



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**Avaliação do perfil clínico da soro persistência de anticorpos
em trabalhadores de saúde durante a resposta a infecção por
SARS-CoV-2**

Flavia Amendola Anisio de Carvalho

**Rio de Janeiro
Agosto de 2021**



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**Avaliação do perfil clínico da soro persistência de anticorpos
em trabalhadores de saúde durante a resposta a infecção por
SARS-CoV-2**

Flavia Amendola Anisio de Carvalho

Dissertação apresentada à Pós-
graduação em Pesquisa
Aplicada à Saúde da Criança e
da Mulher como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciências

Orientador: Zilton Farias Meira de Vasconcelos
Co Orientadora: Ana Carolina Carioca da Costa

**Rio de Janeiro
Agosto de 2021**

CIP - Catalogação na Publicação

de Carvalho, Flavia Amendola.

Avaliação do perfil clínico da soro persistência de anticorpos em trabalhadores de saúde durante a resposta a infecção por SARS-CoV-2 / Flavia Amendola de Carvalho. - Rio de Janeiro, 2021.

104 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2021.

Orientador: Zilton da Meira Vasconcelos.

Co-orientadora: Ana Carolina Carioca Costa.

Bibliografia: f. 72-80

1. COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Trabalhadores da Saúde. 4. Teste Sorológico para COVID-19. 5. Manifestações Clínicas. I. Título.

*Dedico este trabalho de forma especial:
Aos meus pais, Anderson e Vera, e irmã, Juliana, que sempre estiveram ao
meu lado me apoiando nessa caminhada.
Ao meu marido, Caio e filhos, Luisa e Vitor, pela compreensão nos momentos
de ausência.
E ao eterno amigo, Celso Ungier, que sempre será o exemplo dos atributos
necessários para ser um verdadeiro mestre e assim um estímulo para continuar
nessa jornada acadêmica.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e grande amigo Dr. Zilton Vasconcelos, que é o responsável por despertar em mim esse amor pela pesquisa e ensino. Principal responsável pelo bom funcionamento de todas as etapas deste projeto. Alguém que nunca se abala com possíveis obstáculos e está sempre disposto a nos ajudar a atravessá-los.

A minha co-orientadora que esteve presente nos momentos mais difíceis (estatisticamente falando) e que me deu o apoio que precisava nestes momentos.

As minhas amigas, Liziane e Paula. Amigas que em todos os momentos estiveram empenhadas em me ajudar e me oferecer algo muito precioso neste momento, amizade sincera.

A equipe do ambulatório de alergia, médicos e enfermagem, que em todos os momentos compreenderam minhas ausências.

À toda equipe que participou dos inquéritos sorológicos do IFF-Fiocruz. Em especial: Karlinha, Adriana, Fabrício e Roberta. Vocês foram essenciais para o sucesso da coleta de dados destes inquéritos. Conviver no dia a dia com vocês foi uma experiência que não esquecerei jamais.

A toda equipe do laboratório, que se empenhou de forma incansável na geração de resultados.

Aos trabalhadores que aceitaram participar do estudo e que contribuíram com esta pesquisa.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACE2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
APC	Células apresentadoras de antígeno
CCL	Quimiocina de motivo C-C ligante
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLIA	Ensaio imunológico de quimioluminescência
COVID-19	Doença por coronavírus 2019
CTL	Linfócito T citotóxico
CXCL	Quimiocina de motivo C-X-C ligante
DC	Células dendríticas
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
dsRNA	ácido ribonucleico de dupla fita
E	Envelope
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FP	Peptídeo de fusão
HCoV	Coronavírus humano
HR	Repetições heptal
i- IgG ¹	Intensidade de banda da imunoglobulina G no primeiro exame colhido
IFF	Instituto Fernandes Figueira
IFNAR	Receptor interferon α / β
IFN- α	Interferon Alfa
IFN- β	Interferon Beta

IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
IFN- γ	Interferon Gama
IP-10	Proteína 10 induzível por interferon
IRF3	Fator regulador de interferon 3
IRF7	Fator regulador de interferon 7
JAK-STAT	Transdutor do Quinase-Sinal de Janus e ativador da transcrição
LACIFF	Laboratório de Alta Complexidade do IFF
LAMP	Amplificação isotérmica mediada por loop
LDH	Lactato desidrogenase
LFIA	Imunoensaio de Fluxo Lateral
M	Membrana
MCP1	Proteína quimioatrativa de monócitos 1
MERS-CoV	Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MIP1	Proteína inflamatória de macrófago 1
MISC	Síndrome Inflamatória Multissistêmica Associada a COVID19
MS	Ministério da Saúde
MyD88	Diferenciação primária de resposta mieloide gene 88
N	Nucleocapsídeo
NAAT	Teste de amplificação de ácido nucleico

NFκB	Fator nuclear kappa B
NK	Do inglês, <i>Natural Killer</i>
NLR	Receptor NOD- <i>like</i>
NSP	Proteínas não estruturais
O ₂	Gás Oxigênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	Quadro de leitura aberta
PAMP	Padrões moleculares associados ao patógeno
PRR	Receptores de reconhecimento de padrões
pVNT	Testes de neutralização de pseudovírus
RBD	Domínio de ligação ao receptor
RIG	Gene do ácido retinóico induzido
RLR	Receptor do tipo RIG-I
RNA	Ácido ribonucleico
RTC	Complexo replicase-transcriptase
RT-PCR	Reação quantitativa de transcrição reversa acoplada à reação em cadeia da polimerase
S	Do inglês, <i>Spike</i>
SARA	Síndrome da Angústia Respiratória Aguda
SARS-CoV	Síndrome da Angústia Respiratória Aguda do Coronavírus
SARS-CoV-2	Síndrome da Angústia Respiratória Aguda do Coronavírus 2
SDRA	Síndrome respiratória aguda grave
SG	Síndrome Gripal
sgRNA	RNA de fita única

SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SUS	Sistema Único de Saúde
TCD4	Linfócito T CD4
TCD8	Linfócito T CD8
TGF β	Fator transformador de crescimento beta
Th1	Linfócito T Auxiliar tipo 1
TIR	Receptor Toll-interleucina
TIRAP	Adaptador de proteína contendo domínio TIR
TLR	Receptor do tipo Toll
TMPRSS2	Protease transmembrana serina 2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TRAM	Molécula adaptadora relacionada ao TRIF
TRIF	Adaptador contendo domínio TIR induzindo Interferon- β

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVO GERAL	17
3.1. Objetivos específicos	17
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
4.1. COVID – 19.....	18
4.2. Etiopatogenia	19
4.3. Invasão Viral	21
4.4. Imunidade Inata	24
4.5. Imunidade adaptativa	30
4.6. Memória imunológica	35
4.7. Diagnóstico clínico	37
4.8. Diagnóstico laboratorial.....	38
4.8.1. Testes utilizados para diagnóstico da doença ativa	39
4.8.1.1. Teste molecular	39
4.8.1.2. Teste rápido de antígeno.....	41
4.8.2. Testes para avaliação de resposta a doença.....	41
5. MATERIAIS E MÉTODOS	44
5.1. Tipo de Estudo	44
5.2. Local do Estudo	44
5.3. População	44
5.4. Critérios de Inclusão.....	45
5.5. Critérios de Exclusão	45
5.6. Coleta de Dados	45

5.6.1. Questionário	46
5.6.2. Imunocromatografia de fluxo lateral.....	48
5.7. Análise de dados.....	49
5.8. Aspectos Éticos.....	50
6. RESULTADOS.....	51
7. DISCUSSÃO	66
8. CONCLUSÕES	71
ANEXO A – Parecer de aprovação CONEP.....	81
ANEXO B – Termo De Consentimento Livre E Esclarecido	91
ANEXO C - Questionário autoaplicável.....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura e antígenos virais do SARS-CoV-2.....	5
Figura 2 - Mecanismo de entrada do vírus SARS-CoV-2 na célula alvo.....	7
Figura 3 - Ciclo de replicação do coronavírus.....	8
Figura 4 - Imunidade aos vírus.....	9
Figura 5 - Vias de sinalização dos receptores <i>Toll-Like</i>	10
Figura 6 - Ação antiviral do IFN tipo I.....	11
Figura 7 - Receptores de ativação e de inibição das células NK.....	13
Figura 8 - Produção de IFN- γ pelas células NK.....	14
Figura 9 - Imunidade adaptativa na defesa contra vírus.....	16
Figura 10 - Etapas essenciais no teste RT- PCR.....	25
Figura 11 - Imunocromatografia de Fluxo Lateral.....	27
Figura 12 - Métodos ELISA e CLIA.....	28
Figura 13 - TR DPP® IgM/IgG Bio-Manguinhos.....	34
Figura 14 – <i>Box-plot</i> da intensidade de banda IgG ¹ segundo a confirmação do resultado de RT- PCR.....	38
Figura 15 - <i>Box-plot</i> da intensidade de banda IgG ¹ em relação ao relato de sintomas.....	39
Figura 16 - <i>Box-plot</i> da relação entre intensidade de banda de IgG ¹ com a persistência e soro reversão	44
Figura 17 - Curva de <i>Kaplan-Meier</i> com IC 95% para estimativa de tempo mediano (dias) de soro persistência após o início dos sintomas.	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Funções das proteínas estruturais.....	6
Quadro 2 - Durabilidade de detecção dos anticorpos do SARS-CoV-2 e associação a gravidade clínica de COVID 19.....	21
Quadro 3 - Variáveis utilizadas.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da população em relação a intensidade de banda IgG ¹	37
Tabela 2 - Relação entre frequência dos sintomas relatados e a intensidade de banda IgG ¹	40
Tabela 3 - Relação entre frequência de comorbidade/condições clínicas e intensidade de banda de IgG ¹	583
Tabela 4 - Características da população de soro persistência e soro reversão	45
Tabela 5 - Relação de RT - PCR confirmado com soro persistência.....	46
Tabela 6 - Relação entre presença de sintomas e a soro persistência ou soro reversão.....	46
Tabela 7 - Frequência dos sintomas relatados no grupo de soro reversão e soro persistência.....	47

RESUMO

A doença por coronavírus 2019 (COVID-19), causada por síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), foi declarada uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 11 de março de 2020 (1). O conhecimento da resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro e eficiência de infecção do vírus são cruciais para controle da infecção. Estudos recentes sugerem que os anticorpos contra SARS-CoV-2 diminuem após algumas semanas do início dos sintomas. O objetivo deste estudo foi descrever as características clínicas e laboratoriais dos trabalhadores de saúde que mantiveram o resultado positivo na avaliação sorológica de anticorpos Imunoglobulina (Ig) G anti- nucleocapsídeo (anti-N) para SARS-Cov-2. Este estudo foi realizado de forma transversal, descritivo e analítico. A coleta de dados foi efetuada através de questionário autoaplicável e teste de imunocromatografia de fluxo lateral para avaliação de anticorpo IgM e IgG específico para proteína N do SARS-COV 2. A análise dos resultados ocorreu utilizando os dados de três avaliações distintas dos trabalhadores de saúde no IFF-Fiocruz, entre junho e novembro de 2020. A maior produção de IgG foi relacionada a trabalhadores não brancos, com Reação quantitativa de transcrição reversa acoplada à reação em cadeia da polimerase (RT - PCR) confirmados e que relataram sintomas como dor no peito, dispneia, fadiga e ageusia. A chance de soro persistência foi 56,9% maior dentre os sintomáticos, porém não foi significativa do ponto de vista estatístico (OR=1,569, IC 95%: 0,908-2,711). O sintoma mais relacionado a soro persistência foi a dispneia, seguido de tosse, artralgia e anosmia. O tempo mediano de manutenção da soro persistência foi de 211 dias. Este estudo demonstrou que cerca de metade dos trabalhadores que tiveram seus exames reagentes em uma primeira coleta não mantiveram estes níveis.

Palavras-chaves: "COVID-19"; "SARS-CoV-2"; "Trabalhadores da Saúde", "Teste Sorológico para COVID-19", "Manifestações Clínicas".

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), was declared a pandemic by World Health Organization (WHO) on March 11, 2020(1). Knowledge of the host's innate and adaptive immune response and virus infection efficiency are crucial for infection control. Recent studies suggest that antibodies to SARS-CoV-2 decline weeks after symptom onset. This study describes the clinical and laboratory characteristics of health workers who maintained a positive result in the serological evaluation of IgG anti-N antibodies to SARS-Cov-2. This study was carried out in a transversal, descriptive and analytical way. Data collection was performed using a self-administered questionnaire and lateral flow immunochromatography test to assess IgM and IgG antibodies specific for SARS-COV 2 N protein. The analysis of the results was made from three distinct assessments of health workers at the IFF-Fiocruz, between June and November 2020. The highest production of IgG was related to non-white workers, with confirmed RT- PCR and who reported symptoms such as chest pain, dyspnea, fatigue and ageusia. The chance of sero persistence was 56.9% higher among the symptomatic ones, but it was not statistically significant (OR=1.569, 95% CI: 0.908-2.711). The symptom most related to sero persistence was dyspnea, followed by cough, arthralgia and anosmia. The median time of maintenance of serum persistence was 211 days. This study showed that about half of the professionals who had their exams reactive in a first collection, did not maintain their reactive levels. .

Keywords:” COVID-19”; "SARS-CoV-2"; “Health Workers”, “Serological Test for COVID-19”, “Clinical Manifestations”.

1. INTRODUÇÃO

A doença por coronavírus 2019 (COVID-19), causada por síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), foi declarada uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 11 de março de 2020 (2).

As manifestações clínicas da infecção por SARS-CoV-2 variam de doença assintomática, síndrome gripal a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e até morte (1).

A imunidade inata tem se mostrado crucial para a resposta eficiente e o controle da infecção por este vírus. Na infecção por SARS-CoV-2, as respostas imunes adaptativas também apresentam um papel proeminente na evolução da doença, semelhante à situação de outras infecções virais respiratórias.

Estudos recentes sugerem que os anticorpos adquiridos contra SARS-CoV-2 não persistem com o tempo e diminuem várias semanas após o início dos sintomas(3).

Os trabalhadores na área da saúde, pertencerem ao grupo de maior risco de infecção durante a pandemia de COVID-19. Avaliar as características associadas a este grupo é necessário para melhorar e ajustar as medidas de proteção desses grupos vulneráveis, mas altamente essenciais (3).

Os dados relativos à infecção e óbitos por COVID-19 observados em uma revisão sistemática realizada no período inicial da pandemia mostrou que, de acordo com cada país, o número de profissionais infectados variou de 1.716 a 17.306 (4). Desta forma a escolha deste grupo de indivíduos foi propositalmente utilizada na avaliação de resposta imunológica ao vírus neste trabalho.

As unidades da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), realizaram inquéritos sorológicos com os trabalhadores de saúde entre os meses de junho e novembro de 2020. O objetivo foi avaliar a resposta imune dos trabalhadores contra SARS-CoV-2 e acompanhar a exposição dos trabalhadores ao vírus, mesmo entre aqueles que não desenvolveram a doença.(5)

Esses inquéritos ocorreram em um momento inicial da pandemia que havia poucos acesso a testes diagnósticos e sorológicos além de conhecimentos limitados em relação ao COVID 19.

Esta pesquisa utiliza os dados dos profissionais de saúde do Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz) para identificar aspectos do perfil clínico e laboratorial dos indivíduos que mantiveram seus anticorpos em resposta à infecção por SARS-CoV-2, ao longo de aproximadamente 7 meses.

2. JUSTIFICATIVA

A avaliação de anticorpos em indivíduos que foram previamente expostos ao vírus ao longo do tempo, pode quantificar a proporção deles que não sustentam os títulos dos anticorpos específicos ao SARS-CoV-2 (soro reversores) e contribuir com a definição da durabilidade da memória imunológica humoral.

Além disso, identificar características sociodemográficas, clínicas e laboratoriais que impactem nesta durabilidade média pode auxiliar no processo de reconhecimento desses grupos.

A partir dessa avaliação, a pesquisa poderá reforçar a necessidade do monitoramento da soro reversão no processo de avaliação da eficiência da vacina e contribuir para o planejamento da necessidade e frequência de reforço vacinal, direcionadas a indivíduos com maior risco de soro-reversão.

3. OBJETIVO GERAL

Descrever as características sociodemográficas, clínicas e laboratoriais dos trabalhadores de saúde que mantiveram reagentes ou negativaram os níveis de anticorpos IgG para SARS-Cov-2.

3.1. Objetivos específicos

- Avaliar a relação da intensidade de IgG1 e manutenção dos anticorpos ao longo do tempo com as características sociodemográficas, sintomas, comorbidades/condições clínicas e área de atuação

- Avaliar a frequência e associação com soro persistência de RT- PCR confirmado nos dois grupos;
- Identificar as probabilidades de soro persistência ao longo do tempo

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1. COVID – 19

Em dezembro de 2019, uma nova síndrome respiratória infecciosa de causa desconhecida foi observada em Wuhan, China. Cientistas e médicos chineses identificaram uma nova linhagem de coronavírus, SARS-CoV-2, como patógeno causador da chamada doença da síndrome respiratória aguda grave chamada de COVID-19 (6). Embora o surto tenha sido controlado na China, rapidamente o vírus se espalhou, inicialmente na Itália, depois em outros países europeus, Estados Unidos (EUA), Brasil e no restante do mundo. Em 11 de março de 2020, a OMS declarou oficialmente a pandemia de COVID-19 (7).

Desde então, cientistas de todo o mundo buscam alternativas para o diagnóstico, prevenção e tratamento dessa patologia.

Até 26 de julho de 2021, havia 194.080.019 casos confirmados e 4.162.304 mortes em todo mundo (8). No Brasil, até a mesma data, foram 19.688.762 casos confirmados e 549.924 mortes (9). Especificamente, no estado do Rio de Janeiro, foram 990.124 casos com 56.446 óbitos confirmados (7).

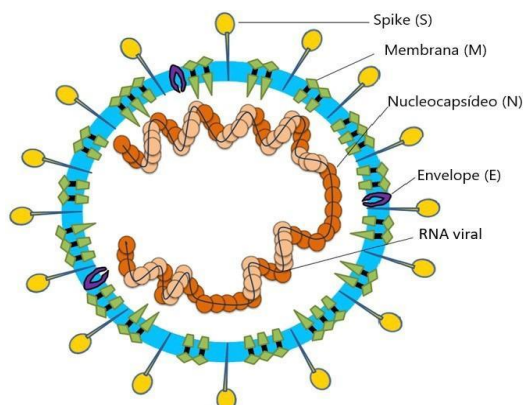
Em relação ao grupo de trabalhadores de saúde, até o dia 19 de julho de 2021, foram notificados 479.705 casos de síndrome gripal suspeitos de COVID-19, no e-SUS Notifica, sistema de registro eletrônico de notificações do Sistema Único de Saúde (SUS) do Ministério da Saúde (MS) do Brasil. Destes, 127.660 (26,6%) foram confirmados. Os trabalhadores de saúde com maior registro de casos confirmados foram técnicos/ auxiliares de enfermagem 37.882 (29,7%), seguidos de enfermeiros 22.450 (16,8%), médicos 13.498 (10,6%), farmacêuticos 6.711 (5,3%) e agentes comunitários de saúde 6.716 (5,3%) (9).

4.2. Etiopatogenia

Os coronavírus são membros da subfamília *Coronavirinae* da família *Coronaviridae* e da ordem *Nidovirales*. Esta subfamília consiste em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*, com base em suas relações filogenéticas e estruturas genômicas. Os gêneros *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus* infectam apenas mamíferos, enquanto os *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* infectam predominantemente aves, mas alguns deles podem infectar mamíferos (10).

SARS-CoV e MERS-CoV são os dois *Betacoronavirus* de maior importância médica por serem altamente patogênicos. Causam síndrome respiratória grave em humanos, sendo os outros quatro membros dessa família (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 e HKU1) indutores apenas de doenças respiratórias superiores leves em hospedeiros imunocompetentes, embora alguns deles possam causar infecções graves em bebês, crianças pequenas e idosos (10).

O genoma dos coronavírus (27–32 kb) é um RNA de fita simples de sentido positivo e sua estrutura contém quatro proteínas estruturais e dezesseis proteínas não estruturais (nsp1–16) (11). O RNA genômico é envolvido por capsídeo com proteínas do nucleocapsídeo (N) e revestido por um envelope associado a três proteínas estruturais: proteína de membrana (M - glicoproteína transmembrana do tipo III), proteína *Spike* (S) e proteína de envelope (E) (12). A proteína da membrana (M) e a proteína do envelope (E) estão localizadas entre as proteínas S no envelope do vírus (Figura.1).



