

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 UTILIZANDO MÉTODO MOLECULAR
ALTERNATIVO E AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS,
HEMATOLÓGICAS, INFLAMATÓRIAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM
PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

Carla Marcelino Trassante

Pelotas, 2020

Carla Marcelino Trassante

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 UTILIZANDO MÉTODO MOLECULAR
ALTERNATIVO E AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS,
HEMATOLÓGICAS, INFLAMATÓRIAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM
PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de Concentração: Bioquímica e Bioprospecção)

Orientador: Prof^a. Dr^a. Janice Luehring Giongo
Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida Vaucher

Pelotas, 2020

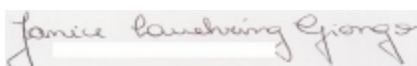
Carla Marcelino Trassante

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 UTILIZANDO MÉTODO MOLECULAR
ALTERNATIVO E AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS,
HEMATOLÓGICAS, INFLAMATÓRIAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM
PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30/12/2020

Banca examinadora:



.....
Prof^a. Dr^a. Janice Luehring Giongo (Orientadora)
Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio
Grande do Sul



.....
Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)



.....
Dr. Matheus Dellamea Baldissera
Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Dedico este trabalho à minha mãe,
Rosa Marcelino Trassante, ao meu pai
Carlos Eugênio Trassante e à minha
irmã Gabriela Marcelino Trassante, que,
apesar de distante fisicamente, são meus
pilares e minha inspiração.

Agradecimentos

Agradeço imensamente à Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e a todos os docentes presentes durante essa jornada. Apesar do sucateamento da educação e da ciência, essa instituição e seus docentes seguem firmes como verdadeiros heróis mantendo a ciência brasileira viva.

À minha orientadora Janice Luehring Giongo, minha inspiração tanto como profissional quanto como pessoa, desde a graduação. Acredito que não foi coincidência esse nosso reencontro. Sempre disponível e cordial, extremamente exigente, mas com uma maneira gentil e firme ao mesmo tempo. Obrigada pelo apoio e compreensão nas horas de desespero (de mandar mensagem chorando mesmo). Obrigada por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditava.

Ao meu coorientador Rodrigo de Almeida Vaucher, incansável, disponível, brilhante. Seu jeito sério e rigoroso de ensinar esconde um coração enorme, uma generosidade sem fim. Também depositou sua confiança em mim, estendeu-me a mão quando eu achava que não daria conta. Seu trabalho e dedicação impecáveis me trouxeram até aqui.

Ao doutorando integrante do Laboratório de Pesquisa em Biologia Molecular de Micro-organismos (LaPeBBioM), Vitor Barbosa pela imensa ajuda e dedicação.

Ao meu namorado Taisson de Oliveira, por tanto carinho e compreensão nos momentos mais difíceis e nas ausências. Fostes essencial.

Às minhas colegas de trabalho e amigas Milene Schimitz, Andréia Gonçalves e Luara Lopes. Vocês partilharam comigo cada dificuldade e com palavras e gestos me ajudaram a conseguir. Sem vocês não daria.

Às minhas colegas e amigas Marina Scheer dos Santos, Rosane Elias Pires, Janice Moraes da Silveira, Suzeli Souza, Carolina Faria e Fabiula Veleda, enfermeiras maravilhosas que tanto me auxiliaram e ao meu colega Rogério de Souza Lucas, Agente de Endemias. À Flávia Voloski, Fiscal Sanitária, Dr^a. em Ciência e Tecnologia de Alimentos, que dedicou tempo para me auxiliar e elucidar tantas dúvidas.

À toda equipe de saúde da Atenção Básica que me recebeu com tanto carinho durante a realização deste trabalho.

***“Se o desejo de alcançar a meta estiver
vigorosamente vivo dentro de nós, não nos
faltarão forças para encontrar os meios
de alcançá-la e traduzi-la em atos”***

Albert Einstein

Resumo

TRASSANTE, Carla Marcelino. DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 UTILIZANDO MÉTODO MOLECULAR ALTERNATIVO E AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS, HEMATOLÓGICAS, INFLAMATÓRIAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM PROFISSIONAIS DA SAÚDE. 2020. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Um novo coronavírus foi descoberto em dezembro de 2019 em Wuhan, na China. Posteriormente denominado SARS-Cov-2, o vírus espalhou-se pelo mundo e, em março de 2020 a Organização Mundial de Saúde decreta a doença causada pelo patógeno, a COVID-19, como uma pandemia. A doença tem sintomas inespecíficos como tosse, febre, dor de cabeça e dores no corpo, semelhantes a um resfriado. No Brasil, até 14 de janeiro de 2021^a COVID-19 levou 208.246 indivíduos à morte. Os profissionais de saúde da linha de frente do cuidado têm experimentado situações estressoras extremas e prejuízos psicológicos e fisiológicos, entre eles, processos inflamatórios e estresse oxidativo. A população de estudo foi composta por profissionais atuantes na linha de frente de 5 equipes de Atenção Básica do município de Pinheiro Machado/RS, totalizando 45 profissionais. Entre eles, 2 foram infectados por SARS-Cov-2 e 43 não foram infectados desde o início da pandemia. Avaliamos os seguintes pontos: estresse psicológico, perfil bioquímico, perfil de coagulação, hemograma, atividade inflamatória e estresse oxidativo. Além disso, foi utilizada a técnica de RT-LAMP para detecção da COVID-19. O grupo de profissionais infectados teve Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST), Lipoproteína de alta densidade (HDL) e Desidrogenase láctica (LDH), linfócitos e monócitos aumentados em relação ao grupo controle. Neste grupo diminuíram os valores de ácido úrico, triglicerídeos, leucócitos, neutrófilos, hemoglobina, hematócrito e plaquetas comparando-se os resultados ao grupo controle. Já para o grupo não infectado pela COVID-19 houve aumento no HDL, eosinófilos e monócitos, quando comparados ao grupo controle. Apareceram reduzidos os seguintes parâmetros: ácido úrico, LDH, triglicerídeos, VLDL, hematócrito e Volume Corpuscular Médio das hemácias, comparando os valores destes indivíduos ao grupo controle. O estresse oxidativo esteve presente no grupo de profissionais infectados e não infectados por SARS-Cov-2, assim como a atividade inflamatória. Este estudo foi o primeiro a utilizar o método RT-LAMP em profissionais de saúde e mostrou-se eficaz na detecção de SARS-Cov-2. Este estudo foi o primeiro a utilizar o método em profissionais de saúde.

Palavras-chave: Profissionais de saúde, RT-LAMP, qRT-PCR, SARSCoV-2, estresse oxidativo, inflamação;

Abstract

TRASSANTE, Carla Marcelino. **DETECTION OF SARS-COV-2 VIRUS USING ALTERNATIVE MOLECULAR METHOD AND EVALUATION OF BIOCHEMICAL, HEMATOLOGICAL, INFLAMMATORY, AND OXIDATIVE STRESS IN HEALTHCARE PROFESSIONALS.** 2020. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

In early December 2019, an outbreak of coronavirus (SARS-Cov-2), caused by a new severe acute respiratory syndrome (COVID-19) took place in the city of Wuhan, in the Hubei Province in China. On January 30th, 2020, the World Health Organization (WHO) declared the outbreak as a Public Health Emergency of International Concern. Since then, frontline health care professionals have been experiencing extreme stressful situations and damage to their physical and mental health. These conditions are capable of bringing harm to the organism of individuals, including inflammatory processes and oxidative stress. The study population consisted of frontline health professionals working in Basic Health Units (UBS) in a city in southern Brazil. Amongst the 45 participants, two of them were infected with the SARS-Cov-2 virus and diagnosed by immunochromatographic tests as saliva RT-LAMP and qRT-PCR. We evaluated the following points: psychological stress, biochemical profile, coagulation profile, blood count, inflammatory activity and oxidative stress. In addition, the RT-LAMP technique was used to detect COVID-19. The group of infected professionals had Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), high density lipoprotein (HDL) and lactic dehydrogenase (LDH), lymphocytes and monocytes in relation to the control group. Oxidative stress was present in the group of professionals infected and not infected by SARS-Cov-2, as well as inflammatory activity. In this group, the values of uric acid, triglycerides, leukocytes, neutrophils, hemoglobin, hematocrit and platelets decreased, comparing the results to the control group. For the group not infected by COVID-19, there was an increase in HDL, eosinophils and monocytes, when compared to the control group. The following parameters were reduced: uric acid, LDH, triglycerides, VLDL, hematocrit and Mean Corpuscular Volume of red blood cells, comparing the values of these individuals to the control group. This study was the first to use the RT-LAMP method in healthcare professionals and proved to be effective in detecting SARS-Cov-2. This study was the first to use the method in healthcare professionals.

Keywords: Health professionals, RT-LAMP, RT-PCR, SARSCoV-2, oxidative stress, inflammation.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2.....	16
Figura 2 - Coleta de swab nasal (A) e oral (B)	22
Figura 3 - Desenho esquemático do processo de amplificação de LAMP. (A) Passos iniciais para formar uma estrutura semelhante ao haltere. (b) Amplificação cíclica de LAMP.....	33
Figura 4 - Mecanismos imunológicos que levam à tempestade de citocinas na COVID-19.....	38

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Principais antivirais utilizados na Covid-19.	24
Tabela 2 - Conceitos de diferentes adoecimentos psíquicos.	29

Sumário

1 Introdução	11
2 Objetivos	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 Revisão da Literatura	144
3.1 Características gerais da COVID-19	14
3.2 Características do vírus SARS-CoV-2	15
3.3 Manifestação clínica e resposta imunológica	17
3.4 Diagnóstico	20
3.5 Possível tratamento	23
3.6 Fatores psicológicos relacionados à pandemia de COVID-19	27
3.6.1 Fatores psicológicos da pandemia de COVID-19 em profissionais de saúde..	28
3.7 RT-LAMP	32
3.8 Estresse Oxidativo	35
3.9 Inflamação	35
4. Manuscrito	41
5 Conclusões	74
6 Referências	75
Anexos	89
Anexo A - Comprovante de submissão do manuscrito à Revista International Journal of Environmental Research and Public Health	90
Anexo B - Comprovante do Comitê de Ética em Pesquisa	91
Anexo C - Questionário sócio-demográfico	92

1 Introdução

Em 31 de dezembro de 2019, a Autoridade de Saúde da China alertou a Organização Mundial da Saúde (OMS) para vários casos de pneumonia de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan, na província de Hubei, China. (LU; STRATON; TANG, 2020). O patógeno causador da nova doença foi denominado SARS-CoV-2 pelo *Coronavirus Study Group* e a OMS nomeou a doença como coronavírus 2019 (COVID-19) (GORBALENYA *et al.*, 2020).

Hoje não existem terapias eficazes licenciadas para a infecção por SARS-CoV-2 (SAHA *et al.*, 2020; UZUNOVA *et al.*, 2020). Os profissionais de saúde enfrentam maior demanda de trabalho e riscos à sua integridade física e mental, e o vírus foi capaz de causar grandes impactos psicológicos em um curto período de tempo (ZHANG *et al.*, 2020).

À luz da crise de saúde pública sem precedentes da pandemia de COVID-19, é de suma importância reconhecer o impacto psicológico do estresse sofrido pelos profissionais de saúde e outros danos que essa condição pode trazer aos indivíduos (TSAMAKIS *et al.*, 2020). Estresse psicológico e angústia foram associados com níveis mais elevados de dano oxidativo, alteração do metabolismo, disfunções hematológicas, alterações da resposta imune, além de exacerbar a produção de citocinas inflamatórias (BAKADIA *et al.*, 2020). O estresse crônico tem sido associado à inflamação, aumento da morbidade e ao surgimento de doenças como aterosclerose, câncer e doença pulmonar (MCDONALD *et al.*, 2019). Anemia leve tem sido relatada em populações de pacientes como resultado de estresse crônico ou inflamação crônica (MC KIM *et al.*, 2018).

A inflamação é um dos processos mais centrais na defesa das células contra lesões ou infecções microbianas (ISAILOVIC *et al.*, 2015; TODD *et al.*, 2015). Todavia, um processo inflamatório prolongado pode provocar doenças crônicas (ABDULKHALEQ *et al.*, 2018). O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (SUHAIL *et al.*, 2020). Vários vírus respiratórios induzem uma formação desregulada, como resultado do aumento do recrutamento de células inflamatórias no local da infecção (DELGADO-ROCHE; MESTA, 2020).

Para conter a propagação do vírus, a OMS exigiu urgentemente uma extensão da triagem e dos testes. Isso é fundamental na tomada de decisões sobre medidas de saúde pública, como restrições de movimento e duração da quarentena (BAEK *et al.*, 2020; HUANG, W. *et al.*, 2020; GANGULI *et al.*, 2020). Embora a Reação da Transcriptase Reversa seguida pela Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) continue sendo o padrão-ouro comprovado para diagnósticos clínicos, há uma necessidade urgente de outras abordagens que sejam suficientemente de baixo custo e rápidas para fornecer diagnóstico (GANGULI *et al.*, 2020).

Nesse contexto, insere-se a importância do desenvolvimento e aprimoramento do método de detecção RT-LAMP para SARS-Cov-2 (LAMB *et al.*, 2020). Uma das principais vantagens de RT-LAMP em comparação com o RT-PCR é que o RT-LAMP tem uma metodologia robusta na detecção de alvos de amostras não processadas, como por exemplo a saliva. Além disso, os ensaios RT-LAMP são realizados a uma temperatura constante, permitindo velocidade (o que implica em um menor tempo de espera pelo resultado) e simplicidade (GANGULI *et al.*, 2020).

Este trabalho demonstrará os resultados de diagnóstico do SARS-Cov-2 através da utilização do método molecular alternativo RT-LAMP que foi realizado em amostras de saliva de profissionais da saúde. Também foram avaliados marcadores fisiopatológicos desses profissionais e de um grupo de indivíduos controle em um município do sul do Brasil.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Detectar o vírus SARS-Cov-2 através do método de RT-LAMP de amostras de saliva e avaliar os marcadores bioquímicos, hematológicos, anti-inflamatórios e oxidativos em profissionais de saúde de um município do sul do Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a técnica de RT-LAMP, em profissionais de saúde para diagnóstico da COVID-19.
- Avaliar os parâmetros bioquímicos como: ácido úrico, albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatinina, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL, desidrogenase láctica, glicose, globulinas totais, proteínas totais, triglicerídeos e uréia.
- Avaliar os parâmetros hematológicos como: leucócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos, hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e plaquetas.
- Observar o perfil de coagulação dos grupos, avaliando a via intrínseca (tempo de tromboplastia – aPTT) e a via extrínseca (tempo de protrombina – TP).
- Realizar as técnicas de FRAP, TAC, TOS e OSI para análise de variáveis de estresse oxidativo.
- Determinar nos grupos dos indivíduos participantes, a atividade inflamatória através dos testes de mucoproteínas e Proteína C reativa (PCR).

3 Revisão da Literatura

3.1 Características gerais da COVID-19

Em dezembro de 2019, inúmeros casos de pneumonia foram relatados em Wuhan, China, através dos quais foi descoberto o SARS-CoV-2, um novo membro da família *Coronaviridae*, que deu origem à doença COVID-19 (LU; STRATTON; TANG, 2020). O vírus isolado dos primeiros pacientes detectados com a doença foi chamado inicialmente de 2019-nCoV. Entretanto, o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus renomeou o termo provisório como Síndrome Respiratória Aguda Grave-Coronavírus-2 (SARS-CoV-2) (GORBALENYA *et al.*, 2020).

Em função do rápido aumento no número de casos confirmados de COVID-19 em todo o mundo, em março de 2020 a OMS considerou a situação como uma Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional (PHEIC), indicando uma grande ameaça à saúde global (XU, X. *et al.*, 2020).

Até o dia 17 de dezembro de 2020 haviam 72.851.747 infectados ao redor do mundo, e 1.643.33 mortes, com uma taxa de letalidade de 2,25% (OMS). O período médio de incubação do COVID-19 é de cerca de 6,4 dias, variando de 0 a 24 dias. O número reprodutivo básico (R_0), da doença varia de 2 a 3,5 na fase inicial. Um estudo do Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças demonstrou que a maioria dos pacientes (80,9%) tiveram características semelhantes a uma pneumonia assintomática ou leve, mas liberaram grandes quantidades de vírus na fase inicial da infecção, o que representou enormes desafios para conter a disseminação do COVID-19. A transmissão nosocomial é outro problema grave (WANG, Y *et al.*, 2020)

Algumas pesquisas sugerem que os primeiros casos de COVID-19 em seres humanos tenham sido provenientes da ingestão de morcegos, uma iguaria bastante presente em mercados na China (ZHOU *et al.*, 2020). Porém, de acordo com Li *et al.* (2020), embora os primeiros estudos indicassem uma relação entre a maioria dos casos de infecção com um mercado de animais selvagens, supondo a possível transmissão de animais para humanos, estudos posteriores comprovaram a transmissão de SARS-CoV-2 através de gotículas

ou contato direto, de humano para humano (GORBALENYA *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020; WANG, D.*et al.*, 2020).

Dessa forma, o aumento rápido da incidência de infecções, como a transmissão por portadores assintomáticos, tornou a transmissão de SARS-CoV-2 bastante eficaz entre humanos, causando, como consequência, a situação atual de pandemia pelo novo coronavírus (HUANG *et al.*, 2020)

3.2 Características do vírus SARS-CoV-2

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios contendo ácidos nucleicos e proteínas e são as "espécies" mais difundidas da Terra. São onipresentes e estruturalmente simples, a partícula viral (ou virion) é composta pelas proteínas da membrana que envolvem o genoma viral, que podem ser cercadas por um envelope lipídico (ANTONELLI e PISTELLO, 2019). Estão entre os menores agentes infecciosos existentes, podendo medir entre 18 e 300 nm (0,018 a 0,3 μm). Ainda, destaca-se que são seres que utilizam da maquinaria celular para sua reprodução, sendo, por isso, considerados parasitas intracelulares obrigatórios (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

O SARS-CoV-2 é um vírus pertencente à família *Coronaviridae*, ao gênero *Betacoronaviruse* à ordem *Nidovirales*. A maioria dos coronavírus são vírus zoonóticos que afetam o trato respiratório e/ou digestivo de mamíferos, incluindo humanos (CUI; LI; SHI, 2019), e possuem a forma de uma coroa quando analisados por microscopia eletrônica, com diâmetro variando de 60 a 140 nm (ZHU *et al.*, 2020).

Em geral, os vírus contêm apenas um tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA, que é o portador das informações genéticas necessárias para a sua propagação. Logo, tanto DNA quanto RNA podem armazenar as informações genéticas, sendo os vírus encontrados tanto na forma de fita simples, como de fita dupla (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). No caso do SARS-CoV-2, conforme explicam Yang e Wang (2020), o material genético é do tipo RNA de sentido positivo, que funciona também como RNA mensageiro, sendo traduzido pelos ribossomos da célula hospedeira, envoltos em fita simples.

Como o genoma celular normalmente metaboliza DNA, os vírus de RNA devem conter ou sintetizar enzimas próprias para serem processados, como as RNA transcriptases e replicases (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). Khailany,

Safdar e Ozaslan (2020) salientam ainda que, enquanto vírus de RNA, o SARS-CoV-2 possui um alto potencial para mutações, inclusive aquela que favorecem, pelo mecanismo de seleção natural, a infectividade e a virulência de algumas cepas.

Quanto à infectividade do SARS-CoV-2, sabe-se que o principal mecanismo de entrada do vírus nas células hospedeiras ocorre através da enzima ECA II (enzima conversora de angiotensina II), a qual atua como um receptor para o vírus nas células epiteliais do trato respiratório superior (KHAILANY; SAFDAR; OZASLAN, 2020).

Conforme explicam Chen, N. *et al.* (2020), na estrutura do SARS-CoV-2 (Figura 1), além de lipídeos, há a presença de glicoproteínas S no invólucro viral, as quais são fundamentais para a sua infectividade e virulência, indicando a porta de entrada e o local de permanência do vírus nas células humanas. Ainda, as mesmas são responsáveis pela ligação do vírus ao seu receptor celular, causando a fusão do envelope viral com a membrana celular, fundamental para a penetração do vírus na célula hospedeira. O receptor para a glicoproteína S é a enzima ECA II, encontrada com maior expressividade no pulmão. Logo, os principais sintomas relacionados à infecção por SARS-CoV-2 tendem a ocorrer no trato respiratório (CHEN, N *et al.*, 2020).

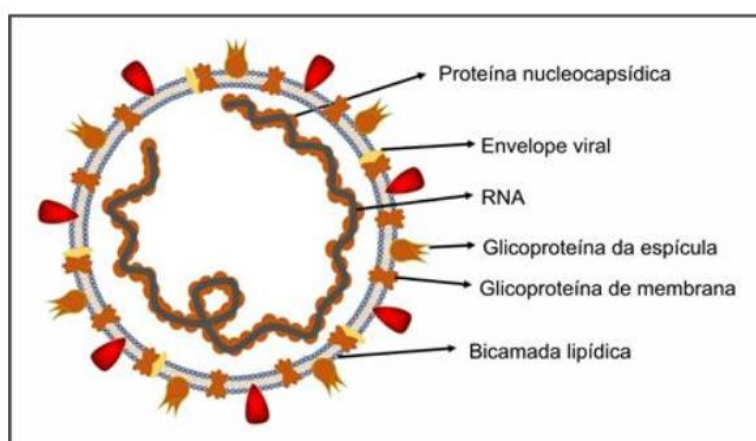


Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2
Fonte: adaptado de Shereen *et al.* (2020)

Os primeiros coronavírus foram isolados em 1937, porém a denominação coronavírus foi descrita em 1965, por decorrência de sua

morfologia microscópica, semelhante a uma coroa (LU *et al.*, 2020). Desde o primeiro coronavírus humano (HCoV) descoberto nas narinas de pacientes com resfriado comum, sete outras espécies de coronavírus já foram descobertas – HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2. Destas, as espécies *Alphacoronavírus* 229E e NL63 e *Betacoronavírus* OC43 e HKU1 são comumente associadas a infecções leves, representadas por sintomas comuns de resfriado. Por outro lado, o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) podem causar doença fatal (SU *et al.*, 2016; CUI; LI; SHI, 2019).

Embora classificado como *Betacoronavírus*, o SARS-CoV-2 diverge do SARS-CoV e MERS-CoV, formando uma linhagem distinta dentro do subgênero *Sarbecovírus* (SARS) (ZHU *et al.*, 2020). Além disso, com base em análise filogenética, sabe-se que o SARS-CoV-2 está intimamente relacionado (88-89% de similaridade) com dois coronavírus semelhantes a SARS derivados do morcego (bat-SL-CoVZC45 e batSL-CoVZXC21) (CHEN, N.*et al.*, 2020).

De acordo com Zhu *et al.* (2020), os efeitos citopáticos induzidos por SARS-CoV-2 parecem ser diferentes daqueles induzidos por SARS-CoV e MERS-CoV. Mudanças estruturais nas células hospedeiras são mais rapidamente observadas nas células epiteliais das vias aéreas humanas (às 96 horas) em comparação com outras linhagens celulares, incluindo Vero E6 (às 144 horas) e Huh-7 (às 144 horas).

O genoma do SARS-CoV-2 tem um comprimento total de 29,9kb e possui uma região codificante no terminal 5', outra de codificação 1a/b na caixa de leitura aberta ORF (do inglês "*open reading frame*"), uma região "S" que codifica a glicoproteína de pico (proteína S), uma região "E" que codifica a proteína do envelope (proteína E), uma região "M" que codifica a proteína da membrana (proteína M), uma região "N" que codifica a proteína nucleocapsídeo (proteína N) e uma região não codificante no terminal 3' (YANG; WANG, 2020).

