



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

AVYNER ALMEIDA SOARES

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR E SOROLÓGICO DE PACIENTES INFECTADOS
COM SARS-COV-2 EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM
CAMPINA GRANDE-PB**

CAMPINA GRANDE-PB

JULHO-2022

AVYNER ALMEIDA SOARES

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR E SOROLÓGICO DE PACIENTES INFECTADOS
COM SARS-COV-2 EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM
CAMPINA GRANDE-PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Orientador (a): Prof. Dr. Patrícia Maria de Freitas e Silva.

CAMPINA GRANDE-PB

JULHO-2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S676d Soares, Avyner Almeida.
Diagnóstico molecular e sorológico de pacientes infectados com SARS-COV-2 em um laboratório de análises clínicas em Campina Grande-PB [manuscrito] / Avyner Almeida Soares. - 2022.
26 p. : il. colorido.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.
"Orientação : Profa. Dra. Patrícia Maria de Freitas e Silva, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Covid-19. 2. Diagnóstico sorológico. 3. Diagnóstico molecular. I. Título

21. ed. CDD 617.22

AVYNER ALMEIDA SOARES

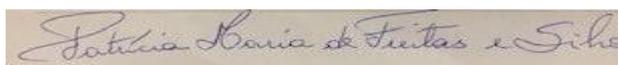
DIAGNÓSTICO MOLECULAR E SOROLÓGICO DE PACIENTES INFECTADOS COM
SARS-COV-2 EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM CAMPINA
GRANDE-PB

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Aprovado em: 15/07/2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Patrícia Maria de Freitas e Silva (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Heronides dos Santos Pereira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Maria do Socorro Ramos de Queiroz
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

RESUMO

O diagnóstico do paciente vítima de Covid-19 (Coronavirus disease-19) no contexto da pandemia possui particularidades que devem ser ressaltadas. Objetivando definir o perfil sorológico e molecular de pacientes com suspeita de Covid-19 em um laboratório de Análises Clínicas em Campina Grande-PB, entre os meses de maio e setembro de 2020, foram avaliados 299 resultados de exames que utilizaram técnicas de RT-PCR (Real Time Polimerase Chain Reaction), de imunocromatografia (teste rápido) e quimioluminescência. A faixa etária compreendida entre 31- 40 anos foi a que apresentou mais infectados (30%). As pessoas do gênero feminino constituíram a maioria dos exames positivos com 58%. Os maiores percentuais de elevação dos anticorpos IgM, o anticorpo que caracteriza doença ativa, ocorreram entre o oitavo e décimo quinto dia dos sintomas, com 28% de pacientes positivos. Também entre o oitavo e décimo quinto dia, 24,7% das pessoas apresentaram IgG reagente, o anticorpo que caracteriza convalescência. Entre o primeiro e sétimo dia de sintomas, 36,7% dos pacientes apresentaram PCR positivos. A maioria destes parâmetros laboratoriais se elevaram no momento esperado após o início dos sintomas, porém, em menor percentual, é importante registrar a ocorrência de marcadores da doença também fora do tempo esperado. Alerta-se para o surgimento de perfil sorológico diferenciado desta doença em pacientes que apresentaram IgM e IgG elevados simultaneamente, podendo, nesses casos, haver condições de transmissão do patógeno, independentemente do tempo do início dos sintomas. Foram registradas também situações incomuns em que pacientes assintomáticos apresentaram marcadores sorológicos de doença ativa (IgM), de convalescência (IgG) e, inclusive, de presença do vírus na nasofaringe detectada através da técnica molecular de RT-PCR. Tal fato adverte para a possibilidade de a ausência dos sintomas não corresponder à impossibilidade de transmissão. Conclui-se que, na maioria das pessoas, a elevação dos anticorpos e o exame PCR demonstraram positividade em consonância com o início dos sintomas, porém, algumas vezes, faz-se necessária a verificação de vários parâmetros laboratoriais para a realização de diagnóstico efetivo de Covid-19, não podendo tal doença ser descartada na ausência de apenas um dos marcadores no tempo esperado.

Palavras-chave: Covid-19, diagnóstico sorológico, diagnóstico molecular.

ABSTRACT

The diagnosis of the patient victim of Covid-19 (Coronavirus disease-19) in the context of the pandemic has particularities that should be highlighted. Aiming to define the serological and molecular profile of patients with suspected Covid-19 in a Clinical Analysis laboratory in Campina Grande-PB, between May and September 2020, 299 tests results that used RT-PCR techniques were evaluated. (Real Time Polymerase Chain Reaction), immunochromatography (rapid test) and chemiluminescence. The age group between 31-40 years was the one with the most infected (30%). Females constituted the majority of positive exams with 58%. The highest percentages of elevation of IgM antibodies (the antibody that characterizes active disease) occurred between the eighth and fifteenth day of symptoms, with 28% of positive patients. Furthermore, between the eighth and fifteenth day, 24.7% of the people had reactive IgG, the antibody that characterizes the convalescence phase. Between the first and seventh day of symptoms, 36.7% of patients were PCR positive. Most of these laboratory parameters increased at the expected time after the onset of symptoms, however, in a lower percentage, it is important to record the occurrence of disease markers outside the expected time. We are alert to the emergence of a differentiated serological profile of this disease in patients who presented elevated IgM and IgG simultaneously, and in these cases, there may be conditions of transmission of the pathogen, regardless of the time of onset of symptoms. Unusual situations were also recorded in which asymptomatic patients presented serological markers of active disease (IgM), convalescence (IgG) and even the presence of the virus in the nasopharynx detected through the molecular technique of RT-PCR. This fact warns of the possibility that the absence of the symptoms does not correspond to the impossibility of transmission. It is concluded that, in most people, the elevation of antibodies and the PCR test showed positivity at the expected time in relation to the onset of symptoms, however, sometimes, it is necessary to verify several laboratory parameters to make an effective diagnosis of Covid-19, and this disease cannot be ruled out in the absence of only one of the markers in the expected time.

Keywords: Covid-19, serological diagnosis, molecular diagnosis.