Fonte: Li e colaboradores

Figura 1 - Estrutura e antígenos virais do SARS-CoV-2. Esta Figura mostra os 4 antígenos virais: S (*Spike*) – chamada também de proteína de pico, localizado na superfície externa do vírus, representada pela espícula em amarelo ligada a membrana (azul); M - proteína de membrana, representada pela cor verde e localizada na membrana; E - proteína do envelope, representada pela cor azul escura, também localizada na membrana; N - proteína do nucleocapsídeo, representado na cor laranja e presente no interior do vírus, acoplado ao RNA viral .

A proteína N desempenha um papel vital no ciclo de vida do vírus. Cópias desta proteína interagem com as moléculas de gRNA (RNA guia) e sgRNA (RNA guia único), indicando assim a participação na transcrição e tradução viral (13). Além disso, a dimerização da proteína N e associação com RNA genômico auxilia outras proteínas estruturais no processo de enovelamento contribuindo para a montagem viral (14).

A proteína *Spike* (S) compreende duas subunidades funcionais: S1 e S2. S1 consiste em um domínio amino-terminal e um domínio de ligação ao receptor (RBD). Esta subunidade é responsável pela ligação à célula hospedeira (11). O papel dessa proteína, especialmente a região RBD, é considerada um alvo crucial para a ação de anticorpos, principalmente para anticorpos neutralizantes (15). A subunidade S2 é composta por uma região de peptídeo de fusão (PF) e duas regiões de repetição de heptal (HR1 e HR2).

A proteína M é a proteína mais abundante na superfície viral e parece ter o papel na captura de outras proteínas estruturais no local de brotamento, e assim, participação na montagem viral (16).

Por fim acredita-se que a proteína E contribui também para a montagem e indução da curvatura da membrana quando associada à proteína M, além de função anti-apoptótica nas células infectadas, ou seja, suprime a resposta à infecção e ajuda na propagação viral (17).

O quadro 1 apresenta uma visão geral das proteínas virais estruturais (antígenos) associadas ao SARS-COV-2 e suas principais funções.

QUADRO 1: FUNÇÕES DAS PROTEÍNAS ESTRUTURAIS

Proteína	Função
Spike (S)	Ligação com receptores dos hospedeiros e tem acesso ao retículo endoplasmático
Nucleocapsídeo (N)	Unir o genoma viral ao complexo replicase-transcriptase e auxilia as outras proteínas estruturais na montagem viral
Envelope (E)	Proteína transmembrana que facilita a montagem e liberação do vírus
Membrana (M)	Liga-se ao nucleocapsídeo e promove a curvatura do vírus

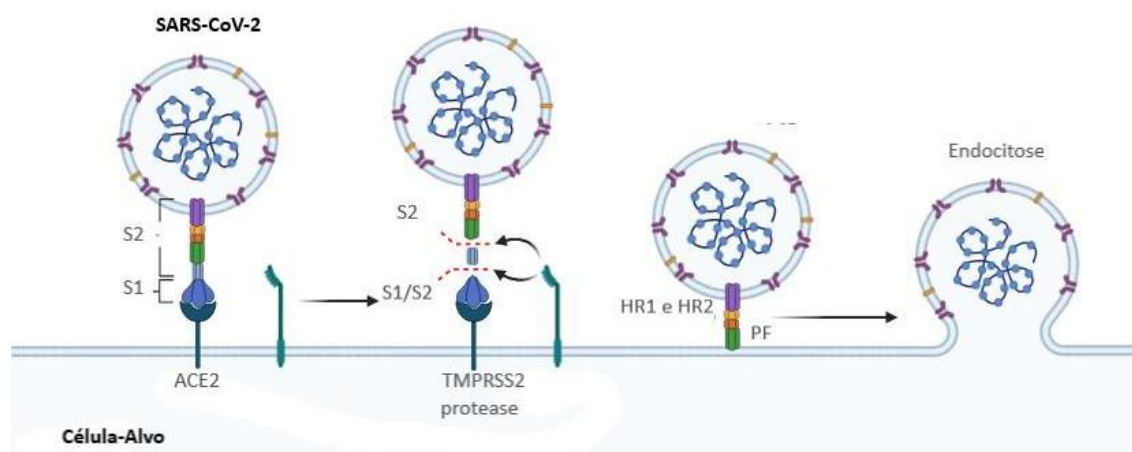
Fonte: adaptado de *Ravi* e colaboradores, 2020.

4.3. Invasão Viral

O vírus SARS-CoV-2 se liga à célula alvo através da proteína S, que contém dois domínios, S1 e S2. O domínio de ligação ao receptor (RBD), que se encontra no S1, se liga ao receptor de enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) na célula do hospedeiro (18).

Após a ligação do receptor ACE2, as proteínas S do SARS-CoV-2 são subsequentemente clivadas e ativadas pela protease da superfície da célula hospedeira TMPRSS2 nos locais S1 / S2 e S2 (Figura 2). Com o domínio S2 ativado,

ocorre a exposição do peptídeo de fusão HR1 e HR2 que se dobram sobre si para levar à fusão da membrana plasmática do envelope com a membrana celular, endocitose e assim à invasão da partícula viral do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras (19,20)(Figura 2).



Fonte: adaptado de BioRender Templates, 2021.

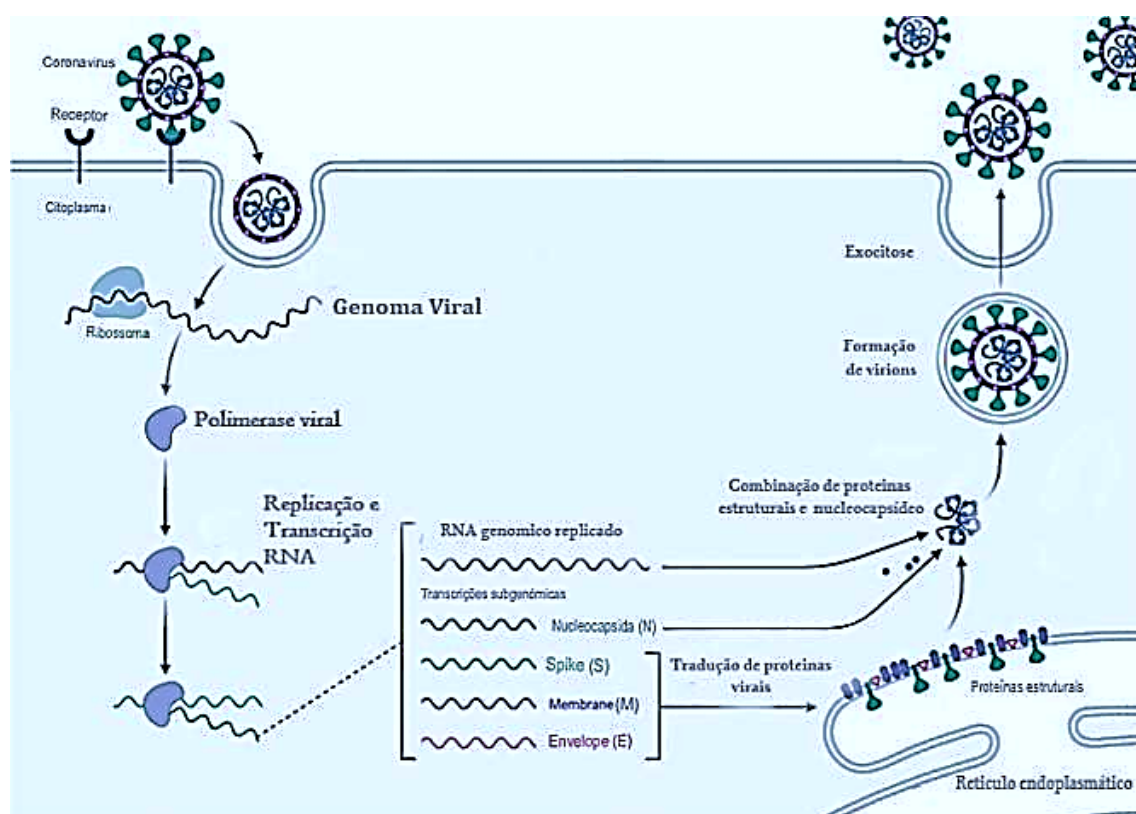
Figura 2 - Mecanismo de entrada do vírus SARS-CoV-2 na célula alvo. O vírus SARS-CoV-2 se liga ao receptor da célula (ACE2) alvo através da proteína S, que contém dois domínios, S1 e S2. A TMPRSS2, uma protease que se encontra na célula alvo, que cliva a proteína S nas regiões S2 e S1/S2, e assim ativa o domínio S2 e conseqüentemente induz a fusão da membrana viral e celular, infectando a célula alvo.

Após a entrada, ocorre a liberação e o desencapsulamento do RNA genômico permitindo a tradução direta das poliproteínas não estruturais (NSP) ORF1a e ORF1b, seguido pela montagem do complexo replicase-transcriptase (RTC). O SARS-CoV-2 inclui as seis ORFs (quadro de leitura aberta) que são comuns a todos os coronavírus (21). As ORFs podem servir como proteínas acessórias que modulam a replicação viral e a resposta imune do hospedeiro (22,23). A ORF1a é responsável pelo controle da expressão do genoma e a ORF1b pela replicação. Já a proteína ORF3b tem a função como antagonista de interferon (23).

O RTC conduz a replicação do genoma e a transcrição (Figura 3). A expressão de proteínas não estruturais e biogênese de organelas de replicação viral criam ambiente propício para replicação de RNA genômico viral e transcrição de RNAs sub genômicos (20).

Os RNAs sub genômicos resultantes são posteriormente traduzidos para produzir proteínas estruturais: *Spike* (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N), bem como várias proteínas acessórias (20).

As proteínas estruturais traduzidas se translocam para as membranas do retículo endoplasmático onde ocorre a interação com o RNA genômico. Finalmente, os vírions são secretados da célula infectada por exocitose (20).



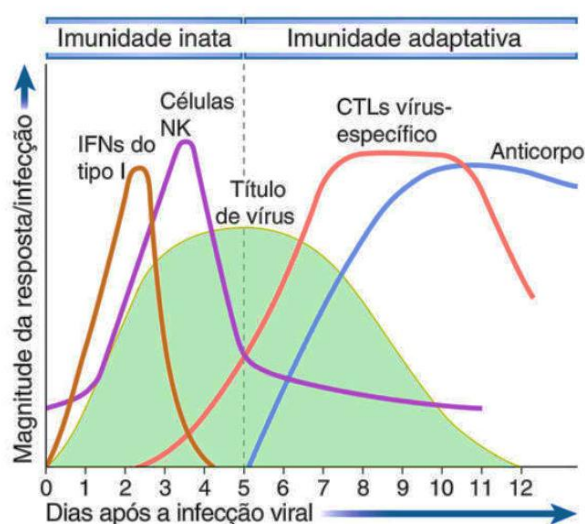
Fonte: *BioRenderTemplate*, 2021

Figura 3 - Ciclo de replicação do coronavírus. Após a entrada do vírus na célula-alvo, ocorre a liberação e o desencapsulamento do RNA genômico permitindo que seja lido pelos ribossomos. Posteriormente, a polimerase conduz a replicação de RNA genômico viral e transcrição de RNAs sub genômicos. Estes são traduzidos para produção das proteínas estruturais: Spike, envelope, membrana, nucleocapsídeo e várias proteínas acessórias. As proteínas estruturais traduzidas se translocam para as membranas do retículo endoplasmático onde ocorre a interação com o RNA genômico, formação dos vírions que são secretados da célula infectada por exocitose.

A resposta eficaz da imunidade inata e adaptativa humana contra vírus deve controlar a replicação viral, restringir a propagação do vírus, regular a inflamação e eliminar células infectadas através da secreção de citocinas pró-inflamatórias e a ativação de subconjuntos de células T e B (12).

4.4. Imunidade Inata

A resposta da imunidade inata é a primeira a ser estimulada após a infecção viral. Ela é mediada principalmente por células Células naturais assassinas, do inglês, *Natural Killer* (NK) e interferons (IFNs) do tipo I (Figura 4), com estímulo para produção de citocinas pró-inflamatórias como interleucina 6 (IL-6), IFN γ , proteína-1 quimioatraente de monocitos desregulados (MCP-1), Proteína 10 induzível por interferon - IP-10) que estimulam a imunidade adaptativa em resposta ao SARS-CoV-2 realizadas pelos linfócitos T citotóxico (CTLs) vírus específicos e anticorpos em um momento posterior (19,24).



Fonte: Abbas, 2019

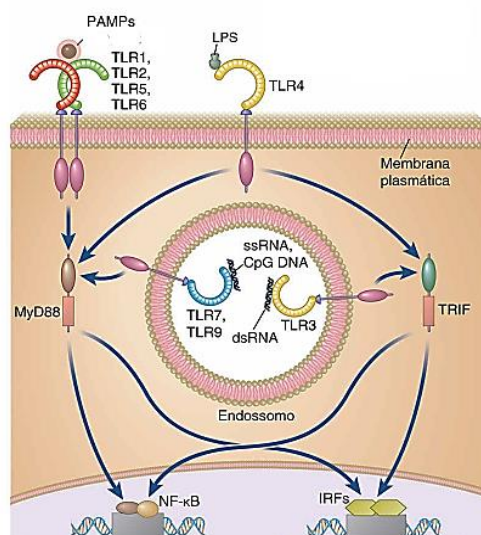
Figura 4 - Imunidade aos vírus. A imunidade inata inicia-se logo após o contato com vírus e é mediada por IFN do tipo I, que previne a infecção, e células NK, que eliminam células infectadas. A imunidade adaptativa tem sua maior intensidade por volta de uma semana após o contato, e é mediada por anticorpos que bloqueiam a infecção e CTLs matam as células infectadas.

A resposta se inicia através da detecção dos padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs), neste caso o RNA viral, pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) como: receptor *Toll-like* (TLRs), receptor NOD-like (NLR) e receptor do tipo RIG-I (RLR) (24).

RLRs são expressos pela maioria dos tipos de células e localizados no citosol, enquanto os TLRs são geralmente expressos por células do sistema imunológico inato e localizados na membrana celular e em compartimentos celulares como

endossomos (23). A ativação das proteínas adaptadoras como *diferenciação primária de resposta mieloide gene 88* (MyD88), adaptador de proteína contendo domínio TIR (TIRAP), adaptador contendo domínio TIR induzindo Interferon- β (TRIF) e molécula adaptadora relacionada ao TRIF (TRAM) pelos TLR, ativam os fatores de transcrição que induzem diversas respostas biológicas (23).

Diferentes respostas inflamatórias são estimuladas com expressão principalmente de IFN do tipo 1 e outros fatores inflamatórios que podem causar danos aos tecidos (12). TRIF é uma proteína adaptadora de TLR3 e TLR4, que ativa os fatores de transcrição como fator regulador de interferon 3 (IRF-3) e IRF-7. A proteína MyD88 ativa o fator de transcrição NF- κ B (Figura 5) para induzir a expressão do interferon tipo I e fatores imuno inflamatórios (23,24).

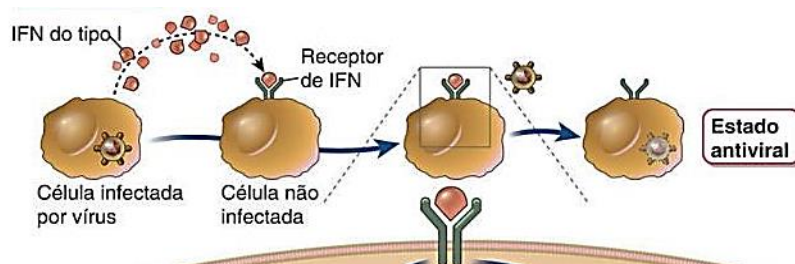


Fonte: Abbas, 2019.

Figura 5 - Vias de sinalização dos receptores *Toll-Like*. Os TLRs 1, 2, 5 e 6 usam a proteína adaptadora MyD88 e ativam os fatores de transcrição NF- κ B. O TLR4 pode ativar ambas as vias (TRIF e MyD88). O TLR3 no endossomo usa a proteína adaptadora TRIF e ativa os fatores de transcrição IRF3 e IRF7. Enquanto os TLRs 7 e 9 usam MyD88 e ativam NF- κ B e IRF7. IFN, interferon; IRFs, fatores reguladores de interferon; NF- κ B, fator nuclear kappa B.

A inibição da infecção pelo IFN do tipo 1 é chamada de ação antiviral (Figura 6) e é fruto de uma resistência à infecção (12). A célula infectada secreta IFN tipo I. Essa citocina atua de forma parácrina nas células vizinhas por meio do receptor IFN- α / β (IFNAR) que induzem através da via Jak / STAT a expressão de genes

estimulados por interferon (ISGs) (25). Este estímulo induz a expressão de enzimas que bloqueiam a replicação viral e assim impedem a disseminação viral (24).



Fonte: adaptado Abbas, 2019.

Figura 6 - Ação antiviral do IFN tipo I. A célula infectada pelo vírus é estimulada a produzir IFN tipo I. Com isso a célula vizinha, ao entrar em contato com esse IFN, induz a expressão de enzimas que bloqueiam a replicação viral. Isto é chamado de ação antiviral induzida pelo IFN tipo I.

Ziegler e colaboradores demonstraram que o SARS-CoV-2 desenvolveu vários mecanismos para manipular essa resposta antiviral (26). Identificaram, por exemplo, que o ACE2 é um ISG em células epiteliais humanas, sugerindo que o SARS-CoV-2 pode explorar a regulação positiva do ACE2 para aumentar os alvos celulares para a entrada do vírus (26).

Os mecanismos usados pelos CoVs para manipular a resposta de IFN podem ser resumidos em: (a) evasão, onde o vírus se protege do reconhecimento por PRRs, (b) supressão de indução de IFN, onde o vírus inibe a transcrição de interferons, (c) supressão de sinalização de IFN, onde as proteínas virais inibem a sinalização de IFNAR (25).

Para evitar o reconhecimento inato, os CoVs processam o RNA de fita dupla (dsRNA) em vesículas de membrana dupla derivadas de retículo endoplasmático que são formadas durante a replicação viral (27). O RNA viral evita assim o reconhecimento de RLR-like gerando uma metilação na extremidade 5' por proteínas não estruturais (NSPs) 10, 13, 14 e 16 (28).

Konno e colaboradores demonstraram que uma variante natural que codifica um quadro de leitura de ORF3b, no SARS-CoV-2, é mais longo suprimindo de forma mais eficiente a indução de IFN (29). Estudos recentes reforçam a possibilidade de que o SARS-CoV-2 seja mais eficiente do que outros CoVs na inibição da sinalização e da atividade do IFN (30–32). SARS-CoV-2 apresenta ação antagonista na via de sinalização de IFN tipo I, II e tipo II (33). Yang e colaboradores não observaram

ativação positiva do gene do interferon (IFN) nas células dendríticas em resposta ao SARS-CoV-2 (33).

Hadjadj e colaboradores relataram que pacientes com COVID-19 grave e crítico exibem uma resposta IFN tipo I altamente prejudicada, caracterizada por baixos níveis de IFN- α e IFN- β e baixos níveis de expressão de ISG (31).

Na doença causada por SARS-CoV-2, assim como SARS-CoV e MERS-CoV, ocorre aumento rápido e sustentado de citocinas e quimiocinas. Ocorre a liberação pelas células imunes efectoras de grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias (IFN α , IFN γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF α , TGF β) e quimiocinas (CXCL10, CXCL8, CXCL9, CCL2, CCL3, CCL5) que precipitam e sustentam a resposta inflamatória sistêmica aberrante (34).

Há recrutamento de macrófagos alveolares e outras células inflamatórias, como neutrófilos e monócitos, levando a uma infiltração desproporcional das células inflamatórias no tecido alveolar causando lesão pulmonar (35). Além disso, o SARS-CoV-2 pode infectar monócitos e macrófagos diretamente em pacientes com COVID-19 (34).

Wang e colaboradores observaram que as quimiocinas CXCL10, CCL7 e antagonista do receptor de IL-1 se relacionaram de forma significativa com a gravidade da doença. Os níveis aumentados de CXCL10 foram os únicos a se apresentar significativamente correlacionados com a carga viral (36).

A IL-6 é uma das interleucinas responsável pela resposta da fase aguda. Sua produção é aumentada na presença de IL-1B e TNF α , além de ser responsável pela ativação de células T *helper* 17 (TH17) na interação da célula dendrítica com célula T (34).

A célula dendrítica (DC) tem um papel crucial nessa interação entre a imunidade inata e adaptativa (37). A célula dendrítica plasmocitoide é uma das principais células produtoras de IFN do tipo I que estimula os macrófagos a realizarem a remoção do vírus (38).