3.3 Manifestação clínica e resposta imunológica

O SARS-CoV-2 é considerado o sétimo membro dos coronavírus capaz de infectar humanos, causando principalmente febre, tosse e opacidades

pulmonares em vidro fosco (HUANG *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). O surgimento desse quadro clínico é consonante com o período de incubação viral, que ocorre, normalmente, de 5 a 6 dias após a exposição ao vírus (WENJING e LIMING, 2020).

Zhou *et al.* (2020) explicam que o SARS-CoV-2 tem um tropismo pelos tecidos das vias aéreas superiores e inferiores, logo, a principal porta de entrada do vírus é através da mucosa nasal, bucal e do ducto lacrimal. Quando uma pessoa infectada tosse ou espirra, libera gotículas de saliva e aerossóis contaminados com o vírus, tornando potencialmente contaminante o meio em que tais partículas são inseridas. Por exemplo, no estudo de Van Doremalen *et al.* (2020), comparando o tempo de estabilidade viral do SARS-CoV-2 em cinco diferentes materiais (aerossóis, plástico, aço inoxidável, cobre e papel), constatou-se que o vírus permanece viável por, no máximo, 3 horas quando exposto somente ao ar, até 4 horas em superfícies de cobre, 24h no papelão e até 3 dias em aço inoxidável e no plástico.

A infecção é dividida em três estágios: estágio I, período de incubação assintomático com ou sem vírus detectável; estágio II, período sintomático não grave, com a presença de vírus; e estágio III, estágio sintomático respiratório grave, com alta carga viral (WANG *et al.*, 2020). Segundo Rothe *et al.* (2020), os indivíduos no estágio I, ou seja, os portadores assintomáticos, são os menos controláveis e seu papel na disseminação da infecção ainda não foi definido.

Siddiqi e Mehra (2020) explicam que o estágio I (infecção leve/precoce) ocorre no momento da inoculação e estabelecimento precoce da doença, caracterizando-se por um período de incubação associado a sintomas leves, geralmente inespecíficos, como mal-estar, febre e tosse seca. O estágio II (infecção moderada, com envolvimento pulmonar com ou sem hipóxia) envolve doença pulmonar e multiplicação viral, e caracteriza-se pelo desenvolvimento da pneumonia viral, com tosse, febre e hipóxia na fase IIB (definida como $PaO_2/FiO_2 < 300$ mm Hg). Nesta fase, onde a maioria dos pacientes com COVID-19 precisa ser hospitalizado, a imagem com radiografia de tórax ou tomografia computadorizada revela infiltrados bilaterais ou opacidades em vidro fosco, enquanto os exames de sangue demonstram aumento da linfopenia e de transaminases.

Ainda segundo os autores supracitados, no estágio III (infecção grave), ocorre uma hiperinflamação sistêmica, sendo importante salientar que apenas uma minoria de pacientes com COVID-19 chega a essa fase, a qual se manifesta como uma síndrome de hiperinflamação sistêmica extrapulmonar. Uma forma semelhante à linfocitose hemofagocítica (SHLH) pode ocorrer em pacientes nesse estágio avançado da doença. Além disso, choque, vasoplegia, insuficiência respiratória, miocardite e colapso pulmonar também são passíveis de ocorrer. Neste estágio, a terapia depende do uso de agentes imunomoduladores, visando reduzir a inflamação sistêmica antes que a mesma evolua para a disfunção de múltiplos órgãos e sistemas, levando ao óbito (SIDDIQI; MEHRA, 2020).

De acordo com Guan *et al.* (2020), o SARS-CoV-2 infecta de maneira uniforme todas as faixas etárias, exceto ocasionalmente crianças e adolescentes. Cerca de 15 a 20% dos casos confirmados progridem para a fase grave, embora haja uma maior probabilidade para pacientes com mais de 65 anos, com problemas de saúde adjacentes (FITZGERALD *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020).

Clinicamente, as respostas imunológicas induzidas pela infecção por SARS-CoV-2 ocorrem em duas fases. Durante os períodos de incubação e sintomático não grave, uma resposta imune adaptativa específica é necessária para eliminar o vírus e impedir a progressão da doença para o estágio sintomático respiratório grave. Portanto, nestas fases, estratégias para aumentar as respostas imunes, como anti-soros ou IFN α peguado, são fundamentais. Assim, para o desenvolvimento de uma resposta imune protetora endógena, o hospedeiro deve estar em boas condições gerais de saúde e apresentar um fundo genético apropriado, capaz de induzir à imunidade antiviral específica (SHI *et al.*, 2020).

As diferenças genéticas são reconhecidamente importantes na resposta imunológica aos patógenos. No entanto, quando uma resposta imune protetora é prejudicada, o vírus se propaga e ocorre a destruição maciça dos tecidos afetados, principalmente em órgãos que apresentam alta expressão de ACE-2, como intestino e rim. Dessa forma, as células danificadas induzem à inflamação inata nos pulmões, amplamente mediada por macrófagos e granulócitos pró-inflamatórios (SHI *et al.*, 2020), sendo a inflamação pulmonar

a principal causa de distúrbios respiratórios com risco de morte na fase grave (XU *et al.*, 2020a). Logo, Shiet *al.* (2020) salientam que, em pacientes cuja infecção avançou para o estágio grave, uma vez que normalmente são acometidos por danos pulmonares graves, esforços devem ser feitos no sentido de suprimir a inflamação e controlar os sintomas.

De acordo com Xu *et al.* (2020a), a resposta imune inata ao dano tecidual causado pelo vírus pode levar à síndrome respiratória aguda grave (SDRA), na qual a insuficiência respiratória é caracterizada pelo rápido início de inflamação generalizada nos pulmões e subsequente fatalidade. Os sintomas de pacientes com SDRA incluem respiração curta/rápida e cianose, sendo que aqueles em estado grave, internados em unidades de terapia intensiva, geralmente requerem ventiladores mecânicos (MACLAREN; FISHER; BRODIE, 2020).

A ausência de sintomas clínicos não pode descartar o diagnóstico da infecção. Pessoas com um histórico claro de exposição ao SARS-CoV-2, independentemente dos sintomas clínicos, devem ser considerados para observação médica, isolamento domiciliar e exame mais aprofundado. Da mesma forma, os pacientes com sintomas, mas sem história conhecida de exposição, também devem ser submetidos a exames adicionais (XU *et al.*, 2020b).

3.4 Diagnóstico

O termo teste rápido tem sido popularmente utilizado para os testes imunocromatográficos, são manuais, de fácil execução, não necessitam de outros equipamentos de apoio (como aqueles utilizados em laboratórios) e fornecem resultados entre 10 e 30 minutos. Nesse caso, os testes rápidos registrados para a COVID-19 são exclusivamente de uso profissional, cujos resultados devem ser interpretados por profissional de saúde devidamente capacitado. Há a possibilidade de realização dos testes em domicílio, desde que executado por profissional legalmente habilitado vinculado a um laboratório clínico, posto de coleta ou serviço de saúde pública ambulatorial ou hospitalar (BRASIL, 2020).

Quando há pouco ou nenhum acesso a testes moleculares, testes rápidos de sorologia fornecem um meio para triagem rápida de casos suspeitos de COVID-19. Um resultado positivo para o IgM em pacientes sintomáticos que possuem os sintomas da COVID-19 bem estabelecidos é fortemente sugestivo da infecção pelo SARS-CoV-2. Os resultados são confiáveis se o teste for realizado de 5 a 10 dias após o início dos sintomas (PEELING et al., 2020)

Na avaliação sorológica, a presença de anticorpos da classe IgM indica uma resposta imune recente, enquanto a detecção de anticorpos IgG está relacionada à fase posterior ao contato com o vírus. Ainda não é possível afirmar por quanto tempo os anticorpos IgM e IgG para COVID-19 permanecem no corpo, porém, tal teste é capaz de mapear a população que foi exposta ao vírus. Ainda, cabe salientar que, como a produção de anticorpos aumenta a partir do início da infecção pelo vírus, é necessária uma quantidade mínima de anticorpos para que o teste consiga fazer a detecção de forma eficaz. Esse período entre o início dos sintomas e a detecção de anticorpos, em exames, é denominado “janela imunológica”, logo, a técnica de imunocromatografia de anticorpos é indicada para a testagem de indivíduos, oito dias após o início dos sintomas. Antes desse período, tal técnica pode induzir a resultados falso negativo (BRASIL, 2020).

No caso da técnica molecular RT-PCR (*Reverse Transcription – Real Time Polymerase Chain Reaction*), verifica-se a presença de material genético do vírus em amostra coletada de nasofaringe e orofaringe ou do trato respiratório inferior, devendo a coleta ser realizada preferencialmente a partir do terceiro dia após o início dos sintomas até o décimo dia, já que, ao término deste período, a quantidade de RNA tende a diminuir. Ou seja, os testes RT-PCR devem ser utilizados quando houver sintomatologia compatível com a COVID-19 ou necessidade de confirmação da infecção (SIORDIA, 2020).

Para realização do RT-PCR, o profissional capacitado deve introduzir o *swab* pela narina até a nasofaringe (Figura 2A), realizando movimentos rotatórios para a captação de células e absorção de secreção respiratória. Isso deve ser realizado em ambas as narinas. Após, um terceiro *swab* é utilizado para a coleta de secreção respiratória da parte posterior da orofaringe, devendo-se evitar contato com a língua, de modo a minimizar contaminações (Figura 2B) (SIORDIA, 2020)

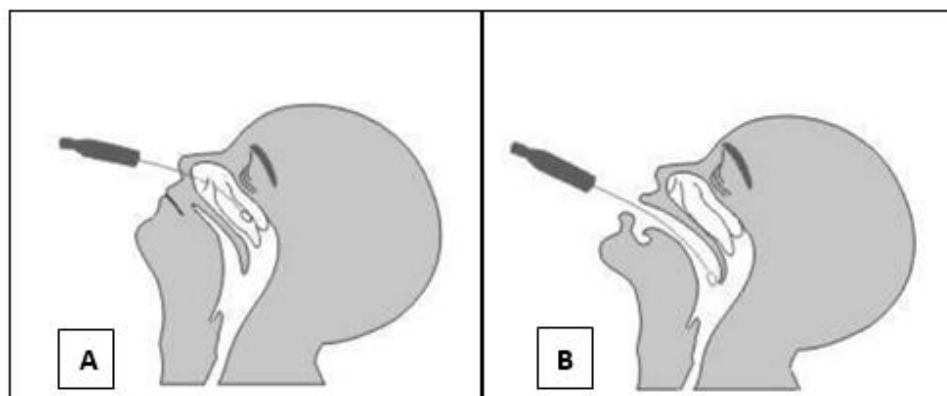


Figura 2 - Coleta de swab nasal (A) e oral (B)

Fonte: SES/RS (2020)

Cabe salientar que os *swabs* a serem utilizados devem ser de Rayon e estéreis, não devendo ser utilizados aqueles com haste de madeira ou com alginato de cálcio. No total, são utilizados três *swabs*, um para cada narina e outro para a coleta oral, os quais são, posteriormente, inseridos no mesmo frasco contendo solução fisiológica. Ainda, é possível utilizar o Meio de Transporte Viral (MTV – meio rosa) para o diagnóstico por RT-PCR, no entanto, este meio necessita ficar sob refrigeração, em temperatura entre 2°C e 8°C, antes da coleta ser realizada (CEVS/RS, 2020).

Para a coleta do trato respiratório inferior, o profissional realiza lavado broncoalveolar ou aspirado traqueal, coletando 2 a 3 mL do material em um frasco estéril. Caso a secreção esteja muito espessa, é recomendado instilar gotas de solução fisiológica estéril (cloreto de sódio a 0,9%), de modo a promover a fluidez do muco e facilitar a aspiração. Além disso, preconiza-se o uso de sistema fechado de aspiração, minimizando a liberação de aerossóis no ambiente. As amostras devem ser mantidas em temperaturas de 4° a 8°C e enviadas ao laboratório de referência no máximo 72 horas após a coleta (WHO, 2020).

De acordo com Shi *et al.* (2020), alinfocitopenia é frequentemente observada em pacientes em estado grave de COVID-19, sendo a síndrome de liberação de citocinas (CRS) mediada por leucócitos que não são células T. Logo, uma alta contagem de leucócitos é comum, sugerindo que, em associação à linfocitopenia, pode ser um critério de diagnóstico diferencial para COVID-19. Após a alta hospitalar, alguns pacientes permanecem positivos para

o vírus e outros até recaem, indicando que uma resposta imune de eliminação de vírus ao SARS-CoV-2 pode ser difícil de ser induzida, pelo menos em alguns pacientes, e as vacinas podem não funcionar nesses indivíduos.

Para Xu, X.*et al.* (2020), a Tomografia Computadorizada (TC) de tórax também é bastante útil para o diagnóstico precoce de COVID-19, já que a mesma é capaz de detectar alterações pulmonares com alta sensibilidade, facilitando o tratamento da doença.

3.5 Tratamentos disponíveis

Segundo a Organização Mundial de Saúde, ainda não existem vacinas e medicamentos, como antivirais e agentes imunomoduladores, comprovadamente eficazes e seguros, específicos para o tratamento da COVID-19 (WHO, 2020). As terapias em estudo incluem novos e antigos agentes disponíveis, os quais têm sido testados em ensaios clínicos ou através de uso compassivo (BARLOW *et al.*, 2020).

Como já mencionado anteriormente, o SARS-CoV-2 expressa proteínas em sua superfície externa que facilitam a ligação às células hospedeiras através da enzima de conversão da angiotensina II (ECA II) (KHAILANY; SAFDAR; OZASLAN, 2020). Além disso, trata-se de um coronavírus com fita simples de RNA, que se replica através de proteínas não estruturais, como protease do tipo 3-quimiotripsina, protease do tipo papaína, helicase e RNA polimerase depende do RNA (LI; DE CLERCQ, 2020). Logo, devido à semelhança estrutural com outros vírus, diversas terapias antivirais têm sido testadas.

Alguns antivirais, incluindo interferon α (IFN- α), lopinavir/ritonavir, fosfato de cloroquina, ribavirina e arbidol, foram incluídos nas Diretrizes para a Prevenção, Diagnóstico e Tratamento da Nova Pneumonia Induzida por Coronavírus, emitida pela Comissão Nacional de Saúde (NHC) da República Popular da China, como possibilidades de tratamento da Covid-19. Remdesivir também foi considerado promissor de acordo com JohnsHopkins ABXGuide para manejo da Covid-19 (JOHNS HOPKINS ABX GUIDE, 2020; GUL *et al.*, 2020; SANDERS *et al.*, 2020). A Tabela 1 apresenta a dosagem, o método de administração e a duração do tratamento através desses antivirais.

Tabela 1 - Principais antivirais utilizados na Covid-19.

Medicamento	Principal aplicação	Dosagem	Método de administração	Duração do tratamento
IFN-α	Antiviral de amplo espectro, utilizado para o tratamento da Hepatite.	5 milhões de U ou dose equivalente a cada vez, 2 vezes/dia	Inalação de vapor	Não mais que 10 dias
lopinavir/ritonavir	Utilizado em combinação com outros medicamentos para o tratamento do HIV.	200 mg/50 mg/cápsula, 2 cápsulas de cada vez, 2 vezes/dia	Oral	Não mais que 10 dias
ribavirina	Análogo de nucleosídeo com amplo espectro antiviral.	500 mg de cada vez, 2 a 3 vezes/dia em combinação com IFN- α ou lopinavir/ritonavir	Infusão intravenosa	Não mais que 10 dias
fosfato de cloroquina	Utilizado no tratamento da malária.	500 mg (300 mg para cloroquina) de cada vez, 2 vezes/dia	Oral	Não mais que 10 dias
arbidol	Antiviral utilizado no tratamento do vírus da gripe.	200 mg de cada vez, 3 vezes/dia	Oral	Não mais que 10 dias
remdesivir	Antiviral testado durante o surto de Ebola	200mg (dia 1) 100mg de 5 a 10 dias	Infusão intravenosa	Não mais que 10 dias

Fonte: adaptado de Donget *et al.* (2020)

Dos fármacos listados, a repercussão maior envolve a cloroquina, tendo em vista que foi demonstrada atividade *in vitro* desta substância contra o SARS-CoV-2 (WANG, M.*et al.*, 2020), bem como a inibição da pneumonia e diminuição da duração dos sintomas em diferentes níveis de gravidade, sem

efeitos colaterais graves (GAO; TIAN; ZANG, 2020). A cloroquina é bastante indicada no tratamento de infecções por micro-organismos intracelulares, sendo utilizada no tratamento da malária há décadas. Além disso, é eficaz como agente anti-inflamatório contra o lúpus eritematoso e artrite reumatoide. Seu provável mecanismo de ação envolve a alcalinização do fagolisossomo (ROLAIN; COLSON; RAOULT, 2007), ou seja, este fármaco aumenta o pH endossômico, necessário para a fusão do vírus com as células, inibindo a glicosilação dos receptores celulares de SARS-CoV-2 (GAO; TIAN; YANG, 2020). A dosagem ideal a ser utilizada para o tratamento da COVID-19 ainda permanece em estudo (COLSON *et al.*, 2020).

Quanto à hidroxicloroquina, um composto análogo à cloroquina, sua atividade sobre o vírus SARS-CoV-2 provavelmente é a mesma da cloroquina, já que ambas possuem o mesmo mecanismo de ação. Além disso, para um tratamento ideal, pode ser necessário administrar uma dose de ataque, seguida por uma dose de manutenção (COLSON *et al.*, 2020).

Cabe salientar que, em alguns estudos randomizados e observacionais, que utilizaram cloroquina ou hidroxicloroquina nos estágios II e III da COVID-19, não demonstrou-se diminuição da mortalidade (BORBA *et al.*, 2020; MOLINA *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2020). Inclusive, no estudo de Borba *et al.* (2020), que utilizou 12g de cloroquina para o tratamento de pacientes com COVID-19, houve um aumento da mortalidade.

O fármaco favipiravir também encontra-se em fase de testes clínicos para o tratamento da COVID-19. Trata-se de um novo tipo de inibidor da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), o qual, além da atividade anti-vírus influenza, também é capaz de bloquear a replicação de flavi-, alfa-, filo-, bunya-, arena-, noro- e outros vírus de RNA (DELANG; ABDELNABI; NEYTS, 2018). De acordo com Furuta, Kamenno e Nakamura. (2017), o favipiravir é convertido em uma forma fosforibosilada ativa nas células, chamada favipiravir-RTP, onde é reconhecido pela RNA polimerase viral e, como consequência disso, inibe a atividade da RNA polimerase. Dessa forma, este fármaco, além da ação comprovada contra o vírus ebola, pode ter ação antiviral potencial no SARS-CoV-2, que é um vírus de RNA (DELANG; ABDELNABI; NEYTS, 2018).

Chen, C.*et al.* (2020) compararam a ação do arbidol com o favipiravir no combate ao SARS-CoV-2 em um ensaio clínico randomizado com 240

pacientes internados em três hospitais da China e concluíram que o favipiravir tem melhor eficiência que o arbidol no tratamento da COVID-19.

O remdesivir, um análogo de nucleosídeo e antiviral de amplo espectro, é outro fármaco potencial para o tratamento da COVID-19. No estudo de Wang *et al.* (2020), observou-se que este medicamento bloqueia de forma potente, em baixas concentrações micromolares, a infecção por SARS-CoV-2, além de apresentar alto índice de seletividade. Além disso, foi capaz de reduzir eficazmente a carga viral em ratos infectados com o vírus MERS-CoV, além de diminuir os danos ao tecido pulmonar (SHEAHAN *et al.*, 2020). Holshuee *et al.* (2020) produziram resultados semelhantes ao utilizarem o remdesivir no tratamento de um paciente com COVID-19 nos Estados Unidos.

Já Casadevall e Pirofski (2020) propuseram o uso de plasma rico em imunoglobulinas de pacientes curados da COVID-19 como uma alternativa à terapia medicamentosa, de modo a prevenir a infecção em casos de alto risco, como em indivíduos vulneráveis ou expostos a casos confirmados da doença.

Bell *et al.* (2019) afirmam que os níveis de citocinas inflamatórias (IL-1, TNF) são bastante elevados nos pulmões de pacientes com COVID-19, as quais são forte indutores de HA-sintase-2 (HAS2) no endotélio CD31+, células epiteliais alveolares pulmonares EpCAM + e fibroblastos. Dessa forma, Shiet *et al.* (2020) acreditam que a redução ou a inibição da produção de HA pode contribuir para que os pacientes com COVID-19 consigam respirar. Tais autores sustentam a ideia de que os médicos poderiam fornecer hialuronidase de grau médico aos pacientes a fim de reduzir o acúmulo de HAS2, limpando o muco do pulmão. Ainda, reforçam que, em modelos animais, as dificuldades respiratórias causadas pela gripe normalmente são aliviadas pela administração intranasal de hialuronidase.

Para Shiet *et al.* (2020), os médicos devem tentar aumentar as respostas imunológicas durante o Estágio I da doença, enquanto as suprimem no Estágio II. Sugerem, também, que a vitamina B3, altamente protetora do pulmão, deve ser utilizada assim que a tosse tiver início.

3.6 Fatores psicológicos relacionados à pandemia de COVID-19

Considerando o contexto atual de pandemia pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o significativo número de casos que demandam internação hospitalar, incluindo cuidados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), bem como a ausência de vacinas e medicamentos eficazes e seguros, pesquisadores e profissionais de saúde têm procurado constantemente por estratégias para conter a propagação da Covid-19 (DUAN; ZHU, 2020; WHO, 2020). Dessa forma, com o objetivo de reduzir os impactos da pandemia, diminuindo o pico de incidência da doença e o número de mortes, inúmeros países adotaram como medida o isolamento de casos suspeitos e a quarentena da população, de modo a evitar que a capacidade de leitos hospitalares, respiradores e outros suprimentos fossem insuficientes diante do aumento repentino da demanda (FERGUSON *et al.*, 2020).

De acordo com Lin, Peng e Tsai (2010), a quarentena consiste na separação e restrição da movimentação de pessoas potencialmente expostas ao contágio de determinada doença, visando reduzir o risco de infecção por outras pessoas. Sua realização é considerada um recurso extremo, porém eficaz, contra a disseminação de alguns vírus, sobretudo entre os grupos de risco. Já o isolamento, está associado a indivíduos infectados e confirmados para determinada doença, os quais são, como o próprio termo diz, “isolados” para evitar o contágio (BROOKS *et al.*, 2020).

Brooks *et al.* (2020) ressaltam que, durante uma pandemia, a quarentena tende a ser vivenciada como uma experiência pessoal desagradável, desconfortável ou dolorosa, principalmente para os familiares, devido à separação e confinamento das famílias, estando associada ao sentimento de perda de liberdade, solidão, tédio, incerteza quanto ao futuro, suicídios e ataques de pânico e raiva.

Ainda, alguns estudos têm sugerido que o medo da infecção por um vírus potencialmente fatal e de rápida disseminação afeta o bem-estar psicológico das pessoas, sendo comum o surgimento de sintomas de depressão, ansiedade e estresse (ASMUNDSON; TAYLOR, 2020; WANG *et*

al., 2020). Dados advindos de epidemias anteriores, por exemplo, a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) em 2003 e a influenza H1N1 em 2009, ilustram que a comunidade sofreu considerável medo e pânico, resultando em um impacto psicológico significativo (WANG *et al.*, 2020).

