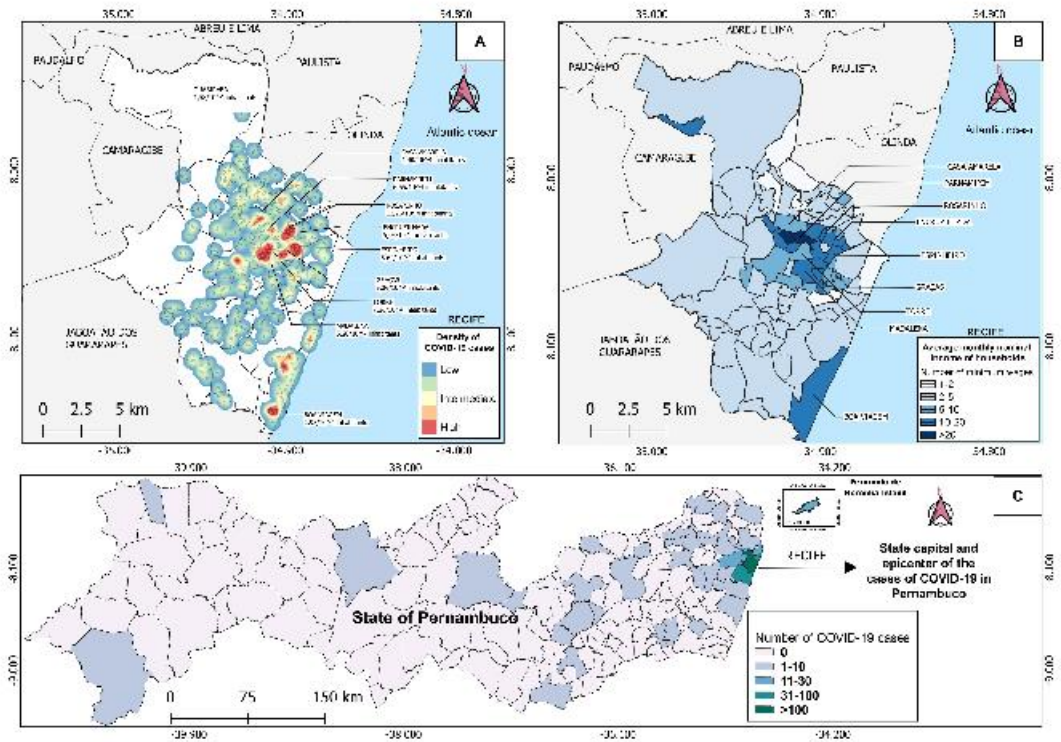


Fig. 1. Spatial analysis of COVID-19 cases in Pernambuco state, Brazil. Fig. 1A shows the spatial distribution of COVID-19 cases in Recife, Pernambuco capital as heat map. The Kernel Density Estimate was used to show the areas with the highest concentration of cases associated with the incidence of the disease in some neighborhoods. Fig. 1B shows a graduated map with information on the average nominal monthly household income converted into the amount of minimum wages. Fig. 1C shows the cities with COVID-19 positive cases in the State of Pernambuco.

Pernambuco was notified on March 12, 2020. During the first week, 29 (5.20%) cases and 2 (3.38%) deaths were registered. The fourth week (from 7 to 14 April) registered the greatest increase in the number of cases and deaths. A total of 354 (63.55%) cases and 29 (49.15%) deaths were recorded in that period, which corresponded to 501 (89.94%) accumulated positive cases and 58 (98.30%) deaths.

### 3.4. Patient epidemiological features

The age of SARS-CoV-2 infected patients ranged from 27 days to 97 years with a mean of 48.57 years and a median of 47 (interquartile range [IQR], 32 to 68). The ratio of males to female in the SARS-CoV-2-infected group was 0.83:1 (45.42% males/54.58% females; chi-square test,  $p = 0.46$ ), showing a slight higher incidence in females than males. The highest number of cases occurred in patients aged 31–40 years old ( $n = 128$ , 22.98%), followed by the 41–50 years age group ( $n = 121$ , 21.72%), and the group embracing patients from 51 to 60 years old ( $n = 101$ , 18.13%). During the study period, a total of 59 deaths occurred. Among these, 51 (86.44%) were patients older than 51 years. Although the incidence was more elevated in females, the number of deaths tended to be higher in males (55.93% versus 44.06%), despite the difference not reaching statistical significance (chi-square test,  $p = 0.87$ ). The mean age of deceased patients was 66.06 years and the median was 65 (interquartile range, 51.5–82.5). The highest mortality rate was observed in patients in the 61–70 years age group ( $n = 18$ , 30.50%), followed by the 51 to 60 age group ( $n = 11$ , 18.64%) (Fig. 2B).