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1. Faixa etária de pacientes com exames reagentes para Covid-19..... | 16 |
| Gráfico 2. Exames reagentes para Covid-19 de acordo com o gênero..... | 17 |
| Tabela 1. Início dos sintomas dos pacientes que apresentaram IgM, IgG e PCR reagentes para Covid-19..... | 19 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 7 |
| 2 OBJETIVOS | 9 |
| 2.1. Objetivo geral | 9 |
| 2.2. Objetivos específicos | 9 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA | 10 |
| 3.1. VÍRUS DA FAMÍLIA <i>CORONAVIRIDAE</i> | 10 |
| 3.2. CICLO DE VIDA DO CORONAVÍRUS | 10 |
| 3.3. RECEPTORES VIRAIS | 11 |
| 3.4. SINTOMATOLOGIA | 11 |
| 3.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL | 12 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 13 |
| 4.1. Tipo de pesquisa e testes utilizados | 13 |
| 4.1.1. RT-PCR (Real time polimerase chain reaction) | 13 |
| 4.1.2. Teste rápido (imunocromatografia) | 14 |
| 4.1.3. Quimioluminescência para Covid-19 | 14 |
| 4.2. Local da pesquisa: | 15 |
| 4.3. População e amostra: | 15 |
| 4.4. Processamento e análise dos dados: | 15 |
| 4.5. Aspectos éticos | 15 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 6 CONCLUSÃO | 23 |
| REFERÊNCIAS | 24 |

1. INTRODUÇÃO

O Coronavírus é uma família de vírus que causa infecções respiratórias. Suas características quando observadas em microscopia eletrônica, lembram uma coroa (daí o nome “corona”) formada por estruturas circulares ligadas a espículas de superfície com um bulbo na porção terminal (LEVINSON, 2016).

Os primeiros registros do novo Coronavírus (Covid-19) ocorreram no dia 31 de dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China. No Brasil, o primeiro caso confirmado da Covid-19 foi registrado no dia 26 de fevereiro de 2020 em São Paulo. A disseminação da doença não só causou danos à saúde da população, mas também problemas socioeconômicos como: dificuldade na sustentação econômica do sistema financeiro e da população; adoecimento mental das pessoas em tempos de confinamento e temor pelo risco de infecção e morte; e obstáculos no acesso a bens essenciais como alimentação, medicamentos, transporte, entre outros (VILELA FILHO *et al.*, 2022).

A transmissão do novo coronavírus se dá de pessoa para pessoa, através do contágio das membranas mucosas pelo vírus, de forma que ele é liberado por meio de gotículas respiratórias provenientes de espirros, tosse e fala. Geralmente nas fases iniciais da infecção os principais sintomas são: febre (83-98%), tosse (76 a 82%), mialgia ou fadiga (11% a 44%) e dificuldades de respirar. Diarreia, falta de ar, dor de cabeça, dor de garganta e corrimento nasal, dor no peito, náusea e vômito são sinais menos frequentes (LAUER *et al.*, 2020). O período de incubação do vírus varia de 2-14 dias (MCINTOSH, 2020).

Diferentemente de outros Coronavírus, muitos pacientes infectados com o SARS-CoV-2 podem ser assintomáticos, assim, a testagem laboratorial assume uma relevância crítica para assegurar o controle da pandemia, pois pessoas sem sintomas podem estar transmitindo o vírus (LIPPI *et al.*, 2020).

O diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2 pode ser feito pelo teste molecular da reação de polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR) nas amostras do trato respiratório (LIPPI *et al.*, 2020). Além disso, pode ser feito a pesquisa de anticorpos específicos, particularmente IgM e IgG anti-SARS-CoV-2 por imunoenaios (MIZUMOTO *et al.*, 2020).

Os testes de diagnóstico para Covid-19 são essenciais para rastrear o vírus, entender a epidemiologia, informar o gerenciamento de casos e suprimir a transmissão. Os profissionais da saúde estruturam os dados e informações que estão sendo coletados através dos resultados dos testes. Com isso, é possível rastrear cidadãos que estão contaminados, prover serviços de

análise estatística e acompanhamento da evolução do quadro geral nas diferentes regiões do país, de tal forma a prover mecanismos que auxiliem na tomada de decisão e ações estratégicas em diferentes cenários de transmissão do surto da doença (BORGES *et al.*, 2020).

Até o momento, poucas terapias se provaram efetivas no tratamento do paciente hospitalizado com Covid-19, sendo recomendados apenas corticosteroides e profilaxia para tromboembolismo. Diversos medicamentos foram considerados ineficazes, devendo ser descartados, de forma a oferecer o melhor tratamento pelos princípios da medicina baseada em evidências e promover economia de recursos não eficazes (FALAVIGNA; CARVALHO, 2022).

Em busca de reduzir a disseminação desse vírus e acabar com a pandemia, cientistas do mundo todo trabalharam em busca do desenvolvimento de vacinas eficientes e seguras em tempo recorde para combater o patógeno. Entre algumas das aprovadas e com amplo uso no Brasil estão as vacinas da Oxford/Astrazeneca, Janssen, CoronaVac e Pfizer cada uma com um meio de ação específico, eficácias e custos diferentes (VILELA FILHO *et al.*, 2022)

O presente trabalho teve como objetivo comparar várias metodologias laboratoriais para detectar anticorpos IgM e IgG visando o diagnóstico de Coronavírus.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o resultado de diferentes metodologias de exames laboratoriais no diagnóstico de Covid-19 realizados em um laboratório de Análises Clínicas em Campina Grande-PB, correlacionando com os sintomas clínicos dos pacientes.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os pacientes que apresentaram exames positivos para Covid-19 quanto à idade;
- Caracterizar os pacientes que apresentaram exames positivos para Covid-19 quanto ao gênero;
- Identificar pacientes com IgM e IgG simultaneamente reagentes para a pesquisa do Coronavírus;
- Identificar os pacientes assintomáticos que apresentaram exames positivos para Covid-19.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. VÍRUS DA FAMÍLIA *CORONAVIRIDAE*

A doença do novo coronavírus 2019 (Covid-19) é uma ameaça ao sistema de saúde global. Em 11 de março de 2020, o diretor geral da Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu a disseminação da doença causada pelo Coronavírus (Covid-19) como pandemia (WHO, 2020), sendo tal vírus denominado SARS-CoV-2. Alertou-se para a homologia de sequência de material genético (mais de 80%) com o vírus que causou a epidemia de SARS em 2003 (SARS-CoV-1) (LIPPI; PLEBANI, 2020).

Alguns tipos conhecidos de Coronavírus estão relacionados a doenças respiratórias leves e moderadas, parecidas com uma gripe comum, com sintomas como tosse, febre e falta de ar. Outras cepas dessa família de vírus podem causar quadros mais graves, como é o caso do vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) identificada em 2002 (WHO, 2003). Esta doença alcançou proporções pandêmicas, atingindo 29 países em 5 continentes, causando mais de 8.400 casos com aproximadamente 900 óbitos até agosto de 2003, quando medidas agressivas de intervenção na saúde pública conseguiram conter a pandemia. Dez anos após a identificação do SARS-CoV, um novo Coronavírus foi identificado a partir de um caso de doença respiratória grave na Arábia Saudita, (MERS- CoV-2), a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (Middle East respiratory syndrome coronavirus) com 2.494 casos confirmados laboratorialmente e 858 mortes (WHO, 2013).