Para Ornell *et al.* (2020), a saúde física das pessoas e o combate ao agente patogênico são os focos primários de atenção de gestores e profissionais de saúde em meio a uma pandemia, tendendo a ser negligenciadas ou subestimadas a sua implicação sobre a saúde mental dos indivíduos. Dessa forma, é importante salientar que o trabalho pode favorecer a expressão da subjetividade das pessoas além de resgatar ou promover a saúde, de acordo com a organização e o processo laboral. Logo, a condição física e mental de uma pessoa está intimamente relacionada com a sua atividade profissional e com o seu contexto laboral.

3.6.1 Fatores psicológicos da pandemia de COVID-19 em profissionais de saúde

Freitas *et al.* (2017) afirma que, em unidades hospitalares, o trabalho das equipes de saúde é centrado no cuidado ao ser humano, o que envolve a associação direta entre profissionais e pacientes. No contexto de uma pandemia, profissionais de saúde costumam vivenciar, de forma exacerbada, inúmeros estressores, como: risco de infecção, adoecimento e morte; possibilidade de, inadvertidamente, infectar outras pessoas; sobrecarga e fadiga; exposição a mortes em larga escala; frustração; ameaças e agressões por pessoas que buscam atendimento, mas não podem ser acolhidas devido à limitação de recursos; afastamento da família e amigos; entre outros (TAYLOR, 2019).

Assim, de acordo com Dal’Bosco *et al.* (2020), há uma lacuna no que tange à harmonia entre as necessidades internas e as exigências externas dos profissionais que estão à frente no combate da Covid-19. Para Baker, Peckham e Seixas (2020), sinais e sintomas de transtornos mentais, bem como a incapacidade para enfrentar situações de emergência, são esperados em profissionais de saúde em meio a uma pandemia, o que pode influenciar

negativamente sobre as boas práticas de atenção e tratamento especializado, comprometendo a melhora do quadro clínico dos pacientes infectados.

Li, Z.*et al.* (2020) salientam que profissionais que atuam na linha de frente na assistência ao paciente em condição crítica, como em inúmeros casos da Covid-19, devem seguir cuidados com a saúde mental. É importante que os mesmos tenham períodos de descanso entre os turnos de trabalho, sigam uma dieta saudável, mantenham-se hidratados e em contato com familiares, mesmo que de forma virtual.

Ainda que não atuem na linha de frente ou que precisem se afastar dessa atuação temporariamente, profissionais da saúde podem apresentar sofrimento psicológico em contextos de emergências de saúde (BROOKS *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020). Nesse sentido, destaca-se o fenômeno da “traumatização vicária”, também denominado “traumatização secundária”, em que pessoas que não sofreram diretamente um trauma passam a apresentar sintomas psicológicos decorrentes da empatia por quem o sofreu (LI *et al.*, 2020).

De acordo com Martins *et al.* (2016), a ansiedade e a depressão podem se manifestar de diferentes maneiras nos profissionais de saúde, refletindo diretamente em suas vidas pessoal e profissional, o que pode, inclusive, desencadear depressão e síndrome de Burnout. O conceito desses diferentes adoecimentos psíquicos está apresentado na Tabela abaixo.

Tabela 2 - Conceitos de diferentes adoecimentos psíquicos.

Ansiedade	Sentimento vago e desagradável de medo e apreensão, com características de tensão ou desconforto, derivadas da antecipação do perigo, de algo desconhecido ou estranho.	DAL'BOSCO <i>et al.</i> (2020)
	Estado emocional que atinge componentes psicológicos, sociais e fisiológicos, o qual pode transformar-se em patologia quando considerado excessivo, atingindo o meio psicossocial da pessoa diante da situação.	LANA <i>et al.</i> (2020)
Transtornos ansiosos	Medo e ansiedade excessivos, associados a perturbações comportamentais, os quais diferem entre si com relação aos objetos ou situações que os induzem. Diferem da ansiedade por serem mais intensos e persistentes.	APA (2014)
	Configuram uma dificuldade de relacionamento interpessoal, baixa autoestima e vitimização, sendo um estado psicológico e fisiológico caracterizado por componentes somáticos (emocionais, cognitivos e/ou comportamentais).	FERNANDES <i>et al.</i> (2014)
Depressão	Grave transtorno de humor, caracterizado por humor	VERA-VILLARROEL

	deprimido ou pela perda de interesse ou prazer em um período de duas ou mais semanas.	<i>et al.</i> , 2010
	Transtorno multifatorial que apresenta fatores de risco como afetividade negativa, experiências adversas na infância, eventos estressantes, familiares de primeiro grau com diagnóstico, transtornos subjacentes, condições médicas crônicas ou incapacitantes. Caracteriza-se por tristeza ou irritabilidade, desinteresse ou desprazer, sentimento de culpa ou baixa autoestima, distúrbios do sono ou apetite, fadiga, dificuldades cognitivas e ideias recorrentes de morte	GARBER <i>et al.</i> , 2016
Síndrome de Burnout	Representa a síndrome da desistência, que ocorre quando o indivíduo deixa de investir em seu trabalho e nas relações afetivas decorrentes dele, tornando-se, aparentemente, incapaz de envolver-se emocionalmente com o mesmo.	CODO; VASQUES-MENEZEZ (1999)
	Exaustão de energia decorrente de uma má adaptação à exposição prolongada a condições de trabalho estressantes ou com elevada carga tensional.	MASLACH; SCHAUFELI; LEITER, (2001)

O enfrentamento da pandemia do novo coronavírus faz parte das funções essenciais da Saúde Pública por meio de ações voltadas para a população ou para grupos com maior risco de contaminação, como os profissionais de saúde (JACKSON FILHO *et al.*, 2020). Tanto o exercício das atividades laborais quanto as condições de trabalho são fontes potenciais de exposição ao vírus (BAKER; PECKHAM; SEIXAS, 2020).

Mesmo para os profissionais da linha de frente do cuidado, pouco se discute sobre as condições e organização do trabalho, prevalecendo, até o momento, protocolos com recomendação de medidas individuais (higiene e uso de equipamentos de proteção), transferindo a responsabilidade da prevenção do contágio para o próprio profissional (WHO, 2020). Há relatos de profissionais e denúncias de sindicatos de condições de trabalho precárias, higiene inadequada, jornadas extenuantes, falta de treinamento e, inclusive, insuficiência ou indisponibilidade de equipamentos de proteção, mesmo nos serviços de terapia intensiva (AMB, 2020).

A pandemia de Covid-19 tem o potencial de afetar significativamente a saúde mental dos profissionais que estão na base do enfrentamento desta crise (PAPPA *et al.*, 2020). A experiência anterior de epidemias de menor escala e a literatura disponível sobre a Covid-19 mostram que o início de uma doença súbita e com risco imediato de vida, pode levar a uma pressão extraordinária sobre os profissionais de saúde e que a quantidade

incomparável de estresse com que os mesmos estão suportando está associada ao aumento da morbidade psicológica (LIU *et al.*, 2020; TSAMAKIS *et al.*, 2020).

Médicos, em especial, estão enfrentando estressores emocionais importantes durante a pandemia de Covid-19, incluindo tristeza por observar tantos pacientes virem a óbito, medo de contrair o vírus e infectar seus familiares e inconformidade por não ter os recursos necessários para salvar vidas. Para alguns, esses estressores causaram ou exacerbaram o esgotamento, a depressão ou o transtorno de estresse pós-traumático e foram implicados em suicídios. A incapacidade de cumprir seu dever pode ser a origem da angústia moral experimentada pelos médicos que atuam na Covid-19 (DZAU; KIRCH; NASCA, 2020; SHALEV; SHAPIRO, 2020).

Da Silva e Neto (2020) relatam que existe uma forte associação entre os profissionais de saúde e o Covid-19 em termos de repercussões psiquiátricas. Uma meta-análise realizada pelos autores mostrou que os profissionais de saúde apresentam um nível mais alto de traumatização indireta, no qual o nível de dano excede a tolerância psicológica e emocional e resulta indiretamente em anormalidades psicológicas. A incidência de traços obsessivo-compulsivos e somatizações foi maior em situações envolvendo profissionais da linha de frente.

Tsamakis *et al.* (2020) explicam que o aumento da carga de trabalho, a exaustão física, equipamentos de proteção individual inadequados, a transmissão nosocomial e a necessidade de tomar decisões eticamente difíceis sobre o racionamento dos cuidados podem ter efeitos dramáticos no bem estar físico e emocional destes profissionais.

A resiliência dos indivíduos que atuam na linha de frente durante a pandemia pode ser ainda mais afetada pelo isolamento e perda de apoio social, risco ou infecções de amigos e parentes, bem como mudanças drásticas e frequentemente perturbadoras nas formas de trabalhar. Os profissionais de saúde são, portanto, especialmente vulneráveis a problemas de saúde mental, incluindo medo, ansiedade, depressão e insônia (PAPPA *et al.*, 2020). À luz desta calamidade de saúde pública sem precedentes da pandemia Covid-19, é imperativo reconhecer o impacto psicológico dessa ameaça crescente nos profissionais de saúde (TSAMAKIS *et al.*, 2020).

3.7 RT-LAMP

O diagnóstico precoce e preciso da infecção por SARS-CoV-2 é crucial para prevenir a transmissão viral e fornecer tratamento adequado para os pacientes. Os sintomas são inespecíficos e as características radiológicas sobrepõem-se as de um resfriado comum, assim sendo, a confirmação da infecção por SARS-CoV-2 depende inteiramente da detecção do RNA viral (COMISSÃO NACIONAL DE SAÚDE DA REPÚBLICA POPULAR DA CHINA, 2020; OMS, 2020). A RT-qPCR é o método padrão e mais amplamente utilizado para detecção de RNA SARS-CoV-2 em laboratórios clínicos (LU, R.*et al.*, 2020). Apesar de seu excelente desempenho analítico, as abordagens baseadas em RT-qPCR na COVID-19 ainda sofrem de muitas limitações. Dentre elas, o longo tempo para fornecer o resultado (de 2 a 4 h), baixa disponibilidade, necessidade de uma instrumentação cara e uma alta proporção de resultados falso-negativos ou valores equívocos (WU *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2020).

Essas limitações tornam o teste RT-qPCR um tanto inadequado para enfrentar o desafio atual de uma demanda enorme de população infectada, não documentada e de transmissão assintomática (ZOU *et al.*, 2020). Neste contexto, merece destaque a técnica de RT-LAMP que vem sendo desenvolvida e aperfeiçoada (HUANG, W.*et al.*, 2020; NOTOMI *et al.*, 2020).

Notomi *et al.* (2000) desenvolveram o método LAMP (amplificação isotérmica mediada em loop), que amplifica o DNA com alta especificidade, eficiência e rapidez sob condições isotermas. Este método emprega uma polimerase de DNA e um conjunto de quatro primers especificamente projetados que reconhecem um total de seis sequências distintas no DNA a ser investigado. Desde que surgiu, a técnica tem sido utilizada para vários tipos de detecção viral como o vírus influenza, MERS-CoV, vírus do Nilo Ocidental, vírus Ebola, vírus Zika, vírus da febre amarela e vários outros patógenos.

O método LAMP também é capaz de amplificar algumas cópias de DNA a uma enorme quantidade, em menos de uma hora, sem necessidade de reagentes especiais. Este método também pode ser usado para alvos de DNA

e RNA, pois é capaz de detectar RNA alvo pela reação de transcrição reversa (RT-LAMP) (FUKUTA *et al.*, 2003).

Em RT-LAMP, sequências de RNA são detectadas em vez de DNA. A transcriptase reversa é adicionada à mistura LAMP, para ajudar na conversão do RNA viral em DNA complementar (cDNA) que, posteriormente, será usado para detecção de material viral. A amplificação e detecção do ácido nucleico poder ser concluída ao mesmo tempo, em uma única etapa, incubando a amostra do paciente, quatro ou seis primers especificamente projetados, e DNA polimerase de DNA no mesmo tubo de ensaio em cerca de 60 a 65 °C. (SAHOO, *et al.*, 2016)

Uma das principais vantagens de RT-LAMP em comparação com o RT-PCR, é que o RT-LAMP é conhecido por ser robusto na detecção de alvos de amostras não processadas, como a saliva por exemplo. Além disso, os ensaios RT-LAMP são realizados a uma temperatura constante, permitindo velocidade e simplicidade. Um ensaio típico de LAMP consiste em dois primers internos e dois externos, estes reconhecem seis regiões distintas da sequência do DNA alvo (GANGULI *et al.*, 2020).

A figura 3 mostra a localização dos primers, suas regiões complementares e a sequência de amplificação. O primer interno dianteiro (FIP) é a região F2 e uma sequência complementar da região de F1 (F1c) enquanto o primer interno retrógrado (BIP) consiste na região B2 e uma sequência complementar da região B1 (B1c). O primer externo dianteiro (F3) e o primer externo retrógrado (B3) têm as sequências complementares às sequências das regiões F3c e B3c, respectivamente. O processo de amplificação LAMP começa com o complexo FIP associado ao DNA alvo em sua região F2 para formar DNA de dupla cadeia, em equilíbrio em torno de 65 °C (PARIDA, *et al.*, 2008).

A DNA polimerase então inicia a síntese de DNA do FIP (região F2), deslocando simultaneamente um único fio de DNA. Após esta etapa de iniciação, o primer F3 então se liga à sua região complementar F3c e desloca a cadeia complementar FIP. Por causa da sequência F1c no FIP, o fio FIP é capaz de formar uma estrutura de loop em uma extremidade do DNA. Esta estrutura então serve como alvo para a síntese de DNA iniciada pelo BIP e posterior deslocamento de fios da síntese de DNA de B3. Isso permite que a

outra extremidade da única cadeia de DNA forme uma estrutura de loop, resultando assim em uma estrutura de DNA semelhante a um haltere. Ele serve como modelo para amplificação subsequente. Após uma estrutura semelhante a um haltere formada, a amplificação exponencial da estrutura do haltere é então iniciada, com a polimerase de DNA iniciando a síntese de DNA na região de F1 (THOMPSON e LEI, 2020).

A partir deste processo de repetição, é possível que a amplificação maciça seja alcançada, pois o DNA pode ser amplificado até 109 vezes dentro de uma hora (PARIDA, *et al.*, 2008; SAHOO, *et al.*, 2016)

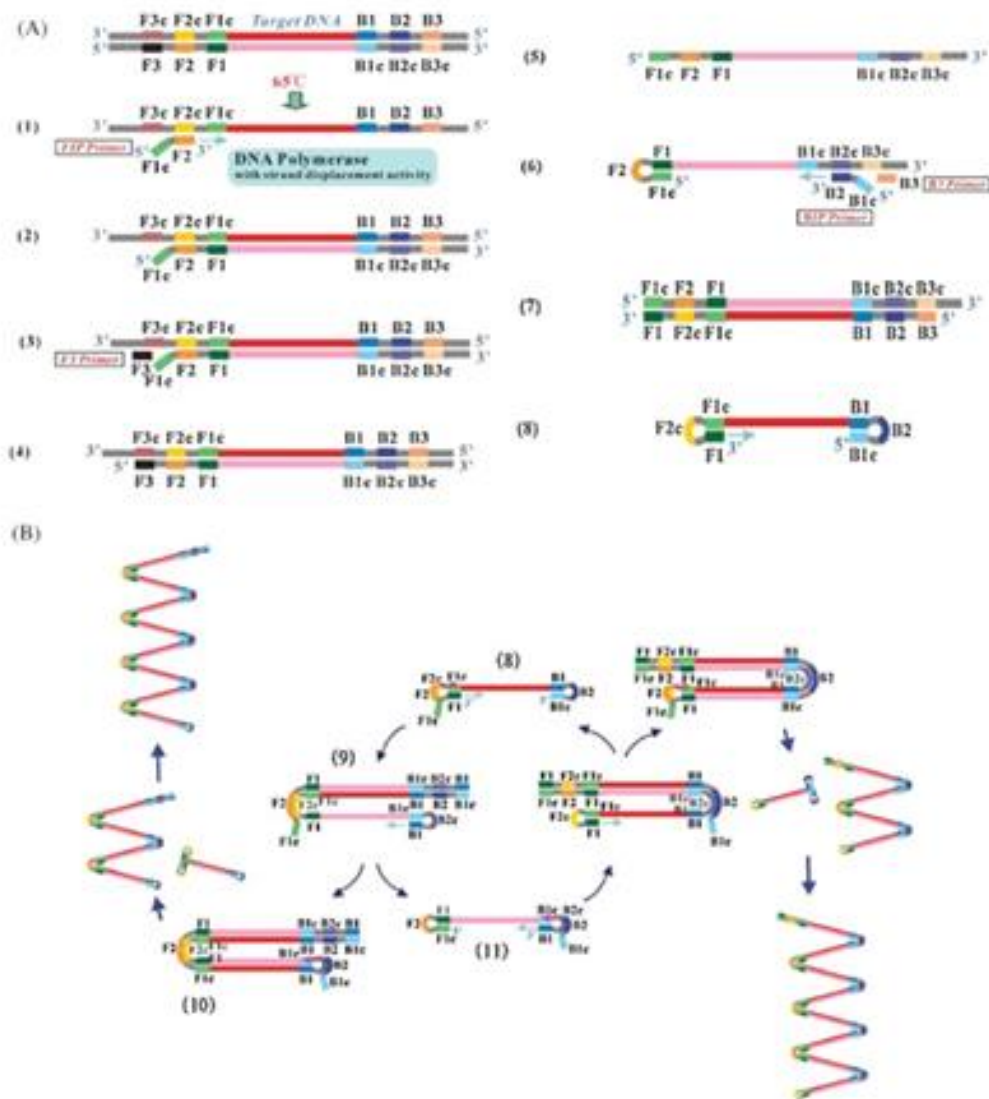


Figura 3: Desenho esquemático do processo de amplificação de LAMP.

(A) Passos iniciais para formar uma estrutura semelhante ao haltere.

(b) Amplificação cíclica de LAMP

Fonte: adaptado de Parida et al. (2008)

3.8 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre oxidação e redução de Espécies Reativas ao Oxigênio da célula (EROs) e de Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN), causando danos às membranas e a biomoléculas vitais como DNA, proteínas e lipídios (IGODARO, 2018). As espécies reativas são átomos, moléculas, ou íons derivados do oxigênio, que em sua grande maioria possuem alta reatividade, devido à presença de um ou mais elétrons desemparelhados (POPRA et al, 2017). Os principais representantes de EROs são: radical ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxila (OH^-), alcóxila (RO^-) e peróxila lipídica (ROO^-), óxido nítrico (NO) e peroxinitrito ($OONO^-$) (ROBERTS; SINDHU, 2009; PISOSCHI, 2015).

O envolvimento das espécies reativas na ocorrência de doenças é amplamente conhecido. O desequilíbrio entre as espécies oxidantes e o sistema de defesa antioxidante pode desencadear fatores específicos responsáveis pelo dano oxidativo na célula como, por exemplo, super expressão de genes envolvidos na etiologia do câncer, geração de compostos mutagênicos, promoção de atividade aterogênica, ocorrência de placa senil ou inflamação (PISOSCHI, 2015). É sabido que estressores ambientais crônicos podem ter um impacto significativo na geração de EROs no cérebro (HERBET *et al.*, 2017).

A resposta imune é fortemente modulada pelo estresse oxidativo e processos inflamatórios (LAURIDSEN, 2019). O estresse oxidativo desempenha dois papéis no curso das infecções, os radicais livres protegem contra microorganismos invasores e também podem vir a causar danos aos tecidos durante a inflamação. No processo de infecção, acontece a geração de espécies reativas por mieloperoxidase, NADPH oxidase e óxido nítrico

sintase. No entanto, espécies reativas podem ser geradas, entre outras, pelo citocromo P450, alguns metais e xantina oxidase (POHANKA, 2013).

O estresse oxidativo cronicamente elevado é visto em infecções virais de longa duração como por exemplo, o vírus Epstein-Barr (EBV) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), entre outros, além disso, tem sido associado a respostas imunológicas enfraquecidas (REUTER, 2010; IVANOV; BARTOSCH; ISAGULIANTS, 2017; LAURIDSEN, 2019). Estudos recentes postulam que o estresse oxidativo é um fator essencial que aumenta a gravidade de Covid-19 em alguns pacientes, especialmente associado à disfunção pulmonar e a *tempestade de citocinas* ou em sepse viral derivada de SARS-CoV-2 (CHAN *et al.*, 2019; SAMIR *et al.*, 2020; LI, X.*et al.*, 2020). Zhou *et al.* (2020) argumenta que, grupos de risco para a Covid-19 como idosos, diabéticos, hipertensos e portadores de doenças cardiovasculares já apresentam um estado de estresse oxidativo, a infecção viral intensifica esse estresse, oferecendo uma possível explicação para a gravidade da doença nessas categorias de pacientes.

O mecanismo de estresse oxidativo na COVID-19 envolve a atividade da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) clivando o octapeptídeo angiotensina II (Ang II) (BELTRÁN-GARCIA *et al.*, 2020). O peptídeo Ang II é um poderoso vasoconstritor com um papel fundamental na elevação da pressão arterial, seu processamento por ECA2 induz a vasodilatação, acentuada pela geração de Ang 1-7, um peptídeo com potentes papéis vasodilatadores que é gerado durante esse processo (DIKALOV e NAZAREWICZ, 2013).

A vinculação do SARS-CoV-2 ao receptor de Angiotensina II (ACE2) permite a entrada do vírus nas células e, por sua vez, reduz a biodisponibilidade do ACE2. Evidências mostraram que Ang II regula a ativação de fosfato de NADPH oxidase (NOX) quando se liga à angiotensina tipo 1 (AT1R). A ativação NOX é um dos principais contribuintes para a formação de EROs (ânion radical de superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), por exemplo). Portanto, a redução da biodisponibilidade ACE2 após a ligação SARS-CoV-2 permite que Ang II esteja disponível para interagir com o AT1R, que media sinais para ativar o NADPH oxidase e induzir estresse oxidativo e respostas inflamatórias (ZABLOCKI e SADOSHIMA, 2013; RINCÓN, *et al.* 2015., BELTRÁN-GARCIA *et al.*, 2020).

Violi *et al.* (2020) demonstraram que o NADPH oxidase-2 (NOX-2) é superexpresso em pacientes COVID-19 hospitalizados, o que leva ao aumento do estresse oxidativo. Em consonância com esses resultados, outros autores têm demonstrado em macrófagos que o bloqueio NOX-2 melhora os fenótipos da doença graças à diminuição do estresse oxidativo. Curiosamente, destaca-se que quando estimuladas por citocinas pró-inflamatórias e outros agonistas, as células endoteliais podem mobilizar proteínas NOX, contribuindo para o estresse oxidativo local e disfunção endotelial (WU, H. *et al.* 2020)

Beltran-Garcia *et al.* (2020) explicam que outros mecanismos relevantes relacionados com ACE2 e estresse oxidativo na patogênese do COVID-19, incluem a disfunção endotelial produzida como consequência de EROs produzida por NOX, que reduz a biodisponibilidade do óxido nítrico, o que, por sua vez, resulta em vasoconstrição, inflamação, desequilíbrio de redox e disfunção endotelial. Portanto, quando o ACE2 é disfuncional ou seus níveis são reduzidos como consequência do SARS-CoV-2, o sistema renina-angiotensina-aldosterona, torna-se um potente sistema pró-oxidante em vasos.