### 3.5. Clinical features

Fig. 3A summarizes the main symptoms presented at the time of patient notification. The most common symptom was cough ( $n = 415$ , 74.51%), followed by fever ( $n = 372$ , 66.79%), dyspnea ( $n = 312$ , 56.01%), sore throat ( $n = 157$ , 28.19%) and  $O_2$  saturation  $<95\%$  ( $n = 136$ , 24.42%). Some patients also presented myalgia ( $n = 28$ , 5.03%), headache ( $n = 24$ , 4.31%), running nose ( $n = 20$ , 3.59%), diarrhea ( $n = 17$ , 3.05%), and vomiting ( $n = 9$ , 1.62%). Fig. 3B shows the symptoms according to age groups. The most prevalent symptom in patients aged less than 20 years old were fever, cough and dyspnea. In addition to these symptoms, sore throat, myalgia, headache, diarrhea, vomiting and runny nose were more common in people aged over 20 years old. The

highest rate of patients with saturation  $<95\%$  was found in individuals aged over 61 years. The average time from the symptoms onset to notification date was 4.85 days while among deceased patients this number was 4.52 days.

### 3.6. Virus shedding patterns at the time of SARS-CoV-2 diagnosis

We next sought to investigate the virus shedding pattern in patients at the time of diagnosis. Information on the quantitation cycle (Cq) was available for 388 patients. The Cq value was used to estimate the viral load of patient's nasopharyngeal specimens, in which lower Cq values indicate higher amount of virus. The median Cq of the patients was 26.3 (SD = 5.7) and ranged from 13.3 to 39.3. To evaluate SARS-CoV-2 shedding patterns in this cohort, the data were further stratified according to the day of symptoms onset at the time of sampling. The median time from illness onset to diagnosis was 4.0 days (SD = 4.7), with a range of 0–39 days (Fig. 4A). We then compared the viral load of severe cases (patients that were admitted to ICU and the ones that have died) with mild cases at different days since symptoms onset (Fig. 4B). There was no statistically significant difference in viral load at the time of diagnosis of patients with mild or severe COVID-19 up to 14 days of symptoms onset. However, patients with severe disease diagnosed after 14 days of symptoms onset had higher viral load than patients with mild disease ( $p = 0.0218$ ).

### 3.7. Clinical evolution and associated comorbidities

The clinical evolution of patients reported up to the date of notification (April 22nd, 2020) indicated that 50.63% (282/557) were in self-isolation, 26.93% (150/557) were in general hospital wards, 5.38% (30/557) required intensive care unit (ICU) care, 6.46% (36/557) fully recovered from the disease and 10.59% (59/557) of the patients evolved to death (Table 1).

Information on comorbidities was available to 116 patients. A total of 72.27% of the patients reported comorbidities. The most common comorbidity was arterial hypertension (26.72%), followed by diabetes mellitus (16.38%), cardiovascular diseases (13.79%), asthma (6.89%), lung disease (4.31%), obesity (2.59%), and kidney disease (0.87%) (Fig. 5).

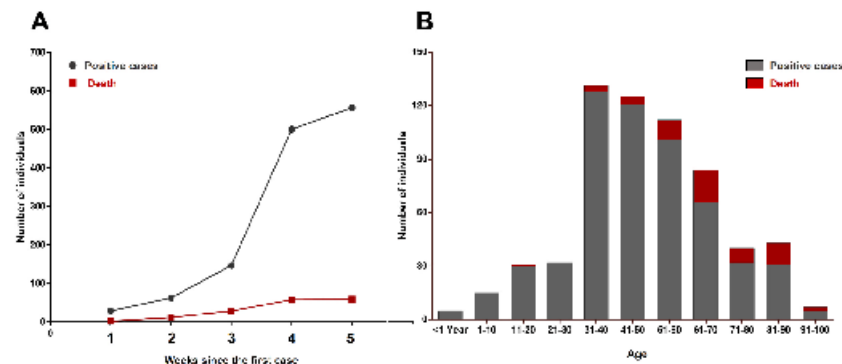


Fig. 2. Epidemiological features of COVID-19 patients ( $n = 557$ ) in Pernambuco, Brazil. A) Cumulative number of COVID-19 infected and deceased patients recorded weekly since the first diagnostic. B) Age distribution in COVID-19 lethal and non-lethal cases.