Os Coronavírus apresentam um genoma de RNA de fita simples, de polaridade positiva, não segmentado, com 100 a 160 nm de diâmetro. Todos os Coronavírus são geneticamente relacionados e são os maiores vírus RNA (CHEN *et al.*, 2020).

3.2. CICLO DE VIDA DO CORONAVÍRUS

O ciclo de infecção do Coronavírus é considerado zoonótico, pois tem como hospedeiro intermediário os animais, e estes são os responsáveis pela transmissão para o ser humano. Embora muitos animais selvagens tenham sido testados para evidenciar infecções pelo SARS-CoV, apenas um, o morcego-ferradura, mostrou um padrão de infecção consistente com a condição de reservatório natural do SARS-CoV; 30 a 85% desses morcegos provenientes de Hong-Kong e algumas províncias da China apresentavam anticorpos para o Coronavírus, com alguns desses vírus já tendo sido sequenciados geneticamente (SBP, 2020).

3.3. RECEPTORES VIRAIS

O SARS-CoV-2 (Covid-19) é um vírus de ácido ribonucleico (RNA), cujo material genético é representado por uma única molécula de RNA positivo (RNA+). Todo o seu genoma contém menos de 30.000 nucleotídeos, cada um deles formado por uma molécula de açúcar (ribose), um ácido fosfórico e uma base nitrogenada. Por ser um vírus RNA, as bases nitrogenadas são adenina, citosina, guanina e uracila. Aproximadamente 29 diferentes proteínas virais são identificadas; entre elas, as mais relevantes são a glicoproteína de pico, reconhecida como proteína S, e a proteína N, do nucleocapsídeo viral. A glicoproteína de pico permite a entrada do vírus na célula hospedeira pela ligação ao receptor celular e à fusão da membrana. A proteína do nucleocapsídeo, por sua vez, regula o processo de replicação viral (UZUNIAN, 2020).

O vírus SARS-CoV-2 é classificado como RNA+ devido à sua direção no sentido 5'3', o que significa que pode ser lido diretamente pelas estruturas celulares. É considerado um tipo de RNA mensageiro que, ao ser percorrido por ribossomos celulares, induz a produção de proteínas virais (UZUNIAN, 2020).

No processo infeccioso, o SARS-CoV-2 tem sua entrada e seu processo de replicação facilitados nas linhagens celulares que possuem como receptores ECA2 (enzima conversora da angiotensina). O vírus se liga a esse receptor através da sua proteína Spike (S) (ZHANG, 2020).

Wan e colaboradores (2020) reportaram que o receptor ECA2 reconhece o domínio de ligação ao receptor do SARS-CoV-2, pelo resíduo, 394, correspondente à glutamina. Este achado justifica o fato do sítio da infecção ocorrer majoritariamente no pulmão (83% da enzima se concentra neste órgão). No entanto, sabe-se da existência dessa enzima em tecidos extrapulmonares, como coração, rins, endotélio e intestino, o que pode estar associado a complicações nesses órgãos decorrentes do SARS COV-2, com desencadeamento de algumas manifestações clínicas dessa doença, tais como falta de ar, tosse, diarreia e dor no peito (ZHAO, 2020).

3.4. SINTOMATOLOGIA

O espectro clínico da infecção por SARS-CoV-2 pode variar de sintomas leves até a síndrome respiratória aguda grave. Segundo o CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2020), idade avançada, doenças cardíacas, sistema imunológico comprometido, doença renal crônica, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e obesidade são alguns dos fatores de risco que podem levar uma pessoa a desenvolver um caso grave de Covid-19.

Diferentemente de outros Coronavírus, muitos pacientes infectados com o SARS-CoV-2 podem ser assintomáticos, assim, a testagem laboratorial assume uma relevância crítica para assegurar o controle da pandemia, pois pessoas sem sintomas podem estar transmitindo o vírus (LIPPI *et al.*, 2020).

3.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O padrão ouro para o diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2 é a reação de polimerase em cadeia em tempo real (RT-PCR) nas amostras do trato respiratório, um teste molecular. Porém, a sua precisão diagnóstica depende de muitos fatores, inclusive variáveis pré-analíticas como tipos de amostras e sua coleta, transporte e condições de estocagem, bem como a qualidade e consistência do ensaio de PCR que está sendo usado. A coleta das amostras na nasofaringe é um procedimento relativamente invasivo e desconfortável e pode causar tosse, espirros e gerar aerossóis, o que constitui perigo potencial para a saúde dos trabalhadores (MIZUMOTO *et al.*, 2020).

Outra forma de diagnóstico é através da pesquisa de anticorpos específicos, particularmente IgM e IgG anti-SARS-CoV-2, que pode ser usado como um método não invasivo adicional para detectar a doença, especialmente em pacientes que apresentam baixa carga viral. As metodologias utilizadas podem ser imunocromatografia, que está relacionada aos testes rápidos, e quimioluminescência, um imunoenensaio que utiliza substâncias luminescentes (TO *et al.*, 2020).

A presença da imunoglobulina IgM caracteriza fase aguda da doença, ou seja, doença em atividade, surgindo após o início dos sintomas. A IgG demonstra que o paciente teve a virose ou entrou em contato com o vírus e desenvolveu resposta imune para o mesmo em 7 a 14 dias. Importante ressaltar que o prazo do surgimento desses anticorpos depende de alguns fatores como capacidade de resposta imune de cada paciente e a carga viral a que foi submetido. Dessa forma, é perfeitamente possível encontramos esses anticorpos em um prazo diferente do que estabelece a literatura. Particularmente na Covid-19, tem-se observado, em alguns pacientes, a presença das duas imunoglobulinas simultaneamente, provavelmente devido a presença de um IgM residual que permanece no organismo por mais tempo do que o previsto, dificultando a caracterização da fase clínica da doença em que o paciente se encontra (DU *et al.*, 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Tipo de pesquisa e testes utilizados

Foi realizado um estudo prático, laboratorial, descritivo e de abordagem quantitativa. Todos os dados foram obtidos a partir de informações retiradas da planilha de trabalho do laboratório. Os seguintes testes foram realizados para avaliação dos casos:

4.1.1. RT-PCR (Real time polymerase chain reaction)

É um método molecular em que se analisa uma pequena sequência de RNA (no caso de Coronavírus) ou DNA, mesmo em amostras contendo apenas quantidades minúsculas de DNA ou RNA. PCR é usado para amplificar seções selecionadas de DNA ou RNA. Para copiar o DNA ou RNA é necessário:

- Dois “primers” de DNA ou RNA de cadeia única curtas que são sintetizadas para corresponder ao início e ao final do trecho a ser copiado;
- Enzima chamada polimerase que se move ao longo do segmento do DNA, lendo seu código e montando uma cópia;
- Nucleotídeos para construção do RNA ou DNA que a polimerase precisa para fazer essa cópia.