Além desses mecanismos citados acima, a liberação de ferro na corrente sanguínea a partir de glóbulos vermelhos, que podem mediar as reações de Fenton e Haber-Weiss para produzir estresse oxidativo também podem aparecer durante a COVID-19. Isso ocorre porque o SARS-CoV-2 ataca grupos de hemoglobina (Hb) nos glóbulos vermelhos, produzindo assim a liberação de íons Fe(III) dos grupos heme para a corrente sanguínea, que por sua vez produz um aumento nos níveis de ferritina. A hemoglobinopatia e o dismetabolismo de ferro, mediadas pelo vírus, podem contribuir para as síndromes clínicas destacadas durante o COVID-19, incluindo estresse oxidativo, ferroptose, peroxidação lipídica e dano mitocondrial, entre outros (CAVEZZI, TROIANI e CORRAO, 2020)

É importante ressaltar que macrófagos e neutrófilos também desempenham um papel patológico potencial durante a infecção pelo SARS-CoV-2 produzindo um grande número de EROs. O estresse oxidativo afeta o sistema imunológico ao longo da alteração da função celular imune e da resposta inflamatória (NAGAR, PIAO e KIM, 2018., BELTRÁN-GARCIA *et al.*, 2020).

3.9 Inflamação

A inflamação ocorre após a interrupção da homeostase tecidual por estresse celular, lesão ou infecção e, em última instância, envolve o recrutamento e retenção de células de origem hematopoiética, que chegam aos locais afetados para resolver danos e iniciar o reparo (DI PAOLOM; SHAYAKHMETOV, 2016). O processo envolve uma ampla gama de respostas fisiológicas a um organismo estranho (patógenos, partículas de poeira, vírus, por exemplo). Investigações recentes têm esclarecido que a inflamação é um fator importante para a progressão de várias doenças, incluindo diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, distúrbios oculares, artrite, obesidade, doenças autoimunes e doenças inflamatórias intestinais (ARULSELVAN *et al.*, 2016).

COVID-19 é um processo inflamatório severo, similar à sepse, sendo ainda mais agressivo. SARS-CoV-2 cria uma resposta imunológica bastante alterada. A hiperativação das células epiteliais e endoteliais podem ser estimuladas por infecções por este vírus que leva a hiperprodução da citocina. Isso gera uma inflamação que pode chegar às células do pulmão e outros tecidos (ABDULKHALEG *et al.*, 2020).

Li, Lu e Zhang (2020) explicam que, aproximadamente 7 a 14 dias após o início dos sintomas iniciais da COVID-19, inicia-se um aumento nas manifestações clínicas da doença. Isso ocorre em paralelo com um aumento sistêmico pronunciado de mediadores inflamatórios e citocinas, que podem até ser caracterizados como uma "tempestade de citocinas". Respostas imunes adquiridas prejudicadas e respostas inflamatórias inatas descontroladas podem estar associadas ao mecanismo da tempestade citocina em COVID-19 (HU, HUANG e YIN, 2020).

Particularmente, SARS-CoV-2 pode ativar rapidamente linfócitos T do tipo Th1, para segregar citocinas pró-inflamatórias, como o fator estimulante da colônia granulócito-macrófago (GM-CSF) e a interleucina-6 (IL-6). O GM-CSF ativa ainda monócitos inflamatórios CD14 e CD16 para produzir grandes quantidades de IL-6, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e outras citocinas (HAIMING *et al.*, 2020). Receptores imunológicos ligados à membrana (Toll-like, por exemplo) podem contribuir para uma resposta inflamatória

incorreta, exacerbada, e a indução fraca de IFN- γ talvez seja um importante amplificador da produção de citocinas (HUSSMAN, 2020). A tempestade de citocinas em COVID-19 é caracterizada por uma alta expressão de IL-6 e TNF- α (ZUO *et al.*, 2020). A figura 4 ilustra os mecanismos imunológicos que levam à tempestade de citocinas associada às formas graves da COVID-19.

O controle precoce da tempestade citocina através de terapias, como imunomoduladores e antagonistas de citocinas, é essencial para melhorar a taxa de sobrevivência dos pacientes com COVID-19 (HU; HUANG e YIN, 2020).

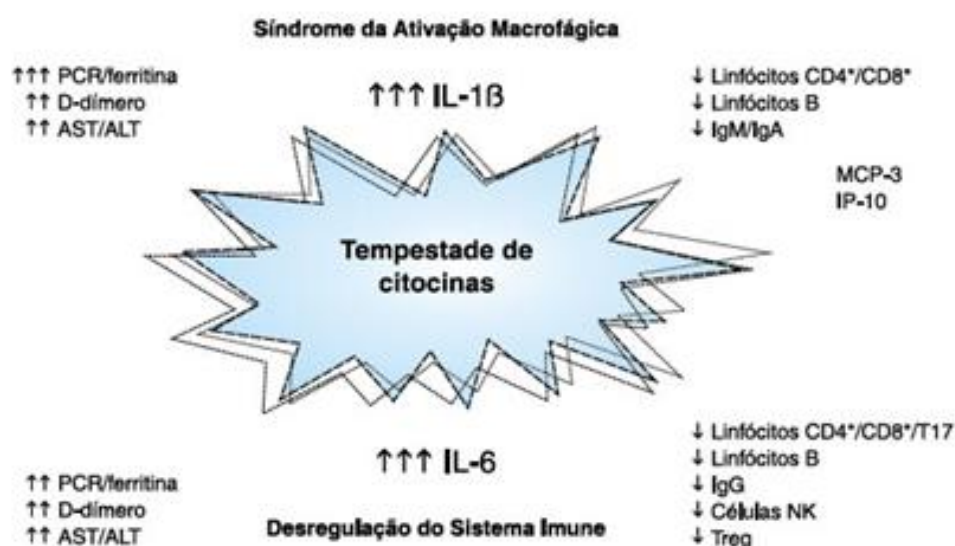


Figura 4: Mecanismos imunológicos que levam à tempestade de citocinas na COVID-19.

Fonte: adaptado de AARESTRUP *et al* (2020)

Um dos marcadores encontrados em pacientes infectados é a proteína C-reativa inespecífica, um biomarcador amplamente utilizado para o diagnóstico de sepse. Além disso, níveis elevados de citocinas inflamatórias e quimiocinas são associados à gravidade da doença e à morte na COVID-19 (ONG, *et al.*, 2020)

Os pesquisadores concordam que na infecção grave causada pela COVID-19, ocorre uma resposta inflamatória pulmonar e sistêmica exacerbada,

com aumento dos níveis de soro de marcadores inflamatórios, como proteína C-reativa (PCR), desidrogenase láctica (LDH), ferritina, D-dimer e IL-6 (GUAN et al.; HUANG et al., 2020) todos os quais podem resultar em tempestade de citocinas, similarmente ao SARS e MERS. (CHANNAPPANAVAR, R. e PERLMAN, 2017).

4 Manuscrito

A metodologia e os resultados obtidos nesta dissertação serão apresentados na forma de manuscrito e representam, na íntegra, o estudo. O presente manuscrito está formatado de acordo com as normas da revista a qual foi submetido: *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Fator de impacto: 2,849; ISSN: 1661-7827).

DETECTION OF SARS-COV-2 VIRUS USING ALTERNATIVE MOLECULAR METHOD AND EVALUATION OF BIOCHEMICAL, HEMATOLOGICAL, INFLAMMATORY, AND OXIDATIVE STRESS IN HEALTHCARE PROFESSIONALS

Carla Marcelino Trassante^a, Victor dos Santos Barboza^a, Paulo Maximiliano Correa^b, Cristiane Luchese^c, Ethel Antunes Wilhelm^c, Gabriele Cordenonzi Ghisleni^d, Ricardo Tavares Pinheiro^d, Rafael Noal Moresco^e, Virginia Cielo Rech^f, Rodrigo de Almeida Vaucher^a, Janice Luehring Giongo^{a*}

^aGraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Research Laboratory in Biochemical and Molecular Biology of Microorganisms (LaPeBBiOM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Brazil.

^b Pharmacy Undergraduate School, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Brazil.

^c Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Research Laboratory in Biochemical and Molecular Biology of Microorganisms (LaPeBBiOM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Brazil.

^d Graduate Program in Health and Behavior, Universidade Católica de Pelotas, RS, Brazil.

^e Graduate Program in Pharmacy, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.

^f Graduate Program in Nanosciences, Universidade Franciscana, RS, Brazil

***Corresponding author.**

Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

Email addresses: janicegiongo@hotmail.com (J. L. Giongo)

Abstract

In early December 2019, an outbreak of coronavirus (SARS-Cov-2), caused by a new severe acute respiratory syndrome (COVID-19) took place in the city of Wuhan, in the Hubei Province in China. On January 30th, 2020, the World Health Organization (WHO) declared the outbreak as a Public Health Emergency of International Concern. Since then, frontline health care professionals have been experiencing extreme stressful situations and damage to their physical and mental health. These conditions harm the organism, including stress, biochemical, hematological, and inflammatory changes, as well as oxidative damage. The study population consisted of frontline health professionals working in Basic Health Units (UBS) in a city in southern Brazil. Amongst the 45 participants, two of them were infected with the SARS-Cov-2 virus and diagnosed by immunochromatographic tests as saliva RT-LAMP and qRT-PCR. We also evaluated biochemical, hematological, inflammatory, and oxidative stress markers. The group of infected professionals (CoV-2-Prof) showed a significant increase in the levels of alanine aminotransferase (ALT), glutamic oxalacetic transaminase (GOT), cholesterol (HDL), lactic dehydrogenase (LDH), lymphocytes, and monocytes. In this group, the values of uric acid, triglycerides, leukocytes, percentage of neutrophils, hemoglobin, hematocrit, and platelets decreased. Regarding the group of uninfected professionals (No-Cov-2-Prof), a significant increase in HDL levels, percentage of eosinophils, and monocytes was observed. There was a significant reduction in the levels of uric acid, LDH, triglycerides, cholesterol (VLDL), hematocrit, and mean corpuscular volume (MCV). Both groups showed significant inflammatory, where infected health professionals had changes in C-Reactive Protein levels and uninfected professionals demonstrated changes in mucoproteins. Our study is the first to report the use of the RT-LAMP method with saliva samples from health professionals.

Keywords: Health professionals, RT-LAMP, RT-PCR, SARSCoV-2, oxidative stress, inflammation.

1.Introduction

The emergence of viral diseases poses a serious threat to global public health. Several viral epidemics in the past few decades have increasingly emerged. On December 31st, 2019, the China Health Authority alerted the World Health Organization [1] to several cases of pneumonia of an unknown etiology in the city of Wuhan in Hubei province, China [2]. The pathogen causing the new disease was named SARS-CoV-2 by Coronavirus and the WHO named the disease as coronavirus 2019 (COVID-19) [3]. On December 14th, 2020, 4.24 million confirmed cases and 294,046 deaths worldwide caused by COVID-19 were reported [1].

SARS-CoV-2 was classified as a 2B group beta-coronavirus with greater similarity to two bat-derived coronavirus strains, more than 96% identical. The genome of the new virus comprises a 5' untranslated region (UTR), replicase complex (ORF1ab), Spike gene (S gene), E gene, M gene, N gene, and 3' UTR [4].

Since the outbreak of SARS-CoV-2 infection began, the recommended gold standard assay is the polymerase chain reaction with real-time reverse transcription (RT-qPCR). This technique has played an important role in the clinical diagnosis and investigation of suspected cases, with numerous commercially standardized kits and recommendations from the CDC and WHO [5]. However, alternative methods have been proposed for the detection of SARS-CoV-2, among them the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) developed by Notomi *et al.* [6]. The execution of RT-LAMP is performed in isothermal conditions of 65° C and the results are obtained within 15–40 min and aims at amplifying genes such as: ORF1ab, Spike (S), envelope (E), and Nucleocapsid from SARS-CoV-2 [7,8,9,10,11,12,13]. The RT-LAMP technique can detect the virus in both throat and nasopharyngeal swab samples, with a detection limit ranging from 5 to 10 copies of RNA and 99% to 100% agreement with RT-qPCR [10,11,12,]. In addition, the result of RT-LAMP can be assessed by visual inspection, by colorimetry, making results faster and more convenient [10].

However, the use of this method for screening SARS-CoV-2 by healthcare professionals has not been reported to date. Health professionals

face great demand for work and risks to their physical integrity, being frequently exposed to contagion by SARS-CoV-2. Therefore, they must be monitored, and the RT-LAMP method emerges as an alternative for the diagnosis of SARS-CoV-2, since its operation is relatively simple, of low cost and shorter execution time compared to RT-qPCR [9].

The physical and psychological impact of stress suffered by health professionals during the pandemic, as well as the fear of becoming infected with SARS-CoV-2 during the performance of professional activities have been the subject of recent studies on the health condition of these individuals [14]. Protocols with behavioral tests, as well as the evaluation of laboratory parameters capable of assisting in such investigations, are also important tools for understanding the results of studies in research worldwide [12]. Biochemical, hematological, coagulation, and oxidative damage markers stand out among the investigated laboratory parameters, in addition to numerous inflammatory markers, in particular cytokines, which can be detected in cases of SARS-CoV-2 infection [16,17].

We believe that the study of these markers combined with the detection of SARS-CoV-2 virus by a fast and less expensive technique could be an interesting tool to assist professionals and assess their condition. Thus, the aim of this study was to assess the condition of stress in health professionals in southern Brazil, by identifying SARS-CoV-2 virus using RT-LAMP technique in the individuals' saliva and by biochemical, hematological, and inflammatory markers as well as oxidative damage in such professionals and a control group of non-professionals.

2. Materials and methods

2.1 Study population

A prospective, cross-sectional study was conducted, including 90 samples of convenience, collected from frontline health professionals (45 individuals) in the fight against COVID-19 in Unidades Básicas de Saúde (UBS) in the municipality of Pinheiro Machado, in the State of Rio Grande do Sul and samples from the control group (45 samples) composed of healthy individuals who do not work in the health field. A questionnaire was applied to collect socio-demographic data, in addition to closed questions directly related to the work of

professionals during the pandemic. The questions also addressed questions regarding the conditions of pre-existing diseases and the use of medications. Inclusion criteria were health professionals who perform their activities in at least 1 of the Basic Health Units in the town of Pinheiro Machado/RS, and who have been exposed weekly to patients from these UBSs during the 3 months prior to the tests. No symptoms related to SARS-CoV-2 infection at the time of the interview. This last requirement was also applied to the control group named here as a non-professional group. In addition to these criteria, the individuals in the groups should voluntarily sign the Informed Consent Form (ICF). Exclusion criteria: health professionals and individuals in the control group who did not sign the ICF and who had already been diagnosed with COVID-19 3 months before the beginning of the study.

2.2 Samples

Saliva samples were collected from individuals in the non-professional health and control group to detect SARS-CoV-2 using the RT-LAMP method. All health professionals and the non-professional control group were tested after nasopharyngeal swab collection by qRT-PCR at the Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN/RS) for the detection of SARS-CoV-2. Blood samples were collected from all subjects after an overnight fast by venous puncture technique into Vacutainer® (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes in anticoagulants with EDTA and sodium citrate. The citrated plasma and serum tubes were routinely centrifuged at $2500 \times g$ for 15 minutes at 4° C. All collections were performed at the Laboratory of Rita de Cássia Laboratory, Pinheiro Machado/RS and Laboratory of Biochemistry Research and Molecular Biology of Microorganisms (LaPeBBiOM), Universidade Federal de Pelotas. All collection and transportation of samples used in the study followed the protocols recommended by the Center for Disease Control and Prevention [18]. This study protocol (4.124.248) was approved by the Local Research Ethics Committee and the volunteers who participated in the study signed a Free Prior Informed Consent..

2.3 Extraction of viral RNA

The viral RNA of the individuals' saliva was extracted by the K Proteinase method, as proposed by Chantal et al [19] with modifications. Approximately 0.5 mL of the subjects' saliva was collected in sterile falcon tubes and sent 46 immediately to the laboratory to begin extraction of the viral RNA. 50 μ L of saliva was transferred to a microtube, with 6.25 μ L of Proteinase K 20 mg/mL added (Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Brazil). The tubes were incubated 1 min at room temperature and then for more 4 min in a thermocycler at 55 °C. Subsequently, the tubes were inactivated at 95 °C for 1 min. After this procedure, the material was used to detect SARS-CoV-2 by the RT-LAMP method. Samples from nasopharyngeal swabs (NFS) as well as the positive control (SARS-CoV-2 inactivated, kindly provided by Prof. Dr. Edison Durigon of the University of São Paulo/USP) were extracted using the MagMax™ core nucleic acid purification kit (Applied Biosystems), according to the manufacturer's instructions. After extraction, the RNAs were quantified in NanoDrop® (Thermo Scientific, Waltham, MA). A concentration of approximately 10 ng of RNA was used to perform RT-LAMP and RT-qPCR.

2.4 RT-LAMP

RT-LAMP reaction was performed on saliva samples from the professional and non-professional group as proposed by Park et al. [13], with modifications. A reaction of 25 μ L of final volume with the WarmStart® Colorimetric LAMP 2X Master Mix kit (New England Biolabs, Inc) was performed according to the manufacturer's instructions. Oligonucleotides for the N gene (Nsp3_1-61) and for the actin gene (ACT) were synthesized. The concentrations used in each Nsp3_1-61 oligonucleotide reaction were: 1.6 μ M of F3 (5' GGAATTTGGTGCCACTTC 3') and B3 (5' CTATTCACCTCAATAGTCTGAACA 3'), 0.4 μ M of FIP (5' CTTGTTGACCAACAGTTTGTGACTTCAACCTGAAGAAGAGCAA 3') and BIF (5' CGGCAGTGAGGACAATCAGACACTGGTGTAAGTTCCATCTC 3') and 0.4 μ M of LF (5' CGGCAGTGAGGACAATCAGACACTGGTGTAAGTTCCATCTC 3') and LB (5' TCAAACAATTGTTGAGGTTC AACC 3'). The gene of actine was used as an endogenous control and the concentrations applied in each reaction of the oligonucleotide ACT were: 0.4 μ M of primers F3 (5' AGTACCCCATCGAGCACG 3') and B3 (5' AGCCTGGATAGCAACGTACA 3'),

0.4 μ M of FIP (5' GAGCCACACGCAGCTCATTGTATCACCAACTGGGACGACA 3') and BIF (5' CTGAACCCCAAGGCCAACCGGCTGGGGTGTGGAAGGTC 3') and 0.4 μ M of 47 LF (5' TGTGGTGCCAGATTTTCTCCA 3'), and LB (5' CGAGAAGATGACCCAGATCATGT 3'), respectively. After preparing the reactions, the tubes were incubated in a thermal block at 65° C for 30 minutes and the tubes were read in colorimetric form by visual inspection

2.5 qRT-PCR

RNA samples extracted from the nasopharyngeal swabs of the healthcare professionals and control groups were evaluated by qRT-PCR, as described by Corman *et al.* (2020). Briefly, a reaction of 25 μ L of final volume was used, with the following volumes added to the 1x concentrated master mix: 5 μ L of sample RNA, 12.5 μ L of 2 $\times$ reaction buffer, 1 μ L of Superscript™ III One-Step with Platinum™ Taq DNA Polymerase (Invitrogen, Darmstadt, Germany), 0.4 mM of each dNTP, 0.4 μ L of a 50 mM MgSO₄ solution (Invitrogen), 1 μ g of non-acetylated bovine albumin (Roche), and DEPC qsp water. The primers and probes used were: E-Sarbeco-F (5' ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT 3'), E-Sarbeco-R (5' ATATTGCAGCAGTACGCACACA3'), E-Sarbeco-P1 (5'-FAM – ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG – BBQ 3'), Rp-SARSR-F (5' GTGARATGGTCATGTGTGGCGG 3'), RdRp-SARSR-R (5' CARATGTTAAASACACTATTAGCATA 3') and RdRp-SARSR-P1 (5' FAM-CCAGGTGGWACRTCATCMGGTGATGC-BBQ 3'). The cycling conditions were: 55° C for 10 minutes for reverse transcription, followed by 95° C for 3 minutes and 40 cycles of 95° C for 15 seconds, 58° C for 30 seconds. The reactions were performed on Real-time OneStep® equipment (Applied Biosystems, USA).

2.6 Biochemical measurements

The sera from individuals in the health professional and non-professional groups were initially used to assess the presence of anti-SARS-CoV-2 IgG/IgM antibodies using the immunochromatographic method (Wondfo Biotech Co. Ltd, China). were used to evaluate the levels of uric acid, albumin, ALT, GOT, creatinine, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, VLDL

cholesterol, glucose, total globulins, lactic dehydrogenase, total proteins, C reactive protein, triglycerides were performed by use of standard methods on Cobas MIRA® automated analyzer (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). 48 Colorimetric mucoprotein was identified using the Labtest commercial kit (Minas Gerais, Brazil), as instructed by the manufacturer. Cortisol was determined in serum by immunoenzymatic assay (ELISA). Cortisol level (Diagnostics Biochem Canada Inc) was quantified according to the manufacturer's recommendations. Microplate reading was performed on a microplate reader (TP-Reader, Thermo Plate, China) in the length of 450 nm. The FRAP, total oxidation status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) concentrations were determined on Cobas MIRA® described previously by Erel, respectively [21,22]. The ratio percentage of the total peroxide (TOS) to the total antioxidant potential (TAC) gave the oxidative stress index (OSI), an indicator of the degree of oxidative stress [23].

2.7 Hematologic analysis

Hematological parameters were assessed in whole blood collected in tubes containing EDTA (Vacutainer®) using an ABX Micros 60® automated hematology system (HORIBA Medical, Japan). Total leukocytes (WBC), total erythrocytes (RBC), hemoglobin concentration (Hb), hematocrit (Ht), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and platelets (PLT) were determined. Blood smears were fixed in methanol and stained with Instant-Prov (NewProv®) stain for determination of the differential WBC count. At least 200 WBCs were counted for differential WBC determinations.

2.8 Anticoagulant activity

Anticoagulant activity was determined based on aPTT and PT, which indicate the intrinsic and extrinsic coagulation pathways, respectively, in samples of citrated plasma. The patient samples were then centrifuged at 800 g for 10 min. aPTT and PT were determined using a mono channel coagulometer (Clotimer, Brazil) with the commercial kits (Biotechnica, Brazil), following the manufacturer's instructions.

2.7 Imonochromatographic test

All subjects participating in the study were tested for the presence of IgG/IgM antibodies using the rapid immunochromatographic test of the brand Wondfo Biotech as recommended by the manufacturer.

2.9 Statistical analysis

Data were express as mean $\pm$ SD for duplicates or triplicates for each experimental point. Data were analyzed by using one-way analysis of variance test (ANOVA), followed by Dunnet's multiple comparison test when needed, using GraphPad Prism 4.0 software.

3. Results

3.1 Study population

Table 1: Socio-demographic data of the individuals studied.