As DCs imaturas têm forte capacidade de migração e as DCs maduras podem efetivamente ativar as células T no elo central de inicialização, regulação e manutenção das respostas imunológicas (12). *Qin* e colaboradores constataram que DCs pulmonares expressam ACE em sua superfície e assim são diretamente infectadas pelo SARS-CoV-2 (39). *Rescigno* e colaboradores constataram que o

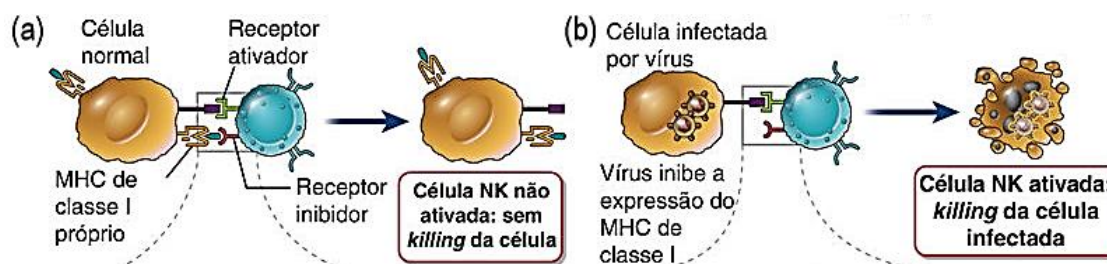
SARS-CoV-2 infecta seletivamente as DCs derivadas de monócitos imaturos. O repouso das células em seu estado imaturo, devido à infecção, pode levar a um retardo na ativação das células T, promovendo a disseminação do vírus (38).

Assim, a inibição do número e função das DCs (na sinalização de IFN) pelo SARS-CoV-2, diminui a progressão da imunidade inata para a adaptativa, atrasa a resposta das células T e assim representa um mecanismo de evasão imune do SARS-CoV-2 (30,40).

As células NK têm papel importante na imunidade inata a vírus. Suas funções efetoras são: matar células infectadas e produzir IFN- γ , que ativa os macrófagos a destruir os microorganismos fagocitados.

A citotoxicidade mediada pelas células NK ocorre através dos reconhecimentos das células infectadas realizadas pelas células NK (25).

O vírus inibe a expressão de MHC de classe I (MHC I) nas células infectadas (Figura 7). Com isso ocorre a liberação de um estado "normal" (expressão de receptores inibitórios) nas células NK. Isto permite que as células NK matem as células infectadas através de eventos de sinalização que causam a morte das células-alvo por apoptose com a ação das granzimas e perforinas (24).

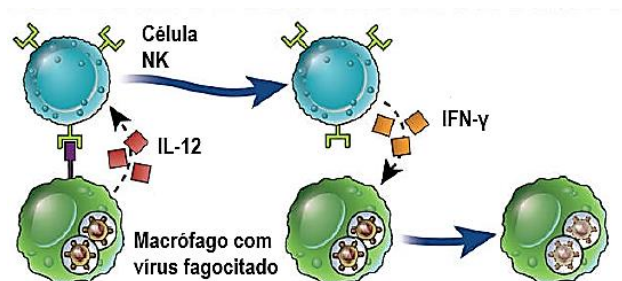


Fonte: Abbas e colaboradores, 2019

Figura 7 - Receptores de ativação e de inibição das células NK. (a) Após o contato entre as células saudáveis e células NK, os receptores de inibição das células NK (azul) reconhecem as moléculas MHC I localizados nas células saudáveis e ativam as proteínas tirosina fosfatase e dessa forma não matam de forma eficiente células saudáveis (marrom). (b) Infecção viral ou outro estresse inibe a expressão do MHC de classe I em células infectadas. Com isso o receptor inibidor da célula NK não é ativado e permite que a célula NK exerça seu papel de matar (*killing*) célula infectada e secretar citocinas.

Outra função da célula NK é produzir IFN- γ , que ativa os macrófagos a destruir microorganismos fagocitados. As células NK respondem à IL-12 produzida por

macrófagos e secretam IFN- γ que ativa os macrófagos a matarem os microrganismos que foram fagocitados (Figura 8) (24).



Fonte: Abbas e colaboradores, 2019.

Figura 8 - Produção de IFN- γ pelas células NK. Os macrófagos com vírus fagocitados expressam IL-12 que estimulam as células NK a secretar IFN- γ que ativa os macrófagos a matarem os microrganismos fagocitados.

Wang e colaboradores relataram que em pacientes COVID-19, o número reduzido de células NK no sangue periférico está associado à gravidade da doença (39). O tecido pulmonar humano infectado com SARS-CoV-2 mostrou aumento do ligante CXCR3 produtor de monócitos *in vitro* (41) e nos pulmões de pacientes com COVID-19 (42). Esses achados sugerem que a via CXCR3 pode promover o recrutamento de NK para o pulmão com consequente diminuição de seu número no sangue periférico (42).

O sistema complemento (CS) desempenha um papel substancial na imunidade do hospedeiro a COVID-19. Pacientes com COVID-19 moderado e grave apresentam níveis elevados no plasma de C5a e sC5b-9 (complexo de ataque à membrana- MAC) (43).

Magro e colaboradores examinaram tecidos da pele e do pulmão de pacientes com COVID-19 grave e observaram acúmulo de MBL, MASP-2, C3, C4a, C4d e C5b-9 no endotélio vascular de COVID-19 com lesão pulmonar (44).

Inflamassomas são complexos de proteínas formados no citosol respondendo a diferentes estímulos. O inflamassoma NLRP3 (receptor semelhante ao domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos contendo o domínio 3 da pirina) é um dos componentes imunes inatos mais importantes e pode ser ativado pela infecção por SARS-CoV-2 por meio da via da cascata do complemento (45). Este inflamassoma

promove a inflamação por meio da clivagem e ativação de moléculas, incluindo IL-1 β e IL-18 (46).

A ativação do inflamassoma de NLRP3 tem como consequência a piroptose, uma forma inflamatória de morte celular programada de macrófagos, caracterizada pela perda da integridade da membrana plasmática e liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-18, TNF- α , IL-6 e IL-8) (47). Essa ativação em pacientes com COVID-19 grave, foi correlacionada positivamente com a presença de IL-18 e caspase-1 e com outros marcadores inflamatórios, como proteína C reativa, lactato desidrogenase (LDH) e IL-6 (46).

A morte de células infectadas causa danos nos tecidos e edema alveolar, levando à hipóxia (48). O SARS-CoV-2 induz respostas excessivas e prolongadas de citocinas e quimiocinas em alguns indivíduos infectados que podem evoluir para SDRA (síndrome do desconforto respiratório agudo) ou disfunção de múltiplos órgãos com deterioração fisiológica e até morte (40). O controle em estágios iniciais dessa desregulação imune pode ser determinante no desfecho dos pacientes acometidos com COVID-19 (35).

4.5. Imunidade adaptativa

O sistema imune adaptativo também desempenha um papel significativo na tempestade de citocinas, disfunção de múltiplos órgãos e coagulopatia na COVID-19 (49).

Após aproximadamente uma semana do contato com o vírus, inicia-se a resposta das células T e B específicas para SARS-Cov-2 (20).

Peng e colaboradores observaram que a amplitude e a magnitude das respostas das células T foram significativamente maiores nos casos graves em comparação com os casos leves de COVID-19 (50).

As células T CD4 + promovem a produção de anticorpos específicos para vírus ao ativar as células B dependentes de T. As células T CD8 + são citotóxicas e podem matar células infectadas por vírus (12).

As células dendríticas maduras induzem os linfócitos B a se diferenciarem em plasmócitos produtores de anticorpos neutralizantes contra o vírus (fig. 9b). Estes

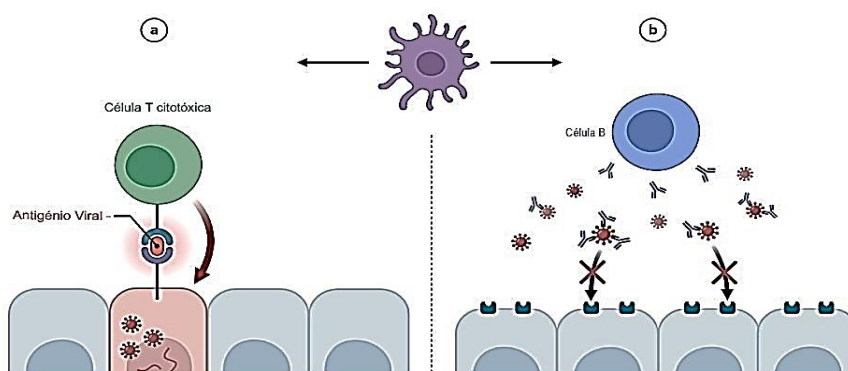
anticorpos específicos para o vírus impedem a sua fixação e entrada nas células do hospedeiro e conseqüentemente sua infecção (20).

Os anticorpos funcionam também ativando o sistema complemento e opsonizando partículas virais, promovendo assim sua eliminação pelos fagócitos (40).

O sistema complemento é vital para a resposta antiviral. C3a e C5a têm propriedades pró-inflamatórias potentes e podem desencadear o recrutamento de células inflamatórias e a ativação de neutrófilos. Os vírus, para evitar seu reconhecimento, codificam proteínas que os ajudam a evitar a detecção por este sistema(12).

As células infectadas (não APC) são capturadas pela DC e apresentadas para os TCD8 virgens que sofrem uma intensa proliferação durante a infecção viral. As DCs ativadas produzem citocinas e coestimuladores que intensificam a ativação da célula T e a diferenciação em células T efetoras específicas para peptídeos virais(50).

As CTLs específicas reconhecem o peptídeo viral nas células infectadas através da presença de MHC de classe I (Figura 9a). A presença do IFN do tipo I durante a resposta ao SARS-CoV-2, aumenta a expressão de MHC I nas células infectadas possibilitando seu reconhecimento. Após esse contato, as CTLs induzem a apoptose (morte celular) através de perforinas e granzimas (24).



Fonte: adaptado de *Bio Render Template*, 2021

Figura 9 - Imunidade adaptativa na defesa contra vírus. A célula dendrítica (representada em roxo) é uma célula apresentadora de antígeno (APC) que induz a resposta via célula T citotóxica e célula B. (a) A expressão do MHC de classe I nas células infectadas possibilitam o reconhecimento do peptídeo viral pelo células TCD8 (célula T citotóxica) que através das granzimas e perforinas induzem a morte celular. (b) A célula B ativada é induzida a produzir plasmócitos produtores de anticorpos neutralizantes contra o vírus.

As células T CD8 + representam cerca de 80% do total de células inflamatórias infiltrativas no interstício pulmonar em pacientes infectados com SARS-CoV. Assim sendo desempenham um papel vital na eliminação dos CoVs em células infectadas e na indução de lesão imunológica (12).

A estimulação persistente do antígeno viral resulta na exaustão das células T CD8, o que reflete um declínio nas funções efetoras e na capacidade proliferativa (51).

Yin e colaboradores observaram que cargas virais foram significativamente relacionadas positivamente com IL-2, IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10, enquanto negativamente correlacionado com células T CD3 + e células T CD3 + CD4 (52).

As contagens e porcentagens de células NK, células T CD4 + , células T CD8 + e células NKT foram significativamente reduzidas em pacientes com sintomas graves de COVID-19 (53)

Foi observada também a superexpressão de receptores inibitórios (PD1 e CTLA 4) em células NK e células T. Isto resulta em enfraquecimento das respostas imunológicas mediadas por células e para regulação positiva do COVID-19 (53,54).

Vários estudos têm correlacionado a presença de células T virgens, efetoras e de memória com a gravidade da doença.

De Biasi e colaboradores identificaram que células T apresentaram marcadores aumentados de exaustão ativação e senescência, níveis plasmáticos elevados de citocinas que conduzem a resposta em direção a Th1, Th2 e Th17 (55,56).

Qin e colaboradores relataram que a porcentagem de células T auxiliares virgens (CD3 + CD4 + CD45RA +) aumentou em pacientes graves, enquanto a população de células auxiliares de memória (CD3 + CD4 + CD45RO +) diminuiu (39).

Altos níveis de Th17 derivado de células T CD4 + foram detectados no sangue e níveis elevados de células T CD8 + citotóxicas foram detectados como dominantes nos tecidos pulmonares. As respostas de células T CD8 + excessivas e do tipo Th17 foram presumidas como sendo parcialmente responsáveis pelas lesões pulmonares graves locais e exacerbação de COVID-19 (57).

Os Treg são cruciais para regular a homeostase imunológica (58). *De Biase* e colaboradores mostraram que as porcentagens de diferentes tipos de Tregs estão

aumentadas no sangue periférico de pacientes com COVID-19 e que seu plasma contém grandes quantidades da citocina inibitória IL-10 (55).

Chen e colaboradores identificaram que os casos graves de COVID-19 apresentaram proporção inferior de Tregs virgens CD45RA + (nTregs) e proporção mais elevada de Tregs de memória CD45RO + (mTregs) em comparação com os casos moderados (59).

A imunidade adaptativa contra infecções virais mediada por anticorpos ocorre quando este microrganismo está em seus estágios extracelulares. Previne tanto a infecção inicial (antes da entrada do vírus na célula hospedeira) quanto a disseminação célula a célula (age naqueles vírus liberados por brotamento viral ou morte das células infectadas) (24).

A resposta à produção de anticorpos ao SARS-CoV-2 parece ser semelhante a outros *Betacoronavírus* (60). Segundo a literatura, a análise das respostas humorais depende de qual antígeno de superfície do vírus foi avaliado (61).

As respostas de IgM em pacientes com doença grave aumentam em uma a duas semanas após o início da infecção e diminuem gradualmente após quatro semanas, enquanto as respostas de IgM naqueles com doença mais leve foram muito mais baixas (60).

Para IgM, o tempo médio ou mediano para a soroconversão variou de quatro a 14 dias após o início dos sintomas (61–63), dependendo do método e tamanho da amostra dos estudos.

O tempo para soroconversão para IgA varia de quatro a onze dias na maioria dos estudos (61–64). *Dan* e colaboradores observaram que IgA ainda estava presente na grande maioria dos indivíduos de 6 a 8 meses após a infecção (3).

Tantuoyir e Rezaei relataram que apenas 40% dos pacientes produziram IgM na primeira semana após a infecção pelo SARS-CoV-2. Essa porcentagem de pacientes com IgM, aumentou para cerca de 95% após 12 a 14 dias (65). Isso indica que o anticorpo IgM, utilizado como marcador precoce de doença, parece não ser tão útil para esse objetivo, no caso de COVID-19.

Ensaio sorológicos baseados em IgM tiveram as sensibilidades mais baixas em comparação com os testes sorológicos baseados em IgG em cada método de teste respectivo (66–68).

Liu e colaboradores realizaram metanálise de subgrupo que mostrou que os ensaios sorológicos baseados em IgM que usam o antígeno S são mais sensíveis do que os ensaios de IgM anti-N, provavelmente devido à maior sensibilidade e resposta imunológica precoce ao antígeno S (69,70).

Tantuoyir e Rezaei observaram que um aumento nos valores de IgM parece afetar tanto os casos críticos quanto os graves, mas o número de IgG foi menor em pacientes graves comparando aos casos moderados e leves (65).

To e colaboradores, observaram que IgG tornou-se detectável na terceira semana após o início dos sintomas e atingiu o pico na sétima semana. Neste estudo, os níveis de IgG permaneceram elevados até o final do período de observação (12ª semana) (71).

Estes níveis foram significativamente maiores em pacientes mais velhos e naqueles com doença mais grave, indicando que esses pacientes têm maior ativação de suas defesas imunológicas mais tardiamente, durante a fase de recuperação (71,72).

Uma metanálise identificou que ensaios sorológicos baseados em IgG que usam o antígeno N são mais sensíveis do que os ensaios sorológicos baseados em IgG que usam o antígeno S (69,70).

Segundo *Kening e colaboradores*, a resposta fraca a anticorpos em estágio inicial da infecção pode estar associada à progressão da doença (73). Neste estudo, nas primeiras 3 semanas após o início da doença, os níveis de IgM / IgG específicos para S, RBD e N, foram maiores em pacientes com COVID-19 leve / moderado do que naqueles com doença grave / crítica. Baixos níveis de IgG antiviral em pacientes assintomáticos, indicam maior probabilidade de se tornarem soronegativos (73).

Long e colaboradores observaram que os níveis de IgG e anticorpos neutralizantes dos doentes que se recuperam da infecção por SARS-CoV-2 começam a diminuir em 2-3 meses após a infecção (74). Um modelo matemático foi realizado e sugere uma curta duração da imunidade após a infecção por SARS-CoV-2 (75).

Compreender os mecanismos imunológicos de COVID-19 que acompanham as apresentações clínicas poderão direcionar potenciais alvos terapêuticos.

4.6. Memória imunológica

A duração da imunidade contra o novo coronavírus é um ponto chave no planejamento de estratégias para controle do COVID-19. A heterogeneidade na magnitude das respostas imunes, diferentes tipos de memória imunológica com cinéticas distintas, dificultam pesquisadores e cientistas a definirem a melhor tática para atingir esse objetivo.

Wheatley e colaboradores avaliaram um perfil da dinâmica de anticorpos, células B e células T ao longo do tempo em pacientes que se recuperaram de COVID-19 leve a moderado. As respostas de anticorpos de ligação e neutralização, decaem nos primeiros 4 meses após a infecção (76).

Gudbjartsson e colaboradores realizaram um estudo com 1197 islandeses com diagnóstico de PCR quantitativo de SARS-CoV-2 positivos e observaram que após 120 dias todos permaneceram soropositivos por dois ensaios de anticorpos pan-IgG SARS-CoV-2 (N e S1-RBD) (77).

Por outro lado, estudos sugerem uma diminuição mais rápida (antes de 120 dias) nos títulos de IgG anti-RBD após infecção por SARS-CoV-2 leve ou assintomática (74,78).

Wu e colaboradores estudaram 349 pacientes sintomáticos com COVID-19. Avaliaram IgM e IgG para SARS-CoV-2 que reconhecem proteínas RBD e N além de anticorpos neutralizantes durante um período de 6 meses após o início da doença. O plasma da maioria destes pacientes mostrou níveis muito elevados de atividade neutralizante (79).

Wajnberg e colaboradores estudaram uma coorte de mais de 30.000 indivíduos infectados com sintomas leves a moderados de COVID-19. Descobriram que os títulos de anticorpos neutralizantes contra a proteína *Spike* SARS-CoV-2 persistiram por pelo menos 5 meses após a infecção (Quadro 2). Além disso, a resposta de anticorpos desapareceu em 40% dos indivíduos assintomáticos após 8 semanas (80).

O quadro 2 resume a durabilidade da detecção das imunoglobulinas A, M e G. A segunda coluna indica o intervalo entre início dos sintomas e detecção. Já a

terceira coluna indica por quanto tempo essa detecção se manteve. A última coluna correlaciona a detecção dessas imunoglobulinas a gravidade clínica (109 -111).

QUADRO 2 - DURABILIDADE DE DETECÇÃO DOS ANTICORPOS DO SARS-COV-2 E ASSOCIAÇÃO A GRAVIDADE CLÍNICA DE COVID-19

Anticorpo SARS-CoV-2	Detecção desde o início dos sintomas	Detectável por	Gravidade clínica
IgG	até 14 dias	pelo menos 4 meses	Grave
IgA	até 5 dias	mais ou menos 2 meses	leve a moderado
IgM	até 5 dias	menos de 2 meses e meio	leve a moderado

Fonte: *Ravi* e colaboradores, 2020; *Peeling* e colaboradores, 2020; *Iyer* e colaboradores, 2020

Indivíduos com COVID-19 leve a moderado induzem memória imune celular substancial, induzida principalmente pelas respostas das células T direcionadas aos epítomos da proteína S (76).

Em estudo realizado por *Dan* e colaboradores, aproximadamente 93% e 70% dos indivíduos detectaram células T de memória para CD4 e CD8, respectivamente, a partir de 1 mês após a infecção. Essa proporção diminuiu, em 6 a 8 meses, manteve-se em 92% em relação ao CD4 e para 50% em relação a CD8. A meia vida de células B de memória para IgA e IgG se mostraram maior que para IgM (3).

Já no estudo realizado por *Jung* e colaboradores que observaram as respostas das células T CD4 e CD8 de memória por 317 dias após o início dos sintomas, se mantiveram preservadas durante todo o período do estudo, independente da gravidade da doença (81).

As células T foliculares auxiliares (Tfh) desempenham um papel crucial nas respostas humorais da imunidade adaptativa. As células Tfh maduras localizam-se nos folículos nos órgãos linfóides secundários onde oferecem ajuda às células B nos centros germinativos para facilitar a maturação da afinidade da imunoglobulina, recombinação por troca de classe e geração de células plasmáticas e células B de memória de longa vida (82,83).