Três passos estão envolvidos em um PCR que são repetidos por 30 ou 40 ciclos. Os ciclos são feitos em um termociclador automatizado, um dispositivo que aquece rapidamente e resfria os tubos de teste que contêm a mistura de reação. Cada passo - desnaturação (alteração de estrutura), anelamento (junção) e extensão - ocorre a uma temperatura diferente:

1. Desnaturação: A 94° C (201,2 F), o material genético se abre em dois pedaços de um único fio.

2. Anelamento: Em temperaturas médias, em torno de 54° C (129,2 F), os primers emparelham-se (anneal) com o modelo "template" (O modelo é a sequência de material genético a ser copiado.) No pequeno comprimento do material genético (o primer e o modelo unidos), a polimerase anexa e começa a copiar o modelo.

3. Extensão: A 72° C (161,6 F), a polimerase funciona melhor, e os nucleotídeos do material genético complementares ao modelo são acoplados ao primer, fazendo uma molécula duplamente emparelhada. Com um ciclo, um único segmento de modelo de RNA é amplificado em dois pedaços separados. Essas duas peças estão então disponíveis para amplificação no próximo ciclo. À medida que os ciclos se repetem, mais e mais cópias são geradas e o número de cópias do modelo aumenta exponencialmente. Se o microrganismo que se está procurando

na amostra não estiver presente ali, então não ocorre amplificação do material genético (WHO, 2020; WEISS, 2011; CUI *et al.*, 2019; SU *et al.*, 2019).

4.1.2. Teste rápido (imunocromatografia)

Teste Coronavírus (Covid-19) IgG/IgM (Teste Rápido) é um imunoenensaio qualitativo baseado em membrana para a detecção de anticorpos do novo Coronavírus em sangue total, soro ou plasma. O teste consiste em dois componentes, um componente IgG e um componente IgM. No componente IgG, a região da linha de teste IgG é revestida com um anti-IgG humano. Durante o teste, a amostra reage com as partículas revestidas de antígeno de Covid-19 no dispositivo de teste. A mistura em seguida, migra para cima na membrana cromatográfica por capilaridade e reage com o anti-IgG humano na região da linha de teste de IgG. Se a amostra contém anticorpos IgG contra Covid-19, uma linha colorida aparece na região da linha de teste IgG. No componente IgM, a região da linha de teste de IgM é revestida com um anti-IgM humano. Durante o teste, a amostra reage com o anti-IgM humano. Anticorpos IgM do Covid-19, se presentes na amostra, reagem com o anti-IgM humano e com as partículas revestidas de antígeno de Covid-19 no dispositivo de teste, e esse complexo é capturado pelo anti-IgM humano, formando uma linha colorida na região da linha de teste de IgM. Portanto, se a amostra contém anticorpos IgG do Covid-19, uma linha colorida aparece na região da linha de teste IgG. Se a amostra contém anticorpos IgM do Covid-19, uma linha colorida aparece na região da linha de teste IgM. Se a amostra não contém anticorpos do Covid-19, nenhuma linha colorida aparece em nenhuma das linhas de teste, indicando um resultado negativo. Como procedimento de controle, uma linha colorida sempre aparecerá na região da linha de controle, indicando que houve absorção apropriada através da membrana para a realização do teste (WHO, 2020).

4.1.3. Quimioluminescência para Covid-19

É um imunoenensaio de quimioluminescência qualitativo e quantitativo, a amostra pré-diluída, tampão e microesferas magnéticas recobertas com o antígeno recombinante do vírus são misturados completamente e incubados, formando 12 imunocomplexos. Após a precipitação em campo magnético, o sobrenadante será decantado e iniciado o ciclo de lavagem. Assim, serão acrescentados ABEI (anticorpo anti-IgG marcados com substâncias luminescentes) e incubados para formar complexos. Após precipitação em campo magnético, o sobrenadante será decantado e realizado outro ciclo de lavagem. Depois, o iniciador 1+2 será acrescentado para iniciar a reação de quimioluminescência. O sinal de luz é medido por um

fotomultiplicador à medida que unidades de luzes relativas (RLUs) sejam proporcionais à concentração do anticorpo IgG ou IgM presentes na amostra (WHO, 2020).

4.2. Local da pesquisa:

A pesquisa foi realizada em um laboratório privado em Campina Grande-PB através da verificação de dados coletados das planilhas do laboratório.

4.3. População e amostra:

Foram utilizadas amostras de plasma/soro e swab nasal coletadas de pacientes que comparecerem ao laboratório de Análises Clínicas durante os meses de maio a setembro de 2020. Foram 299 pacientes que coletaram sangue ou swab nasal no laboratório para realização dos testes para Covid-19 no referido período.

As diferentes metodologias foram realizadas (PCR, teste rápido e quimioluminescência) de acordo com as requisições médicas e preferências dos pacientes.

Os pacientes foram pessoas com ou sem sintomas da infecção provocada pelo Coronavírus que se dirigiram ao laboratório com o objetivo de esclarecer a fase clínica da doença em que se encontravam. Também foram incluídos no estudo, pacientes que entraram apenas em contato com pessoas contaminadas, além de alguns pacientes que realizaram o exame por curiosidade, sem nenhum motivo específico.

4.4. Processamento e análise dos dados:

Os dados foram avaliados estatisticamente e dispostos em gráficos e tabelas.

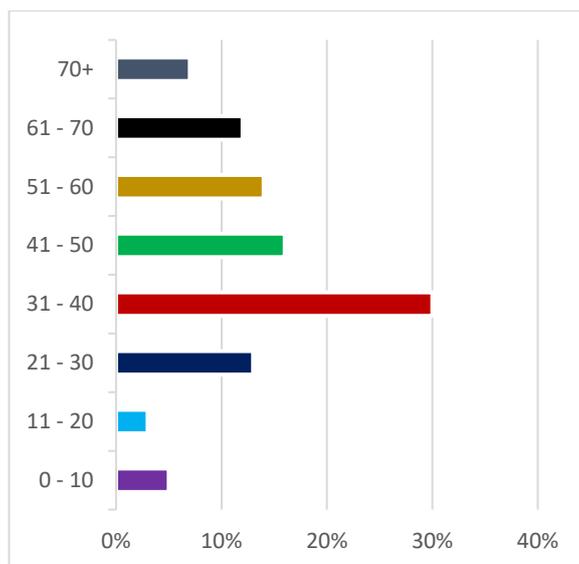
4.5. Aspectos éticos

O trabalho foi aceito pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba sob o seguinte número do parecer: 4.860.679.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No gráfico 1, pode-se observar a faixa etária dos pacientes que apresentaram exames laboratoriais reagentes para Covid-19. A faixa etária compreendida entre 31 - 40 anos foi a que apresentou mais infectados, com 89 (30%) casos reagentes. Pacientes com 41 - 50 anos ficaram em segundo lugar no número de infectados com 48 (16%) casos reagentes, seguidos dos pacientes entre 51 - 60 anos que apresentaram 40 (14%) casos confirmados, pacientes entre 21 - 30 anos com 37 (13%) casos, pacientes entre 61 - 70 anos com 34 casos (12%), idosos com mais de 70 anos apresentaram 21 (7%) casos, crianças de 0 - 10 anos tiveram 14 (5%) casos confirmados, e pacientes entre 11 - 20 anos apresentaram menos casos confirmados, com apenas 10 (3%) casos entre o total dos casos estudados.