	No-CoV-2	Cov-2- Prof	No-Prof
Gender (%)			
Female	86.7	100	77.9
Male	13.3	-	22.2
Age (years)			
18 to 35	-	100	35.6
Above 35	42.2	0	64.4
Education			
High school	54,6	0	73.3
University education	45,4	100	26.7
Profession			
Community agent/ endemic	24.4	-	-
Doctors	8.9	50	-
Nurses / Nursing technicians	31.1	-	-
Other health professionals	35.6	50	-

Pre-existing diseases			
Some type of pre-existing disease	44.2	50	57.9
Respiratory disease	21	-	17.8
Hypertension	16.3	-	26.7
Heart disease	4.7	-	4.4
Diabetes	7	-	22.2
Depression	4.7	50	11.1
Use of medicines			
Contraceptive	41.9	100	44.4
Losartan	14	-	17.8
Hydrochlorothiazide	9.3	-	15.5
Omeprazole	9.3	-	11.1
Clonazepan	7	-	11.1
Fluoxetine	4.7	50	6.6
Metformin	7	-	22.2
Budsonida	7	-	2.22
Others	28	50	62.2
Total (n = 90)	100% (43)	100% (2)	100% (45)

3.2 Detection of SARS-CoV-2 in the studied individuals

Table 2: Immunological and molecular tests performed in the study.

Test	Result	Prof-no-CoV-2 (n = 43)	Prof-CoV-2 (n = 2)	No-Prof (n = 45)
Immunochromatographic test	Positive	-	(2/90)	-
	IgG/IgM			
	Negative	(43/90)	-	(45/90)
RT-LAMP (Saliva)	Positive	-	(2/90)	-
	Negative	(43/90)	-	(45/90)
	Detected	-	(2/90)	-

qRT-PCR	Inconclusive	-	-	-
	Not detected	(43/90)	-	(45/90)

RT-LAMP (figure 1) detected the presence of SARS-CoV-2 virus in 2 saliva samples from the tested health professionals (channel 10 and 11). Due to this fact, the group of health professionals was subdivided into: Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 during the course of the study.

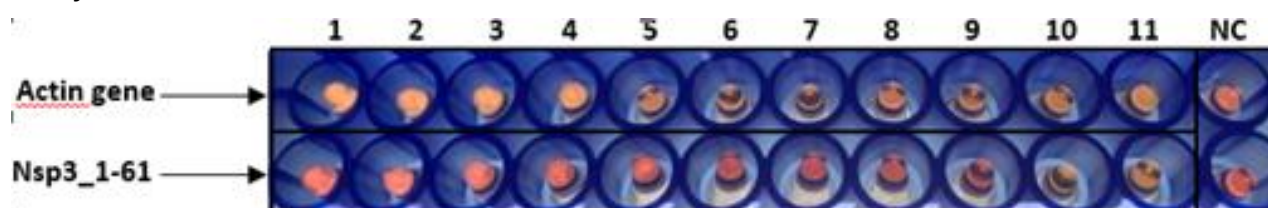


Figure 1: Results of RT-LAMP in saliva samples for the study subjects. Channel 1 to 9: negative result for the detection of SARS-CoV-2. Channel 10 and 11: positive result for SARS-CoV-2. Pink reaction: no amplification; Yellow reaction: amplification.

The results were confirmed by the qRT-PCR method, indicating that the RT-LAMP from saliva is a reproducible and reliable method. In addition, all negative results on RT-LAMP were also confirmed by qRT-PCR and presented similar results, that is, the presence of the SARS-CoV-2 virus was not detected in the individuals' nasopharyngeal swab samples. The serology results of the individuals also showed the same pattern of results, and only in the Prof-no-CoV-2 group antibodies of the IgG/IgM class were detected after 15 days of viral infection.

Table 3: Biochemical parameters evaluated in the study.

Tests	Prof-No-CoV-2	Prof-CoV-2	No-Prof	P value
Uric Acid (mg / dL)	5.05 ± 2.23 **	4.15 ± 0.92 *	7.41 ± 1.55	0.0001
Albumin (mg / dL)	4.28 ± 1.34	4.05 ± 0.35	4.54 ± 1.06	0.4562
ALT (U / L)	15.62 ± 8.01	51.5 ± 23.3 *	42.8 ± 62.31	0.0222
GOT (U / L)	22.7 ± 9.4	105 ± 21.21**	39.49±39.45	0.0001

Creatinine (mg / dL)	1.15 ± 0.16	1.09 ± 0.06	1.24 ± 0.29	0.1570
Cholesterol (mg / dL)	213.07 ± 47.25	216 ± 12.72	195 ± 39.02	0.1237
Glucose (mg / dL)	83.98 ± 57.9	74.5 ± 9.19	80.28 ± 27.7	0.9077
Total globulins (g / dL)	4.23 ± 1.64	6.15 ± 1.05	4.15 ± 1.69	0.2535
HDL (mg / dL)	91.5 ± 25.7 **	92 ± 23.7 **	64.4 ± 15.9	0.0001
Lactic dehydrogenase (U / L)	270.5 ± 64.16*	515 ± 91.92**	343.9 ± 80.88	0.0001
LDL (mg / dL)	97.15 ± 42.91	101 ± 36.7	96.07 ± 38.15	0.9195
Total proteins (g / dL)	8.51 ± 1.1	10.2 ± 0.71	8.67 ± 1.37	0.1347
Triglycerides (mg / dL)	122.1 ± 82.18*	115 ± 21.21*	173.1 ± 92.49	0.0296
Urea (mg / dL)	36.14 ± 9.63	30.3 ± 13.44	39.6 ± 13.44	0.1626
VLDL (mg / dL)	24.43 ± 16.44	23 ± 4.24	34.6 ± 18.5	0.0296

Data are expressed as mean ± SD of the Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 groups compared to the No-Prof (control). * p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001 compared to control.

When assessing anti-inflammatory activity, a significant increase in mucoprotein levels can be seen in the Prof -No-CoV-2 group (**figure 2A**) when compared to the No-Prof. A non-significant reduction in mucoprotein was observed in the CoV-2-Prof group when compared to the No-Prof control. The levels of C-Reactive Protein had a significant increase only in the Prof-CoV-2-Prof group when compared to the No-Prof control (**Figure 2B**).

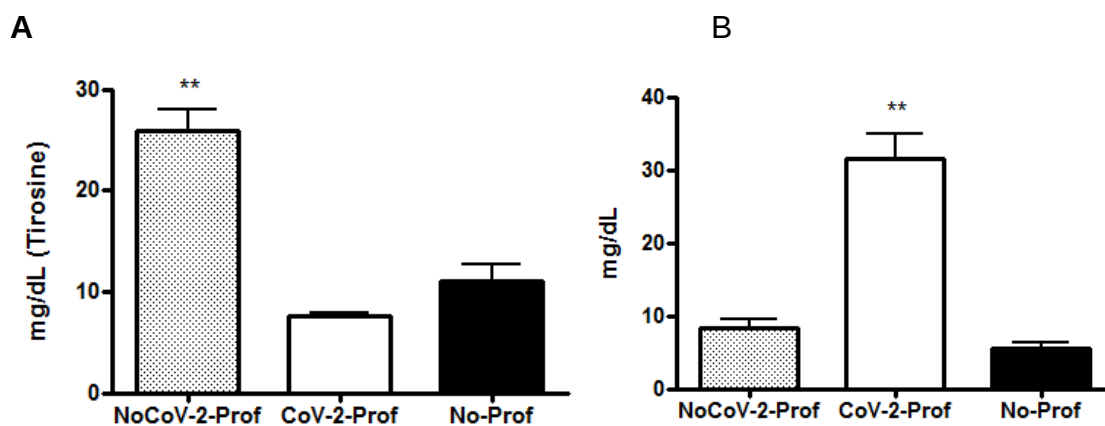


Figure 2: Anti-inflammatory activity with levels of mucoproteins (A) and C-reactive protein (B). Data are expressed as mean ± SD of the Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 groups compared to the No-Prof (control). * p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001 compared to control.

The professionals' stress assessment was validated by the detection of serum cortisol levels. A significant increase in circulating cortisol levels was observed in the NoCoV-2-Prof group when compared to the cortisol levels of the individuals in the No-Prof group (**Figure 3**).

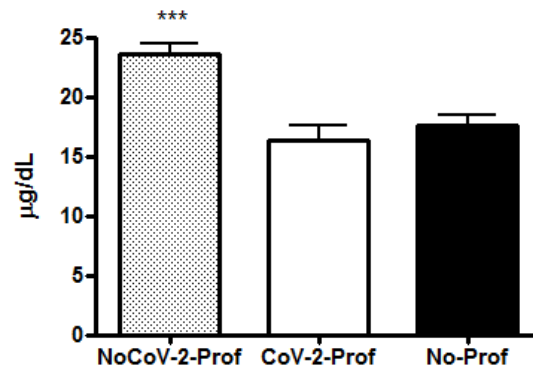
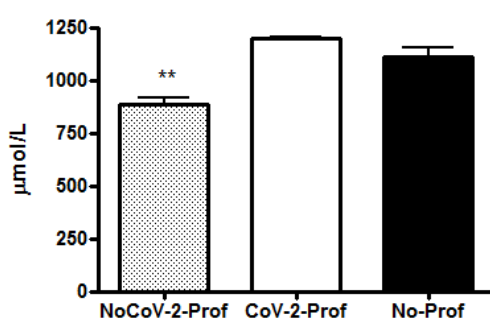


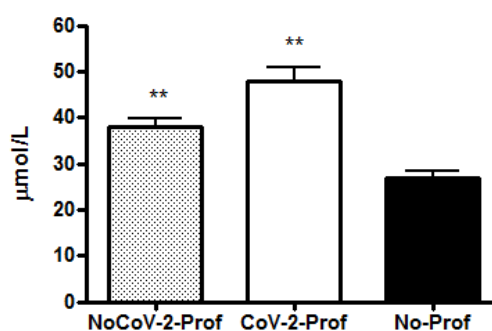
Figure 3: Individuals' stress assessed by plasma cortisol levels. Data are expressed as mean $\pm$ SD of the Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 groups compared to the No-Prof (control). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ compared to control.

The determination of oxidative stress was assessed by FRAP, TOS, TAC, and oxidative stress index (OSI) assays. **Figure 4A** shows the results of the level of antioxidants in the serum of the groups evaluated in the FRAP assay. A significant decrease in the level of antioxidants can be observed in the Prof-No-CoV-2 group when compared to No-Prof. **Figure 4B** shows the results of TOS levels. A significant increase in TOS levels can be observed in the No-CoV-2-Prof and CoV-2-Prof groups when compared to the No-Prof group. **Figure 4C** shows TAC levels. There was a significant increase in TAC levels in the Prof-No-CoV-2 groups when compared to the No-Prof group. Figure 4D shows the results of the oxidative stress index (OSI).

A



B



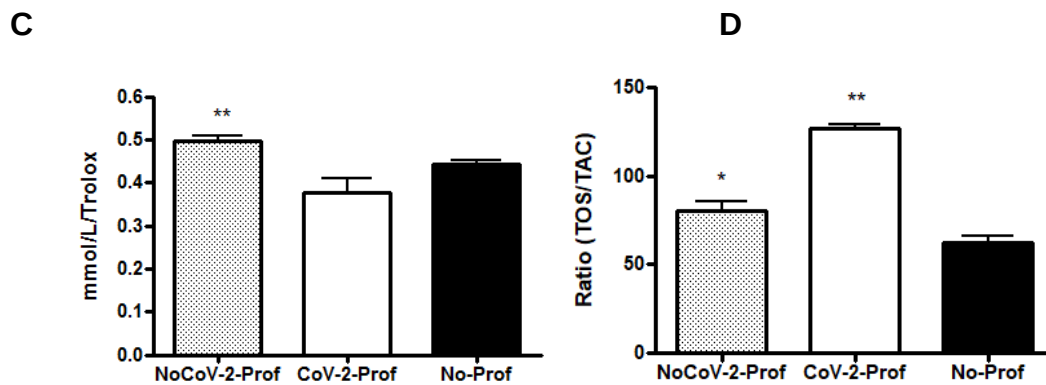


Figure 3: Antioxidant activity and oxidative stress of the individual groups belonging to the study. FRAP (A), TOS (B), TAC (C) and OSI (D). Data are expressed as mean $\pm$ SD of the Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 groups compared to the No-Prof (control). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ compared to No-Prof (control).

Table 4 shows the results of the hemograms. A significant reduction in the values of WBC, neutrophils, hemoglobin, hematocrit and platelets can be seen in the Prof-CoV-2 group when compared to the No-Prof group. There was a significant increase in lymphocyte and monocyte values in the Prof-CoV-2 group compared to the No-Prof group. A significant increase in the values of eosinophils and erythrocytes was observed in the Prof-no-CoV-2 group compared to the No-Prof group. There was a significant decrease in hematocrit and MCV values in the Prof-no-CoV-2 group compared to the No-Prof group.

Table 4: Blood count values of the groups evaluated.

	Prof-no-CoV-2	Prof-CoV-2	No-Prof	P
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.62 $\pm$ 3.3	2.8 $\pm$ 1.41 **	6.41 $\pm$ 1.8	0.0052
Rods (%)	0.7 $\pm$ 0.72	0	0.5 $\pm$ 0.56	0.1292
Neutrophil (%)	68 $\pm$ 10.7	39.0 $\pm$ 2.12 ***	67 $\pm$ 4.9	0.0001
Eosinophil (%)	2.0 $\pm$ 0.68 **	2 $\pm$ 1 **	1.0 $\pm$ 0.80	0.0043
Basoophili (%)	0.3 $\pm$ 0.4	0	1.0 $\pm$ 0.31	0.9082
Lymphocyte (%)		45.0 $\pm$ 3.53 ***	26 $\pm$ 3.4	0.0001
	24 $\pm$ 3.9			
Monocyte (%)	5.0 $\pm$ 1.30	15 $\pm$ 1.41 ***	4.5 $\pm$ 3.1	0.0001
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.75 $\pm$ 0.63 **	3.9 $\pm$ 0.19	4.23 $\pm$ 0.38	0.0003
Hb (g/dL)	13 $\pm$ 0.81	10.9 $\pm$ 0.56 *	14.2 $\pm$ 1.56	0.0415

Ht (%)	34.8 ± 12.9 *	34.3 ± 1.83 *	37.1 ± 3.3	0.0365
MCV (fl)	82.7 ± 13.5 **	85 ± 2.82	87.8 ± 3.8	0.0094
MCH (pg)	33.0 ± 12.9	29.3 ± 0.91	32.7 ± 3.4	0.7709
MCHC (g / dL)	33.8 ± 13.4	34.4 ± 1.69	37.6 ± 3.1	0.7463
PLT (x 10³/μL)	311 ± 113.4	125 ± 21.21 *	274.3 ± 65.9	0.0126

Data are expressed as mean ± SD of the **Prof-no-CoV-2** and **Prof-CoV-2** groups compared to the **No-Prof (control)**. * p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001 compared to control.

Evaluating coagulation proteins, a significant decrease in prothrombin time (PT) activity was observed in the Prof-no-CoV-2-Prof group when compared to the No-Prof control (figure 5A). For the activated partial prothrombin time (aPTT), no significant differences were observed between the groups (figure 5B).

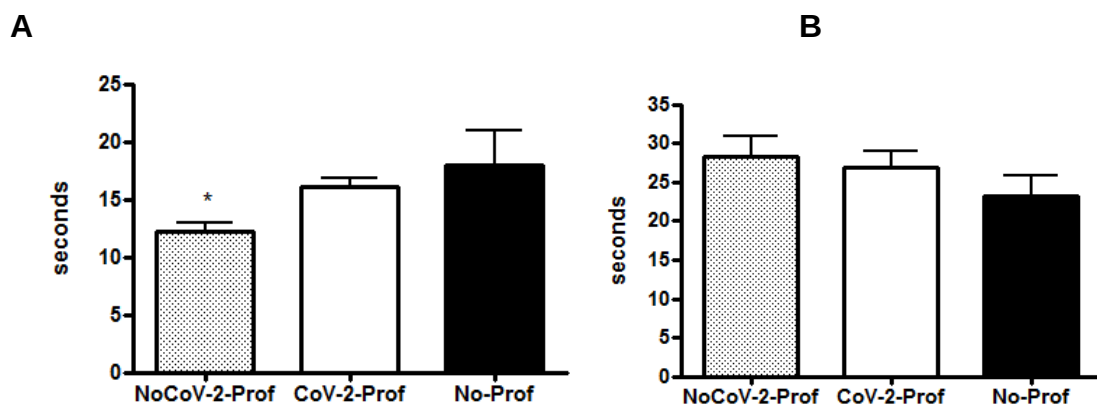


Figure 5: Evaluation of proteins from the intrinsic and extrinsic pathways of coagulation in the groups. TP (A) and aTTP (B). Data are expressed as mean ± SD of the Prof-no-CoV-2 and Prof-CoV-2 groups compared to the No-Prof (control). * p <0.05; ** p <0.01; *** p <0.001 compared to No-Prof (control).

4. Discussion

The study participants were divided into three groups based on the results initially observed in the RT-LAMP method: Prof-Cov-2, Prof-No-CoV-2, and NoProf. This result was important, as it is the first report on the use of the RT-LAMP technique in testing health professionals from saliva. Although the method has already been reported by Park *et al.* [13] and using commercially

available reagents, the RT-LAMP presented in this study showed interesting advantages over qRT-PCR. Some studies recently carried out using the RT-LAMP method aimed to standardize the RT-LAMP method to detect viral RNA for the diagnosis of the virus SARS-CoV-2 in nasopharyngeal samples [13,18,19,20]. Dao *et al.* [21] tested a two-color RT-LAMP assay protocol to detect SARS-CoV-2 viral RNA using a primer set specific for the N gene. Yan *et al.* [10] developed an RT-LAMP assay designing specific primers for the SARS-CoV-2 orf1ab and S genes.

SARS-CoV-2 transmission is mediated mainly by saliva droplets [16]. FDA has approved saliva as a source for detecting the virus. Ben-assa *et al.* [22] applied RT-LAMP to nasal swab samples and self-collected saliva samples. The tests were performed on 186 samples from suspected patients, and the results, as well as our study, were compared with those obtained using qRT-PCR. However, among the samples tested, only 3 were saliva. Two of them had confirmed results for SARS-CoV-2 and another suspected patient with a negative result. Tests of saliva samples from patients confirmed by RT-LAMP and RT-qPCR (2 subjects) tested positive, while 1 negative case was confirmed as negative in the qRT-PCR. Our results are in line with those reported by Ben-assa *et al.* [22] showing that RT-LAMP is a fast, low-cost, and safe method to be used in the screening of the SARS-CoV-2 virus in healthcare professionals. A study reported by Nagura-Ikeda *et al.* [23] evaluated the self-collected saliva, with a median of 3 days after receiving their first positive qRT-PCR result. Self-collected saliva at the initial stage of symptoms proved to be an alternative option for diagnosing the SARS-CoV-2 virus. However, no study had yet tested a group of health professionals, using the RT-LAMP method to detect the SARS-CoV-2 virus in saliva. with an average of 3 days after receiving their first positive qRT-PCR result. Self-collected saliva at the initial stage of symptoms proved to be an alternative option for diagnosing the SARS-CoV-2 virus. However, no study had yet tested a group of health professionals using the RT-LAMP method to detect the SARS-CoV-2 virus in saliva.

Considering the 45 individual health professionals who participated in the study, it was possible to observe a diversity of functions at the UBS. Depending on their role, they may be more exposed to the risk of being infection with the SARS-CoV-2 virus. Nurses and nursing technicians were in greater numbers

(31.1%). Doctors were 8.9%, community workers and/or endemic agents 24.4%. 44.2% of them had preexisting disease, with a prevalence of respiratory disease (21%), hypertension followed shortly after with 16.3%. Diabetes affected 7% of the participants, heart disease and depression were present in 4.7%. During this study, 2 professionals (1 doctor and 1 dentist) had a detectable result for SARS-CoV-2 and ended up composing the CoV-2-Prof group. Johnstone and Turale [24] reported that nurses and nursing technicians could be the professionals most affected by the virus during the pandemic. Our results showed that although there was a greater number of professionals exercising this role in the NoCoV-2-Prof group, there were no cases of infection by the SARS-CoV-2 virus during the entire study.

Stress is the response of the body to any non-specific demand related to emotional tension and pressure [28]. Stress conditions can activate different metabolism response routes and cause oxidative damage in these individuals. Prolonged emotional pressure of distressing periods such as the pandemic, or chronic stress, can lead to a wide spectrum of physical and psychological illnesses [29]. The pandemic caused by the new coronavirus has had several psychological effects worldwide. Previous psychiatric illnesses have been exacerbated. In this study the psychological impact less reported by individuals was stress (4.7%), a result that was contrary to the increased levels of plasma cortisol observed in a significant way in the group No-CoV-2-Prof when compared to the No-Prof. Blackman [25] recently reported the emotional exhaustion of health professionals during the pandemic, with effects on the behavior of such individuals. 74.4% of professionals stated that they had some change in their professional routine. Da Silva and Neto [26] state that the psychological suffering of health professionals can be associated with the uncertainty of a safe workplace. Moore *et al.* [27] showed that 35% of the frontline professionals in the United Kingdom needed support, but did not feel able to ask for help, and 64% reported feeling anxious during the April 2020 peak of the pandemic. Such situations can cause physiological changes, increasing the level of some biochemical, hematological, coagulation, and inflammatory markers.

In this study, a significant reduction in uric acid values was observed in the Prof-CoV-2 group. A significant decrease in the levels of uric acid and

triglycerides was observed in the Prof-no-CoV-2 group. Qin *et al.* [30] reported in a study that in severe cases of COVID-19, extremely low levels of uric acid were detected because of the disease. During the formation of uric acid, ROS and H₂O₂ are formed by the enzymatic activity of xanthine oxidase. The increase in uric acid levels indicates that the enzyme is more active, therefore, producing more ROSs leading to a state of oxidative stress. This hypothesis may be one of the factors that increases oxidative stress in Covid-19.

Trinder *et al.* [31] state that changes in lipids correlate with the severity of the infection, that is, the more severe, the greater the changes in the levels of lipids and lipoproteins. Alvarez [32] and Sahin and Yldiz [33] reported that triglyceride levels may be elevated or inadequately normal in cases of viral infection. Feingold *et al.* [34] also showed that in patients with COVID-19 infections, serum triglyceride levels were variable, both high and low. Wang, L. *et al.* [35] found that the level of serum triglycerides were important influencing factors for the recovery from SARS-CoV-2 infection. However, there are no data available in the literature involving the measurement of these parameters in health professionals who work during the pandemic for a concrete comparison of results.

A significant increase in ALT, GOT, HDL, and LDH levels in the Prof-CoV-2 group was observed in the study. There was also a significant increase in HDL values in the Prof-no-CoV-2 group and a significant decrease in LDH and VLDL levels in the Prof-no-CoV-2 group. Changes in liver function tests have been reported in up to 40% of patients suffering from COVID-19 [36,37,38]. The suggested mechanism for liver damage involves the presence of Angiotensin II receptors (ACE2) and transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2) in cholangiocytes and hepatocytes, which suggests that the damage to liver function is due to viral cytopathic effect [39,40]. In addition, there are also other mechanisms that may be involved, such as autoimmune damage, hypoxic hepatitis, and drug-induced liver damage [41]. There is an association with the severity of COVID-19 with liver damage and even some meta-analyses indicate that the alteration of these liver enzymes could be used as prognostic markers for the severity of COVID-19 [42,43]. Shao *et al.* [40] carried out a study with 98 mild COVID-19 patients at the Wenzhou Central

Hospital in Wenzhou, China and their results suggest that hepatobiliary complications are prevalent in patients with mild COVID-19.