As células T de memória secretam citocinas e expandem-se no reencontro com o antígeno, enquanto as células B de memória expressam receptores capazes de neutralizar o vírus quando expressas como anticorpos monoclonais (41).

A produção de citocinas específicas por linfócitos T auxiliares foliculares (Tfh) de memória CD4 + CXCR5 + pode influenciar a ativação de células B e a troca de classe, enquanto CD4 + CXCR5 -, chamadas de células T efetoras, expressam altos níveis de citocinas com funções antivirais (41,82,83).

Rodda e colaboradores sugerem que COVID-19 leve induz memória imunológica multifacetada e persistente. Na investigação após 3 meses de COVID-19 moderado, os indivíduos recuperados apresentaram arsenal expandido de células de memória imunológica específicas para SARS-CoV-2 com funções antivirais protetoras. Observaram aumento de anticorpos neutralizantes, Tfh circulante CXCR5 + produtor de citocina Th1, células TCD4 de memória CXCR3 + e células T CD8 + produtoras de IFN- γ (41).

Diante disso, este trabalho espera contribuir com dados clínicos para ajudar no entendimento sobre essa nova doença.

4.7. Diagnóstico clínico

A transmissibilidade do SARS-CoV-2 se dá através do contato direto entre humanos por meio de secreções (saliva, secreções respiratórias gotículas e aerossóis), os quais alcançam até 1 metro de distância, e, também por contato indireto através de superfícies e/ou objetos contaminados. O período de incubação varia de 1 a 14 dias (49).

O espectro clínico da infecção pelo SARS-CoV-2 é amplo variando de assintomático, síndrome gripal (SG) e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG).

Uma revisão sistemática realizada com um total de 41.409 indivíduos (de 23 países) demonstrou as diferentes manifestações relatadas (29). Foram elas: febre (58,66%), tosse (54,52%), dispneia (30,82%), mal-estar (29,75%), fadiga (28,16%) e expectoração / secreção (25,33%), sintomas neurológicos (20,82%), manifestações dermatológicas (20,45%), anorexia (20,26%), mialgia (16,9%), espirros (14,71%), dor de garganta (14,41%), rinite (14,29%), calafrio (13,49%), cefaleia (12,17%), dor torácica (11,49%) e diarreia (9,59%). Em estudos com mais de 100 pacientes, os três principais sintomas foram: febre (57,93%), tosse (54,21%) e dispneia (30,64%) (84).

No Brasil, um estudo avaliou características clínicas dos pacientes com COVID-19 e demonstrou que os sintomas mais comuns foram: febre (67,5%), congestão nasal (42,4%), tosse (41,6%) e mialgia/artralgia (36,3%). A hospitalização foi necessária para 72 (14%) pacientes e 20 (27,8%) foram admitidos na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (85).

Nos pacientes hospitalizados/ graves, os pulmões são o órgão alvo do COVID-19. Os pacientes desenvolvem lesão pulmonar aguda que pode evoluir para insuficiência respiratória e falência de múltiplos órgãos (86).

Quadros graves de inflamação do músculo cardíaco causa arritmias, consequência do efeito viral direto e associado a presença de doenças sistêmicas e interações medicamentosas (48). No sistema nervoso central verificou-se pan-encefalite, meningite e danos às células neuronais do tronco cerebral. Em pacientes com menos de 65 anos, a hemorragia do SNC foi uma complicação fatal do COVID-19 (87). A trombose em pacientes com SARS-CoV-2 sugere que a infecção pode estar associada a uma coagulopatia e aumento do risco de trombose (85). Os possíveis mecanismos de lesão renal em COVID-19 incluem infecção direta do rim, bem como tempestade de citocinas. As células do túbulo proximal renal expressam fortemente a enzima conversora de angiotensina 2, o receptor de entrada celular para o vírus SARS-CoV-2 possibilitando a lesão direta neste órgão (88).

Os órgãos acometidos e gravidade da doença dependem não só das comorbidades como obesidade, DPOC, doença renal crônica, que são doenças sabidamente mais inflamatórias, como também da idade e status do sistema imune no momento do contato com o vírus (89).

4.8. Diagnóstico laboratorial

A infecção aguda pelo SARS-CoV-2 é melhor determinada através de testes diagnósticos como RT-PCR (teste de amplificação de ácido nucleico – NAAT) ou teste de antígeno. Para determinar a presença dos anticorpos em resposta a esta infecção, são utilizados testes sorológicos (90).

Embora os testes de antígeno possam confirmar a infecção ativa, casos assintomáticos ou com sintomas leves, na maioria das vezes, não buscam

atendimento médico, e assim não são testados (91). Isso destaca a importância dos testes sorológicos para obter estimativas mais precisas da extensão da pandemia de COVID-19 (92).

Os testes sorológicos avaliam a prevalência do contato com o vírus. Desta forma, podem ser elementos chave para avaliar a possível prevalência de pessoas que tiveram ou não contato com SARS-CoV-2 em um determinado período (93).

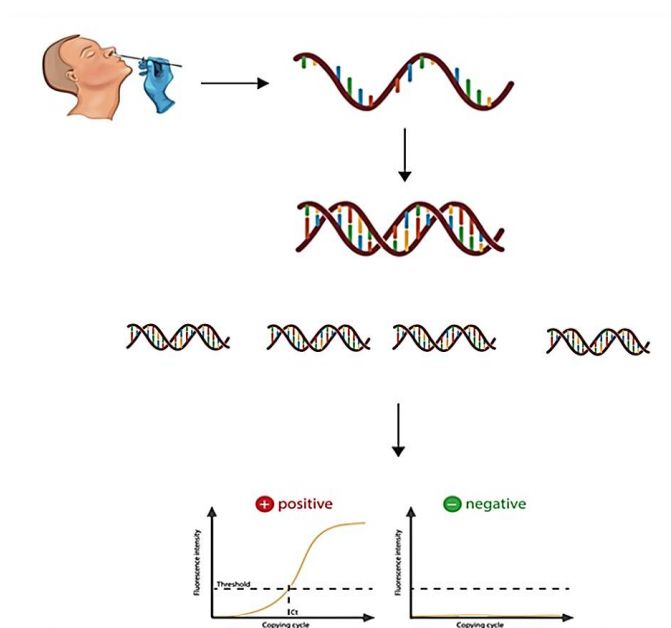
Esses testes diferem de várias maneiras, incluindo os antígenos usados para detecção de anticorpos, o tipo de anticorpos identificados e o método laboratorial.

4.8.1. Testes utilizados para diagnóstico da doença ativa

4.8.1.1. Teste molecular

O RT-PCR para SARS-CoV-2 é considerado padrão ouro no diagnóstico de COVID-19. É um teste de biologia molecular realizado através da identificação do vírus por meio de técnicas de reação em cadeia da polimerase acoplada à transcrição reversa com amplificação de trechos genômicos em tempo real (94).

A técnica envolve três etapas essenciais: (a) extração do RNA viral das amostras coletadas; (b) transcrição reversa de RNA viral em um DNA de fita simples (cDNA) usando a enzima transcriptase reversa; e (c) a amplificação do cDNA acoplado à detecção fluorescente (95) (Figura 10).



Fonte *BioRinder Template*, 2021.

Figura 10 - Etapas essenciais no teste RT- PCR. O material é colhido utilizando, por exemplo, swab de nasofaringe que identifica a presença do RNA viral. É um teste de biologia molecular que emprega técnicas de reação em cadeia da polimerase acoplada a transcrição reversa com amplificação de trechos genômicos em tempo real. A sequência genômica alvo (RNA) sofre a transcrição reversa, na qual o RNA será convertido em DNA complementar (cDNA). Em seguida sofre pela replicação e produção de um sinal de fluorescência em cada etapa de amplificação, visualizada através do número de ciclos (Ct).

Várias regiões genômicas SARS-CoV-2, como regiões ORF1b ou ORF8, e o nucleocapsídeo (N), RNA polimerase dependente de RNA (RdRP), proteína *Spike* (S) ou genes de envelope (E), foram usados no diagnóstico molecular do vírus via tecnologia RT- PCR (95).

O algoritmo *Charité* (Berlim, Alemanha) detectam os genes N, E e RdRp pela técnica de RT- PCR para SARS-Cov-2 (96). No algoritmo do CDC (EUA) os alvos no gene N (N1, N2 e N3) (97)

O exame deve ser preferencialmente coletado até o sétimo dia de sintomas, sendo o teste laboratorial de escolha para a fase aguda da doença. O material pode ser colhido utilizando *swab* realizado em nasofaringe, orofaringe, concha nasal média ou narinas anteriores e identifica a presença do RNA viral (93). Entretanto, amostras de secreção respiratória do trato inferior como escarro, lavado traqueal ou lavado broncoalveolar também podem ser usados (98).

Este método, frequentemente, falha em detectar a infecção viral se o procedimento de coleta não for ideal, se o paciente tiver carga viral baixa devido ao

estágio inicial da doença ou suprimido pela imunidade do hospedeiro, ou se as amostras foram obtidas em um estágio tardio no curso da infecção (99).

Estudos demonstraram que o RNA do SARS-CoV-2 pode ser detectado 2–3 dias antes do início dos sintomas e pode permanecer detectável até 25–50 dias após o início dos sintomas, particularmente em pacientes que permanecem sintomáticos por um período prolongado (71,100,101).

4.8.1.2. Teste rápido de antígeno

Este teste avalia a presença de partículas virais baseadas na detecção de antígenos do vírus e não avalia ácidos nucleicos virais. Os kits de antígeno SARS-CoV-2 utilizam o ensaio imunocromatográfico baseado em anticorpos específicos conjugados com ouro coloidal que resultam em bandas coloridas visíveis para refletir a positividade e o ensaio imunocromatográfico de fluorescência que fornece resultados por meio de um leitor de imunofluorescência automatizado (102).

A detecção de infecções ativas leva em média 15 minutos, comparado ao RT-PCR que pode levar horas. A melhor sensibilidade destes testes está relacionada com cargas virais mais altas. Sendo assim, coletas fora da janela de infecção ativa que potencialmente possuem um número baixo de vírus poderiam predispor a resultados falsos negativos (103).

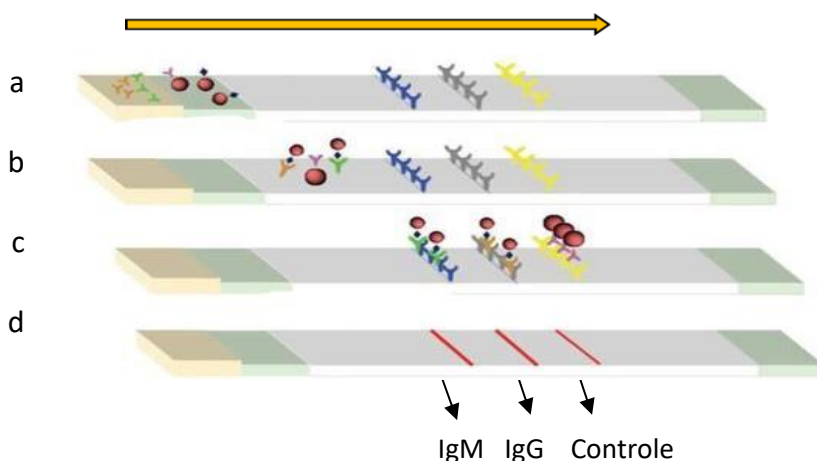
4.8.2. Testes para avaliação de resposta a doença

Os testes sorológicos podem ser econômicos e acessíveis para os países em desenvolvimento, onde a experiência e a infraestrutura são limitadas e a resposta do sistema de saúde é medida em dias ao invés de horas (73). Porém, no contexto de pandemia onde o diagnóstico precoce é essencial para o manejo do paciente e controle do surto, não são os testes de linha de frente recomendados.

Os testes sorológicos são particularmente úteis para fins epidemiológicos e para avaliar o impacto da disseminação do vírus (93). Esses ensaios baseiam-se em princípios semelhantes quanto à identificação dos anticorpos específicos, mas diferem no método de detecção da ligação anticorpo-antígeno.

As plataformas atualmente comercializadas para avaliação sorológica de anticorpos incluem imunoenensaio de fluxo lateral (LFIA), ensaio de imun absorção enzimática (ELISA) e imunoenensaio quimioluminescentes (CLIA) (67).

LFIA são métodos mais baratos e de fácil execução. As amostras utilizadas podem ser sangue capilar, sangue total, soro ou plasma e são aplicadas no cassete contendo peptídeos recombinantes de SARS-CoV-2 conjugados com nanopartículas de ouro (AunP; "indicador de cor vermelha") e IgG de coelho com ouro conjugado (controle do teste – em amarelo) (Figura 11a). O resultado se dá pelo aparecimento de uma linha colorida após a adição do espécime à tira (104). Caso a amostra do indivíduo tenha anticorpos IgM ou IgG para SARS-Cov-2, estes se ligarão ao conjugado de ouro-peptídeo viral na almofada do cassete (Figura 11b) e a ação capilar irá conduzir o complexo antígeno-anticorpo pela membrana (Figura 11c). O aparecimento da linha vermelha indica a ligação desse complexo aos anticorpos anti-SARS-Cov-2 (IgG ou IgM) presentes na placa mostrando assim, que o teste é reagente (Figura 11d). São testes qualitativos e algumas vezes quantitativos usados para triagem e auxílio no esclarecimento da exposição ao SARS-CoV-2.

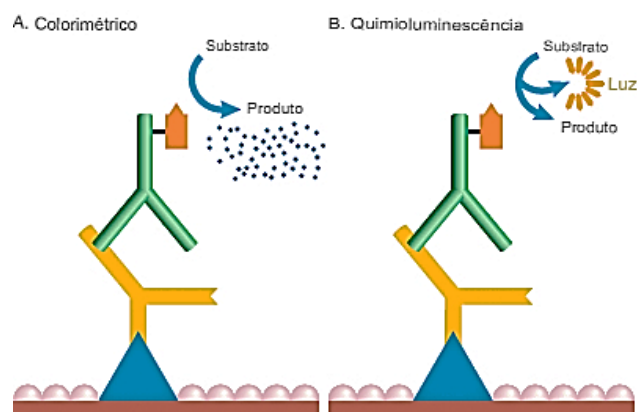


Fonte: adaptado de Shyu D e colaboradores

Figura 11 - Imunocromatografia de Fluxo Lateral. (a) As amostras contendo os anticorpos são colocadas no cassete contendo peptídeos recombinantes de SARS-CoV-2 conjugados (losango azul) com nanopartículas de ouro (AunP; esferas vermelhas) e IgG de coelho com ouro conjugado (esfera vermelha ligada a Y de cor roxa). O Y azul é o anticorpo IgM, o cinza é o IgG e amarelo anticorpo-controle.(b) Ação capilar irá conduzir o complexo antígeno-anticorpo pela membrana na direção da seta amarela. (c) Cada conjunto se liga ao anticorpo correspondente. (d) O aparecimento da linha vermelha indica a ligação desse complexo aos anticorpos anti-SARS-Cov-2 (IgG ou IgM) presentes na placa mostrando assim, que o teste é reagente.

O método ELISA gera resultados qualitativos e/ou quantitativos. Placas com poços revestidos de proteínas SARS-CoV-2 (S ou N) são incubadas com o soro do paciente e, se os anticorpos estiverem presentes, um complexo anticorpo-antígeno se forma (Figura 12A), resultando em uma leitura baseada em fluorescência (105).

Já o método CLIA, também conhecido como imunoenensaio de quimioluminescência (Figura 12B), são ensaios automatizados que geram uma resposta luminescente quando o resultado é positivo (reagente) (67).



Fonte: *BioRender Template*, 2021

Figura 12 - Métodos ELISA e CLIA. Placas com poços revestidos de proteínas SARS-CoV-2 (triângulo azul) são incubadas com o soro do paciente (Y em amarelo) e, se os anticorpos estiverem presentes, um complexo anticorpo-antígeno se forma. Um marcador acoplado a um anticorpo secundário (Y verde e marcador em laranja) se liga a este anticorpo primário que está ligado ao antígeno. Esse marcador pode ser fluorescente (B) ou pode ser uma enzima que catalisa uma reação que produz um produto mensurável (A).

Em geral, o LFIA tem sensibilidade mais baixa, mas especificidade comparável ao ELISA e CLIA. Em metanálise realizada por *Lisboa Bastos* e colaboradores, a sensibilidade combinada de IgG ou IgM ELISA foi de 84,3% (intervalo de confiança de 95%: 75,6-90,9%), LFIA foi de 66,0% (49,3-79,3%) e CLIA foi de 97,8% (46,2-100%). As especificidades agrupadas variaram de 96,6 a 99,7% (67).

Mekonnen e colaboradores encontraram a sensibilidade / especificidade do CLIA, ELISA e (LFIA) de: 92% (IC 95%: 86% –95%) / 99% (IC: 97%-99%), 86% (IC: 82%-89%) / 99% (IC: 98%-100%) e 78% (IC: 71%-83%) / 98% (IC 95%: 96%-99%), respectivamente. Nesta metanálise, os testes diagnósticos de melhor acurácia foram os ensaios CLIA direcionados a anticorpos contra RBD (73).

Os testes de detecção de anticorpos neutralizantes determinam a capacidade funcional dos anticorpos para prevenir a infecção pelo vírus *in vitro*. Eles monitoram a quantidade de anticorpos que impedem a infecção em culturas de células quando incubadas com soro ou plasma. Podem ser: a) testes de neutralização de vírus (VNT) que utilizam vírus SARS-CoV-2 de um isolado clínico ou vírus recombinante SARS-CoV-2; b) testes de neutralização de pseudovírus (pVNT) que utilizam pseudovírus recombinantes (lentivírus, por exemplo) que incorporam a proteína S de SARS-CoV-2; e testes de neutralização competitiva (cVNT) que usam anticorpos de ligação concebidos para detectar qualitativamente anticorpos potencialmente neutralizantes, que evitam a interação de RBD com o receptor ACE-2 (91).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Tipo de Estudo

Estudo transversal, descritivo e analítico.

5.2. Local do Estudo

O estudo foi realizado no Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

5.3. População

Foram realizados inquéritos sorológicos com os trabalhadores de saúde do IFF e de todas as unidades Fiocruz, nos meses de junho, setembro e novembro de 2020. Esses inquéritos ocorreram em um momento inicial da pandemia que havia poucos acesso a testes diagnósticos e sorológicos além de conhecimentos limitados em relação ao COVID 19. O objetivo destes inquéritos naquele momento era avaliar a resposta imune dos trabalhadores contra SARS-CoV-2 e acompanhar a exposição dos trabalhadores ao vírus, mesmo entre aqueles que não desenvolveram a doença.

5.4. Critérios de Inclusão

Foram incluídos os trabalhadores que participaram de pelo menos duas fases dos inquéritos sorológicos e apresentaram IgG reagentes para SARS-CoV-2 em pelo menos uma das duas primeiras testagens.

5.5. Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo aqueles trabalhadores que:

- Não apresentaram IgG para SARS-COV-2 reagente em nenhuma fase.
- Realizaram somente uma fase do inquérito
- Apresentaram positividade somente na última fase.

5.6. Coleta de Dados

Os dados foram obtidos através do banco de dados gerado a partir de um questionário autoaplicável (Anexo C) e teste realizado através da técnica de imunocromatografia de fluxo lateral que utilizou como alvo o anticorpo IgG específico para proteína N do SARS-COV- 2.

Em todas as fases foram realizados os dois procedimentos (preenchimento do questionário e coleta de exame de sangue). O recrutamento dos participantes foi espontâneo, mediante marcação com dia e horário da realização dos procedimentos para evitar aglomerações. Foram planejados 1200 testes para cada fase do inquérito.

Foi considerada soro persistência aqueles indivíduos que mantiveram seu(s) valor(es) de intensidade de banda de IgG reagentes na(s) coleta(s) seguinte(s). Soro reversão aqueles que negativaram a sua intensidade de banda de IgG em qualquer momento posterior a sua primeira coleta reagente. No caso de três testagens do mesmo profissional, a data da coleta e o resultado (reagente ou não reagente) utilizado para análise foram o mais distante da primeira coleta reagente.

5.6.1. Questionário

Os questionários (Anexo C) foram preenchidos através da plataforma online Google Cloud para minimizar o risco de aglomeração. As variáveis utilizadas estão apresentadas no quadro 3.