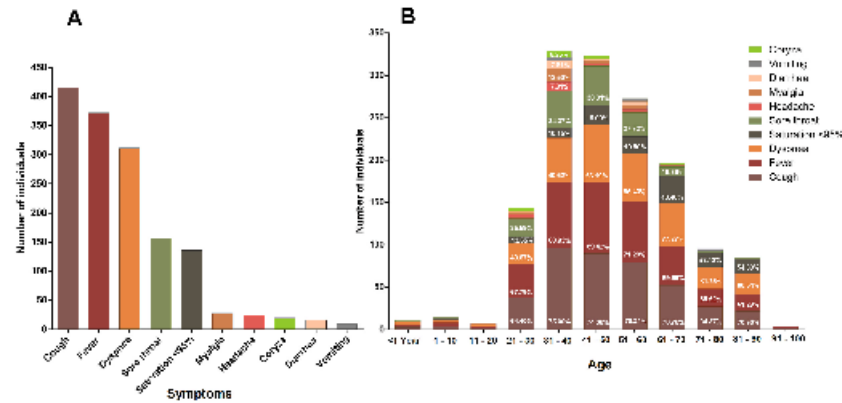


Fig. 3. Clinical features of COVID-19 patients (n = 557) in Pernambuco, Brazil. A) Main symptoms presented at the time of patient notification. B) Symptoms distribution according to the age group.

4. Discussion

Brazil remains the third most affected country after the USA and India. After its initial detection on February 26, 2020, SARS-CoV-2 has spread to all its 26 states and the federal district. Yet, the epidemiological and clinical profile of COVID-19 in Brazil has not been reported in the literature. Here, we described for the first time the epidemiological and clinical characteristics of the first 557 consecutive patients diagnosed with SARS-CoV-2 in the state of Pernambuco between 12 March and April 22, 2020. The first patients diagnosed with SARS-CoV-2 in Pernambuco were an elderly couple (71-year-old man and 66-year-old woman) returning from Rome, Italy on 29 February and whose diagnostic was confirmed on 12 March. The couple lived in the Boa Viagem, a high-income neighborhood located in the southern region of the city (Fig. 1). This couple had returned from a trip to Italy and sought medical treatment on March 5, 2020, when Italy already had 3858 confirmed cases of COVID-19 (WHO). On March 17, Pernambuco reported local transmission of SARS-CoV-2 for the first time and since then the number of new cases has increased steadily first in the metropolitan area and then spreading to inland cities. The state capital, Recife had the highest number of COVID-19 cases in the study period. As shown in Fig. 1B, the first SARS-CoV-2 cases were concentrated in neighborhoods with a higher nominal monthly household income, such as the Rosarinho, Epinheiro, and Boa Viagem neighborhoods that had average earnings above 10 Brazilian minimum wages. Our data is in agreement with a study done in Rio de Janeiro, Brazil in which the highest rates of COVID-19 were observed in the wealthiest regions [13].

Despite the epidemiological evidence and the first detection of SARS-CoV-2 in the Boa Viagem neighborhood with subsequent spread mainly to high income neighborhoods, it is not possible to say with certainty that SARS-CoV-2 infections in Pernambuco started from these places. For that, robust phylogeography analyses based on SARS-CoV-2 genomic sequences from these patients would be necessary to definitely understand the its transmission dynamics and associate it with clinical and epidemiological data. Nevertheless, individuals with high household income are more likely to take costly international trips and are therefore expose themselves to the risk of acquiring an infection overseas. In fact, the index COVID-19 case in Brazil was diagnosed in São

Paulo in patient returning from a trip from Italy. Phylogenetic analyses of the first patients in São Paulo coupled with travel history information confirmed multiple independent importations from Italy and local spread during the initial stage of SARS-CoV-2 transmission in the country [13]. Our results highlights the importance of emerging diseases strengthening programs and preventing people who have traveled to different locations in the world from returning to their countries without undergoing quarantine and testing upon return to their home country.