Gráfico 1. Faixa etária de pacientes com exames reagentes para Covid-19.



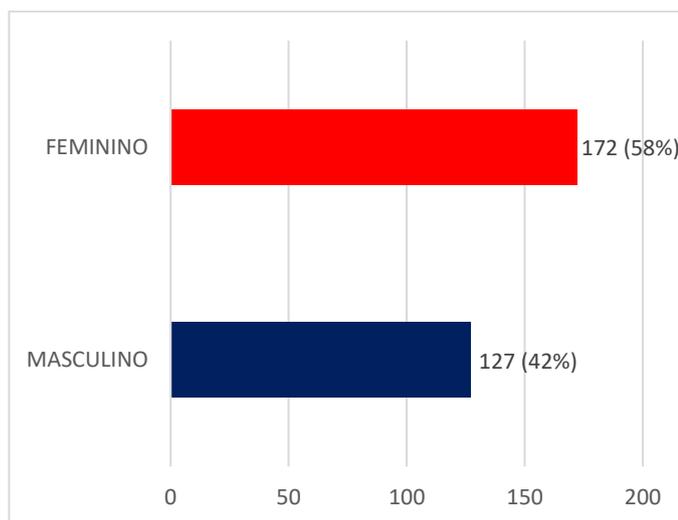
Fonte: Dados da pesquisa. 2020

Conforme Machado *et al.* (2021), no estado da Bahia até janeiro de 2021, o grupo com faixa etária entre 31 - 40 anos também foi o mais infectado com cerca de 24% do total dos casos. Em segundo lugar, também ficaram os pacientes entre 41 - 50 anos com 20% dos casos. Resultados parecidos em relação a todo o Estado da Paraíba que teve a mesma ordem das faixas etárias que o estado da Bahia. Resultados similares também são encontrados na cidade de Caxias, localizada no estado do Maranhão em que o grupo etário compreendido entre 31 - 40 anos também apresentou um número mais elevado de casos com 24,8% do total (DA SILVA *et al.*, 2020).

Além disso, houve resultados semelhantes em outros países do ocidente, como por exemplo, nos Estados Unidos a média de idade nacional dos casos de Covid-19 era de 46 anos até maio/2020, porém essa média despencou até 38 anos em agosto, pois houve um grande aumento de casos da população entre 20 - 29 anos que totalizaram mais de 20.2% casos em junho, 23.2% casos em julho e 21% de casos nessa faixa etária em agosto (BOEHMER *et al.*, 2020)

Podem justificar esses dados o fato de tais pessoas poderem estar mais ligados a empregos que não puderem ser realizados de forma remota e precisaram enfrentar transporte público para se locomover até o trabalho, além dos descuidos com aspectos básicos de prevenção da doença por se sentirem mais seguros em função da idade.

Gráfico 2. Exames reagentes para Covid-19 de acordo com o gênero.



Fonte: Dados da pesquisa. 2020

No gráfico 2, estão representados os pacientes dos gêneros masculino e feminino que apresentaram resultados reagentes para Covid-19. Os pacientes do gênero feminino constituíram a maioria dos casos positivos com 172 (58%), enquanto 127 (42%) pacientes do gênero masculino testaram positivo para a referida doença.

Resultados similares foram encontrados em outros estudos. Segundo Machado *et al.* (2021), o estado da Bahia apresentou 55% dos casos confirmados sendo do gênero feminino. Também, conforme Araújo *et al.* (2020), a cidade de Teresina, no Piauí, apresentou 56% de casos de Covid-19 entre pessoas do gênero feminino, enquanto no estado de Pernambuco até setembro de 2020, 54,9% dos casos confirmados da doença foram do gênero feminino (PERNAMBUCO, 2020). Além disso, o resultado também foi similar ao número oficial do

Estado da Paraíba no mesmo período, em que o gênero feminino representou a maioria dos casos confirmados da doença com 55% do total, enquanto os do gênero masculino representou 45% do total de casos (PARAÍBA, 2020). Estes resultados diferem do estudo de um laboratório chinês com 425 pessoas em que 56% dos casos confirmados eram do gênero masculino (QUN *et al.*, 2020).

Tais dados podem ser explicados pelo fato de as pessoas do gênero feminino acessarem mais os serviços de saúde do que os do gênero masculino, procurando realizar mais os testes e, conseqüentemente, possuem mais testes positivos para a doença. Além disso, a maioria dos profissionais de saúde são do gênero feminino. Conforme o Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde (CONSEMS), 65% dos seis milhões de profissionais que estão nos setores público e privado são do gênero feminino, tanto nas atividades diretas de assistência em hospitais, quanto na Atenção Básica. Com isso, são mais susceptíveis à contaminação por Covid-19, uma vez que várias dessas profissionais atuam diretamente no enfrentamento da pandemia (CONASEMS, 2020).

Apesar da existência de registros com predominância de casos de Covid-19 mais frequente no gênero feminino, o número de óbitos é maior no gênero masculino. Segundo o boletim epidemiológico do Estado da Paraíba, 54,9% dos óbitos por Covid-19 corresponde ao gênero masculino, enquanto 45,1% corresponde ao gênero feminino. Resultados similares foram encontrados em Pernambuco, em que 55% dos óbitos são do gênero masculino, enquanto 45% correspondem ao gênero feminino (PERNAMBUCO, 2020). Algumas das possibilidades para tal fato são de que o gênero feminino possui estrogênio como hormônio sexual, o que lhes dá uma vantagem em relação ao gênero masculino. Estudos sugerem que o estrogênio atua como um escudo contra muitas infecções virais (BISWAS, 2020). Há também relatos de que o hormônio sexual masculino estimula comportamentos de risco às respostas do sistema imunológico. Isso acontece em decorrência dos cromossomos heterogaméticos (masculinos – XY) que são incapazes de substituir entre si suas funções quando um destes apresenta mutações. Diferentemente dos cromossomos homogaméticos (femininos – XX) que são aptos a se substituírem e aumentar a vida útil no organismo. Tal fato poderia justificar a mortalidade mais elevada de pessoas do gênero masculino (SUSUKI *et al.*, 2021).