QUADRO 3 - VARIÁVEIS UTILIZADAS

	Variável	Tipo de variável	Descrição
Dados demográficos	Raça	categórica	Branca/ Preta/Parda
	Gênero	categórica	F/M/outros
	Data de nascimento	numérica	Ano/mês/dia
	Área de atuação	categórica	Assistência, pesquisa, limpeza etc.
Comorbidades/ Condições clínicas	Asma	categórica	Sim/ Não
	Outras doenças pulmonares	categórica	Sim/ Não
	Diabetes Mellitus	categórica	Sim/ Não
	Fumante/Ex	categórica	Sim/ Não
	Hipertensão	categórica	Sim/ Não
	HIV	categórica	Sim/ Não
	Obesidade	categórica	Sim/ Não
	Uso de imunossupressor	categórica	Sim/ Não
	Doença genética	categórica	Sim/ Não
	Doença hematológica	categórica	Sim/ Não
	Doença hepática	categórica	Sim/ Não
	Doença neoplásica	categórica	Sim/ Não
Doença neurológica	categórica	Sim/ Não	

	Variável	Tipo de variável	Descrição
Sintomas	Presença de sintoma	categórica	Sim/ Não
	Doença renal	categórica	Sim/ Não
	Anosmia	categórica	Sim/ Não
	Conjuntivite	categórica	Sim/ Não
	Dermatite	categórica	Sim/ Não
	Diarreia	categórica	Sim/ Não
	Dificuldade deglutição	categórica	Sim/ Não
	Dispneia	categórica	Sim/ Não
	Espirro	categórica	Sim/ Não
	Escarro	categórica	Sim/ Não
	Fadiga	categórica	Sim/ Não
	Febre	categórica	Sim/ Não
	Paladar Alterado	categórica	Sim/ Não
	Tosse	categórica	Sim/ Não
	Vômito	categórica	Sim/ Não
	Dor abdominal	categórica	Sim/ Não
	Dor articular	categórica	Sim/ Não
	Dor atrás dos olhos	categórica	Sim/ Não
	Dor na cabeça	categórica	Sim/ Não
	Dor na garganta	categórica	Sim/ Não
	Dor muscular	categórica	Sim/ Não
	Dor no ouvido	categórica	Sim/ Não
Dor no peito	categórica	Sim/ Não	
Laboratório	PCR confirmado	categórica	Sim/ Não
	1ª fase, IgG	numérica	Intensidade de banda
	2ª fase Resultado IgG	categórica	Positivo/Negativo
	3ª fase Data da coleta	numérica	Ano/mês/dia

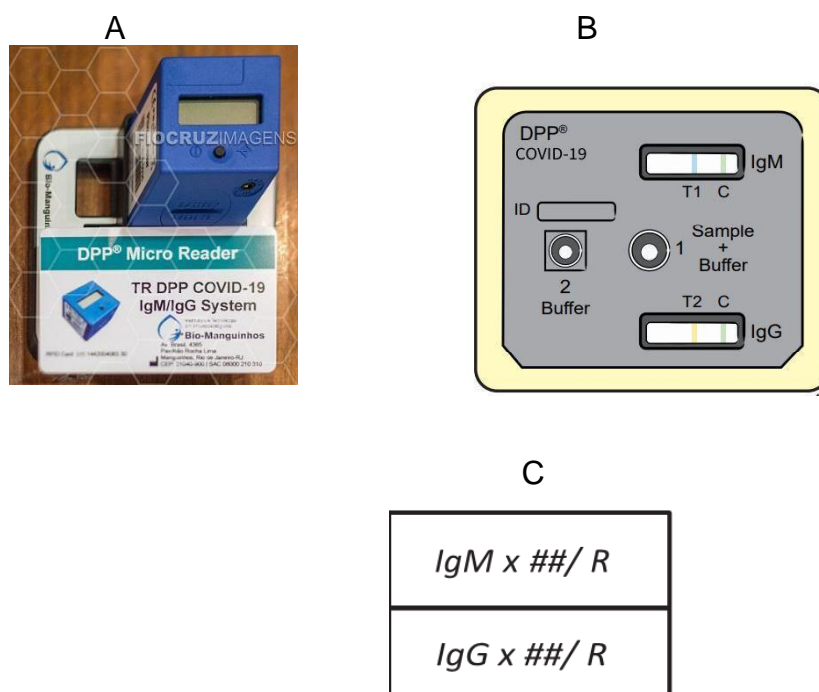
5.6.2. Imunocromatografia de fluxo lateral

Foram realizadas três avaliações dos trabalhadores de saúde no IFF-Fiocruz. Elas aconteceram nos meses de junho (fase 1), setembro (fase 2) e novembro (fase 3) de 2020.

A quantidade planejada foi de 1.200 testes por fase. A fase 1 contou com a participação de 1.194 trabalhadores, na fase 2 foram 1.074 indivíduos e 1.116 na fase 3. A maioria dos trabalhadores estavam trabalhando de forma presencial.

Na avaliação de IgM e IgG para vírus SARS-CoV-2 foi utilizado o teste rápido de anticorpo, TR DPP® IgM/IgG- Bio-Manguinhos, registrado no Ministério da Saúde sob o número: 8.01421-70039. Este Kit utiliza uma combinação de antígenos de vírus SARS-CoV-2 ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e conjugado de proteína A com partículas de ouro coloidal.

Antes de coletar a amostra, foi preparado o tubo de EDTA para diluição com 5 gotas (150 µL) do tampão de corrida. A coleta de 4 ml de sangue de cada participante foi realizada por punção venosa periférica. Após a coleta, foi inserida a amostra de sangue utilizando alça coletora descartável no tubo para diluição já preparado com as 5 gotas do tampão de corrida. Com ajuda da pipeta de transferência foi coletado 100 µL do tubo de diluição e transferido para o poço 1 (Figura 13A) (Amostra +Tampão = *Sample + Buffer*). Após 5 minutos, foi adicionado 9 (nove) gotas de tampão no poço 2 . A leitura do teste foi realizada após 10 a 15 minutos com auxílio do Micro Leitor DPP® (Figura 13B). O volume restante das amostras foi utilizado para a pesquisa em que este estudo está inserido.



Fonte: Bula do produto e FiocruzImagens, 2020 (59,60).

Figura 13 - TR DPP® IgM/IgG Bio-Manguinhos. (A) Modelo do cassete utilizado para realização do teste rápido. (B) Micro Leitor para leitura dos resultados. (C) Modelo do resultado, onde ## é a representação numérica da intensidade de banda- IgM ou IgG e R resultado reagente.

O resultado foi evidenciado através do valor da intensidade da linha teste IgM e IgG (## - Figura 13 C) seguido das siglas NR (não reagente) ou R (reagente). Esses valores são associados à quantidade de anticorpos específicos para proteína N de SARS-CoV-2 presentes na amostra. Para esse estudo foram considerados reagentes valores de intensidade de banda maior ou igual a 30.

A sensibilidade e especificidade conforme a bula do teste (59) avaliou que no total 7-21 dias após a data dos sintomas, a sensibilidade total para IgM foi de 77,4%, para IgG foi 87,1% e para anticorpo total de 93,5%. A especificidade calculada foi de 97% para IgM e 92,7% para IgG (106).

5.7. Análise de dados

Para realização da análise dos dados, alguns dados numéricos como idade calculada a partir do intervalo entre data de nascimento e a realização do exame, foram estratificados em faixas etárias: 18-30 anos, 31-40 anos, 41-50 anos, 51-60

anos e 61-70 anos. Além disso, a raça dos participantes foi estratificada em brancos e não brancos. Em relação à área de atuação, os trabalhadores foram categorizados de acordo com tipo de exposição à COVID-19 segundo *Bahrs e colaboradores*. (61) Contato direto aos pacientes (médicos, enfermeiros, técnicos de enfermagem etc.) e funcionários que fazem parte do apoio hospitalar (limpeza, administrativo, gestão, segurança etc.)

As variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas e percentuais, enquanto as numéricas foram apresentadas em termos dos valores médios, medianos, mínimos e máximos, além dos quartis da distribuição. Para medir a associação entre variáveis categóricas e a manutenção ou não dos anticorpos, foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson. O teste exato de Fisher foi aplicado nos casos em que se observou pelo menos uma frequência esperada menor do que 5.

Foi avaliada a associação entre o sexo, a idade, a raça ou área de atuação dos participantes e o fato de terem soro revertido ou soro persistido.

Para comparar a intensidade de banda IgG entre dois grupos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado na presença de três ou mais grupos de comparação.

A curva de Kaplan-Meier foi utilizada com objetivo de identificar as probabilidades de soro persistência ao longo do tempo utilizando o intervalo entre a manifestação dos sintomas (nos sintomáticos) e a realização do teste.

A análise dos dados foi realizada usando o *software* SPSS, versão 22, e o R, versão 3.6.1. O nível de significância adotado foi 5%.

5.8. Aspectos Éticos

Essa pesquisa faz parte de um estudo maior intitulado: “Características clínicas, genéticas e imunológicas de crianças, adolescentes e adultos com diagnóstico de COVID-19 - ProjetoCOVID – 19 *kids*.” que foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional da Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente IFF/Fiocruz, aprovado sob número do CAAE: 30487120.2.0000.0008 e parecer número 4.255.801 (versão 4) (Anexo A).

Serão resguardados o sigilo e a confidencialidade das informações individuais coletadas, de acordo com os preceitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional

de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde (MS), que estabelecem diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Foi utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo B), já assinado pelo trabalhador para o estudo maior.

6. RESULTADOS

Com o objetivo de identificar soro reversão, dentre todos os trabalhadores testados, foram selecionados 265 participantes que apresentaram a intensidade de banda IgG na primeira coleta (i-IgG¹) compatível com uma amostra reagente.

Inicialmente, a distribuição da i-IgG¹ destes trabalhadores foi avaliada relacionando ao sexo, faixa etária, raça e áreas de atuação (Tabela 1). O p-valor foi calculado utilizando o teste de Mann-Whitney ou de Kruskal-Wallis. O sexo feminino representou 76,2% (n=202) da população do estudo com valor mediano de i-IgG¹ de 76 e o intervalo interquartil (IIQ: Q1-Q3) variando de 48 a 140. Já o sexo masculino compôs 23,8% (n= 63) da amostra, com i-IgG¹ mediana de 69 e IIQ: Q1-Q3 = 46-118. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as intensidades de banda de IgG¹ segundo o sexo dos trabalhadores (p-valor=0,45).

A idade média dos participantes foi de 42 anos variando de 21 a 70 anos. A maioria dos trabalhadores, 149/265 (56,2%), está na faixa etária de 31 a 50 anos, 71 (26,8%) deles têm entre 51 e 70 anos e 45 (17%) entre 18 e 30 anos. Não houve associação entre a i-IgG¹ e a faixa etária dos participantes (p-valor =0,90). As medianas de i-IgG¹ foram 81 (IIQ: 48-134) para aqueles com 18-30 anos; 76 (IIQ: 48-133) para 31-50 anos e 67 (IIQ: 46-148) para 51-70 anos.

A população de estudo foi formada majoritariamente por trabalhadores não brancos (53,2%), sendo esta raça associada a valores significativamente maiores de i-IgG¹, com mediana de 81, IIQ: 51-148 versus mediana de 70 nos brancos, IIQ: 42-128 (p-valor=0,04).

Em relação à área de atuação, o contato direto aos pacientes foi formada por 66,2% dos trabalhadores, enquanto os trabalhadores de áreas de apoio à assistência representaram 33,8%, não tendo sido verificada diferença estatisticamente

significativa entre a intensidade da IgG¹ e os grupos de atuação profissional (p-valor=0,66).

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO EM RELAÇÃO À INTENSIDADE DE BANDA IgG¹

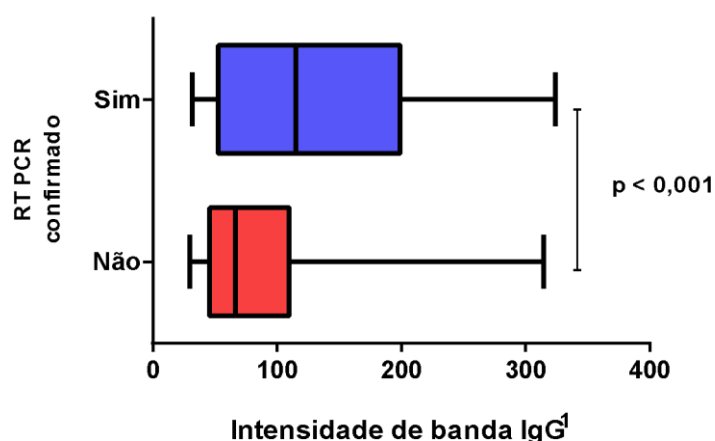
Dados sociodemográficos		N (%) 265 (100)	i- IgG ¹ * Mediana (Q1 - Q3)**	p-valor
Sexo	Feminino	202 (76,2)	76 (48-140)	0,45
	Masculino	63 (23,8)	69 (46-118)	
Idade	18-30	45 (17,0)	81 (48-134)	0,90
	31-50	149 (56,2)	76 (48-133)	
	51-70	71 (26,8)	67 (46-148)	
Raça	Branca	124 (46,8)	70 (42-128)	0,04
	Não Branca	141 (53,2)	81 (51-148)	
Área de atuação	Contato direto ao paciente	135 (66,2)	76 (48-166)	0,73
	Áreas de apoio à assistência	69 (33,8)	75 (47-125)	

* i-IgG¹: intensidade de banda de IgG na primeira fase

Fonte: elaboração própria

** Q1 = quartil 1; Q3 = quartil 3

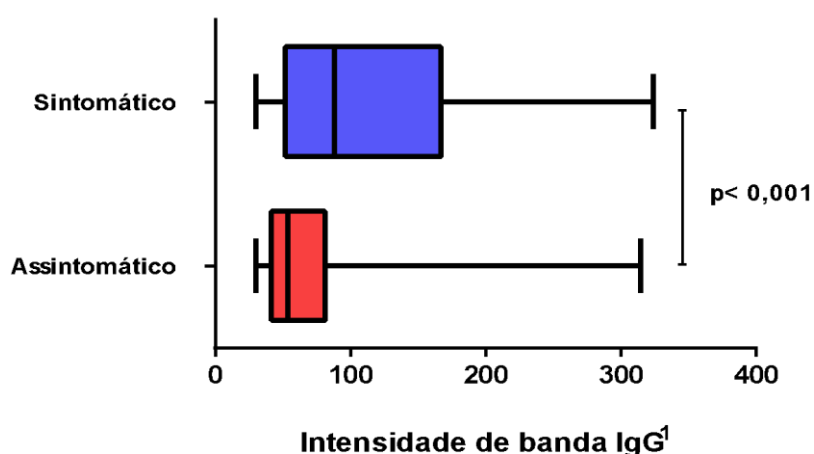
Para verificar se existia diferença entre os trabalhadores que apresentaram RT- PCR para SARS-CoV-2 confirmado e os não confirmados em relação à i-IgG¹, foi realizado o teste de Mann-Whitney (Figura 15). A mediana de intensidade de banda de IgG na primeira coleta foi significativamente maior (p-valor<0,001) naqueles com RT- PCR confirmados (n= 76 e mediana = 115,5) em relação aos não confirmados (n=187 e mediana = 67).



Fonte: elaboração própria.

Figura 14 – Box-plot da intensidade de banda IgG¹ segundo a confirmação do resultado de RT-PCR. Este gráfico mostra que a intensidade de banda de IgG¹ é maior nos trabalhadores com RT - PCR confirmados. Foram analisados 265 trabalhadores que responderam em relação à confirmação do RT - PCR (Sim ou Não). Destes, 76 responderam “sim”, (caixa azul). A mediana da i-IgG¹ deste grupo foi de 115,5 com valor mínimo de 33 e máximo de 324 e IIQ: 53-197, o que significa que 50% dos dados variam de 53-197. O grupo dos que responderam “não” é composto por 187 indivíduos e a caixa vermelha indica que 50% dos dados estão entre 40-109, O valor mediano de i-IgG¹, mínimo e máximo são respectivamente de 67, 30 e 315. O p-valor do teste de Mann-Whitney é inferior a 0,001.

A realização do RT-PCR foi em sua grande maioria nos trabalhadores que se apresentavam com algum sintoma (97,2% dos RT-PCR confirmados). A realização de RT-PCR para diagnóstico no momento inicial da pandemia era dificultada pela escassez de testes em todo mundo. Também foi analisada a relação entre a i-IgG¹ e a presença ou não de sintomas através do teste de Mann-Whitney (Figura 16). Aqueles que relataram sintomas tinham a intensidade de banda IgG¹ significativamente maior (n =179 e mediana= 115,5) do que os assintomáticos (n= 74 e mediana = 72,6), com p-valor inferior a 0,001.



Fonte: elaboração própria.

Figura 15 – Box-plot da intensidade de banda IgG¹ em relação ao relato de sintomas. Este gráfico mostra que a intensidade de banda de IgG¹ é maior nos trabalhadores sintomáticos. Foram analisados 263 trabalhadores que responderam ao questionário em relação à presença de sintomas (Sim ou Não). Dois deles deixaram a questão em branco. Destes, 179 responderam “sim”, (caixa azul) sendo que 50% dos dados variam de 52-166. A mediana da i-IgG¹ deste grupo foi de 87 com valor mínimo de 33 e máximo de 325. O grupo que respondeu “não” é composto por 74 indivíduos e a caixa vermelha indica que 50% dos dados estão entre 42-85. O valor mediano de i-IgG¹, mínimo e máximo são respectivamente de 55, 30 e 313. O p-valor do teste de Mann-Whitney é inferior a 0,001.

Com objetivo de identificar a frequência de cada sintoma na população estudada, foi avaliado o número de vezes que eles foram relatados pelos trabalhadores. Foram avaliados também os valores da intensidade de banda (mediana e IIQ) no primeiro exame positivo, realizado pelo profissional, para cada sintoma, com o objetivo identificar a relação entre a produção de anticorpos (i-IgG¹) e os sintomas relatados.

Os quatro sintomas mais relatados (Tabela 2) foram cefaleia (n=116, 44%), fadiga (n=98, 37%), mialgia (n=89, 34%) e tosse (n=87, 33%). Os menos frequentes foram dermatite e conjuntivite (n=6, 2%), disfagia (n=11, 4%), dor abdominal (n=20, 8%) e vômito (n=26, 10%).

Em relação a i-IgG¹ de cada sintoma (Tabela 2), é interessante observar que dor no peito e dispneia, sintomas característicos de casos mais graves, apesar da frequência baixa (12% e 16%, respectivamente), tiveram medianas de intensidade de banda altas (130 e 133, respectivamente) em relação a outros sintomas. Por outro lado, a cefaleia, que neste estudo teve a frequência mais alta (44%), apresentou o menor valor mediano de intensidade de banda dentre todos os sintomas (mediana = 87,5) com 50% dos valores concentrados entre 51 e 164. A fadiga, segundo sintoma

com maior frequência (n= 98, 37%) não apresentou mediana de intensidade de banda tão alta (mediana = 103, IIQ: 53-172).

Utilizando o teste de Mann-Whitney foi avaliada a relação entre a intensidade da banda de IgG¹ e a presença ou ausência de cada um dos sintomas (Tabela 2). Nota-se que a presença da maioria dos sintomas refletiu i-IgG¹ significativamente (p-valor <0,05) maiores. Alguns sintomas apresentaram valores próximos ao limiar de significância estatística como diarreia (p-valor = 0,06) e espirro (p-valor = 0,086). Sintomas como fadiga e ageusia, apresentaram p-valor de 0,001, semelhante à dispneia e dor no peito.