The median age of the patients included in this study was 47 years (IQR 32 to 68), ranging from 27 days to 97 years. However, the median age of deceased patients was 65 years. In our study, only 14 cases (2.51% of total) were reported in patients aged less than 20 years, whereas a large proportion of cases (44,70% of total) were in patients aged 31–50 years old. Lethal cases in this cohort were concentrated in patients older than 51 years, which accounted for 86.44% of total deaths. Our data is in agreement with a study conducted by Guan et al. where the median age of SARS-CoV-2 infected patients was 47 years (IQR: 35 to 58) and only 0.9% of patients were under 15 years old [14]. In another study carried out in China, the most affected patients were in the 50–59 years age group, whereas fatal cases were concentrated in the 70–79 years group [15].

In our study, a higher proportion of women sought medical attention upon suspecting of a respiratory disease (58.30% females and 41.70% males) and SARS-CoV-2 positivity was higher in female (54.58% than males (45.42%). The data is in agreement with 102,646 cases of COVID-19 cases reported in Canada to date, in which 56% occurred in females [16]. This sex discrepancy in our study might be due to lifestyle behavior in which women are more likely to seek medical care at the first signs of disease than men. The COVID-19 lethality in this study showed a higher tendency in males than females (55.93% versus 44.06%), although it not reached statistical significance. In general, the men to women ratio of COVID-19 prevalence is the same, but men with COVID-19 tend have higher risk of developing the severe forms of the disease and die from it [17,18].

We found that cough, fever and dyspnea were the most common symptoms. The main symptoms showed in our study were also reported by others [19–22]. Wan et al., 2020 demonstrated that fever (88.9%) and cough (76.5%) were also the most common symptoms, however,

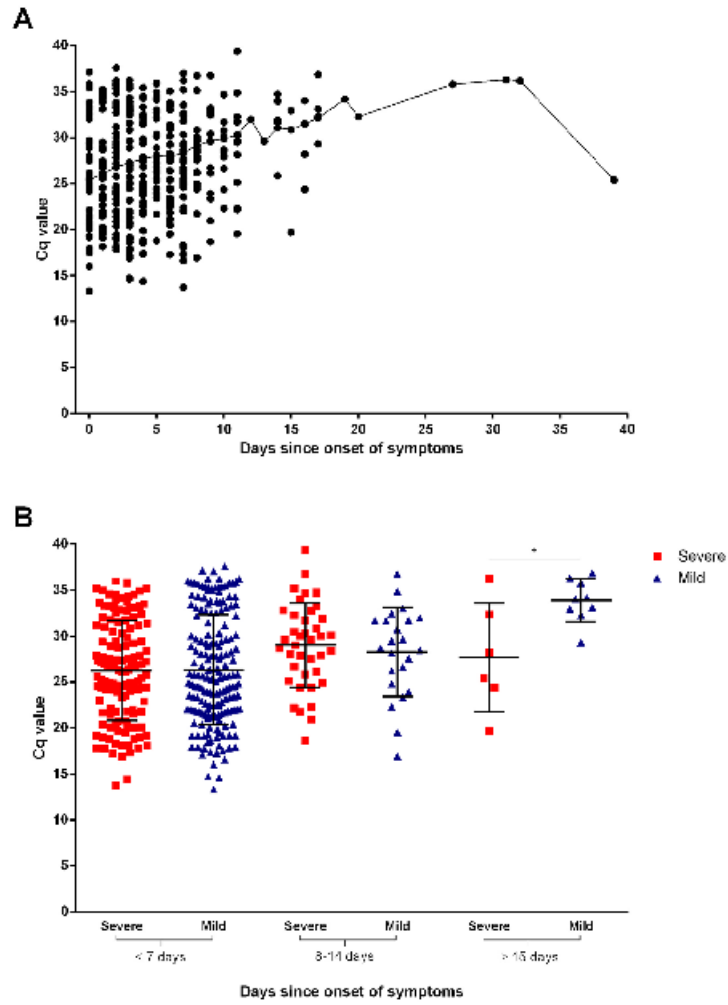


Fig. 4. Virus shedding patterns at the time of diagnosis. A) Viral load in nasopharyngeal swabs according to the date of symptoms onset. B) Viral load in severe and mild patients according to the date of symptoms onset. \* $p < 0.05$ .