Thus, our results are not in line with the data in the literature. Regarding HDL dosage, the infected professionals had significantly increased values comparing to the control group, different from the results in the literature, which show a decrease in the total LDL and/or HDL cholesterol in patients infected with COVID-19. In most studies, the more severe the disease the greater was the decrease in LDL and/or HDL [34]. The decrease in serum HDL cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. Infected patients had drastically reduced concentrations of serum total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol [44]. As the professionals had a satisfactory recovery, HDL levels may have remained higher than those reported in the literature for the most severe cases of COVID-19 in hospitalized patients. In these patients, the levels of total cholesterol, LDL and HDL may be decreased [32,33]. A study by Scalsky *et al.* [45] reported that high HDL levels were associated with a reduced risk of positive testing for SARS-CoV-2, a result opposite to the one we obtained, since this parameter was high in infected individuals. In the study by Li *et al.* [46] a high level of lactic dehydrogenase (LDH) was significantly associated with severe COVID-19 on admission. Patients with risk factors such as older age, hypertension, and a high level of LDH required careful observation and early intervention to prevent the worsening of COVID-19. According to Li *et al.* [43], Zhang *et al.* [47], and Wu *et al.* [48] a high level of LDH is a factor for COVID-19 severity. Wang *et al.* [35] found in their results 40% of patients infected with high LDH. Cov-2-Pro group had a significant increase in LDH compared to the control group but did not have the severe form of the disease. Erez *et al.* [49] report that LDH has been recognized as a marker for severe prognosis in several diseases, including cancer and infection.

Inflammatory markers of acute phase were evaluated in this study. A significant increase in mucoprotein (MUC) levels was demonstrated in the No-CoV-2 group and a non-significant reduction in mucoprotein was observed in the CoV-2-Prof group. There was no data in the current literature to compare these results, being the first report on the use of mucoprotein to assess the acute inflammatory process in health professionals working during the pandemic. CRP levels increased significantly in the CoV-2-Prof group. We

attribute the increase to the SARS-CoV-2 viral infection in this group of professionals. Guan *et al.* [37] described biochemical findings where C-reactive protein (CRP) was elevated in 60.7% of the evaluated patients. Lippi, Plebani, and Henry [50] reaffirm this hypothesis, reporting that one of the most frequent laboratory alterations in patients with COVID-19 is the increase in CRP by 75%-93%. These data are in agreement with those described in our study. Li, *et al.* [46] explain that, approximately 7 to 14 days after the onset of the initial symptoms, an increase in the clinical manifestations of the disease begins. This occurs in parallel with a pronounced systemic increase in inflammatory mediators and cytokines, which can even be characterized as a "cytokine storm". Higher CRP was associated with unfavorable aspects of COVID-19, such as the development of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), higher levels of troponin - T, myocardial injury, and death [48]. Many studies set out that the hyperinflammatory response induced by SARS-CoV-2 is one of the main causes for the severity of the sickness and death in infected patients.

It is known that the chronic stress can stimulate the conserved transcriptional response to adversity (CTRA *through* the sympathetic nervous system) leading to the induction of proinflammatory cytokines and the suppression of genes involved in the production of antibodies and interferons, bringing vulnerability to viral infections. Proinflammatory cytokines induce chronic inflammation and ROS generation, thus producing an unbalanced oxidative stress response [51]. Oxidative stress results from an imbalance between the generation of oxidizing compounds and the performance of antioxidant defense systems [52]. Several respiratory viruses induce an unregulated formation because of the increased recruitment of inflammatory cells at the infection place [53]. Among the markers of oxidative stress, TAC, TOS and OSI can be an important tool for the investigation of oxidative stress in the organism [54,55]. In addition, FRAP in the serum was determined, an indirect method to assess antioxidant capacity. We observed a significant decrease in the level of antioxidants in the No-CoV-2-Prof group, a significant increase in TOS levels in the No-CoV-2-Prof and CoV-2-Prof groups, a significant increase in TAC levels in the No-CoV groups -2-Prof and a significant increase in OSI levels in the No-CoV-2-Prof and CoV-2-Prof groups. Current research findings and reports have suggested that oxidative stress could play

an important role in SARS-Cov-2 infections. The absence or reduction of oxidative stress would have a significant beneficial effect during the initial stage of viral infection, preventing the binding of viral protein in host cells [52]. Derouiche [56] reports that oxidative stress affects repair mechanisms and the immune control system, which is one of the main events of the inflammatory response. This fact leads to oxidative stress that may be linked to a greater propensity to be infected with COVID-19, in addition to being a factor that increases the severity of the virus, especially in patients with chronic diseases. All reported markers able to assess the level of oxidative stress in groups of individuals were reported in an unprecedented way in this study. Thus, we do not have data in the literature for comparison.

Regarding the frequent hematological changes in patients with COVID-19, it is known that there is a total leukocyte count with considerable variation, sometimes appearing high or decreased, but with evident presence of lymphopenia. There is also a decrease in hemoglobin [50]. The number of leukocytes in the Cov-2-Pro group was reduced, a possibility that the authors mention. The hemoglobin in this group was also reduced, corroborating the data previously mentioned. The neutrophil count in the Cov-2-Prof group was decreased. Varim *et al.* [57] comment in their study that individuals with severe COVID-19 had an increase in neutrophils compared to patients who had mild disease. Higher neutrophil value is related to poor prognosis. Neutrophils play a vital role in our immune defenses, eliminating invading microorganisms. Common causes of neutropenia include autoimmune diseases, drug reactions, chemotherapy, and hereditary disorders [58]. Although further research is needed on the underlying etiology, several factors can contribute to COVID-19-associated lymphopenia. It has been shown that lymphocytes express the ACE2 receptor on their surface [59] and SARS-CoV-2 can directly infect these cells and ultimately lead to their lysis. In addition, the cytokine storm is characterized by markedly increased levels of interleukins and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF α) that can lead lymphocytes to apoptosis [60,61]. Substantial activation cytokines may also be associated with atrophy of lymphoid organs [62].

Huang *et al.* [7] and Wang *et al.* [35] highlighted an association between lymphopenia and the need for care in the ICU, while Wu *et al.* [48] showed an

association between lymphopenia and the development of acute respiratory distress syndrome (ARDS). Lymphopenia, excessive activation of the inflammatory cascade and cardiac involvement are crucial characteristics of COVID-19 disease and have a high prognostic value. However, the understanding of the underlying mechanisms is still limited [63]. The professionals in the Cov-2-Prof group had increased lymphocyte values, contrary to the literature data. He *et al.* [64] comments that the effect of lymphocytes in mild cases of COVID-19 (as the case for the two individuals in our infected group) is still unclear.

Another increased result of the Cov-2-Prof group was monocytes. The effect of monocytes in mild cases of COVID-19 is not yet clear (HE *et al.*, 2020). In line with our study, Zhou *et al.* [65] found significantly increased circulating proportions of CD14 and CD16 monocytes in peripheral blood of 33 patients hospitalized with COVID-19, and this percentage was highly increased in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome.

The result of the platelet count in the Cov-2-Pro group was reduced. Platelet count is a simple, inexpensive, and easily available biomarker, which is why it was quickly adopted as a potential biomarker for COVID-19 patients [66]. It was reported that the number of platelets was significantly reduced in patients with COVID-19 and even lower in non-survivors compared to survivors [66,67]. In the evaluation of coagulation proteins, a significant decrease in activity was observed in the prothrombin time (PT) of the NoCoV-2-Prof group and for the activated partial prothrombin time (aTTP), no significant differences were observed between the groups. However, it is known that coagulation disorders are observed relatively frequently among patients with COVID - 19, especially among those with severe disease with increased clotting times due to deficiency in the production by the liver [65].

Conclusions

The psychological damage that the COVID-19 pandemic has brought to humanity is indisputable. A particularly affected group were the health professionals who work daily to face the pandemic. We can see that RT-LAMP can be an alternative molecular method for screening SARS-CoV-2 virus in saliva samples collected from these professionals. We consider it a fast, safe,

and less expensive method when compared to qRT-PCR. We emphasize that our study is the first to report the use of RT-LAMP method with saliva samples from health professionals.

Health care professionals experienced chronic stress during the pandemic period, a fact confirmed here by the increase in plasma cortisol levels and the alteration of biochemical such as HDL, uric acid, LDH, triglycerides, VLDL in uninfected professionals (Prof-no-Cov) by COVID-19 and ALT, AST, HDL, LDH, uric acid and triglycerides in infected professionals (Prof-Cov). In addition, hematological parameters were altered in these groups that operate on the front line of COVID-19 in Primary Care. Stressful psychological conditions may have triggered the presence of oxidative stress in the two groups studied, as well as inflammatory activity, some biochemical, hematological, inflammatory, and oxidative stress markers.

References

1. World Health Organization. 2020- Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>. Accessed on August 23, **2020**.
2. Lu, H.; Stratton, C.W.; Tang, Y. W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The Mystery and the miracle. *J Med Virol*. **2020** Apr;92(4):401-402. doi: 10.1002/jmv.25678. Epub 2020.
3. Gorbalenya, A. E., Baker, S.C. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. **2020**. 536–544. doi: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.
4. Yang, P. e Wang, X. COVID-19: a new challenge for human beings. *Cell Mol Immunol*. **2020**. 17(5):555-557. doi: 10.1038/s41423-020-0407-x.
5. Ganguli, A.; Mostafa, A.; Berger, J.; Aydin, M.; Sun, F.; Valera, E.; Cunningham, B. T.; King, W. P.; Bashir, R. Rapid Isothermal Amplification and Portable Detection System for SARS-CoV-2. *bioRxiv* [Preprint]. **2020**. 21:2020.05.21.108381. doi: 10.1101/2020.05.21.108381.
6. Notomi, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. **2000**. 15;28(12): E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63.
7. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Characteristics of clinical patients infected with the novel coronavirus 2019 in Wuhan, China. *Lancet*. 15 de fevereiro de **2020**;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

8. Lamb, L. E.; Bartolone, S. N.; Ward, E.; Chancellor, M. B. Rapid detection of new coronavirus / Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by isothermal amplification mediated by reverse transcription. PLoS ONE. **2020**. 15(6):e,234682. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0234682>.
9. Mohammed, A.; Rohaim, E. C.; Irem, S.; Julianne, V.; Manar, E.; Khalifa, Mohammad Q. A.; Mahmoud, B.; Aurore, C. P.; Manoharan, B. A.; Mukunthan, T.; Nouman, S. C.; Ravinder, S.; Amy, B.; Peter, B.; Wendy, H.; Judy, B.; Joe, B.; Hayley, Wilkinson, C. Williams, J.; Whittingham-Dowd, E.; Shaw, M. H.; Lisa, B.; Michelle, D. B.; Roberto, L. R.; Wamadeva, B.; Anil, F., Muhammad, M. Loop-mediated isothermal amplification assisted by artificial intelligence (AI-LAMP) for rapid detection of SARS-CoV-2. **2020**. 10.3390/v12090972.
10. Yan, C.; Cui, J.; Huang, L.; Du, B.; Chen, L.; Xue, G.; Li, S.; Zhang, W.; Zhao, L.; Sun, Y.; Yao, H.; Li, N.; Zhao, H.; Feng, Y.; Liu, S.; Zhang, Q.; Liu, D.; Yuan, J. Rapid e detecção visual do novo coronavírus 2019 (SARS-CoV-2) por uma transcrição reversa de amplificação isotérmica mediada por loop. Clin Microbiol Infect. **2020** Jun;26(6):773-779. doi: 10.1016/j.cmi.2020.04.001.
11. Yang, W.; Dang, Xiaofei.; Wang, Q.; Xu, Mingjie.; Zhao, Qianqian .; Zhou, Yunying.; Zhao, Huailong.; Wang, Li.; Xu, Yihui.; Wang, Jun.; Shuyi, Han.; Wang, Min.; Pei, Fenyan.; Wan, Yunshan. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030130>
12. Zhang, Yinhua.; Odiwuor, Nelson.; Xiong, Jin.; Sun, Luo.; Ohuru, Raphael.; Wei, Hongping Nyaruaba, N. A. Rapid molecular detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) RNA Virus Using Colorimetric LAMP. **2020**. MedRxiv. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.20028373>.
13. Park, G. S.; Ku, K.; Baek, S.; Kim, S. J.; Kim, S. I.; Kim, B.; Maeng, J. S. Development of isothermal amplification assays mediated in a reverse transcription loop aiming at severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). J Mol Diagn. **2020**. 22(6):729-735. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.03.006.

14. Tsamakidis, K.; Rizos, E.; Manolis, A. J.; Chaidou, S.; Kypouropoulos, S.; Spartalis, E.; Spandidos, D. A.; Tsiptsios, D.; Triantafyllis, A. S. COVID-19 pandemic and its impact on mental health of healthcare professionals. *Exp Ther Med.* **2020.** 19(6):3451-3453. doi: 10.3892/etm.2020.8646.
15. Zhang, J.J.; Dong, X.; Cao, Y.Y.; Yuan, Y.D., Yang, Y. B.; Yan, Y. Q.; Akdis, C. A.; Gao. Y. D. Características clínicas de 140 pacientes infectados com SARS-CoV-2 em Wuhan, China. *Alergia.* **2020** Jul;75(7):1730-1741. doi: 10.1111/all.14238.
16. Bakadia, B.M., Boni, B. O. O.; Ahmed, A. A. Q.; Yang G. The impact of damage to oxidative stress induced by environmental stressors in COVID-19. *Life Sci.* **2020.** 926;264:118653. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118653.
17. Tekos, F.; Skaperda, Z.; Goutzourelas, N., Phelps, D. S.; Floros, J.; Kouretas, D. The Importance of Redox Status in the Frame of Lifestyle Approaches and the Genetics of the Lung Innate Immune Molecules, SP-A1 and SP-A2, on Differential Outcomes of COVID-19 Infection. *Antioxidants (Basel).* **2020** Aug 25;9(9):784. doi: 10.3390/antiox9090784.
18. Huang, W. E.; Lim, B.; Hsu, C. C.; Xiong, D.; Wu, W.; Yu, Y.; Jia, H.; Wang, Y.; Zeng, Y.; Ji, M.; Chang, H.; Zhang, X.; Wang, H.; Cui, Z. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Microb Biotechnol.* **2020** Jul;13(4):950-961. doi: 10.1111/1751-7915.13586.
19. Schermer, B.; Fabretti, F.; Damagnez, M.; Di, C. V.; Heger, E.; Arjune, S.; Tanner, N.A.; Imhof, T.; Koch, M.; Ladha, A.; Joung, J.; Gootenberg, J. S.; Abudayyeh, O. O. Burst, V.; Zhang, F.; Klein, F.; Benzing, T.; Müller, R. U. Rapid test sars-cov-2 on primary material based on a new multiplex assay RT-LAMP. *PLoS Um.* **2020.** 2;15(11):e0238612. doi: 10.1371/journal.pone.0238612.

20. Baek, Y. H.; Um, J.; Antigua, K. J. C.; Park, J. H.; Kim, Y.; Oh, S.; Kim, Y. I.; Choi, W. S.; Kim, S. G.; Jeong, J. H.; Chin, B. S.; Nicolas, H. D. G.; Ahn, J. Y.; Shin, K. S.; Choi, Y. K.; Park, J. S.; Song, M. S. Development of a reverse transcription-loop-mediated amplification isothermal como um método de detecção precoce rápido para sar romances-cov-2. *Micróbios Emerg infectam*. **2020**. 9(1):998-1007. doi: 10.1080/22221751.2020.1756698. 32306853.

21. Dao, T. V. L.; Herbst, K.; Boerner, K.; Meurer, M.; Kremer, L. P.; Kirrmaier, D.; Freistaedter, A.; Papagiannidis, D.; Galmozzi, C.; Stanifer, M. L.; Boulant, S.; Klein, S.; Chlanda, P.; Khalid, D.; Barreto, M. I.; Schnitzler, P.; Kräusslich, H. G.; Knop, M.; Anders, S. A colorimetric RT-LAMP assay and LAMP-sequencing for detecting SARS-CoV-2 RNA in clinical samples. *SciTransl Med*. **2020**12;12(556):eabc7075. doi:10.1126/scitranslmed.abc7075.

22. Ben-Assa, N.; Naddaf, R.; Gefen, T.; Capucha, T.; Hajjo, H.; Mandelbaum, N.; Elbaum, L.; Rogov, P.; King, D. A.; Kaplan, S.; Rotem, A.; Chowers, M.; Szwarcwort-Cohen, M.; Paul, M.; Geva-Zatorsky, N. Direct on-the-spot detection of SARS-CoV-2 in patients. *Exp Biol Med (Maywood)*. **2020**. 245(14):1187-1193. doi: 10.1177/1535370220941819.

23. Nagura-Ikeda, M.; Imai, K.; Tabata, S.; Miyoshi, K.; Murahara, N.; Mizuno, T.; Horiuchi, M.; Kato, K.; Imoto, Y.; Iwata, M.; Mimura, S.; Ito, T.; Tamura, K.; Kato, Y. Clinical Evaluation of Self-Collected Saliva by Quantitative Reverse Transcription-PCR (RT-qPCR), Direct RT-qPCR, Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification, and a Rapid Antigen Test To Diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol*. **2020**. 24;58(9):e01438-20. doi: 10.1128/JCM.01438-20.

24. Johnstone, M. J.; Turale, S. Nurses' experiences of ethical preparedness for public health emergencies and healthcare disasters: a systematic review of qualitative evidence. *Nurs Health Sci*. **2014**. 16(1):67-77. doi: 10.1111/nhs.12130.

25. Blackman JS. A psychoanalytic view of reaction to the coronavirus pandemic in China. *J Psicoanal*. **2020**. doi: 10.1057/s11231-020-09248-w.

26. da Silva, F. C.; Neto, M. L. R. Psychological effects caused by the COVID-19 pandemic in health professionals: A systematic review with meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. **2020** Jan 10;104:110062. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110062.
27. Moore, C., eKolencik, J. Acute Depression, Extreme Anxiety, and Prolonged Stress among COVID-19 Frontline Healthcare Workers. *Psychosociological Issues in Human Resource Management*. **2020**. 8(1): 55–60. doi:10.22381/PIHRM8120209.
28. Giacomello, G.; Scholten, A.; Parr, M. K. Current methods for stress marker detection in saliva. *J Pharm Biomed Anal*. **2020** 30;191:113604. doi: 10.1016/j.jpba.2020.113604.
- 29 Russell, G., Lightman, S. The human stress response. *Nat Rev Endocrinol* **15**, 525–534. **2019**. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-0>.
30. Qin, C.; Minghan, H.; Ziwen, Z.; Yukun, L. Alteration of lipid profile and value of lipids in the prediction of the length of hospital stay in COVID-19 pneumonia patients. *Food Sci Nutr*. **2020**. 27;8(11):6144-6152. doi: 10.1002/fsn3.1907.
31. Trinder, M.; Genga, K. R.; Kong, H. J.; Blauw, L. L.; Lo, C.; Li, X.; Cirstea, M.; Wang, Y.; Rensen, P. C. N.; Russell, J.A.; Walley, K.R.; Boyd, J. H.; Brunham, L. R. Cholesteryl Ester Transfer Protein influencia os níveis de lipoproteína de alta densidade e a sobrevivência na sepse. *Am J Respir Crit Care Med*. **2019**. 1;199(7):854-862. doi: 10.1164/rccm.201806-1157OC. 30321485.
32. Alvarez, C.; Ramos A. Lipids, lipoproteínas e apoproteínas em soro durante a infecção. *Clin Chem*. **1986**;32(1 Pt 1):142-145.
33. Sahin, F. e Yildiz, P. Alterações bioquímicas distintas na tuberculose pulmonar e pneumonia. *Arch Med Sci*. **2013**. 9 : 656–661.
34. Feingold, K. R. Lipid and Lipoprotein Levels in Patients with COVID-19 Infections. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., eds. *Endotext*. **2020**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; November 15, 2020.

35. Wang, L.; Zhang, Q.; Zhao, X.; Dong, H.; Wu, C.; Wu, F.; Yu, B.; Lv, J.; Zhang, S.; Wu, G.; Wu, S.; Wang, X.; Wu, Y.; Zhong, Y. Baixo nível de lipoproteína de alta densidade está correlacionado com a gravidade dos pacientes COVID-19: um estudo observacional. *Lipídios Saúde Dis.* **2020** 7;19(1):204. doi: 10.1186/s12944-020-01382-9. 32892746.
36. Huang, W. E.; Lim, B.; Hsu, C. C.; Xiong, D.; Wu, W.; Yu, Y.; Jia, H.; Wang, Y.; Zeng, Y.; Ji, M.; Chang, H.; Zhang, X.; Wang H, Cui Z. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Microb Biotechnol.* **2020** Jul;13(4):950-961. doi: 10.1111/1751-7915.13586.
37. Guan, W.; Ni, Z.; Hu, Y.; Yu, M.; Liang, W.; Ou, C.; He, J.; Liu, L.; Shan, H.; Lei, C.; Hui, D.; Du, B.; Lan, J.; Zeng, G.; Yuen, K.; Chen, R.; Wang, T.; Chen, P.; Xiang, J.; Li, S.; Wang, J.; Liang, Z.; Peng, Y.; Wei, L. Clinical Features of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal.* **2020**. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
38. Chen, Z.; Hu, J.; Zhang, Z.; Shan, J.; Han, S.; Yan, D.; Zhuang, R.; Hu, B.; Zhang, H. Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a randomized clinical trial. *N Engl J Med* **2020**. 382:1708-1720 doi: 10.1056/NEJMoa2002032..
39. Pirola, C. J.; Sookoian, S. SARS-CoV-2 virus and liver expression of host receptors: Putative mechanisms of liver involvement in COVID-19. *Liver Int.* **2020**. 40(8):2038-2040. doi: 10.1111/liv.14500.
40. Shao, T.; Tong, Y.; Lu, S.; Jeyarajan, A. J.; Su, F.; Dai, J.; Shi, J.; Huang, J.; Hu, C.; Wu, L.; Dai, X.; Cheng, Z.; Yan, J.; Huang, P.; Tian, L.; Chung, R. T.; Chen, D. γ -Glutamyl transferase Elevations Are Frequent in Patients With COVID-19: A Clinical Epidemiologic Study. *Hepatol Commun.* **2020**. 11;4(12):1744–50. doi: 10.1002/hep4.1576.
41. Sun, J.; Deng, X.; Chen, X.; Huang, J.; Huang, S.; Li, Y.; Feng, J.; Liu, J.; He, G. Incidence of Adverse Drug Reactions in COVID-19 Patients in China: An Active Monitoring Study by Hospital Pharmacovigilance System. *Clin Pharmacol Ther.* **2020**. 108(4):791-797. doi: 10.1002/cpt.1866.

42. Hundt, M. A.; Deng, Y.; Ciarleglio, M. M.; Nathanson, M. H.; Lim, J. K. Abnormal liver tests in COVID-19: a retrospective observational cohort study of 1,827 patients in a major US hospital network. *Hepatology*. **2020**. 72(4):1169-1176. doi: 10.1002/hep.31487. 32725890.
43. Parohan, M.;Yaghoubi, S.;Seraji, A. Liver injury is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection: A systematic review and meta-analysis of retrospective studies. *Hepatol Res*. **2020**. **50**(8):924-935. doi: 10.1111/hepr.13510.
44. Hu, X.; Chen, D.; Wu, L.; He, G.; Ye, W. High-density lipoprotein cholesterol is associated with the severity of COVID-19 infection. *Clin Chim Acta*. **2020**. 510:105-110. doi: 10.1016/j.cca.2020.07.015.
45. Scalsky RJ, Desai K, Chen YJ, O'Connell JR, Perry JA, Hong CC. Baseline and risk SARS-CoV-2 cardiometabolic profiles in the UK Biobank. *medRxiv* **2020**. doi: 10.1101/2020.07.25.20161091.
46. Li T , Lu H , Zhang W . Clinical observation and treatment of patients with COVID - 19.*Emerg MicrobesInfect* . **2020**. 1: 687 – 690.
47. Zhang, J. J.; Dong, X.; Cao, Y. Y.; Yuan, Y. D.; Yang, Y. B.; Yan, Y. Q.; Akdis C. A.; Gao , Y. D. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. **2020**. 75(7):1730-1741. doi: 10.1111/all.14238
48. Wu, C.; Chen, X.; Cai, Y. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Discomfort Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. **2020**.180(7):934–943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994
49. Erez, A. M. D.; Tal, S.; Assaf, M. D.; Perl-Laufer, M.; Joseph, Z.; Shental, O.; Gur-Guzner, H. Diagnostic and prognostic value of very high sum lactate dehydrogenase in hospitalized medical patients. *Isr Med Assoc J*. **2014**; 16: 439-443.