TABELA 2 - RELAÇÃO ENTRE FREQUÊNCIA DOS SINTOMAS RELATADOS E A INTENSIDADE DE BANDA IgG¹

Sintomas		N* (%)	Mediana i- IgG ^{1**} (Q1 - Q3)***	p-valor
Ageusia	Sim	78 (30)	105,0 (60,0-181,0)	<0,001
	Não	163 (70)	67,0 (45,0-115,0)	
Anosmia	Sim	73 (28)	103,0 (50,0-187,0)	0,007
	Não	168 (72)	71,0 (46,0-116,0)	
Artralgia	Sim	33 (28)	117,0 (79,0-175,0)	0,004
	Não	200(72)	71 (46,5-126,0)	
Cefaleia	Sim	116 (44)	87,5 (51,0-164,0)	0,012
	Não	130 (56)	63,5 (46,0-113,0)	
Conjuntivite	Sim	6 (2)	104,5 (36,0-1330)	0,828
	Não	230 (98)	75,5(48,0-144,0)	
Dermatite	Sim	6 (2)	145,0 (52,0-294,0)	0,470
	Não	228(98)	76,0 (47,5-139,5)	
Diarreia	Sim	54 (21)	98,0 (57,0-158,0)	0,060
	Não	185 (89)	71,0 (47,0-118,0)	
Disfagia	Sim	11 (4)	130,0 (50,0-160,0)	0,432
	Não	223 (96)	76,0 (48,0-144,0)	

Sintomas		N* (%)	Mediana i- IgG ^{1**} (Q1 - Q3) ^{***}	p-valor
Dispneia	Sim	43 (16)	133,0 (62,0-230,0)	0,001
	Não	193 (84)	73,0 (47,0-117,0)	
Dor abdominal	Sim	20 (8)	89,5 (54,5-162,0)	0,300
	Não	215 (92)	76,0 (47,0-133,0)	
Dor no peito	Sim	32 (12)	130,0 (80,0-229,0)	0,001
	Não	204 (82)	72,0 (47,0-122,0)	
Dor nos olhos	Sim	62 (24)	105,0 (60,0-174,0)	0,003
	Não	175 (76)	71,0 (46,0-116,0)	
Espirro	Sim	86 (33)	89,5 (50,0-160,0)	0,086
	Não	157 (67)	71,0 (46,0-119,0)	
Fadiga	Sim	98 (37)	103,0 (53,0-172,0)	0,001
	Não	146 (63)	66,5 (45,0-109,0)	
Febre	Sim	79 (30)	109,0 (57,0-173,0)	0,003
	Não	160 (70)	68,0 (46,5-116,0)	
Mialgia	Sim	89 (34)	98,0 (52,0-172,0)	0,009
	Não	153 (66)	67,0 (46,0-116,0)	
Odinofagia	Sim	64 (24)	94,5 (52,0-172,5)	0,045
	Não	171 (76)	71,0 (46,0-117,0)	
Tosse	Sim	87 (33)	103,0 (52,0-168,0)	0,003
	Não	159 (67)	66,0 (46,0-115,0)	
Vômito	Sim	26 (10)	127,5 (62,0-209,0)	0,008
	Não	209 (90)	74,0 (47,0-130,0)	

* N = números de vezes que o sintoma foi relatado

Fonte: elaboração própria

** i-IgG¹: intensidade de banda de IgG na primeira fase

*** Q1 = quartil 1; Q3 = quartil 3

Na população deste estudo os sintomáticos mostraram uma mediana da i-IgG¹ significativamente maior em relação aos assintomáticos (Figura 16), porém, na avaliação entre a presença de comorbidades/ condições clínicas e a i-IgG¹, não

houve nenhuma relação estatisticamente significativa (Tabela 3), mesmo para aquelas já descritas como importantes na COVID-19, como hipertensão, diabetes e doença pulmonar. Vale destacar que em relação a i-IgG1, a doença pulmonar (n=3, 1%), apresentou a maior mediana (189), com IIQ de 51 a 276. Por outro lado, a hipertensão que teve uma frequência de 21%, não apresentou uma mediana tão alta (mediana=76, IIQ: 52-180).

TABELA 3 - RELAÇÃO ENTRE FREQUÊNCIA DE COMORBIDADE/CONDIÇÕES CLÍNICAS E INTENSIDADE DE BANDA DE IgG¹

Comorbidade/ Condições clínicas		N (%)	Mediana i – IgG ¹	p-valor
			Q1 - Q3***	
Asma	Sim	16 (7)	56,0 (38,5-173,5)	0,53
	Não	220 (93)	76,0 (48,0-136,5)	
Outras doenças pulmonares	Sim	3 (1)	189,0 (51,0- 276,0)	0,23
	Não	233 (99)	76,0 (48,0-139,0)	
Fumante	Sim	8 (3)	84,0 (59,0-116,0)	0,62
	Não	227(97)	76,0 (48,0-146,0)	
Hipertensão	Sim	50 (21)	76,0 (52,0-180,0)	0,20
	Não	188 (79)	75,0 (47,0-130,5)	
Diabetes Mellitus	Sim	13 (5)	103,0 (67,0-232,0)	0,20
	Não	223 (95)	76,0 (48,0-140,0)	
Obesidade	Sim	27 (11)	71,0 (51,0-130,0)	0,79
	Não	211 (89)	76,0 (47,0-144,0)	
Imunossupressão	Sim	1 (1)	45 (45)	0,40
	Não	234 (99)	76,0 (48,0-144,0)	
Doença Cardíaca	Sim	5 (21)	111,0 (51,0-130,0)	0,81
	Não	231 (79)	76,0 (48,0-144,0)	
Doença Hepática	Sim	2 (1)	141,0 (51,0-232,0)	0,64
	Não	233 (99)	76,0 (48,0-140,0)	
Doença Renal	Sim	1(1)	51 (51)	0,58
	Não	234 (99)	76,0 (48,0-144,0)	
Doença Reumatológica	Sim	1 (1)	98 (98)	0,77
	Não	235 (99)	76,0 (48,0-146,0)	

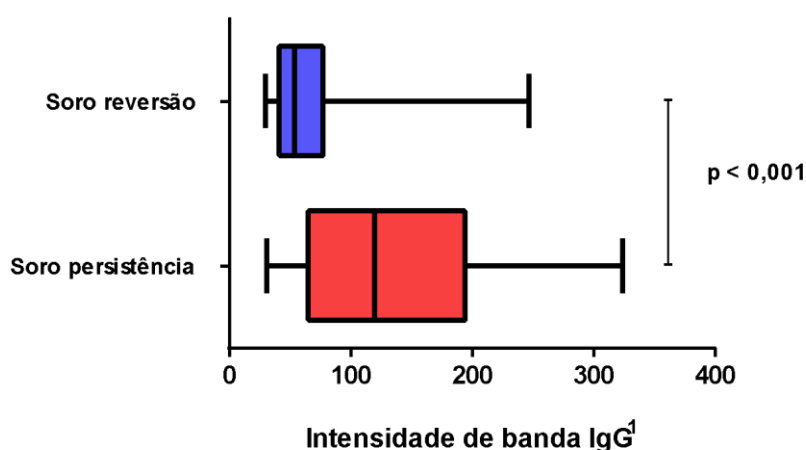
* i-IgG¹: intensidade de banda de IgG na primeira coleta

Fonte: elaboração própria

** Q1 = quartil 1; Q3 = quartil 3

Foram avaliadas características dos trabalhadores que mantiveram seus exames reagentes (soro persistência) e aqueles que se tornaram não reagentes (soro reversão) em um segundo momento de coleta.

Foi observado que a intensidade de banda IgG na primeira coleta foi significativamente maior naqueles que apresentaram soro persistência (mediana = 120, IIQ: 65-194) do que os que soro reverteram (mediana = 54, IIQ: 41-77) (p -valor $< 0,001$) (Figura 17).



Fonte: elaboração própria.

Figura 16 - Box-plot da relação entre intensidade de banda de IgG1 com a persistência e soro reversão Este gráfico mostra que a intensidade de banda de IgG¹ é significativamente maior nos trabalhadores que soro persistiram. Foram analisados $n = 265$ trabalhadores. Destes, 133 soro reverteram (IgG² não reagente) representados no gráfico pela caixa azul. O valor mediano de IgG¹ neste grupo foi de 54 (min.=30, máx.=247), com 50% dos dados variando de 41 a 77. O grupo de trabalhadores que se mantiveram reagentes (soro persistência) foi composto por 132 indivíduos (caixa vermelha) e 50% dos dados estão entre 65,5 e 194, com mediana de i-IgG¹ de 120 (min.=31, máx.=324). O p -valor do teste de Mann-Whitney foi inferior a 0,001.

Em seguida, foi avaliada a associação entre o sexo, a idade, a raça ou área de atuação dos participantes e o fato de terem soro revertido ou soro persistido. Nenhuma das variáveis apresentou diferença significativa (Tabela 4). Vale a pena destacar que os dois grupos apresentaram a frequência dos dados sociodemográficos muito semelhantes, exceto para trabalhadores da faixa etária de 51-70 anos e raça não branca que, em geral, apresentaram maiores percentuais de soro reversão.

TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO DE SORO PERSISTÊNCIA E SORO REVERSÃO

Dados		Soro reversão	Soro Persistência	p-valor
sociodemográficos		N (%)	N (%)	
Sexo	Feminino	102 (50,5)	100 (49,5)	0,77
	Masculino	30 (47,6)	33 (52,4)	
Idade	18-30	22 (48,9)	23 (51,1)	0,16
	31-50	68 (45,6)	81 (54,4)	
	51-70	41 (59,2)	29 (40,8)	
Raça	Branca	58 (46,8)	66 (53,2)	0,39
	Não Branca	74 (52,5)	67 (47,5)	
Área de atuação	Contato direto ao paciente	67 (49,6)	68 (50,4)	1,00
	Apoio hospitalar	34 (49,3)	35 (50,7)	

Fonte: elaboração própria

Analisando com o teste qui-quadrado de Pearson a confirmação do exame de RT- PCR entre os dois grupos, houve associação com a manutenção dos anticorpos (p -valor = 0,014). Os trabalhadores que tiveram RT- PCR confirmado, em sua maioria, soro persistiram (61,8%). Lembrando que a realização do RT- PCR foi em sua grande maioria naqueles sintomáticos (97,2%) (Tabela 5)

TABELA 5 - RELAÇÃO DE RT - PCR CONFIRMADO COM SORO PERSISTÊNCIA.

		Soro Reversão N (%)	Soro Persistência N (%)	p -valor
RT-PCR	Sim	29 (38,2)	47 (61,8)	0,01
Confirmado	Não	104 (55,6%)	83 (44,4)	

Fonte: elaboração própria

Por outro lado, utilizando novamente o teste qui-quadrado de Pearson, não houve associação entre a soro persistência e a presença de sintomas, apesar de um percentual maior de sintomáticos soro persistirem (Tabela 6) (p-valor = 0,128). A chance de soro persistência foi 56,9% maior dentre os sintomáticos, porém não foi significativa do ponto de vista estatístico (OR = 1,569, intervalo de confiança de 95% - IC 95%: 0,908-2,711). Ainda assim, avaliou-se a existência de algum sintoma que pudesse estar mais relacionado com a soro persistência.

TABELA 6 - RELAÇÃO ENTRE PRESENÇA DE SINTOMAS E A SORO PERSISTÊNCIA OU SORO REVERSÃO.

	Soro Reversão N (%)	Soro Persistência N (%)	p -valor
Sintomático	84 (46,9)	95 (53,1)	0,12
Assintomático	43 (58,1)	31 (41,9)	

Fonte: elaboração própria

Ao analisar a relação entre a sintomatologia e a manutenção dos anticorpos (Tabela 7), o sintoma que mais se relacionou com a soro persistência foi a dispneia (p-valor < 0,001), seguido de tosse (p-valor=0,03), artralgia (p-valor =0,04) e anosmia (p-valor = 0,05). Dermatite, dor abdominal, dor nos olhos, conjuntivite, disfagia, espirro, febre, odinofagia, vômito, ageusia, mialgia, cefaleia e fadiga não mostraram estar associados com a soro persistência. A diarreia e dor no peito apresentaram significância limítrofe indicando que um percentual considerável das pessoas que tiveram esses sintomas soro persistiram (p-valor = 0,06 e 0,09, respectivamente). A análise referida anteriormente foi realizada através do teste qui-quadrado de

Pearson, sendo o teste exato de Fisher aplicado nos casos em que se observou pelo menos uma frequência esperada menor do que 5.

TABELA 7 - FREQUÊNCIA DOS SINTOMAS RELATADOS NO GRUPO DE SORO REVERSÃO E SORO PERSISTÊNCIA

Sintomas		Soro Reversão N (%)	Soro Persistência N (%)	p-valor
Ageusia	Sim	34 (43,6)	44 (56,4)	0,21
	Não	86 (52,8)	77 (47,2)	
Anosmia	Sim	29 (39,7)	44 (60,3)	0,05
	Não	90 (53,6)	78(46,4)	
Artralgia	Sim	10 (30,3)	23 (69,7)	0,04
	Não	102 (51,0)	98(40,9)	
Cefaleia	Sim	52 (44,8)	64 (55,2)	0,16
	Não	71 (54,6)	59 (45,4)	
Conjuntivite	Sim	2 (33,3)	4 (66,7)	0,68
	Não	111 (48,3)	119 (51,7)	
Dermatite	Sim	3 (50,0)	3 (50,0)	1,00
	Não	109 (47,8)	119 (52,2)	
Diarreia	Sim	20 (37,0)	34 (63,0)	0,06
	Não	96 (51,9)	89 (48,1)	
Disfagia	Sim	4 (36,4)	7 (63,6)	0,54
	Não	109 (48,9)	114 (51,1)	
Dispneia	Sim	11 (25,6)	32 (74,4)	<0,01
	Não	104 (53,9)	89 (46,1)	

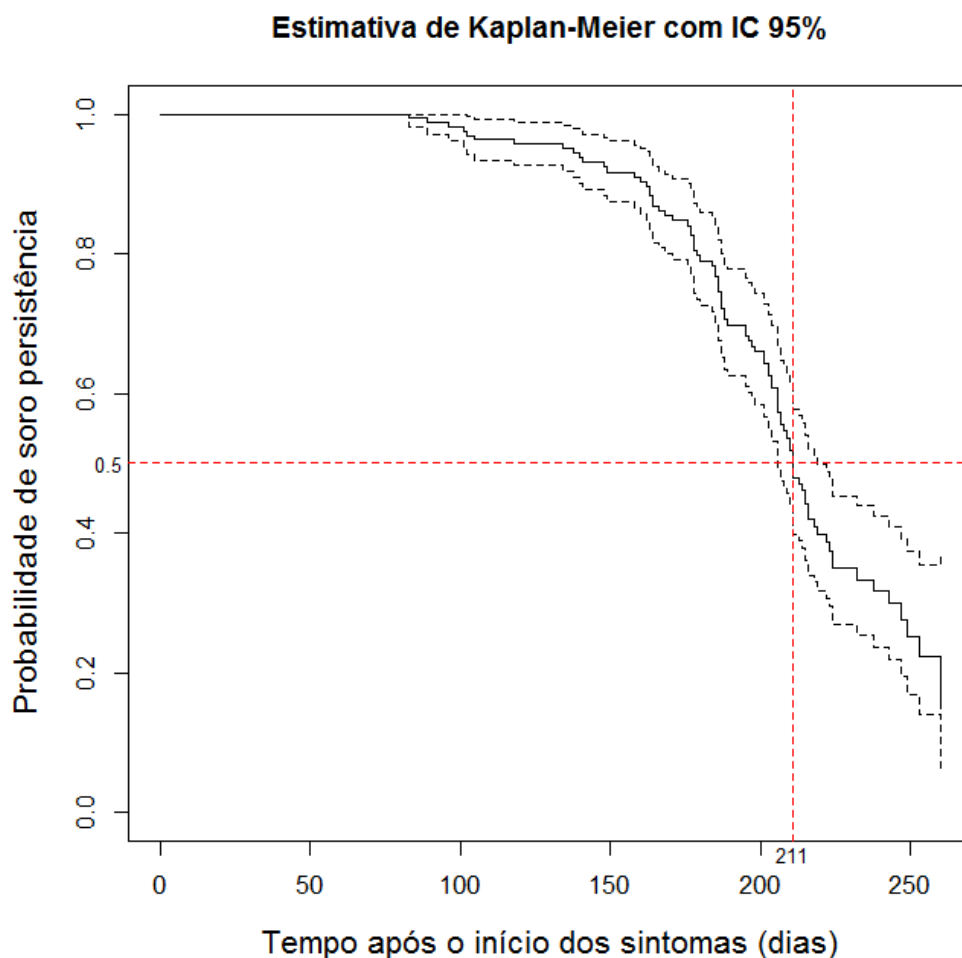
Sintomas		Soro Reversão N (%)	Soro Persistência N (%)	p-valor
Dor abdominal	Sim	9 (45,0)	11 (55)	0,82
	Não	104(48,4)	111(51,6)	
Dor no peito	Sim	11 (34,4)	21 (65,6)	0,09
	Não	104 (51,0)	100 (49,0)	
Dor nos olhos	Sim	29 (46,8)	33 (53,2)	0,77
	Não	87 (49,7)	88 (50,3)	
Espirro	Sim	39 (45,3)	47 (54,7)	0,42
	Não	80 (51,0)	77 (49,0)	
Fadiga	Sim	43 (43,9)	55 (56,1)	0,15
	Não	78 (53,4)	68 (46,6)	
Febre	Sim	35 (44,3)	44 (55,7)	0,41
	Não	81 (50,6)	79 (49,4)	
Mialgia	Sim	39 (43,8)	50 (56,2)	0,18
	Não	81 (52,9)	72 (47,1)	
Odinofagia	Sim	27 (42,2)	37 (57,8)	0,30
	Não	86 (50,3)	85 (49,7)	
Tosse	Sim	35 (40,2)	52 (59,8)	0,03
	Não	87 (54,7)	72 (45,3)	
Vomito	Sim	10 (38,5)	16 (61,5)	0,30
	Não	103 (49,3)	106 (50,7)	

Fonte: elaboração própria

Para estimar a probabilidade de soro persistência ao longo do tempo, foi utilizada a curva de Kaplan-Meier com IC 95% (Figura 18). O eixo X indica o tempo, em dias, após o início do(s) sintoma(s) e foi calculado utilizando a data da realização do último exame (IgG²) e o relato da data do início dos sintomas. A linha sólida representa a probabilidade mediana de soro persistência e as linhas pretas pontilhadas indicam o IC 95% para esta probabilidade.

Observamos que, aproximadamente metade do grupo de trabalhadores analisados soro reverteu e a outra metade soro persistiu ao final de 7 meses.

O tempo mediano de manutenção da soro persistência (linha pontilhada vermelha) foi de 211 dias, com IC 95%: 206-219 dias (Figura 18).



Fonte: elaboração própria

Figura 17 - Curva de Kaplan-Meier com IC 95% para estimativa de tempo mediano (dias) de soro persistência após o início dos sintomas. O cálculo foi realizado utilizando a data de início dos sintomas relatados pelos participantes (n=163). O eixo X indica o tempo após o início dos sintomas e foi calculado utilizando a data da realização do último exame (IgG²) e o relato da data do início dos sintomas. O eixo Y indica a probabilidade de soro persistência ao longo do tempo. A linha sólida representa a probabilidade mediana e as linhas pretas pontilhadas indicam o intervalo de confiança de 95% (IC 95%). O tempo mediano de manutenção da soro persistência foi de 211 dias, com IC 95%: 206-219 dias.

7. DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou aspectos sociodemográficos, clínicos e laboratoriais dos trabalhadores da saúde com o objetivo de descrever as características associadas à soro persistência dos anticorpos IgG.

A escolha dos trabalhadores da área da saúde como população de estudo durante a pandemia se justifica por pertencerem ao grupo de trabalhadores essenciais, ou seja, menor grau de isolamento e maior possibilidade de contato com o vírus. A heterogeneidade desses trabalhadores determina diferentes graus de exposição, tanto ao risco de contaminação quanto às condições de trabalho, refletindo na resposta imunológica ao vírus.

Alguns estudos avaliaram características clínicas e epidemiológicas de trabalhadores com RT-PCR positivos para SARS-CoV-2 e indicam risco aumentado de COVID-19 no local de trabalho (107–109). Por outro lado, *Karlsson* e colaboradores demonstraram que o maior risco para os trabalhadores de saúde podem ser seus próprios colegas ou pacientes nos estágios iniciais de infecções pré-sintomáticas quando as cargas virais são altas (110). Nesse sentido, estudos de soroprevalência desta doença, estimam melhor a evolução epidemiológica da pandemia, principalmente por conta dos casos assintomáticos e leves, os quais na maioria das vezes não buscam atendimento e sendo assim não são incluídos como caso confirmado (111).

A técnica utilizada para avaliação sorológica neste estudo, foi o ensaio de imunocromatografia de fluxo lateral (LFIA), com títulos de IgG direcionados à proteína N do SARS-CoV-2. *Rikhtegaran* e colaboradores, avaliaram a sensibilidade e especificidade do teste rápido que foi utilizado nessa pesquisa (DPP® COVID-19 IgM / IgG - *Chembio Diagnostics Systems Inc. Medford, NY*) com resultado respectivamente de 82,8% e 99,7% (111). *Escribano* e colaboradores avaliaram a detecção de anticorpos IgG anti N para SARS-CoV-2, usando o ensaio CLIA e LFIA e encontraram alta concordância. Desta forma, o LFIA tem um custo menor e tem resultados semelhantes ao CLIA, segundo este autor (112). Em consonância com este estudo, *Nicol* e colaboradores, mostraram que a sensibilidade para detecção de

IgG após 14 dias do início dos sintomas foi de 100% nos três ensaios (ELISA, CLIA e LFIA).