**Table 1**  
Epidemiological features of COVID-19 patients (n = 557) in Pernambuco, Brazil.

Age	<1 year N = 5 (%)	1-10 N = 6 (%)	11-20 N = 3 (%)	21-30 N = 59 (%)	31-40 N = 128 (%)	41-50 N = 121 (%)	51-60 N = 101 (%)	61-70 N = 66 (%)	71-80 N = 32 (%)	81-90 N = 31 (%)	91-100 N = 5 (%)	
<b>Sex</b>												
Female	304 (54.58)	1 (20.00)	3 (50.00)	2 (66.66)	35 (59.32)	77 (66.15)	60 (49.59)	53 (52.48)	34 (51.52)	18 (56.25)	18 (58.06)	3 (60.00)
Male	253 (45.42)	4 (80.00)	3 (50.00)	1 (33.34)	24 (40.68)	51 (39.85)	61 (50.41)	48 (47.52)	32 (48.48)	14 (43.75)	13 (41.94)	2 (40.00)
<b>Evolution</b>												
Total	282 (50.63)	3 (60.00)	2 (33.33)	1 (33.33)	48 (81.35)	88 (68.75)	70 (57.85)	50 (49.50)	10 (15.15)	5 (15.62)	4 (12.90)	1 (20.00)
Self-isolation	150 (28.53)	2 (40.00)	4 (66.66)	-	6 (10.17)	24 (18.75)	39 (32.25)	24 (23.76)	27 (40.91)	14 (43.75)	10 (32.26)	-
Hospital wards	30 (5.36)	-	-	-	2 (3.38)	1 (0.78)	3 (2.48)	8 (7.92)	6 (9.09)	4 (12.50)	5 (16.13)	1 (20.00)
ICU	59 (10.59)	-	-	-	1 (1.67)	3 (2.34)	4 (3.31)	11 (10.89)	18 (27.27)	8 (25.00)	12 (38.71)	2 (40.00)
Recovered	36 (6.46)	-	-	1 (33.33)	3 (5.08)	12 (9.36)	5 (4.13)	8 (7.92)	5 (7.58)	1 (3.13)	-	1 (40.00)

Numbers between parentheses indicate percentage of patients in each age group.

dyspnea was present in only 13.3% of patients [23]. Gastrointestinal manifestations were less prevalent. Lower frequency of gastrointestinal symptoms is also shown in other studies [14,20].

The virus shedding pattern in patients at the time of diagnosis was investigated in this study. Our data demonstrated that the median time from symptoms onset to viral RNA shedding was 4 days, ranging from 0 to 39 days. This data is in agreement with a study in Wuhan in which the longest duration of viral shedding in survivors was 37 days [21]. Comparison of the SARS-CoV-2 load of severe cases with mild cases at different days since symptoms onset did not find a statistically significant difference up to 14 days of symptoms onset, but lately diagnosed patients (after 14 days) had higher viral load than patients with mild disease ( $p = 0.0218$ ). Recently, Liu and co-workers studied the viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19 and found that patients with severe disease had about 60 times higher viral load than that of mild cases [24], irrespective of the day of symptoms onset.

In this cohort, 10.59% of the patients died from COVID-19. The high case-fatality rate may be overestimated in this cohort may be due scarcity of testing in Brazil compared to developed countries. For instance, Brazil has performed only 68,143 tests per million people,

whereas this rate in developed countries is over 100 thousand per million inhabitants. As of September 15, 2020, the case-fatality rate of COVID-19 is about 3.15%, with 936,651 deaths and 29,648,872 confirmed cases worldwide (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). A significant proportion of cases (72.27%) in this cohort reported comorbidities and arterial hypertension was the most common condition associated with COVID-19 infection followed by diabetes mellitus. Our findings is in accordance with a study investigating the first 1000 consecutive patients in New York [25] and also in other regions of the world [26].