50. Lippi, G.; Plebani, M.; Henry, B. M. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. **2020**. 506:145-148. doi: 10.1016/j.cca.2020.03.022.
51. Bakadia, B.M., Boni, B. O. O.; Ahmed, A. A. Q.; Yang G. The impact of damage to oxidative stress induced by environmental stressors in COVID-19. *Life Sci*. **2020**. 926;264:118653. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118653.
52. Suhail, S.; Zajac, J.; Fossum, C.; Lowater, H.; McCracken, C.; Severson, N.; Laatsch, B.; Narkiewicz-Jodko, A.; Johnson B.; Liebau, J.; Bhattacharyya, S.; Hati, S. Role of Oxidative Stress on SARS-CoV (SARS) e SARS-CoV-2 (COVID-19) Infecção: A Review. *Proteína J*. **2020**. 39(6):644-656. doi: 10.1007/s10930-020-09935-8.
53. Delgado-Roche, L.; Mesta, F. Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Arch Med Res*. **2020** (5):384-387. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.04.019
54. Tarpey, M. M.; Wink, D. A.; Grisham, M. B. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: *in vitro* and *in vivo* consideration. *Am J Physiol*, **2004**. v. 286, p. R431-444.
55. Erel, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. **2005**;38(12):1103-1111. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008.
56. Derouiche, S. Oxidative stress associated with SARS-Cov2 (COVID-19) increases the severity of the lung disease – a systemic review. *J Infect Dis Epidemiol*. **2020**. doi: 10.23937/2474-3658/1510121.
57. Varim, C. Neutrophil count to albumin ratio como um novo preditor de mortalidade em pacientes com COVID-19 infection. *Rev Assoc Med Bras*. **2020**. 66Suppl 2 (Suppl 2):77-81. doi: 10.1590/1806-9282.66.S2.77. 32965361.
58. Zerghan, A. S.; Achaarya, U. Cyclic Neutropenia. 2020. In: Stat Pearls Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2020. 32491328.de 2020.

59. Xu, H.; Zhong, L.; Deng, J.; Peng, J.; Dan, H.; Zeng, X.; Li, T.; Chen, Q. High expression of the 2019 -nCoV ACE2 receptor on oral mucosa epithelial cells. *Int J Oral Sci.* **2020**. 12(1):8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x.
60. Aggarwal, S.; Gollapudi, S., Gupta S. Increased TNF-alpha-induced apoptosis induzida por linfócitos de humanos idosos: alterações na expressão do receptor TNF-alfa e ativação de caspases. *J Immunol.* **1999**; 162(4):2154-2161.
61. Singh, S., Sharma, A. e Arora, S. K . High-producing haplotype (CAG) of the -863C / A, -308G / A and -238G / A polymorphisms in the TNF - alpha gene promoting region associated with increased lymphocyte apoptosis in HIV-infected individuals - 1 subtype C in northern India . *PLoSOne* . **2014** ; 9 (5): e98020.
62. Chan, J. F.; Zhang, A. J.; Yuan, S.; Poon, V. K.; Chan, C. C.; Lee, A. C.; Chan, W. M.; Fan, Z.; Tsoi, H. W.; Wen, L.; Liang, R.; Cao, J.; Chen, Y.; Tang, K.; Luo, C.; Cai, J. P.; Kok, K. H.; Chu, H.; Chan, K. H.; Sridhar, S.; Chen, Z.; Chen, H.; To, K. K.; Yuen, K. Y.; Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility.. *Clin Infect Dis.* **2020**. 3;71(9):2428-2446. doi: 10.1093/cid/ciaa325.
63. Akhmerov, U. e Marban, E. COVID-19 and the heart. *Circ Res.* **2020**.
64. He, S., Tang, S. e Rong, L. A discrete stochastic model of the COVID-19 outbreak: forecast and control. *Math Biosci Eng.* **2020**; 17(4): 2792-804. DOI: 10.3934/mbe.2020153.
65. Zhou, J.; Chu, H.; Li, C.; Wong, B. H.; Cheng, Z. S.; Poon, V. K. Sun T, Lau, C. C.; Wong, K. K.; Chan, J. Y.; Chan, J. F.; To, K. K.; Chan, K. H.; Zheng, B. J.; Yuen, K. Y. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis. *J Infect Dis.* **2014**. 1;209(9):1331-42. doi: 10.1093/infdis/jit504

66. Khurana, D.; Deoke, S. A. Thrombocytopenia in Critically Ill Patients: Clinical and Laboratorial Behavior and Its Correlation with Short-term Outcome during Hospitalization. *Indian J Crit Care Med.* **2017**. 21(12):861-864. doi: 10.4103/ijccm.IJCCM_279_17.
67. Ganji, A.; Farahani, I.; Khansarinejad, B.; Ghazavi, A.; Mosayebi, G. Increased expression of CD8 marker on T-cells in COVID-19 patients. *Blood Cells Mol Dis.* **2020**. 83:102437. doi: 10.1016/j.bcmd.2020.102437.

Conclusões

- RT-LAMP teve resultado idêntico aos resultados obtidos por qRT-PCR.
- Os profissionais da área de saúde tiveram níveis significativamente aumentados de cortisol na corrente sanguínea.
- Os profissionais de saúde tiveram níveis significativamente aumentados de estresse oxidativo em relação ao grupo controle.
- Estes profissionais demonstraram presença de atividade inflamatória em relação ao grupo controle.
- O grupo de profissionais de saúde que não foram infectados por SARS-Cov-2 (No-Cov-2-Pro) apresentaram os seguintes parâmetros aumentados em relação ao grupo controle: HDL (resultado: 91.5 ± 25.7 / valor de referência: maior que 40mg/dL / valor do grupo controle: 64.4 ± 15.9), LDH (resultado: 97.15 ± 42.91 / valor de referência: 230,0 a 460,0 U/L / valor do grupo controle: 343.9 ± 80.880), WBC, neutrófilos, eosinófilos.
- Os seguintes parâmetros estavam diminuídos no grupo Prof-No-Cov-2 em relação ao grupo controle: ácido úrico (resultado: 5.05 ± 2.23 / valor de referência: 2,5-7,4 mg/dL / resultado do grupo controle: 7.41 ± 1.55), ALT (resultado: 15.62 ± 8.01 / valor de referência: 5 a 40 U/L / resultado do grupo controle: 42.8 ± 62.31), Triglicerídeos (resultado: 122.1 ± 82.18 / valor de referência: menor que 150mg/dL / valor do grupo controle: 173.1 ± 92.49), VLDL (resultado: 24.43 ± 16.44 / valor de referência: até 30mg/dL / resultado do grupo controle: 34.6 ± 18.5), linfócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio,
- Estiveram alterados no grupo No-Cov-2: mucoproteínas, níveis de cortisol (aumentados), tromboplastina (aumentado), FRAP (diminuído), TOS (diminuído), TAC (aumentado), OSI (diminuído).
- O grupo de profissionais infectados por SARS-Cov-2 (Prof-Cov-2) demonstraram os seguintes parâmetros aumentados em relação ao grupo

controle: ALT (resultado: 51.5 ± 23.3 / valor de referência: 5 a 40 U/L / resultado do grupo controle: 42.8 ± 62.31), AST (resultado: 105 ± 21.21 / valor de referência: até 31 U/L para mulheres, maioria do grupo / resultado do grupo controle: 39.49), HDL (resultado: valor de referência: valor de referência: maior que 40mg/dL / valor do grupo controle: 64.4 ± 15.9) e LDH (resultado: 515 ± 91.92 /valor de referência: 230,0 a 460,0 U/L / valor do grupo controle: 343.9 ± 80.880), linfócitos e monócitos.

- O grupo de profissionais infectados por SARS-Cov-2 (Prof-Cov-2) demonstraram os seguintes parâmetros diminuídos em relação ao grupo controle: ácido úrico (resultado: 4.15 ± 0.92 valor de referência: 2,5-7,4 mg/dL / valor do grupo de controle: 7.41 ± 1.55), linfócitos, monócitos, triglicerídeos, leucócitos, neutrófilos, hemoglobina, hematócrito e plaquetas.

- Estiveram alterados no grupo Prof-Cov-2 em relação ao grupo controle: PCR (aumentado), TOS (aumentado), OSI (aumentado).

- Nosso estudo é o primeiro a reportar a utilização do método de RT-LAMP com amostras de saliva oriunda de profissionais de saúde.

- Fomos os primeiros pesquisadores a utilizar o teste de mucoproteínas para estudo de atividade inflamatória aguda em profissionais de saúde.

- Todos os marcadores de níveis de estresse oxidativo (TOS, TAC, FRAP e OSI) aqui utilizados aparecem de forma inédita na literatura para avaliação de parâmetros de profissionais de saúde.

Referências

- ABDULKHALEQ, L.A. et al. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. **Vet World**. 2018;11(5):627-635. doi:10.14202/vetworld.2018.627-635
- AMB. Associação Médica Brasileira. Faltam EPIs em todo o país. Publicado em 5 abr. 2020. Disponível em: <<https://amb.org.br/epi/>> Acesso em: 09 de agosto. 2020.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2 014.
- ANTONELLI, G, PISTELLO, M. Virology: a scientific discipline that faces new challenges. **Clin Microbiol Infect**. 2019. Fev;25(2):133-135. doi: 10.1016/j.cmi.2018.12.003. Epub 2018 Dez 21. 30580032.
- ASMUNDSON, G. J. G.; TAYLOR, S. Coronaphobia: fear and the 2019-nCoV outbreak. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 70, 102196, 2020.
- AARESTRUP, F. M. Immunopathology os COVID-19 and its clinical implicatons. **Arq Asma Alerg Imunol**. 2020. 4(2):172-80.
- ABDULKHALEQ, F. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. **Vet World**. 2018;11(5):627-635. doi:10.14202/vetworld.2018.627-635
- AL-BARI, M. A. Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, p.1608-1621, 2015.
- AGOSTINI, M. L., et al. Coronavirus Susceptibility to the Antiviral Remdesivir (GS-5734) Is Mediated by the Viral Polymerase and the Proofreading Exoribonuclease. **mBio**. 2018 Mar 6;9(2):e00221-18. doi: 10.1128/mBio.00221-18. PMID: 29511076; PMCID: PMC5844999.
- ASCHBACHER, K. et al. Good Stress, Bad Stress, and Oxidative Stress: Insights from Anticipated Cortisol Reactivity. **Psiconeuroendocrinology**. 38(9), 1698-1708. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.02.004
- ARAÚJO, Patricia S. et al. Pharmaceutical care in Brazil's primary health care. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, n. 2, 1s-11s, 2017
- ARULSELVAN, P. et al. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. **Oxid Med Cell Longev**. 2016;2016:5276130. doi: 10.1155/2016/5276130. Epub 2016 Out 10. 27803762; PMCID: PMC5075620.

BAKADIA, B. M., et al. The impact of damage to oxidative stress induced by environmental stressors in COVID-19. **Life Sci.** 2020 Oct 26;118653. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118653. Epub à frente da impressão. PMID: 33115606; PMCID: PMC7586125.

BAEK, Y.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.** 2020 Dec;9(1):998-1007.

BARLOW, A. et al. Review of Emerging Pharmacotherapy for the Treatment of Coronavirus Disease 2019. **Pharmacotherapy**, v. 40, n.5, p.416-467, 2020.

BARROS, D. et al. Serviços farmacêuticos clínicos na atenção primária à saúde do Brasil. *Trab. educ. saúde*, Rio de Janeiro, v. 18, n.1, e0024071, 2020. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-77462020000100509&lng=en&nrm=iso>. accesson 09 de agosto. 2020. **Epub** Nov 25, 2019.

BELL, T. J. et al. Defective lung function following influenza virus is due to prolonged, reversible hyaluronan synthesis. **Matrix Biology**, v. 80, p. 14-28, 2019.

BELTRÁN-GARCIA, J. et al. Oxidative Stress and Inflammation in COVID-19-Associated Sepsis: The Potential Role of Anti-Oxidant Therapy in Avoiding Disease Progression. **Antioxidants (Basel)**. 2020 Sep 29;9(10):936. doi: 10.3390/antiox9100936. PMID: 33003552; PMCID: PMC7599810

BORBA, M. G. S. et al. Effect of high vs low doses of chloroquine diphosphate as adjunctive therapy for patients hospitalized with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection: a randomized clinical trial. **JAMA**, v. 3, n. 4, e208857, 2020.

BAKER, M. G.; PECKHAM, T. K.; SEIXAS, N. S. Estimating the burden of United States workers exposed to infection or disease: a key factor in containing risk of COVID-19 infection. **Plos One**, p. 1-8, 2020

BROOKS, S. K. et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. **The Lancet**, v. 395, n. 10227, p. 912-920, 2020.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Testes para Covid-19: perguntas e respostas. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/219201/4340788/Perguntas+e+respostas+-+testes+para+Covid-19.pdf/9fe182c3-859b-475f-ac9f-7d2a758e48e7>> Acesso em: 15 set. 2020.

CASADEVALL, A e PIROFSKI, L. The convalescent sera option containing COVID-19. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 130, n. 4, p. 1545-1548, 2020.

CAVEZZI, A. TROIANI, E. e CORRAO, S. COVID-19: Hemoglobin, iron and hypoxia in addition to inflammation. A narrative review. **O Clin. Pract.** 2020, 10.

CENTRO ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Secretaria Estadual de Saúde do Rio Grande do Sul, 2020. Boletim de acompanhamento Epidemiológico de Covi-19, 2º edição

CODO, W. e VASQUES-MENEZES, I. O que é burnout? In: CODO, W. (Org.). Educação: carinho e trabalho. Rio de Janeiro: **Vozes**, 1999. 237-255p

CHAN, S.M. et al. Pathobiological mechanisms underlying metabolic syndrome (MS) in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): clinical significance and therapeutic strategies. **Pharmacol. Ther.** 2019 , 198 , 160-188

CHANNAPPANAVAR, R. e PERLMAN, S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of the cytokine storm and immunopathology. **Semin Immunopathol.** 2017. 39:529–39. doi: 10.1007/s00281-017-0629-x

CHEN, N. *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet**, v. 395, p. 507-513, 2020a.

CHEN, C. *et al.* Favipiravir versus Arbidol for COVID-19: A randomized clinical trial. **MedRxiv**, v. 3, n. 17, e20037432, 2020b.

CHEN, Z. *et al.* Efficacy of hydroxychloroquine in patients with COVID-19: results of a randomized clinical trial. **MedRxiv**, 2020c.

COLLUM, S. D.; CHEN, N. Y.; HERNANDEZ, A. M. *et al.* Inhibition of hyaluronan synthesis attenuates pulmonary hypertension associated with lung fibrosis. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 3, p. 284-301, 2017.

COLSON, P. *et al.* Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 4, e105932, 2020.

COMISSÃO NACIONAL DE SAÚDE DA REPÚBLICA POPULAR DACHINA. 2020. Diagnosis and treatment of new coronavirus pneumonia (trial version six). Disponível em: <<http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>>. Acesso em: 3 mar. 2020.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA (CFF). Serviços farmacêuticos diretamente destinados ao paciente, à família e à comunidade: contextualização e arcabouço conceitual. 2016. Disponível em: <http://www.cff.org.br/userfiles/Profar_Arcabouco_TELA_FINAL.pdf>. Acesso em: 05 out. 2017.

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

DAL'BOSCO, E. B. et al. A saúde mental da enfermagem no enfrentamento da COVID-19 em um hospital universitário regional. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 2, e20200434, p. 1-7, 2020.

DA SILVA, F. C. e NETO M. L. R. Psychological effects caused by the COVID-19 pandemic on health professionals: Systematic review with meta-analysis. **Prog Neuropsicofarmacol Biol Psychiatry**. 2021 Jan 10;104:110062. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110062. Epub 2020 Ago 6. 32771337; PMCID: PMC7409979.

DAUTI M, ALILI-IDRIZI E, MALAJ L. Pharmaceutical care in community pharmacy in the Republic of Macedonia: a compared study with EU countries. **EurSci J**. 2014 [citado 8 mar 2016];3 Spec Ed:313-8. Disponível em: <http://eujournal.org/index.php/esj/article/view/2951>

DELANG, L.; ABDELNABI, R.; NEYTS, J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. **Antiviral Research**, v. 153, p. 85-94, 2018.

DELGADO-ROCHE, L. e MESTA, F. Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. **Arco. Med. Res.** 2020 , 51 , 384-387.

DIKALOV, S.I. e NAZAREWICZ, R.R. Angiotensin II-Induced Production of Mitochondrial Reactive Oxygen Species: Potential Mechanisms and Relevance for Cardiovascular Disease. **Antioxíd. Sinal Redox**. 2013, 19, 1085-1094.

DI PAOLO, N.C. E SHAYAKHMETOV, D. M. Interleukin 1 α and the inflammatory process. **Nat Immunol**. 2016 Jul19;17(8):906-13. doi: 10.1038/ni.3503. PMID: 27434011; PMCID: PMC5152572.

Diretrizes para a prevenção, diagnóstico e tratamento da nova pneumonia induzida por coronavírus (*Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Novel Coronavirus-induced Pneumonia*). 6th ed. Disponível em: <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2/files/b218cfeb1bc54639af227f922bf6b817.pdf> Acesso em: 15 set. 2020.

DZAU, V.J, KIRCH, D. e NASCA, T. Preventing a Parallel Pandemic - A National Strategy to Protect Physicians' Well-Being. **N Engl J Med**. 2020 Ago6;383(6):513-515. doi: 10.1056/NEJMp2011027. Epub 2020 13 de maio. 32402153.

DAL'BOSCO, E. B. et al. A saúde mental da enfermagem no enfrentamento da COVID-19 em um hospital universitário regional. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 2, e20200434, p. 1-7, 2020.

Dejours, C. A loucura do trabalho: estudo de psicopatologia do trabalho. 6. ed. São Paulo: **Cortez**, 2015.

DUAN, L.; ZHU, G. Psychological interventions for people affected by the COVID-19 epidemic. **Lancet Psychiatry**, v. 7, n. 4, p. 300-302, 2020.

FERNANDES, L. F. B. Prevenção universal de ansiedade na infância e adolescência: uma revisão sistemática. **Revista Psicologia teoria e prática**, v. 16, n. 3, p. 83-99, 2014.

FREITAS, F. M. B. *et al.* Hardiness e estresse ocupacional em enfermeiros gestores de instituições hospitalares. **Revista de Enfermagem da UFPE**, v. 11, n. 10, p. 4199-4205, 2017.

FURUTA, Y., KOMENO, T.; NAKAMURA, T. Favipiravir (T-705), a broad-spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. Proceedings of the Japan Academy, Series B. **Physical and Biological Sciences**. v. 93, p. 449-463, 2017.

FUKUTA, S. *et al.* Detecção do vírus do mosaico de inhame japonês pela RT-LAMP. **Arquivos da Virologia** 148, 1713-1720 (2003).

FERGUSON, N. M. *et al.* Report 9: Impact of non-pharmaceutical interventions (NPIs) to reduce COVID-19 mortality and healthcare demand. Imperial College COVID-19 Response Team, p. 1-20, 2020.

GAN, R. *et al.* COVID-19 as a viral functional ACE2 deficiency disorder with ACE2-related multiple organ disease. **Med. Hypotheses** 2020, 144, 110024

GAO, J.; TIAN, Z.; YANG, X. Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Bioscience Trends*, v. 14, n. 1, p. 72-73, 2020

GANGULI, A. Rapid Isothermal Amplification and Portable Detection System for SARS-CoV-2. **bioRxiv** [Preprint]. 2020 May 21:2020.05.21.108381. doi: 10.1101/2020.05.21.108381. Update in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Aug 31; PMID: 32511358; PMCID: PMC7263486.

GARBER, J. Treatment and Prevention of Depression and Anxiety in Youth: Test of Cross-Over Effects. **Depress Anxiety**. 2016 Oct;33(10):939-959. doi: 10.1002/da.22519. PMID: 27699941; PMCID: PMC5094283.

GORBALENYA, A. E.; BAKER, S. C.; BARIC, R. S. *et al.* Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. **BioRxiv**, 2020.

GUAN, W.; ZHENG, N.; YU, H. *et al.* Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. **The New England Journal of Medicine**. v. 328, p. 1708-1720, 2020.

GÜNER, R., HASANOGLU, I. e AKTAS, F. COVID-19: Prevention and control measures in community. **Turk J Med Sci.** 2020 Apr 21;50(SI-1):571-577. doi: 10.3906/sag-2004-146. PMID: 32293835; PMCID: PMC7195988.

GUL, M.H., Htun ZM, Shaukat N, Imran M, Khan A. Potential specific therapies in COVID-19. **The Adv Respir Dis.** 2020;14:1753466620926853. doi:10.1177/1753466620926853

HAIMING, W. et al. Aberrant pathogenic GM-CSF T cells and CD14CD16 inflammatory monocytes in patients with severe pulmonary syndrome of a new coronavirus. **BioRxiv.** <https://doi.org/10.1101/2020.02.12.945576>

HALLGREN, R.; SAMUELSSON, T.; LAURENT, T. C. et al. Accumulation of hyaluronan (hyaluronic acid) in the lung in adult respiratory distress syndrome. **The American Review of Respiratory Disease**, v. 139, p. 682-687, 1989.

HENSON, P. et al., "Resolution of pulmonary inflammation," Federation Proceedings, vol. 43, no. 13, pp. 2799–2806, 1984.

HERBET, M. et al. Stress is responsible for Lipid and Oxidative DNA Disorders and Activation of Oxidative Stress Response Genes in the Brain of Rats. **Oxid Med Cell Longev.** 2017;2017:7313090. doi: 10.1155/2017/7313090.

HOLSHUE, M. L. et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 929-936, 2020.

HU, B. HUANG, S. e, YIN L. The cytokine storm and COVID-19. **J Med Virol.** 2020 Jun 27;10.1002/jmv.26232. doi: 10.1002/jmv.26232. PMID: 32592501; PMCID: PMC7361342.

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

HUANG, W. , et al.. RT-LAMP para diagnóstico rápido do coronavírus SARS-CoV-2. **Microb Biotechnol.** 2020 Jul;13(4):950-961. doi: 10.1111/1751-7915.13586. Epub 2020 Abr 25. PMID: 32333644; PMCID: PMC7264870.

HUSSMAN, J. P. COVID-19 cellular and molecular pathways and potential points of therapeutic intervention. **Preprints of.** 19 de maio de 2020.