Tabela 1. Início dos sintomas dos pacientes que apresentaram IgM, IgG e PCR reagentes para Covid-19.

| Início dos sintomas | IgM+ | IgG+ | IgM/IgG (simultaneamente) | PCR+ |
|---------------------|------|------|---------------------------|------|
| 1 - 7 dias | 4 | 1 | 1 | 32 |
| 8 - 15 dias | 14 | 25 | 9 | 11 |
| 16 - 30 dias | 1 | 9 | 13 | - |
| Mais de 1 mês | 1 | 9 | 4 | - |
| Sem sintomas | 13 | 27 | 22 | 11 |
| Não informado | 17 | 30 | 12 | 33 |
| Total de casos | 50 | 101 | 61 | 87 |

Fonte: Dados da pesquisa. 2020

Na tabela 1, pode-se observar pacientes que apresentaram IgM, IgG e PCR reagentes em vários períodos de tempo a partir do início dos sintomas. De um total de 299 pacientes, 50 (16,7%) foram reagentes exclusivos para IgM, 101 (33,7%) reagentes exclusivos para IgG e 87 (29%) PCR positivos. Não informaram sua sintomatologia, 17 (34%) pacientes IgM reagentes, 30 (29,7%) pacientes IgG reagentes e 33 (37,9%) pacientes PCR positivos. No presente trabalho, foram obtidos 212 testes positivos para pesquisa de anticorpos reagentes para a Covid-19, em que 61 (28,77%) apresentaram IgM e IgG reagentes ao mesmo tempo. Desses 61 pacientes, 12 (19,6%) deles não informaram sua sintomatologia, totalizando 49 pacientes infectados para análise.

Entre o primeiro e sétimo dia após início dos sintomas, 4 (8%) pacientes apresentaram IgM reagente, apenas 1 (0,9%) paciente apresentou IgG reagente e 32 (36,7%) pacientes apresentaram PCR positivos. Entre o oitavo e décimo quinto dia dos sintomas, 14 (28%) pacientes apresentaram IgM reagente, 25 (24,7%) pacientes apresentaram IgG reagente e 11 (12,6%) pacientes apresentaram PCR positivos. Entre o décimo sexto dia até mais de um mês, apenas 2 (4%) pacientes foram reagentes para IgM, enquanto nenhum (0%) paciente apresentou PCR reagente no referido período. Entre o décimo sexto e trigésimo dia, 9 (8,9%) pacientes apresentaram IgG reagente. Após um mês, 9 pacientes (8,9%) apresentaram IgG reagente. Entre os assintomáticos, 13 (26%) pacientes apresentaram positividade para IgM, enquanto que 27 (26,7%) pacientes foram reagentes para IgG e 11 (12,6%) pacientes que apresentaram PCR positivos não sentiram sintomas característicos da Covid-19.

Dentre os que apresentaram, simultaneamente, ambos os anticorpos para a Covid-19, o maior resultado ocorreu com pessoas que fizeram o teste entre 16 - 30 dias depois do início dos sintomas com 13 (21,3%) pacientes no total. Em seguida, aparece o grupo de pacientes que tiveram sintomas entre 8 - 15 dias com 9 (14,7%) casos e os pacientes que apresentaram sintomas há mais de 1 mês com 4 (6,5%) casos. Dos pacientes que apresentaram sintomas entre 1 - 7 dias antes de realizarem os testes, apenas 1 (1,6%) paciente apresentou IgG e IgM simultaneamente. Vinte e dois (36,1%) pacientes relataram não estar com sintomas ou não ter tido sintomas para a doença antes de realizarem o teste.

Em relação ao IgM, em um estudo realizado no Saitama Medical University Hospital no Japão (2020), 27,8% dos pacientes apresentaram o anticorpo IgM em uma semana do início dos sintomas, 48% dos pacientes foram positivos para IgM entre 1-2 semanas e 95,8% apresentaram o IgM depois de duas semanas do início dos sintomas, reforçando a possibilidade de transmissão por um período maior de tempo (IMAI *et al.*, 2020).

IgM é a principal imunoglobulina produzida nos estágios iniciais da resposta primária, sendo característico de uma infecção ativa, em que o portador pode atuar como fonte de vírus representando uma provável fonte de transmissão (LEVINSON, 2016).

Segundo Dias *et al.* (2020), o intervalo entre a exposição viral e a capacidade dos testes em identificar os anticorpos é a chamada janela imunológica. Para a Covid-19, o período médio é de 7 a 10 dias, mas pode variar para períodos mais curtos e mais tardios, dependendo de fatores como concentração viral, genótipo viral, imunidade e genética do hospedeiro. Diante disso, de maneira geral, após 7 dias pode-se detectar anticorpos na fase aguda da doença (IgM). Portanto, existe um período ideal para a realização de testes que detectam anticorpos. Neste trabalho, pode-se observar que o maior número de pacientes que apresentaram IgM reagente foi justamente o grupo que realizou o exame entre 8-15 dias após a provável exposição ao vírus representado por 14 (28%) dos casos. Poucos pacientes testaram reagente antes, com 4 (8%) casos e depois, com 2 (4%) do período ideal, mostrando que, embora remota, há possibilidade de resultados positivos em outros períodos não esperados. Chama a atenção o fato de muitas pessoas assintomáticas terem apresentado IgM reagente, 13 (26%), o que reforça a possibilidade de transmissão desta virose por pessoas assintomáticas.

Com relação aos resultados do anticorpo IgG, em um estudo realizado por Nakano *et al.* (2020), foram encontrados anticorpos IgG em 100% dos pacientes a partir de 15 dias do início dos sintomas, em que analisaram 105 amostras de soro de pacientes com Covid-19 no hospital universitário de Tóquio. Resultado similar foi encontrado no presente trabalho, em que 37

(17,5%) pacientes foram reagentes para Covid-19 a partir do 16º dia do início dos sintomas. Destes, 35 (94,5%) pacientes apresentaram anticorpos IgG.

Conforme Dias *et al.* (2020), após 11 dias de sintomas, anticorpos associados à fase convalescente da doença (IgG) começam a ser detectados no soro e permanecem por um período maior no nosso organismo. Por estarem ligados ao desenvolvimento da memória imunológica, os anticorpos IgG são mais encontrados em períodos maiores de tempo em relação ao início dos sintomas. Isso explica o número elevado de pacientes com IgG reagente entre o oitavo dia do início dos sintomas até mais de um mês, 43 (42,5%) casos. O trabalho demonstra que, no início da infecção, dificilmente pacientes apresentarão IgG, uma vez que apenas 1 (0,9%) paciente apresentou positividade de IgG entre o primeiro e sétimo dia. O paciente em questão não sabe explicar o tempo do início dos sintomas.