**5. Conclusion**

SARS-CoV-2 continues to spread in Brazil causing unprecedented challenges to the country's health system. Herein, we described the epidemiological and clinical manifestations of the first 557 successive COVID-19 patients in Pernambuco state, Northeast Brazil. Our study provided important information about the demographics, clinics and epidemiology of COVID-19 in the tropical world and will assist physicians and health officials to face the current pandemics and be better

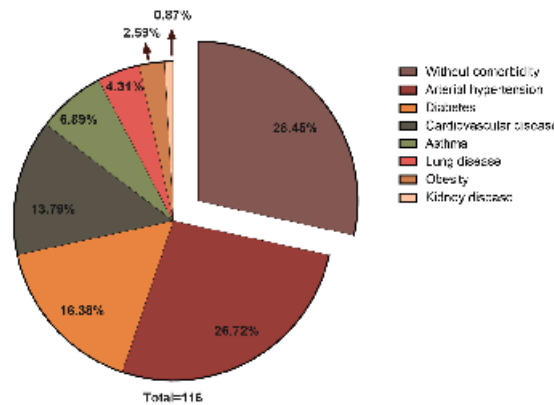


Fig. 5. Clinical comorbidities in COVID-19 positive patients.



J.L.F. Magalhães et al.

Travel Medicine and Infectious Disease 38 (2020) 101884

prepared to counteract future incursions of highly transmissible respiratory pathogens in the human population.

#### CRedit authorship contribution statement

Jurandy Júnior Ferraz de Magalhães: Study design, Data collection, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Renata Pessoa Germano Mendes: Study design, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Caroline Targino Alves da Silva: Study design, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Severino Jefferson Ribeiro da Silva: Study design, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Klarissa Miranda Guarines: Study design, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Lindomar Pena: Study design, Data analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing. Supervision, Funding acquisition, Others for the Pernambuco COVID-19 Research Group: Data collection, Data analysis, Writing - review & editing.

#### Declaration of competing interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Acknowledgments

C.T.A.S. and S.J.R.d.S. are supported by a Master's and doctoral fellowships sponsored by the Foundation for Science and Technology of Pernambuco (Facepe)-Brazil, respectively. R.P.G.M. is recipient of a Master's fellowship sponsored by CAPES-Brazil. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. We would like to express our sincere gratitude and appreciation to the Pernambuco State Health Secretary Dr. André Longo de Araújo Melo, the Executive Secretary of Health Surveillance Dr. Luciana Caroline Albuquerque, and their staff at the Pernambuco State Health Department for their contribution for the diagnosis of Covid-19 and providing the clinical epidemiological data of individuals affected by SARS-CoV-2 in Pernambuco. Dr. Pena is supported by grants from the International Development Research Centre (IDRC)-Canada (Project ID 109434) and the Fiocruz Inova Program.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101884>.

#### References

- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
- 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* 2020;382:727-33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- Zhou F, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270-3. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.
- WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) - situation report - 51. 2020. [https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200331-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=13a62d57\\_10](https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200331-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=13a62d57_10). [Accessed 28 June 2020].
- PAHO. Brazil confirma primeiro caso de infecção pelo novo coronavírus. 2020. [http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6113:brasil-confirma-primeiro-caso-de-infeccao-pelo-novo-coronavirus&Itemid=812](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6113:brasil-confirma-primeiro-caso-de-infeccao-pelo-novo-coronavirus&Itemid=812). [Accessed 28 June 2020].
- Rodríguez-Morales AJ, Gallego V, Escobedo-Antemana JP, Mendez CA, Zambrano LJ, Franco-Paredes C, et al. COVID-19 in Latin America: the implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis* 2020;35:101613. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101613>.
- de Freitas ESR, Pitzerra R. What are the factors influencing the COVID-19 outbreak in Latin America? *Travel Med Infect Dis* 2020;35:101667. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101667>.
- Pernambuco SHD. Boletim epidemiológico COVID-19. Recife, Pernambuco: State Health Department; 2020. <http://portal.sma.se.gov.br/boletim-epidemiologico-covid-19>. [Accessed 28 June 2020].
- The Lancet. COVID-19 in Brazil: 'so what?' *Lancet* 2020;395(10235):1461. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31095-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31095-3).
- WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when COVID-19 is suspected. 2020. <https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-covid-19-is-suspected>. [Accessed 28 June 2020].
- 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* 2020; 25. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>.
- Rafael R, Neto M, Depret D, Gill A, Fonseca M, Sousa-Santos R. Effect of income on the cumulative incidence of COVID-19: an ecological study. *Rev Latino-Am Enferm* 2020;28:11. <https://doi.org/10.1590/S1518-0545.4475.2044>.
- Jesus JO, Sacchi C, Cardido DDS, et al. Importation and early local transmission of COVID-19 in Brazil, 2020, vol. 62. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 2020. p. e36. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202002030>.
- Guan WJ, Ni Y, Liu Y, Liang WH, Ou QJ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>.
- Verity R, Okell LC, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect Dis* 2020. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30243-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30243-7).
- Canada Go. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): epidemiological summary-covid-19-cases.html. [Accessed 28 June 2020].
- Gebauer C, Heggie-Zagrosek V, Nienhauer HK, Morgan R, Klein SL. Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biol Sex Differ* 2020;11(1):29. <https://doi.org/10.1186/s12993-020-00504-5>.
- Jin JM, Bai P, He W, et al. Gender differences in patients with COVID-19: focus on severity and mortality. *Front Public Health* 2020;8:152. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00152>.
- Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020;395:507-13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
- Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *J Am Med Assoc* 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3).
- Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yang YB, Yan YQ, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy* 2020. <https://doi.org/10.1111/all.14230>.
- Wan S, Xiang Y, Pang W, Zhang Y, Li R, Hu Y, et al. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.20783>.
- Liu Y, Yan LM, Wan L, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis* 2020;20(6):656-7. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30232-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30232-2).
- Argenteiro MG, Bruce SL, Slater CL, Tiao JB, Baldwin MR, Barr RG, et al. Characterization and clinical course of 1000 patients with coronavirus disease 2019 in New York: retrospective case series. *BMJ* 2020;369:m1996. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1996>.
- Gold MS, Sahayek D, Gabrielli S, Zhang X, McCusker C, Ben-Shoshan M. COVID-19 and comorbidity: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med* 2020. <https://doi.org/10.1080/00252481.2020.1786964>.