ISALOVIC. N. et al. Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation. **Autoimmune.** 2015; 60:1-11

IGHODARO, O. M. (2018). Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 108, 656–662. doi:10.1016/j.biopha.2018.09.058

IVANOV, A.V., BARTOSCH, B. e ISAGULIANTS, M.G. Oxidative Stress in Infection and Consequent Disease. **Oxid. Med. Cell Longev.** 2017 , 2017 , 3496043

JACKSON FILHO, J. M. *et al.* A saúde do trabalhador e o enfrentamento da COVID-19. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 45, e14, p. 1-3, 2020.

JOHNS HOPKINS ABX GUIDE. Coronavirus COVID-19 (SARS-CoV-2). 2020. Disponível em: https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540747/all/Coronavirus_COVID_19__SARS_CoV_2_ Acesso em: 09 de agosto de 2020.

KRETCHY, I. A., ASIEDU-DANSO, M. e KRETCHY, J.P. Medication management and compliance during the COVID-19 pandemic: Perspectives and experiences of low and middle income countries. **Res Social Adm Pharm.** 2021 Jan;17(1):2023-2026. doi: 10.1016/j.sapharm.2020.04.007. Epub 2020 Abr 15. PMID: 32307319; PMCID: PMC7158799.

LAMB, L. *et al.* Rapid detection of new coronavirus / Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-mediated isothermal amplification. **PLoS Um.** 2020 Jun 12;15(6):e0234682. doi: 10.1371/journal.pone.0234682. 32530929; PMCID: PMC7292379.

LAURIDSEN, C. From oxidative stress to inflammation: redox balance and immune system. **Poult. Sci.**, 98, 4240–4246. 2019.

LANA, R. M. *et al.* Emergência do novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, e00019620, 2020.

LI, T , LU, H. e ZHANG, W . Clinical observation and treatment of patients with COVID - 19. **Emerg Microbes Infect** . 2020 ; 1 : 687 - 690 .

LU, H., STRATON, C.W e TANG, Y.W. Pneumonia outbreak of unknown etiology in Wuhan China: the mystery and the miracle. **J Med Virol.** (2020)

LU, R.; SAFDAR, M.; OZASLAN, M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. **Gene Reports**, v. 19, p. 1-6, 2020.

LU, R. F. *et al.* 2020. Genomic characterization and epidemiology of the new coronavirus 2019: implications for the origins of the virus and receptor binding. **Lancet** .395:565–574. doi:10.1016/S0140-6736(20)30251-8, 2020.

LIN, E. C. L.; PENG, Y. C.; TSAI, J. C. H. Lessons learned from the anti-SARS quarantine experience in a hospital-based fever screening station in Taiwan. **American Journal of Infection Control**. v. 38, n. 4, p. 302-307, 2010.

LI, Q. *et al.* Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 13, p. 1199-1207, 2020a.

LI, Z.*et al.* Vicarious traumatization in the general public, members and non-members of medical teams aiding in Covid-19. **Brain, Behaviour and Immunity**, v. 88, p. 916-919, 2020b.

LI, G. e DE CLERCQ, E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). **Nature reviews**,v. 19, p. 149–150, 2020.

LI, X. *et al.* Molecular immun pathogenesis and diagnostic of COVID-19. **J. Pharm. Anal.** 2020 , 10 , 102–108.

LIU, S. *et al.* Providing pharmacy services during the coronavirus pandemic. *Int J Clin Pharm.* 2020 Abr;42(2):299-304. doi: 10.1007/s11096-020-01017-0. **Epub** 2020. PMID: 32222911; PMCID: PMC7101875.

MACLAREN, G.; FISHER, D.; BRODIE, D. Preparing for the most critically ill patients with COVID-19: the potential role of extracorporeal membrane oxygenation. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 13, p. 1245-1246, 2020.

MCDONALD, L. T. *et al* Early blood profile of C57BL / 6 Mice Exposed to Chronic Unpredictable Stress. **Psiquiatria Frontal.** 2019. 10:230. doi: 10.3389/fpsyt.2019.00230. 31068843; PMCID: PMC6491828.

MC KIM, D. B. *et al.* Social stress mobilizes hematopoietic stem cells to establish persistent splenic myelopoiesis. **Cellular representative.** (2018) 25:2552-62 e3. doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.102

MASLACH, C.; SCHAUFELI, W. B.; LEITER, M. P. Job burnout. **Annual Review Psychology**, v. 52, p. 397-422, 2001.

MARTINS, C. *et al.* Fatores de risco em saúde mental: contribuindo para o bem-estar biopsicossocial dos profissionais de saúde. **Revista Portuguesa de Enfermagem e Saúde Mental**, p. 21-26, 2016.

MARTELLI, F. e NUNES, F. M. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Cienc. Culto.*, São Paulo, v. 66, n. 3, pág. 54-57, 2014. Disponível em <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000300017&lng=en&nrm=iso>. acesso em 07 de dezembro de 2020. <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252014000300017>.

MOLINA, J. M.*et al.* No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 50, n. 4, p. 384, 2020.

NAGAR, H., PIAO, S. e KIM, C.S. Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Sepsis. 2018, 33, 65-72.

NOTOMI, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic Acids Res.** 2000 Jun15;28(12):E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63. PMID: 10871386; PMCID: PMC102748.

NDEFO, U. A. et al. Provision of medication therapy management by pharmacists to patients with type-2 diabetes mellitus in a federally qualified health center. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 42, n. 10, p. 632-637, 2017

ORNELLI, F. *et al.* "Pandemic fear" and COVID-19: mental health burden and strategies. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 42, n. 3, p. 232-235, 2020.

Organização Mundial da Saúde. 2020- Manejo clínico de infecção respiratória aguda grave (SARI) quando suspeita-se da doença COVID-19. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>. Acesso em 23 de agosto de 2020.

ONG, E. Z et al. A dynamic immune response shapes the progression of COVID-19. *Cell host microb.* 2020. S1931-3128:30185-2. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.021

PAPPA, S. Prevalence of depression, anxiety and insomnia among health professionals during the COVID-19 pandemic: Systematic review and meta-analysis. *Muniqué-se 2020 Em 2020*, 88:901-907. doi: 10.1016/j.bbi.2020.05.026. Epub 2020 .Errata em: **Imun. Brain Behav** 2020 Dez 9;: PMID: 32437915; PMCID: PMC7206431.

PARIDA, M. M. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative genetic amplification technique; perspectives in the clinical diagnosis of infectious diseases.. **Reverendo Med. Virol.** 2008. doi: 10.1002/rmv.593

PEELING, R. et al. Serology tests in the pandemic response COVID-19. **Lancet Infect Dis.** 2020 Set;20(9):e245-e249. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30517-X. Epub 2020 Jul 17. 32687805; PMCID: PMC7367660.

PISOSCHI, A.M, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **Eur J Med Chem.** 2015 Jun 5;97:55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040. Epub 2015 Apr 22. PMID: 25942353.

POPRAC, P. et al. Targeting free radicals in human diseases related to oxidative stress. **Trends in Pharmacological Sciences**, 38 (7), 592-607. doi: 10.1016 / j.tips.2017.04.005. 2017.

POHANKA, M. Role of oxidative stress in infectious diseases. A review. **Folia Microbiol.** 2013 , 58 , 503–513

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation and cancer: how are they linked?

Radic livre. **Biol. Med.** 2010 , 49 , 1603–1616

ROLAIN, J. M.; COLSON, P.; RAOULT, D. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 297-308, 2007.

ROTHER, C.; SCHUNK, M.; SOTHMANN, P. *et al.* Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. **The New England Journal of Medicine**, v. 328, p. 970-971, 2020.

RÖHR, S. et al. Psychosoziale Folgen von Quarantänemaßnahmen bei schwerwiegenden Coronavirus-Ausbrüchen: ein Rapid Review [Psychosocial Impact of Quarantine Measures During Serious Coronavirus Outbreaks: A Rapid Review]. **PsychiatrPrax.** 2020 May;47(4):179-189. German.doi: 10.1055/a-1159-5562. Epub 2020 Apr 27. PMID: 32340047; PMCID: PMC7295307.

ROBERTS, C.K e SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **LifSci.** v 84, p 705-712, 2009).

RINCÓN, J. et al. Role of Angiotensin II type 1 receptor in renal nad (P) H oxidase, oxidative stress and inflammation in the inhibition of hypertension-induced nitric oxide. **Life Sci.** 2015, 124, 81-90

SANDERS, J. M., et al. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. **JAMA.** 2020;323(18):1824-1836. doi:10.1001/jama.2020.6019

SAMIR, D. Oxidative Stress Associated with SARS-Cov-2 (COVID-19) increases Severity of Lung Disease - A Systematic Review. **J.Infect. Dis. Epidemiol.** 2020

SAHA, A., et al. Probable Molecular Mechanism of Remdesivir for the Treatment of COVID-19: Need to Know More. **Arch Med Res.** 2020;51(6):585-586. doi:10.1016/j.arcmed.2020.05.001.

SAHOO, P. R. et al. Loop-mediated isothermal amplification: an innovative genetic amplification technique for animal diseases. **Vet. World.** 2016. pp. 465-469, [10.14202/vetworld.2016.465-469](https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.465-469).

SEVILLA-SANCHÉZ, D. e TUSET-CREUS. Pharmaceutical assistance for hospitalized patients.(COVID-19 pandemic crisis management .A new challenge for pharmacy services). **Fazenda Hosp.** 2020 Jun 12;44(7):28-31doi: 10.7399/fh.11513. 32533666.

SHALEV, D. e SHAPIRO, PA. Epidemic psychiatry: The opportunities and challenges of COVID-19. *GenHosp Psiquiatria*. 2020 Maio-Jun;64:68-71. doi: 10.1016/j.genhosppsy.2020.03.009. **Epub** 2020 Abr3. PMID: 32279023; PMCID: PMC7194518.

SONG, Z., Pharmaceutical assistance of hospital pharmacists for patients hospitalized with COVID-19: Recommendations and guidelines of clinical experience . **Res Social Adm Pharm.** 2021 Jan;17(1):2027-2031. doi: 10.1016/j.sapharm.2020.03.027. **Epub** 2020 Abr 3. PMID: 32273253; PMCID: PMC7129111.

SUHAIL, S. et al. Role of Oxidative Stress on SARS-CoV (SARS) and SARS-CoV-2 (COVID-19) Infection: A Review. **Protein J.** 2020 Dez;39(6):644-656. doi: 10.1007/s10930-020-09935-8. **Epub** 2020 Out 26. 33106987; PMCID: PMC7587547.

SHEAHAN, T. *et al.* Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta, against MERS-CoV. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2020.

SHI, Y. *et al.* Covid-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death & Differentiation*, v. 27, p. 1451-1454, 2020.

SIDDIQI, H. K.; MEHRA, R. M. COVID19 Illness in native and immunosuppressed states: a clinical-therapeutic staging proposal. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 39, n. 7, p. 405-407, 2020.

SIORDIA, J. A. Epidemiology and clinical features of COVID-19: A review of current literature. **Journal of Clinical Virology**, v. 127, 104357, 2020.

SU, S. *et al.* Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses.**Trends Microbiology**, v. 24, p. 490-502, 2016.

TANG, W.*et al.* Hydroxychloroquine in patients with mainly mild to moderate coronavirus disease 2019: open label, randomised controlled trial. **BMJ**, v. 369, m1849, 2020.

TAN, S. J.; YIP, A. Hans Selye (1907-1982): Founder of the stress theory. **Singapore Medicine Journal**, v. 59, n. 4, p. 170-171, 2018.

TAYLOR, S. The psychology of pandemics: preparing for the next global outbreak of infectious disease. **Newcastle upon Tyne: Cambridge Scholars Publishing**, 2019.

TIAN, R. *et al.* A possible process of changing inflammatory cytokines in long-term chronic stress and its ultimate health implications. **Scientific World Journal**. 2014. 2014:780616. doi: 10.1155/2014/780616

TOOD, I., *et al.* Lecture notes: Immunology. **Nova York: John Wiley & Sons**; 2015

THOMPSON, D. e LEI, Y. Mini review: Recent progress in RT-LAMP enabled COVID-19 detection. **Sensors and Actuators Reports** 2. 2020. Doi 100017.

TRABULSI, L. e ALTERTHUM, F. Microbiologia. 6. ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, 2015.

TSAMAKIS, K. *et al.* COVID-19 pandemic and its impact on mental health of healthcare professionals. *Exp Ther Med*. 2020 Jun;19(6):3451-3453. doi: 10.3892/etm.2020.8646. **Epub** 2020 Apr 7. PMID: 32346406; PMCID: PMC7185082.

UZUNOVA, K., Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2. **Biomed Pharmacother**. 2020 Aug 24;131:110668. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110668. Epub ahead of print. PMID: 32861965; PMCID: PMC7444940.

VAN DOREMALEN, N., *et al.* Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 16, p. 1564- 1567, 2020.

VERA-VILLARROEL, P. *et al.* Chilean experimental version of the State-Trait Depression Questionnaire (ST-DEP): State subscale (S-DEP). **Psychological Reports**, v. 106, n. 1, p. 65-77, 2010.

VIEIRA, N. F.; NOGUEIRA-DA-TERRA, F. S. Avaliação do estresse entre os enfermeiros hospitalares. **Revista de Enfermagem UERJ**, v. 25, e14053, 2017.

VIEIRA, S. C. *et al.* Tratamento precoce para COVID-19 com base em evidência científica. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 33, 10993, 2020.

VIOLI, F. *et al.* Ativação nox2 em Covid-19. **Redox Biol**. 2020, 36, 101655

WANG, D. *et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. **Journal of the American Medical Association**, v. 232, n. 11, p. 1061-1069, 2020.

WANG, M. *et al.* Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. **Cell Research**, v. 30, n. 3, p. 269-271, 2020.

WANG, C. *et al.* Immediate psychological responses and associated factors during the initial stage of the 2019 coronavirus disease (COVID-19) epidemic among the general population in china. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 5, p. 1729, 2020.

WANG, Y *et al.* Características epidemiológicas e clínicas únicas da nova pneumonia coronavírus emergente de 2019 (COVID-19) implicam medidas especiais de controle. **J Med Virol.** 2020 Jun;92(6):568-576. doi: 10.1002/jmv.25748. Epub 2020 Mar 29. PMID: 32134116; PMCID: PMC7228347.

WHO. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak: rights, roles and responsibilities of health workers, including key considerations for occupational safety and health. Genebra, 2020. Disponível em: <[https://www.who.int/publications-detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)-outbreak-rights-roles-and-responsibilities-of-health-workers-including-keyconsiderations-for-occupational-safety-and-health](https://www.who.int/publications-detail/coronavirus-disease-(covid-19)-outbreak-rights-roles-and-responsibilities-of-health-workers-including-keyconsiderations-for-occupational-safety-and-health)> Acesso em: 10 out. 2020.

WILDER, A. S. e FREEDMAN, D. Isolation, quarantine, social detachment and community containment: key role for old-fashioned public health measures in the new coronavirus outbreak (2019-nCoV). **J Travel Med.** 2020 Mar 13;27(2):taaa020. doi: 10.1093/jtm/taaa020. PMID: 32052841; PMCID: PMC7107565.

WENJING, G. e LIMING, L. Research progress on the transmission of new coronavirus pneumonia during incubation or recessive infection. **Chinese Journal of Epidemiology**, v. 41, 2020.

WU, Z. *et al.* Important features and lessons from the 2019 coronavirus outbreak (COVID-19) in China: summary of a report of 72,314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA** 323:1239. doi:10.1001/jama.2020.2648, 2020)

WU, H.; *et al.* Breaking the vicious link between inflammation, oxidative stress and clotting, a new anti-thrombus view of nattokinase inhibiting LPS-induced inflammation and oxidative stress. **Redox Biol.** 2020, 32, 101500.

XU, Z. *et al.* Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 420-422, 2020a.

XU, X.. *et al.* Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 47, p. 1275-1280, 2020b.

YANG, P.; WANG, X. COVID-19: a new challenge for human beings. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 17, n. 5, p. 555-557, 2020.

ZABLOCKI, D.; SADOSHIMA, J. Angiotensin II and Oxidative Stress in Failing Heart. **Antioxídido. Sinal Redox**. 2013, 19, 1095-1109.

ZHAO, J. et al. Responses to SARS-CoV-2 in patients with the new coronavirus disease 2019. **Clin Infect Dis** doi:10.1093/cid/ciaa344, 2020.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-12 in Wuhan, China: retrospective cohort study. **The Lancet**, v. 395, p. 1054-1062, 2020.

ZOU, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory samples from infected patients. **N Engl J Med** 382:1177–1179. doi:10.1056/NEJMc2001737, 2020.

ZHANG, J. et al Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. **Alergia**. 2020

ZHU, N. et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China. **The New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 727-733, 2020.

ZUO, Y. et al. Neurophilic extracellular traps in COVID-19. **JCI Insight**. 2020; 5(11):e138999.

Anexos

Anexo A - Comprovante de submissão do manuscrito à Revista International Journal of Environmental Research and Public Health

MICROBIAL PATHOGENESIS





HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS • PRIVACY

Role: Author Username: rodvaucher@hotmail.com

Submissions Being Processed for Author Rodrigo de Almeida Vaucher

Page: 1 of 1 (1 total submissions)
Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
View Submission Send E-mail		Detection of SARS-CoV-2 virus using alternative molecular method and evaluation of biochemical, hematological, inflammatory and oxidative stress in healthcare professionals	Dec 25, 2020	Dec 25, 2020	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions)
Display 10 results per page.

<< Author Main Menu

Anexo B - Comprovante do Comitê de Ética em Pesquisa

UFPEL - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PELOTAS



Continuação do Parecer: 4.124.248

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1540785.pdf	29/06/2020 14:21:15		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	29/06/2020 14:18:12	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Anexo4.pdf	29/06/2020 14:17:06	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Carta.pdf	29/06/2020 14:14:41	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Anexo6.pdf	29/06/2020 09:46:30	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Anexo5.pdf	29/06/2020 09:45:04	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Anexo3.pdf	19/05/2020 02:47:34	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Anexo2.PDF	19/05/2020 02:46:30	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	Anexo1.pdf	19/05/2020 02:45:07	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito
Outros	UCPel.pdf	17/04/2020 09:12:58	Patricia Abrantes Duval	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	16/04/2020 11:52:39	RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Anexo C - Questionário sócio-demográfico



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – UFPel

Programa de Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção

Profissão:

Idade:

Sexo:

Pressão Arterial:

Peso:

Altura:

Você possui alguma doença preexistente? () Sim () Não

Se sim, quais? _____

Você faz uso de medicamentos? () Sim () Não

Se sim, quais (incluído chás, fitoterápicos, homeopáticos, vitaminas, anticoncepcional, analgésicos...) _____

Por favor, responda as questões abaixo de acordo com a legenda:

0– Nenhum pouco

1- Muito pouco

2– Pouco

3– Razoavelmente

4–Bastante

5– Totalmente

O início da pandemia de Coronvírus no Brasil mudou minha rotina **profissional**.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

O início da pandemia de Coronvírus no Brasil mudou minha rotina **pessoal**.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Me sinto seguro realizando o meu trabalho.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Tenho a quantidade necessária de EPIs para realizar minhas atividades profissionais.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Acho que posso ser infectado pelo Sars-Cov-2 realizando o meu trabalho.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Acho que algum familiar ou amigo podem ser infectados pelo Sars-Cov-2.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Estou dormindo normalmente.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Estou me alimentando normalmente neste período.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Estou lidando bem emocionalmente com familiares (ou pessoas que residem na mesma casa) neste período.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Percebo alterações de humor anormais.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Se sim, de que tipo? () Irritabilidade () Nervosismo () Medo () Insegurança ()
Tristeza () Estresse () Outros: _____

Já pensei em procurar ajuda psicológica neste momento.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Percebo que a população tem consciência da gravidade da situação que estamos vivendo.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Minha perspectiva sobre o desfecho desta situação é positiva.

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Tive diagnóstico de alguma patologia após o início da pandemia de Coronavírus no Brasil?

() Sim () Não

Se sim, qual (s)? _____

Iniciei o uso de algum medicamento após o início da pandemia de Coronavírus no Brasil?
(inclusive analgésicos, fitoterápicos, homeopáticos)

() Sim () Não

Se sim, quais? _____

Em seu ambiente de trabalho, você entrou em contato com alguma pessoa suspeita de ter contraído o Coronavírus? () Sim () Não

Você conhece algum colega de profissão que contraiu o Coronavírus? () Sim () Não

Marque a alternativa que você julga ser correta:

Em relação à pandemia, o Coronavírus pode causar:

Tosse (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor de garganta (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Coriza - nariz escorrendo (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Falta de ar/dificuldade de respirar (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor de cabeça (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor no corpo (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Febre (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Congestão nasal – nariz trancado (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dificuldade de sentir cheiro e gosto (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Cansaço (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Diarreia (1) Sim (2) Não (3) Não sei

O Coronavírus é transmitido por:

Gotículas de saliva (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Espirro (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Tosse (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Toque ou aperto de mãos (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Abraço (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Beijo (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Relação sexual (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Urina (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Animais (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Insetos (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Objetos ou superfícies contaminadas (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Fazem parte do grupo de risco para Coronavírus pessoas com:

Diabetes (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Pressão alta (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Problemas nos rins/insuficiência renal (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Asma/enfisema/bronquite (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Câncer (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Você faz parte do grupo de risco para Coronavírus?

(1) Sim (2) Não (3) Não sei

Você sabe se existe vacina para a COVID-19 (doença causada pelo Coronavírus)?

(1) Existe (2) Não existe (3) Não sei

Você sabe se existe tratamento para a COVID-19 (doença causada pelo Coronavírus)?

(1) Existe (2) Não existe (3) Não sei

Atualmente, você lava as mãos com água e sabão/sabonete várias vezes ao dia?

(0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você higieniza as mãos com álcool em gel várias vezes ao dia? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, ao tossir ou espirrar, você cobre o nariz e a boca com lenço ou com o braço ao invés das mãos? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você toca olhos, nariz e boca sem lavar as mãos? (0) Sim (1) Não. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você compartilha objetos de uso pessoal, como talheres, toalhas, pratos e copos? (0) Sim (1) Não. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você compartilha chimarrão com as pessoas? (0) Sim (1) Não

Atualmente, você evita aglomerações? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você mantém os ambientes ventilados? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você higieniza seu telefone celular? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Atualmente, você usa máscara quando sai de casa? (1) Sim (0) Não

Atualmente, você higieniza as compras quando chegam em casa? (0) Não (1) Sim. **Você já fazia isso antes de saber sobre o Coronavírus?** (0) Sim (1) Não

Em relação ao isolamento social, você:

Está fazendo (1) Sim (0) Não

Sai de casa para trabalhar (1) Sim (0) Não

Sai de casa para ir ao supermercado e à farmácia (1) Sim (0) Não

Sai de casa (1) Sim (0) Não

Indique abaixo quem, além do(s) morador(es), atualmente está frequentando a sua casa/apartamento:

Parentes próximos (1) Sim (0) Não

Outras pessoas próximas (1) Sim (0) Não

Prestadores de serviço (1) Sim (0) Não

Outros (1) Sim (0) Não

Ninguém (1) Sim (0) Não

Nos últimos 7 dias você teve:

Tosse (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor de garganta (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Coriza - nariz escorrendo (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Falta de ar/dificuldade de respirar (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor de cabeça (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dor no corpo (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Febre (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Congestão nasal – nariz trancado (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Dificuldade de sentir cheiro e gosto (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Cansaço (1) Sim (2) Não (3) Não sei

Diarreia (1) Sim (2) Não (3) Não sei