Novamente, a exemplo do que encontramos com IgM, um número elevado de pessoas sem sintomas apresentou IgG reagentes. Porém, neste caso, tal fato demonstra que os pacientes em questão se encontravam em fase de convalescência da doença, daí apresentarem IgG reagentes e ausência de sintomas. Pacientes que não apresentaram sintomas, que tiveram contato com pessoas efetivamente infectadas e pessoas que apresentaram sintomas muito leves que passam despercebidos acabam fazendo os testes por curiosidade e acabam descobrindo que já tiveram a infecção. A maioria dos assintomáticos apresentaram IgG reagente (LIPPI *et al.*, 2020).

Os testes direcionados para pesquisa de anticorpos IgG e IgM realizados neste trabalho são os testes rápidos e de quimioluminescência para Covid-19. Apesar de, no processo de produção de IgM e IgG em infecções, haver a possibilidade desses dois anticorpos serem produzidos simultaneamente, pois, enquanto um anticorpo decai, o outro se eleva na corrente circulatória, na verdade, o achado laboratorial de IgM e IgG simultâneos em exame clínico do mesmo paciente não é comumente verificado em outras doenças infecciosas. No início da pandemia de Covid-19, a assertividade dos exames que apresentavam esses dados era bastante questionada, porém com o passar do tempo, constatou-se se tratar de mais uma característica desta doença que difere das demais.

Um estudo chinês realizado em Wuhan Red Cross Hospital com 58 pacientes, constatou que 55 (94,9%) desses pacientes estavam simultaneamente positivos para IgM e IgG, entre 8-33 dias do início dos sintomas, advertindo sobre a possível transmissão da doença em períodos mais prolongados (ZHENG TU *et al.*, 2020).

Conforme DU *et al.* (2020), a produção simultânea dos anticorpos IgM e IgG pode ser explicada por uma rápida produção de IgG ou por IgM residual que pode permanecer no

organismo por várias semanas. Isso explica o fato da existência de resultados positivos para ambos os anticorpos, desde 1-7 dias até mais de 1 mês do início dos sintomas. A transmissão, nesses casos, depende do início dos sintomas. Em casos em que o paciente é sintomático, a doença está em fase ativa com a transmissão sendo bastante provável, uma vez que nos casos de infecção assintomática ou que o IgM residual persiste por mais tempo (04 a 07 semanas em média) se trata de casos em que a transmissão é possível, porém com baixa probabilidade. Tal explicação, justifica o retorno ao trabalho mais demorado do paciente que apresenta os dois anticorpos nos exames laboratoriais.

Em relação aos resultados dos exames PCR, conforme Hellewell *et al.* (2020), um estudo realizado no Sistema de Saúde do Reino Unido demonstrou que a probabilidade de o exame do PCR detectar a Covid-19 é de 77% depois de 4 dias da infecção, porém cai para 50% a partir de 10 dias e alcança 0% depois de 30 dias da infecção.

O período ideal para coleta de RT-PCR em swab oronasofaríngeo é entre o 4° e o 7° dia de sintomas, podendo ocorrer positividade a partir do primeiro dia do início dos sintomas, pois é neste período que o vírus está presente na nasofaringe. Assim, um teste de RT-PCR para SARS-CoV-2 positivo está relacionado a uma infecção atual (DIAS *et al.*, 2020). Tal fato explica a razão de, neste trabalho, um número elevado de pacientes terem apresentado exame de PCR positivo entre o primeiro e sétimo dia do início dos sintomas com 32 casos ao todo (36,7%), pois a positividade deste exame geralmente ocorre no início da infecção enquanto o vírus se encontra nas cavidades nasais e ainda não se encontra na corrente circulatória.

Portanto, observa-se que a partir do décimo sexto dia de sintomas, realmente não há possibilidade de o vírus permanecer nas cavidades nasais, pois nenhum paciente apresentou positividade de PCR a partir deste período. Onze (12,6%) pacientes que relataram estar assintomáticos apresentaram exames de PCR positivos, indicando que, quando se trata de Covid-19, mesmo as pessoas assintomáticas podem apresentar o vírus na nasofaringe, podendo, assim, transmitir a infecção.

6 CONCLUSÃO

A faixa etária compreendida entre 31- 40 anos foi a que apresentou mais infectados (30%). Os pacientes do gênero feminino constituíram a maioria dos exames positivos com 58%, embora tenha sido constatado que ambos os gêneros dos grupos economicamente ativos foram bastante afetados pelo vírus em número de casos. Os maiores percentuais de elevação dos anticorpos IgM, o anticorpo que caracteriza doença ativa, ocorreram entre o oitavo e décimo quinto dia dos sintomas, com 28% de pacientes positivos. Também entre o oitavo e décimo quinto dia, 24,7% das pessoas apresentaram IgG reagente, o anticorpo que caracteriza convalescência. Entre o primeiro e sétimo dia de sintomas, 36,7% dos pacientes apresentaram PCR positivos. A maioria dos parâmetros laboratoriais avaliados neste trabalho, IgM, IgG e RT-PCR, elevaram-se no momento esperado após o início dos sintomas, porém, em menor percentual, é importante registrar a ocorrência de marcadores da doença também fora do tempo esperado.

Alerta-se para o surgimento de perfil sorológico diferenciado desta doença em pacientes que apresentaram IgM e IgG elevados simultaneamente, podendo, nesses casos, haver condições de transmissão do patógeno, independentemente do tempo do início dos sintomas. Foram registradas também situações em que os pacientes assintomáticos apresentaram marcadores sorológicos de doença ativa (IgM), de convalescência (IgG) e, inclusive, de presença do vírus na nasofaringe detectada através da técnica molecular de RT-PCR. Tal fato adverte para a possibilidade de a ausência de sintomas não corresponder à impossibilidade de transmissão.

Conclui-se que, na maioria das pessoas, a elevação dos anticorpos e o exame PCR demonstraram positividade no momento esperado em relação ao início dos sintomas, porém, algumas vezes, faz-se necessária a verificação de vários parâmetros laboratoriais para a realização de diagnóstico efetivo de Covid-19, não podendo tal doença ser descartada na ausência de apenas um dos marcadores no tempo esperado. Os dados epidemiológicos aqui registrados são de interesse da sociedade em geral, podendo ser utilizados para futuros estudos sobre o primeiro ano de ocorrência da Covid-19, antes da existência das vacinas.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. A. C., AMARAL, J. V., DO NASCIMENTO SOUSA, J., FONSECA, M. C. S., VIANA, C. D. M. C., MENDES, P. H. M., & de ARAÚJO FILHO, A. C. A. COVID-19: analysis of confirmed cases in Teresina, Piauí, Brazil. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v.6, 2020.