**ANEXO A – PRODUÇÃO ADEMÊMICA DURANTE O DOUTORADO**

1. SILVA, SEVERINO JEFFERSON RIBEIRO; NASCIMENTO, JÉSSICA CATARINE FRUTUOSO; SANTOS REIS, WENDELL PALÔMA MARIA; SILVA, CAROLINE TARGINO ALVES; SILVA, POLIANA GOMES; MENDES, RENATA PESSÔA GERMANO; MENDONÇA, ALLYSON ANDRADE; SANTOS, BÁRBARA NAZLY RODRIGUES; MAGALHÃES, JURANDY JÚNIOR FERRAZ; KOHL, ALAIN; PENA, LINDOMAR. Widespread Contamination of SARS-CoV -2 on Highly Touched Surfaces in Brazil During the Second Wave of the COVID -19 Pandemic. *Environmental Microbiology*, v. -, p. -, 2021.
2. GUARINES, KLARISSA MIRANDA; MENDES, RENATA PÊSSOA GERMANO; DE MAGALHÃES, JURANDY JÚNIOR FERRAZ; PENA, LINDOMAR. Partial Genome Sequences of Human Norovirus Strains from Northeast Brazil. *Microbiology Resource Announcements*, v. 9, p. e01135-19, 2020.
3. SILVA, S. J. R.; MAGALHÃES, J.J.F; MENDES, R. P.; PENA, L. J. Has Zika Virus Established a Sylvatic Cycle in South America?. *ACTA TROPICA*, v. 105525, p. 105525, 2020.
4. MAGALHÃES, J.J.F.; MENDES, R. P.; SILVA, S. J. R.; SILVA, C.; GUARINES, K. M.; PENA, L. J.; GROUP, P. C. R. Epidemiological and Clinical Characteristics of the First 557 Successive Patients with COVID-19 in Pernambuco State, Northeast Brazil. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 1, p. 101884, 2020.
5. SILVA, S. J. R.; MAGALHÃES, J.J.F; PENA, L. J. Simultaneous circulation of DENV, CHIKV, ZIKV and SARS-CoV-2 in Brazil: An inconvenient truth. *One Health*, v. 12, p. 100205, 2020.
6. MIRANDA GUARINES, KLARISSA; MENDES, RENATA PÊSSOA GERMANO; MAGALHÃES, JURANDY JÚNIOR FERRAZ; PENA, LINDOMAR. Norovirus; Associated Gastroenteritis, Pernambuco, Northeast Brazil, 2014; 2017. *JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY*, v. 2019, p. 1-9, 2019.