BISWAS, R. Are Men More Vulnerable to Covid-19 as Compared to Women? **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**. v.27, p. 20645-20646, 2020.

BOEHMER, T. K., DeVies, J., CARUSO, E., VAN SANTEN, K. L., TANG, S., BLACK, C. L., HARTNETT, K. P., KITE-POWELL, A., DIETZ, S., LOZIER, M., & GUNDLAPALLI, A. V. Changing Age Distribution of the COVID-19 Pandemic - United States, May-August 2020. **Morbidity and mortality weekly report (MMWR)**. v.69, p. 1404–1409, 2020.
CDC updates, expands list of people at risk of severe COVID-19 illness. **CDC**, 2020.

BORGES, R.A. COVID-19 Tracker – Aplicação para Rastreamento da Interação Social em Cenário de Epidemia. **UnB**, 2020.

CHEN Y.; LIU Q.; GUO D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication and pathogenesis. **Journal Medical Virology**, 2020.

CONASEMS – Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde. Protagonismo feminino na saúde: mulheres são a maioria nos serviços e na gestão do SUS. Publicado em 06/03/2020.

CUI, J.; LI F.; SHI, Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Natural Review of Microbiology**, v.17, p.181-192, 2019.

DA SILVA, J. P. B., COSTA, L.N., MONTEIRO, T.A.S., PINTO, T.O., PORTELA, N.L.C. NLC. Epidemiological analysis of confirmed COVID-19 cases in Caxias, Maranhão, Brazil. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v. 6, 2020.

DIAS, V. D. C., CARNEIRO, M., MICHELIN, L., VIDAL, C. F. L., COSTA, L. A. T. J., & FERREIRA, C. E. S. Testes sorológicos para COVID-19: interpretação e aplicações práticas. **Journal of infection control**, v.9, n.2, 2020.

DU, R.H.; ZANG, W.; LI, B. ZHENG, X.L.; HU, B. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. **Emergent Microbes Infection**, v.9, p. 386-389, 2020.

FALAVIGNA, M.; CARVALHO, C.R.R. Diretrizes Brasileiras Para O Tratamento Farmacológico De Pacientes Hospitalizados Com Covid-19. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva [online]**, v.34, n.1, p. 1-12, 2022.

HELLEWELL, J., RUSSELL, T. W., BEALE, R., KELLY, G., HOULIHAN, C., NASTOULI, E., & KUCHARSKI, A. J. Estimating the effectiveness of routine asymptomatic PCR testing at different frequencies for the detection of SARS-CoV-2 infections. **BMC medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2021.

IMAI, K., TABATA, S., IKEDA, M., NOGUCHI, S., KITAGAWA, Y., MATUOKA, M., MIYOSHI, K., TARUMOTO, N., SAKAI, J., ITO, T., MAESAKI, S., TAMURA, K., & MAEDA, T. Clinical evaluation of an immunochromatographic IgM/IgG antibody assay and chest computed tomography for the diagnosis of COVID-19. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, vol. 128, 2020.

LAUER, S.A.;GRANTZ, K.H.; BI Q.; JONES, F.K.; ZHENG, Q.; MEREDITH, H.R. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID 19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. **Annals of International Medicine**, 2020.

LEVINSON, WARREN. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 13 ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

LIPPI G, PLEBANI M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. **Clinical Chemistry Laboratory Medicine**, v.2, p 88-93, 2020.

LIPPI, G., SANCHIS-GOMAR, F; HENRY, B. M. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): the portrait of a perfect storm. **Ann Translational Medicine**, 2020.

MACHADO, A.G.; BATISTA, M.S.; DE SOUZA, M.C. Características epidemiológicas da contaminação por COVID-19 no estado da Bahia. **Revista Enfermagem Contemporânea**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 103-110, abr. 2021. ISSN 2317-3378.

MCINTOSH, KENNEDY. **Coronavirus 2019 (COVID 19)**. Cambridge, 2020.

MIZUMOTO, K.; KAGAYA, K.; ZAREBSKI, A.; CHOWELL, G. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID 19) cases on board the Diamond Princess cruise ship Yokohama, Japan, 2020. **European surveil**. v.25, p. 190- 200, 2020.

NAKANO, Y., KURANO, M., MORITA, Y., SHIMURA, T., YOKOYAMA, R., QIAN, C., YATOMI, Y. Time course of the sensitivity and specificity of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies for symptomatic COVID-19 in Japan. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2021.

PARAÍBA. Secretaria de Saúde, Boletim Epidemiológico N°56 - Covid - 19 [Internet], 6 de outubro de 2020.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde, Boletim Epidemiológico - COVID - 19, 29 de setembro de 2020.

QUN L, XUHUA G, PENG W, XIAOYE W, LEI Z, YEQING T. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus - Infected Pneumonia. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 13, p. 119-1207, 2020.

SBP. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Documento científico. **Departamento Científico de Infectologia**, n 14, 2020.

SU, S.; WONG G, SHI, W. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. **Trends of Microbiology**, v.24, p.490-502, 2019.

SUSUKI A. M., OLAK, A. S., & URBANO, M. R. A pandemia da COVID-19: Gênero e idade. **Revista Políticas Públicas & Cidades–ISSN**, v. 2359, p. 1552.

TO K.K.; TSANG, O.T.; LEUNG, W.S.; TAM, A.R.; WU, T.C.; LUNG, D.C. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet. Infection Disease*, 2020.

UZUNIAN, A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [online]**. v. 56, 2020.

VILELA FILHO, A.S.; BIANCHETTI, B.M.; PEIXER, C.M.; CORDON, M.S.; ROCHA, M.O.F.; VASCONCELOS, V.C.R. Vacinas Para Covid-19: Uma Revisão De Literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n.1, p. 1880-1901, 2022.

WAN, Y. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. **Journal of virology**, v. 94, n. 7, 2020.

WEISS S.R., LEIBOWITZ, J.L. Coronavirus pathogenesis. **Adv Virus Res.** v2, p.81:85-164, 2011.

WHO. WHO Virtual press conference on COVID-19, 2020.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Laboratory testing for Coronavírus disease 2019(COVID-19) in suspected human cases. **Interim Guidance**. April 7, 2020.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)**. June 13, 2013.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Summary of probable SARS case with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003**.

ZHANG, H. Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. **Intensive Care Medicine**, p 1-5, 2020.

ZHAO, Y. single-cell RNA expression. Profiling of ACE2, the putative receptor of Wuhan 2019-nCov. **Bioioxiv**, 2020.

ZHENG TU, L., YONGXIANG, Y., XIAOMEI, L., NIAN, X., YANG, L., SHAOQIANG, L., RUILIN, S., YANQUN, W., BICHENG, H., WEI, C., YONGCHEN Z., JING, W., BAOFU, H., YE, L. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 9, p. 1518-1524, 2020.