A utilização de testes sorológicos no momento que foi realizada esta pesquisa possibilitou detectar a COVID-19 em pacientes que foram assintomáticos e aqueles que não tiveram a possibilidade de realizar o RT-PCR pela dificuldade de acesso.

Portanto, os testes sorológicos podem ser úteis para a realização de estudos epidemiológicos a partir de 15 dias do início dos sintomas (113).

Os trabalhadores avaliados neste estudo foram em sua grande maioria, casos com sintomas leves (68%) ou assintomáticos. Vários estudos correlacionam a resposta imunológica comparando o quadro clínico com os títulos de anticorpos. *Ward* e colaboradores avaliaram indivíduos assintomáticos e com COVID-19 internados e ambulatoriais. Observaram que os títulos de IgM, IgA e IgG para antígenos RBD, S1 e N começam a diminuir após o primeiro mês do início dos sintomas. Aqueles com infecção assintomática ou doença leve tem declínio mais evidente, porque produzem níveis mais baixos de anticorpos no pico de suas respostas (114). Em outro estudo, a comparação dos pacientes com COVID-19 leve / moderado e com doença grave/crítica demonstrou que os mais graves iniciam sua resposta mais tardiamente e mais fortes durante os estágios intermediário e tardio da infecção (72).

Em relação às características dos trabalhadores que participaram deste estudo e apresentaram positividade para IgG, não houve associação entre a i- IgG¹ em relação a idade e sexo. Porém na literatura os resultados são controversos mostrando positividade do anticorpo SARS-CoV-2 associada a pacientes mais velhos (72).

Pesquisas analisando associação entre raça e a doença variam em cada região do mundo, de acordo com suas características populacionais. Neste estudo, a intensidade de banda de IgG¹ foi maior em não brancos (p-valor <0,001).

Uma revisão sistemática constatou que a soropositividade foi maior entre os trabalhadores de saúde afro-americanos, negros, asiáticos e hispânicos em comparação com os trabalhadores de saúde brancos (78,115)

Este achado foi confirmado por estudos na populações em geral, onde uma maior porcentagem de anticorpos SARS-CoV-2 foi encontrada entre pessoas não brancas: negros e hispânicos (77,116).

A literatura tem mostrado a importância das comorbidades/condições clínicas em relação ao desfecho da doença. Acredita-se que pessoas com comorbidades como diabetes mellitus, obesidade, hipertensão tenham um risco maior de sintomas e maior gravidade (117). A amostra deste estudo é composta por trabalhadores da saúde que estavam, em sua maioria, trabalhando de forma presencial. Isto pode justificar o fato de não se ter encontrado associação entre as comorbidades/condições clínicas e a positividade de IgG¹ ou soro reversão/persistência, uma vez que os indivíduos com comorbidades/condições clínicas em sua grande maioria estavam em regime remoto.

De acordo com a metanálise com 1014 pacientes com COVID-19, realizada por *Barek* e colaboradores, 14% dos casos graves de COVID-19 tinham pelo menos uma comorbidade e os pacientes com pelo menos uma comorbidade tinham 3,13 vezes mais risco de doença grave do que os pacientes não graves. Um total de 36,47% dos pacientes graves tinha, por exemplo, hipertensão como comorbidade (144).

Pacientes com diabetes mellitus, a expressão reduzida de ACE2 e uso de antagonistas do sistema renina-angiotensina-aldosterona parecem contribuir para o mau prognóstico na COVID-19 (118).

A presença de sintomas como cefaleia, fadiga, mialgia, tosse, espirro, febre e ageusia foram as mais frequentes neste estudo.

Interessante observar que mesmo sintomas com uma frequência menor, como dor no peito e dispneia, tiveram medianas de intensidade de banda altas na primeira dosagem de IgG, indicando a possível influência desses sintomas na resposta de IgG à infecção. *Nasiri* e colaboradores realizaram metanálise com 5.057 pacientes com idade média de 49 anos. As manifestações mais frequentes foram febre (83,0%, IC 77,5–87,6) e tosse (65,2%, IC 58,6–71,2) (119). Em estudo realizado em São Paulo, *Teich*. e colaboradores, avaliaram 510 pacientes, 56,9% eram do sexo masculino com média de idade de 40 anos. Os sintomas mais comuns à apresentação foram febre (67,5%), congestão nasal (42,4%), tosse (41,6%) e mialgia / artralgia (36,3%) (85). *Tang* e colaboradores avaliaram 197 pacientes, 109 sem gravidade e 88 graves. Os sintomas mais comuns foram febre, tosse, fadiga, aperto no peito e mialgia ou artralgia. Em relação à produção de IgG, o grupo com gravidade, produziu menos do que sem gravidade nos estágios iniciais da infecção.

No decorrer da infecção, os níveis exibiram aumentos significativos e de crescimento rápido que excederam os grupos sem agravamento (120). Vale ressaltar que os participantes do presente estudo eram trabalhadores que, em sua maioria, tiveram sintomas leves e não necessitaram de internação, o que pode explicar, por exemplo, poucos relatos de dispneia (n= 43, 16%), um sintoma bem frequente em casos moderados e graves.

Qu e colaboradores avaliaram a produção de anticorpos em três grupos com diferentes gravidades da doença durante as primeiras seis semanas após o início dos sintomas. Embora o nível de IgG no grupo leve e moderado ainda estivesse aumentando no dia 28, a resposta de IgG do grupo crítico foi significativamente mais forte do que a dos grupos não críticos dentro de 4 semanas após o início da doença ($p = 0,0001$)(62).

Ao contrário, Wu e colaboradores, observaram que no período inicial após o início da doença em pacientes não gravemente enfermos e pacientes RT- PCR negativos (dentro de 3 semanas), os níveis de IgM-S / IgM-N / IgG-S / IgG-N foram significativamente mais elevados do que aqueles de pacientes graves e pacientes RT- PCR positivos.(79)

Desde o início da pandemia de COVID-19, pesquisadores procuram entender a imunopatogenia do SARS-CoV-2 e como o sistema imunológico humano reage para defendê-lo. Diante disso, avaliar a durabilidade da memória humoral à infecção natural pelo SARs-Cov-2 é um caminho para ajudar na produção de vacinas mais eficazes e que se assemelham à resposta natural à doença.

Neste estudo, foi observada uma maior IgG^1 naqueles que soro persistiram (p -valor < 0,001). O tempo mediano de manutenção da soro persistência neste trabalho foi de 211 dias, com IC 95%: 206-219 dias. A durabilidade da resposta imunológica ao SARS-CoV-2 induzida por infecção pode ter implicações importantes para a reinfecção e o desenvolvimento de vacinas.

Já existem estudos demonstrando que a presença de anticorpos anti-N está associada a um risco reduzido de reinfecção de SARS-CoV-2 nos 6 meses seguintes mostrando que a incidência de resultados positivos de PCR diminuiu com o aumento dos títulos de anticorpos anti-nucleocapsídeo (121).

Röltgen e colaboradores observaram que os anticorpos SARS-CoV-2 de pacientes ambulatoriais e assintomáticos, incluindo IgG, diminuíram progressivamente até cinco meses após a infecção (122).

Outro estudo identificou uma meia vida da IgG para SARS-Cov-2 de aproximadamente 36 dias, tempo total de observação da pesquisa (119).

A identificação da duração da soro persistência de anticorpos IgG a diferentes proteínas, principalmente N e S do SARS-CoV-2 variam na literatura.

Choudhry e colaboradores realizaram estudos com trabalhadores de saúde que mostraram alta taxa de positividade do IgG anti-nucleocapsídeo que diminuiu 31,3% ao longo de 3 meses (123).

Wheatley e colaboradores compararam a meia vida da IgG específica de N e de S. Encontraram diferença significativa entre elas, com a proteína N decaindo mais rapidamente (71 *versus* 229 dias) (76).

Por outro lado, *Wu* e colaboradores identificaram títulos positivos de IgG específicos para S e N foram mantidos por 6 meses (79).

Dan e colaboradores analisaram o tempo médio de IgG para nucleocapsídeo (68 dias) e para RBD (69 dias) e identificaram que células T CD4 + específicas para SARS-CoV-2 e T CD8 + diminuíram em aproximadamente 3 a 5 meses (3). *Zuo* e colaboradores demonstraram que a preservação de células T ao longo do tempo estavam relacionadas a níveis mais elevados de células T contra a proteína N (124). Isso expressa a necessidade de avaliação da imunidade contra SARS-CoV-2 de uma forma mais abrangente.

Nosso estudo apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, o relato de sintomas e data de seu início, dependem da lembrança do paciente. O potencial viés de memória provavelmente tenderia a gerar uma menor frequência dos sintomas. A realização do RT-PCR para confirmação da doença não foi realizada por todos os participantes pois naquele momento da pandemia não existia testes disponíveis. E por último, a opção de utilizar o teste sorológico que avalia somente uma proteína deste vírus, a proteína N. No entanto, há perspectivas de continuidade deste estudo com avaliação mais abrangente em relação à resposta ao SARS-CoV-2. Existe a expectativa de comparação dos resultados com a resposta de anticorpo a proteína S, a presença de anticorpos neutralizantes, resposta das células T, além de correlacionar com presença de reinfecção e possível reavaliação após a vacinação.

8. CONCLUSÕES

- Este trabalho corrobora com achados na literatura de que a avaliação da imunidade adquirida através da produção de anticorpos não deve ser o único parâmetro a ser utilizado.
- Os maiores valores das medianas da IgG1 se relacionaram com: raça não branca, presença de sintomas como : dispneia, dor no peito, vômito, artralgia, febre, dor nos olhos, ageusia, anosmia, tosse, fadiga, mialgia, odinofagia e cefaleia.
- O tempo mediano de manutenção da soro persistência foi de 211 dias e sintomas como dispneia, tosse, artralgia e anosmia estão mais relacionados a soro persistência.
- O tempo mediano de manutenção dos anticorpos foi de aproximadamente 7 meses
- O grupo de trabalhadores que mantiveram seus anticorpos reagentes apresentaram valores maiores de intensidade de banda IgG e um número de confirmações da doença através do RT-PCR.

REFERÊNCIAS

1. Folha informativa sobre COVID-19 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. [citado 20 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19>
2. Histórico da pandemia de COVID-19 - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. [citado 24 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>
3. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 5 de fevereiro de 2021;371(6529).
4. Sant'Ana G, Imoto AM, Amorim FF, Taminato M, Peccin MS, Santana LA, et al. Infecção e óbitos de profissionais da saúde por COVID-19: revisão sistemática. *Acta Paul Enferm*. 20 de agosto de 2020;33.
5. Cartilha Inquérito Epidemiológico de Covid-19 [Internet]. Fiocruz. [citado 18 de setembro de 2021]. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/documento/cartilha-inquerito-epidemiologico-de-covid-19>
6. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. março de 2020;579(7798):270–3.
7. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [citado 25 de abril de 2021]. Disponível em: <https://covid19.who.int>
8. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro [Internet]. Painel Covid19. [citado 25 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.saude.rj.gov.br/>
9. Coronavírus Brasil [Internet]. [citado 9 de julho de 2021]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
10. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(3):181–92.
11. Wang M-Y, Zhao R, Gao L-J, Gao X-F, Wang D-P, Cao J-M. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020 [citado 25 de abril de 2021];10. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.587269/full>
12. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(4):424–32.
13. Manfredonia I, Incarnato D. Structure and regulation of coronavirus genomes: state-of-the-art and novel insights from SARS-CoV-2 studies. *Biochem Soc Trans*. 26 de fevereiro de 2021;49(1):341–52.
14. McBride R, van Zyl M, Fielding BC. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*. 7 de agosto de 2014;6(8):2991–3018.
15. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol*. junho de 2020;215:108427.
16. Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol*. abril de 2011;174(1):11–22.
17. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology Journal*. 27 de maio de 2019;16(1):69.
18. Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem*. 11 de setembro de

- 2020;295(37):12910–34.
19. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 28 de abril de 2020;1–12.
 20. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 16 de abril de 2020;181(2):271-280.e8.
 21. Jungreis I, Sealfon R, Kellis M. SARS-CoV-2 gene content and COVID-19 mutation impact by comparing 44 Sarbecovirus genomes. *Nat Commun*. 11 de maio de 2021;12:2642.
 22. Badua CLDC, Baldo KAT, Medina PMB. Genomic and proteomic mutation landscapes of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. março de 2021;93(3):1702–21.
 23. Choi H, Shin EC. Roles of Type I and III Interferons in COVID-19. *Yonsei Med J*. maio de 2021;62(5):381–90.
 24. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular*. Nona edição. Elsevier Editora Ltda; 2019.
 25. Taefehshokr N, Taefehshokr S, Hemmat N, Heit B. Covid-19: Perspectives on Innate Immune Evasion. *Front Immunol*. 30 de setembro de 2020;11:580641.
 26. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbano IM, Miao VN, Tzouanas CN, et al. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*. 28 de maio de 2020;181(5):1016-1035.e19.
 27. Knoops K, Kikkert M, Worm SHE van den, Zevenhoven-Dobbe JC, van der Meer Y, Koster AJ, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol*. 16 de setembro de 2008;6(9):e226.
 28. Bouvet M, Debarnot C, Imbert I, Selisko B, Snijder EJ, Canard B, et al. In vitro reconstitution of SARS-coronavirus mRNA cap methylation. *PLoS Pathog*. 22 de abril de 2010;6(4):e1000863.
 29. Konno Y, Kimura I, Uriu K, Fukushi M, Irie T, Koyanagi Y, et al. SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep*. 22 de setembro de 2020;32(12):108185.
 30. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu W-C, Uhl S, Hoagland D, Møller R, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 28 de maio de 2020;181(5):1036-1045.e9.
 31. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 7 de agosto de 2020;369(6504):718–24.
 32. Lokugamage KG, Hage A, de Vries M, Valero-Jimenez AM, Schindewolf C, Dittmann M, et al. Type I Interferon Susceptibility Distinguishes SARS-CoV-2 from SARS-CoV. *J Virol*. 9 de novembro de 2020;94(23):e01410-20.
 33. Yang D, Chu H, Hou Y, Chai Y, Shuai H, Lee AC-Y, et al. Attenuated Interferon and Proinflammatory Response in SARS-CoV-2-Infected Human Dendritic Cells Is Associated With Viral Antagonism of STAT1 Phosphorylation. *J Infect Dis*. 4 de agosto de 2020;222(5):734–45.
 34. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-

- receptor system. *Cytokine Growth Factor Rev.* junho de 2020;53:25–32.
35. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19. *J Infect.* junho de 2020;80(6):607–13.
 36. Wang F, Hou H, Luo Y, Tang G, Wu S, Huang M, et al. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. *JCI Insight.* 5(10):e137799.
 37. Wang K, Chen W, Zhang Z, Deng Y, Lian J-Q, Du P, et al. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. *Sig Transduct Target Ther.* 4 de dezembro de 2020;5(1):1–10.
 38. Rescigno M, Winzler C, Delia D, Mutini C, Lutz M, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cell maturation is required for initiation of the immune response. *J Leukoc Biol.* abril de 1997;61(4):415–21.
 39. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 28 de julho de 2020;71(15):762–8.
 40. Jamal M, Bangash HI, Habiba M, Lei Y, Xie T, Sun J, et al. Immune dysregulation and system pathology in COVID-19. *Virulence.* 12(1):918–36.
 41. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell.* 7 de janeiro de 2021;184(1):169-183.e17.
 42. Liao M, Liu Y, Yuan J, Wen Y, Xu G, Zhao J, et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat Med.* junho de 2020;26(6):842–4.
 43. Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, Griffini S, Grovetti E, Torri A, et al. Complement activation in patients with COVID-19: A novel therapeutic target. *J Allergy Clin Immunol.* julho de 2020;146(1):215–7.
 44. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res.* junho de 2020;220:1–13.
 45. Ratajczak MZ, Kucia M. SARS-CoV-2 infection and overactivation of Nlrp3 inflammasome as a trigger of cytokine “storm” and risk factor for damage of hematopoietic stem cells. *Leukemia.* julho de 2020;34(7):1726–9.
 46. Rodrigues TS, de Sá KSG, Ishimoto AY, Becerra A, Oliveira S, Almeida L, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *J Exp Med.* 1º de março de 2021;218(3):e20201707.
 47. Zhao N, Di B, Xu L. The NLRP3 inflammasome and COVID-19: Activation, pathogenesis and therapeutic strategies. *Cytokine Growth Factor Rev* [Internet]. 18 de junho de 2021 [citado 3 de julho de 2021]; Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8233448/>
 48. Dherange Parinita, Lang Joshua, Qian Pierre, Oberfeld Blake, Sauer William H., Koplan Bruce, et al. Arrhythmias and COVID-19. *JACC: Clinical Electrophysiology.* 1º de setembro de 2020;6(9):1193–204.
 49. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* 25 de agosto de 2020;324(8):782–93.
 50. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong

- memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol.* 1º de novembro de 2020;21(11):1336–45.
51. Winkler F, Bengsch B. Use of Mass Cytometry to Profile Human T Cell Exhaustion. *Front Immunol.* 22 de janeiro de 2020;10:3039.
 52. Yin S-W, Zhou Z, Wang J-L, Deng Y-F, Jing H, Qiu Y. Viral loads, lymphocyte subsets and cytokines in asymptomatic, mildly and critical symptomatic patients with SARS-CoV-2 infection: a retrospective study. *Virology J.* 12 de junho de 2021;18(1):126.
 53. Li M, Guo W, Dong Y, Wang X, Dai D, Liu X, et al. Elevated Exhaustion Levels of NK and CD8+ T Cells as Indicators for Progression and Prognosis of COVID-19 Disease. *Front Immunol.* 14 de outubro de 2020;11:580237.
 54. David P, Megger DA, Kaiser T, Werner T, Liu J, Chen L, et al. The PD-1/PD-L1 Pathway Affects the Expansion and Function of Cytotoxic CD8+ T Cells During an Acute Retroviral Infection. *Front Immunol.* 5 de fevereiro de 2019;10:54.
 55. De Biasi S, Meschiari M, Gibellini L, Bellinazzi C, Borella R, Fidanza L, et al. Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. *Nat Commun.* 6 de julho de 2020;11(1):3434.
 56. Zheng H-Y, Zhang M, Yang C-X, Zhang N, Wang X-C, Yang X-P, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol.* maio de 2020;17(5):541–3.
 57. Zhang Y, Li B, Ning B. The Comparative Immunological Characteristics of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 Coronavirus Infections. *Front Immunol.* 14 de agosto de 2020;11:2033.
 58. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 30 de maio de 2008;133(5):775–87.
 59. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest.* 1º de maio de 2020;130(5):2620–9.
 60. Wang Y, Zhang L, Sang L, Ye F, Ruan S, Zhong B, et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest.* 1º de outubro de 2020;130(10):5235–44.
 61. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One.* 2020;15(12):e0244126.
 62. Qu J, Wu C, Li X, Zhang G, Jiang Z, Li X, et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis.* 27 de abril de 2020;
 63. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun.* 17 de setembro de 2020;11(1):4704.
 64. Ma H, Zeng W, He H, Zhao D, Jiang D, Zhou P, et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol.* julho de 2020;17(7):773–5.
 65. Tantuoayir MM, Rezaei N. Serological tests for COVID-19: Potential opportunities. *Cell Biology International.* 2021;45(4):740–8.

66. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.* 25 de 2020;6:CD013652.
67. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui L-P, Johnston JC, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 1º de julho de 2020;m2516.
68. Wang H, Ai J, Loeffelholz MJ, Tang Y-W, Zhang W. Meta-analysis of diagnostic performance of serology tests for COVID-19: impact of assay design and post-symptom-onset intervals. *Emerg Microbes Infect.* dezembro de 2020;9(1):2200–11.
69. Liu W, Liu L, Kou G, Zheng Y, Ding Y, Ni W, et al. Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol.* 26 de 2020;58(6).
70. Vengesai A, Midzi H, Kasambala M, Mutandadzi H, Mduluza-Jokonya TL, Rusakaniko S, et al. A systematic and meta-analysis review on the diagnostic accuracy of antibodies in the serological diagnosis of COVID-19. *Syst Rev.* 26 de maio de 2021;10(1):155.
71. To KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S, Tam AR, Wu T-C, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases.* 1º de maio de 2020;20(5):565–74.
72. Li K, Huang B, Wu M, Zhong A, Li L, Cai Y, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun [Internet].* 27 de novembro de 2020 [citado 2 de abril de 2021];11. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7699636/>
73. Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munshea A, He H, et al. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology.* 2021;31(3):e2181.
74. Long Q-X, Tang X-J, Shi Q-L, Li Q, Deng H-J, Yuan J, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 18 de junho de 2020;
75. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science.* 22 de maio de 2020;368(6493):860–8.
76. Wheatley AK, Juno JA, Wang JJ, Selva KJ, Reynaldi A, Tan H-X, et al. Evolution of immune responses to SARS-CoV-2 in mild-moderate COVID-19. *Nature Communications.* 19 de fevereiro de 2021;12(1):1162.
77. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *New England Journal of Medicine.* 29 de outubro de 2020;383(18):1724–34.
78. Ibarondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *New England Journal of Medicine.* 10 de setembro de 2020;383(11):1085–7.
79. Wu J, Liang B, Chen C, Wang H, Fang Y, Shen S, et al. SARS-CoV-2

- infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. *Nat Commun.* 22 de março de 2021;12(1):1813.
80. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M, et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science.* 4 de dezembro de 2020;370(6521):1227–30.
 81. Jung JH, Rha M-S, Sa M, Choi HK, Jeon JH, Seok H, et al. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun.* 30 de junho de 2021;12(1):4043.
 82. Alonso GT, Fomin DS, Rizzo LV. Linfócitos T auxiliares foliculares humanos: células essenciais para a resposta de anticorpos. *Einstein (São Paulo)* [Internet]. 5 de março de 2021 [citado 11 de julho de 2021];19. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/eins/a/5FVnw3RwdFkHTxX5qLXVthH/?lang=pt>
 83. Song W, Craft J. T follicular helper cell heterogeneity: Time, space, and function. *Immunol Rev.* março de 2019;288(1):85–96.
 84. da Rosa Mesquita R, Francelino Silva Junior LC, Santos Santana FM, Farias de Oliveira T, Campos Alcântara R, Monteiro Arnozo G, et al. Clinical manifestations of COVID-19 in the general population: systematic review. *Wien Klin Wochenschr.* abril de 2021;133(7–8):377–82.
 85. Teich VD, Klajner S, Almeida FAS de, Dantas ACB, Laselva CR, Torritesi MG, et al. Epidemiologic and clinical features of patients with COVID-19 in Brazil. *Einstein (São Paulo).* 2020;eAO6022–eAO6022.
 86. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 4 de junho de 2020;135(23):2033–40.
 87. von Weyhern CH, Kaufmann I, Neff F, Kremer M. Early evidence of pronounced brain involvement in fatal COVID-19 outcomes. *Lancet.* 2020;395(10241):e109.
 88. Larsen CP, Bourne TD, Wilson JD, Saqqa O, Sharshir MA. Collapsing Glomerulopathy in a Patient With COVID-19. *Kidney Int Rep.* junho de 2020;5(6):935–9.
 89. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM, et al. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev.* janeiro de 2021;65:101205.
 90. CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [citado 17 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>
 91. Caini S, Bellerba F, Corso F, Díaz-Basabe A, Natoli G, Paget J, et al. Meta-analysis of diagnostic performance of serological tests for SARS-CoV-2 antibodies up to 25 April 2020 and public health implications. *Euro Surveill.* 2020;25(23).
 92. Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, Wu G-C, Deng K, Chen Y-K, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Medicine.* junho de 2020;26(6):845–8.
 93. Mardian Y, Kosasih H, Karyana M, Neal A, Lau C-Y. Review of Current COVID-19 Diagnostics and Opportunities for Further Development. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 7 de maio de 2021 [citado 22 de maio de 2021];8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8138031/>
 94. Yüce M, Filiztekin E, Özkaya KG. COVID-19 diagnosis —A review of current

- methods. *Biosens Bioelectron.* 15 de janeiro de 2021;172:112752.
95. Eftekhari A, Alipour M, Chodari L, Maleki Dizaj S, Ardalan M, Samiei M, et al. A Comprehensive Review of Detection Methods for SARS-CoV-2. *Microorganisms.* 22 de janeiro de 2021;9(2):232.
 96. Machado BAS, Hodel KVS, Barbosa-Júnior VG, Soares MBP, Badaró R. The Main Molecular and Serological Methods for Diagnosing COVID-19: An Overview Based on the Literature. *Viruses.* 29 de dezembro de 2020;13(1):40.
 97. Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. *Rev Med Virol.* maio de 2020;30(3):e2106.
 98. Martinez RM. Clinical Samples for SARS-CoV-2 Detection: Review of the Early Literature. *Clin Microbiol Newsl.* 1º de agosto de 2020;42(15):121–7.
 99. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 28 de julho de 2020;71(15):778–85.
 100. Jin Y, Wang M, Zuo Z, Fan C, Ye F, Cai Z, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis.* maio de 2020;94:49–52.
 101. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med.* maio de 2020;26(5):672–5.
 102. Smithgall MC, Dowlatshahi M, Spitalnik SL, Hod EA, Rai AJ. Types of Assays for SARS-CoV-2 Testing: A Review. *Lab Med.* 1º de setembro de 2020;51(5):e59–65.
 103. Guglielmi G. Rapid coronavirus tests: a guide for the perplexed. *Nature.* 9 de fevereiro de 2021;590(7845):202–5.
 104. La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reproductive BioMedicine Online* [Internet]. 14 de junho de 2020 [citado 18 de agosto de 2020]; Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1472648320303187>
 105. Kontou PI, Braliou GG, Dimou NL, Nikolopoulos G, Bagos PG. Antibody Tests in Detecting SARS-CoV-2 Infection: A Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel).* 19 de maio de 2020;10(5).
 106. Administrator. TR DPP® COVID-19 IgM/IgG - Bio-Manguinhos [Internet]. Bio-Manguinhos/Fiocruz || Inovação em saúde || Vacinas, kits para diagnósticos e biofármacos. [citado 23 de maio de 2021]. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/produtos/reativos/testes-rapidos/dpp-covid19>
 107. Chu J, Yang N, Wei Y, Yue H, Zhang F, Zhao J, et al. Clinical characteristics of 54 medical staff with COVID-19: A retrospective study in a single center in Wuhan, China. *Journal of Medical Virology* [Internet]. 1º de julho de 2020 [citado 31 de maio de 2021];92(7). Disponível em: <https://covid19.elsevierpure.com/en/publications/clinical-characteristics-of-54-medical-staff-with-covid-19-a-retr>
 108. Al Maskari Z, Al Blushi A, Khamis F, Al Tai A, Al Salmi I, Al Harthi H, et al. Characteristics of healthcare workers infected with COVID-19: A cross-sectional observational study. *Int J Infect Dis.* janeiro de 2021;102:32–6.
 109. Teixeira CF de S, Soares CM, Souza EA, Lisboa ES, Pinto IC de M, Andrade

- LR de, et al. A saúde dos profissionais de saúde no enfrentamento da pandemia de Covid-19. *Ciência & Saúde Coletiva*. setembro de 2020;25(9):3465–74.
110. Batra M, Tian R, Zhang C, Clarence E, Sacher CS, Miranda JN, et al. Role of IgG against N-protein of SARS-CoV2 in COVID19 clinical outcomes. *Sci Rep*. 10 de fevereiro de 2021;11(1):3455.
111. Rikhtegaran Tehrani Z, Saadat S, Saleh E, Ouyang X, Constantine N, DeVico AL, et al. Performance of nucleocapsid and spike-based SARS-CoV-2 serologic assays. *PLoS One* [Internet]. 2 de novembro de 2020 [citado 1º de junho de 2021];15(11). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7605638/>
112. Escribano P, Álvarez-Uría A, Alonso R, Catalán P, Alcalá L, Muñoz P, et al. Detection of SARS-CoV-2 antibodies is insufficient for the diagnosis of active or cured COVID-19. *Scientific Reports*. 16 de novembro de 2020;10(1):19893.
113. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 25 de junho de 2020;181(7):1489-1501.e15.
114. Self WH. Decline in SARS-CoV-2 Antibodies After Mild Infection Among Frontline Health Care Personnel in a Multistate Hospital Network — 12 States, April–August 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2020 [citado 31 de março de 2021];69. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6947a2.htm>
115. Kellam P, Barclay W. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection. *J Gen Virol*. agosto de 2020;101(8):791–7.
116. Jiang X-L, Wang G-L, Zhao X-N, Yan F-H, Yao L, Kou Z-Q, et al. Lasting antibody and T cell responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients three months after infection. *Nature Communications*. 9 de fevereiro de 2021;12(1):897.
117. Castle SC, Uyemura K, Rafi A, Akande O, Makinodan T. Comorbidity is a better predictor of impaired immunity than chronological age in older adults. *J Am Geriatr Soc*. setembro de 2005;53(9):1565–9.
118. Ward H, Cooke GS, Atchison C, Whitaker M, Elliott J, Moshe M, et al. Prevalence of antibody positivity to SARS-CoV-2 following the first peak of infection in England: Serial cross-sectional studies of 365,000 adults. *The Lancet Regional Health – Europe* [Internet]. 1º de maio de 2021 [citado 26 de maio de 2021];4. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762\(21\)00075-2/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanep/article/PIIS2666-7762(21)00075-2/abstract)
119. Nasiri MJ, Haddadi S, Tahvildari A, Farsi Y, Arbabi M, Hasanzadeh S, et al. COVID-19 Clinical Characteristics, and Sex-Specific Risk of Mortality: Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:459.
120. Tang Q, Liu Y, Fu Y, Di Z, Xu K, Tang B, et al. A comprehensive evaluation of early potential risk factors for disease aggravation in patients with COVID-19. *Scientific Reports*. 13 de abril de 2021;11(1):8062.
121. Galanis P, Vraka I, Fragkou D, Bilali A, Kaitelidou D. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies and associated factors in healthcare workers: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect*. fevereiro de 2021;108:120–

- 34.
122. Röltgen K, Powell AE, Wirz OF, Stevens BA, Hogan CA, Najeeb J, et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Science Immunology* [Internet]. 7 de dezembro de 2020 [citado 24 de abril de 2021];5(54). Disponível em: <https://immunology.sciencemag.org/content/5/54/eabe0240>
 123. Choudhry N, Drysdale K, Usai C, Leighton D, Sonagara V, Buchanan R, et al. Disparities of SARS-CoV-2 Nucleoprotein-Specific IgG in Healthcare Workers in East London, UK. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:642723.
 124. Zuo J, Dowell AC, Pearce H, Verma K, Long HM, Begum J, et al. Robust SARS-CoV-2-specific T cell immunity is maintained at 6 months following primary infection. *Nature Immunology*. 5 de março de 2021;1–7.

ANEXO A – Parecer de aprovação CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Projeto COVID-19kids

Pesquisador: Daniella Campelo Batalha Cox Moore

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 30487120.2.0000.0008

Instituição Proponente: Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

Patrocinador Principal: Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.255.801

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1618962_E2.pdf, de 26/08/2020).

INTRODUÇÃO

Desde dezembro de 2019, em Wuhan, Província Hubei(1) vem sendo observada uma infecção causada pelo novo coronavírus 2019 (COVID-19). Os coronavírus (CoVs) representam uma grande família de vírus RNA zoonóticos. Geralmente, quatro CoVs circulam entre humanos: HCoV2-229E, - HKU1, -NL63 e -OC43. No entanto, os CoVs podem rapidamente sofrer mutação e recombinar levando a novos CoVs que podem se espalhar a partir de animais para humanos. O novo CoVs coronavírus que desencadeia a síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) surgiu em 2002, enquanto que o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) em 2012. O novo coronavírus de 2019 (SARS-CoV-2) é atualmente o agente etiológico de um surto grave de doença (denominado COVID-19) que teve seu início na China e atualmente já é reconhecido como pandemia(2). Os Coronavírus (CoVs) são classificados em alfa-coronavírus e betacoronavírus (que são encontrados principalmente em mamíferos, como morcegos, roedores, civetas e seres humanos) e Gammacoronavírus e Deltacoronavírus (encontrados principalmente em aves). Quatro CoVs circulam geralmente entre os seres humanos: HCoV2-229E, -HKU1, -NL63 e -OC43.15,16.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

Acredita-se que esses vírus tenham derivado originalmente de morcegos (NL63, 229E), camelos dromedários (229E) e gado (OC43). A origem do HCoV-HKU1 permanece desconhecida. Sabe-se que vários CoVs circulam em animais (com morcegos atuando como principal reservatório), mas não foram associados à infecção humana. Os CoVs são capazes de rápida mutação e recombinação, levando a novos CoVs que podem se espalhar de animais para humanos. Isso ocorreu na China em 2002, quando a nova síndrome respiratória aguda grave CoV coronavírus (SARS-CoV) surgiu, cuja transmissão foi atribuída a gatos ou morcegos aos seres humanos. Outro novo CoVs surgiu na Arábia Saudita em 2012, causando a síndrome respiratória no Oriente Médio coronavírus (MERS-CoV), transmitido a partir do dromedário para humanos. O novo CoV de 2019 (SARS-CoV-2), originário da China que atualmente está causando uma pandemia, é um novo Betacoronavírus pertencente à linhagem B ou subgênero sarbecovírus, que inclui o SARS -CoV. O seqüenciamento mostra que o genoma está mais intimamente relacionado (87% a 89% de identidade nucleotídica) ao CoV associado a SARS, encontrado em morcegos-ferradura chineses (bat-SL-CoVZC45). O surto de SARS-CoV-2 começou na Cidade de Wuhan, província de Hubei, China, onde a Comissão de Saúde da província de Hubei anunciou pela primeira vez um grupo de adultos com pneumonia de etiologia inexplicável em 31 de dezembro de 2019. Frutos do mar locais e o mercado animal foram identificados como fontes potenciais(2). No entanto, os principais disseminadores do surto são seres humanos sintomáticos e assintomáticos infectados com SARS-CoV-2, de quem o vírus pode se espalhar para outros através de gotículas respiratórias, contato direto ou pelo trato digestivo(3). Da cidade de Wuhan o SARS-CoV-2 se espalhou para outras cidades chinesas e internacionalmente, causando uma pandemia global. O termo COVID-19 é atualmente usado para a doença clínica causada pela SARS-CoV-2.(2) As crianças são menos comumente afetadas pelo SARS-CoV-2, os Centros Chineses de Controle e Prevenção de Doenças relatam que dos 72.314 casos relatados em 11 de fevereiro de 2020, apenas 2% estavam em indivíduos com menos de 19 anos de idade(4).Um estudo mostrou uma série de casos de 2134 pacientes pediátricos com Covid-19. A mediana de idade foi de 7 anos (IQ range: 2-13 anos) e 1213 dos casos eram do sexo masculino (56,6%). Mais de 90% dos casos eram assintomáticos, leves ou moderados. A proporção de casos graves e críticos foi 10,6% para idade < 1 ano, 7,3% para idade de 1-5 anos, 4,2% para crianças de 6-10 anos, 4,1% para idades de 11-15 anos e 3% para as idades >15 anos. Os autores ressaltam, no entanto que houve mais casos graves e críticos entre suspeitos do que aqueles confirmados, deixando uma dúvida se esses casos graves não tiveram alguma outra etiologia como RSV(5). Os autores também ressaltam que o motivo pelo qual os casos nas crianças vêm sendo mais brandos do que em adultos ainda necessita ser esclarecido

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

(5). Estes sugerem algumas possibilidades. Uma delas é o fato de as crianças ficarem mais tempo em casa e com isso terem menos exposição aos patógenos e pessoas doentes. Outro fator é que a enzima conversora da angiotensina II (ACE2) foi reconhecida como receptor celular para o SARS-CoV. Uma vez que existem algumas evidências que sugerem que o 2019-nCoV tem alguma homologia nos aminoácidos com o SARS-CoV (6) e pode ser capaz de usar o ACE2 como receptor (7,8) especula-se que as crianças sejam menos sensíveis ao 2019-nCoV uma vez que a maturidade e função de seus receptores ACE2 pode ser menor do que em adultos(9). Além disso, crianças frequentemente apresentam infecções respiratórias (em especial pelo RSV) no inverno e pode haver níveis mais altos de anticorpos contra vírus do que em adultos, o que pode levar a uma possível imunidade heteróloga. Além disso, o sistema imune da criança ainda está se desenvolvendo e poderia reagir aos patógenos de forma diferente dos adultos (5).

HIPÓTESE

Existem diferenças clínicas, laboratoriais, genéticas e imunológicas que podem ajudar a diferenciar a infecção pelo COVID-19 das infecções por outros germes respiratórios.

METODOLOGIA

Crianças e adolescentes internadas no IFF/FIOCRUZ Trata-se de estudo observacional descritivo dos fatores de risco associados a complicações da doença causada pelo novo coronavírus (COVID-19). Serão comparados dados demográficos, clínicos, laboratoriais e epidemiológicos de pacientes com diagnóstico de COVID-19 que necessitaram de internação hospitalar e aqueles que estão internados por outros quadros respiratórios (pneumonia e bronquiolite). Será coletada amostra de 0,5ml de sangue para dosagem de citocinas naquelas crianças que estiverem internadas em unidade de terapia intensiva (UPG) na admissão e no dia da intubação caso ocorra. Nos pacientes internados na DIP só será coletada uma amostra de sangue na admissão (0,5ml). Será coletado um volume adicional de 2ml de sangue para exame de citometria de fluxo para imunofenotipagem das populações celulares na admissão. Será coletado swab oral para obtenção de DNA para exame de polimorfismo genético. Profissional de saúde Trata-se de um estudo observacional descritivo que irá identificar os profissionais de saúde que apresentarem o diagnóstico de COVID-19 durante o estudo. Serão coletados dados demográficos, informações profissionais (categoria profissional, local de trabalho no IFF, local de trabalho fora do IFF) informações sobre contactantes com pessoas infectadas pelo COVID-19 ou histórico de viagem recente ou contato com viajante, uso de medicamentos e comorbidades. Será coletado swab oral para obtenção de DNA para exame de

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

polimorfismo genético. Coleta de material biológico: swab oral (para obtenção de DNA). b) População do estudo Crianças e adolescentes internados no IFF-FIOCRUZ (UPG, DIP) com diagnóstico clínico ou laboratorial de COVID-19. Os critérios de classificação para a criança e adolescente para fins de indicação de internação por motivos clínicos está disponível na tabela 2. Crianças e adolescentes internados no IFF-FIOCRUZ (UPG, DIP) com diagnóstico clínico de pneumonia ou bronquiolite sem diagnóstico laboratorial de COVID-19. Profissionais de saúde do IFF-FIOCRUZ com diagnóstico clínico ou laboratorial de COVID-19. g) Obtenção e processamento dos hemocomponentes do sangue total A separação do soro dos pacientes será feita em tubos de coleta de sangue à vácuo com gel separador (BD Vacutainer). O procedimento será feito coletando sangue total com espera da formação do coágulo à temperatura ambiente (10-20 min). Em seguida será feita a centrifugação 1000 G / 10 min. As amostras serão fracionadas em alíquotas e armazenadas a -80°C para posterior dosagem de mediadores biológicos solúveis. A aquisição de creme leucocitário para posterior ensaio de imunofenotipagem acompanhará os seguintes procedimentos: Das crianças, 2 mL de sangue periférico total serão coletados no tubo à vácuo com anticoagulante EDTA. Inicialmente, as amostras serão centrifugadas por 10 min a 400G em temperatura ambiente para coleta de plasma. As alíquotas serão armazenadas a -80°C. Do pellet gerado, parte do sangue total será misturado com tampão estabilizador de células sanguíneas totais, incubadas em temperatura ambiente por 10 minutos e transferidos para um freezer de -80°C para posterior ensaios de imunofenotipagem). Cerca de 300uL do restante de sangue total contendo pellet de leucócitos será transferido para tubo do tipo eppendorf contendo 1 ml de Brazol para posterior extração de material genético. h) Dosagem de citocinas séricas Dosagem de citocinas sérica: será coletado 0.5mL de sangue periférico na admissão nas crianças ou adolescentes internados na UPG e no momento da entubação. A coleta coincidirá sempre como os momentos de coleta de exames de rotina e de urgência da UPG. O sangue será coletado em tudo EDTA. Posteriormente será separado o plasma e armazenado a -80°C no Repositório de Amostras Biológicas do Instituto Fernandes Figueira até o momento da análise. A dosagem será realizada para um painel de 27 citocinas por Luminex.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Crianças e adolescentes com diagnóstico laboratorial de COVID-19 Crianças e adolescentes com diagnóstico clínico altamente provável de COVID-19, mas nos quais ainda não foi possível confirmação laboratorial. Crianças e adolescentes, suspeitos de COVID-19 por estarem com quadro respiratório (pneumonia ou bronquiolite) cujos testes laboratoriais foram negativos para

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

COVID-19. Trabalhadores da FIOCRUZ.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Trabalhadores da FIOCRUZ aposentados

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO (S) PRIMÁRIO (S)

Este estudo tem como objetivo principal descrever as características demográficas clínicas, genéticas, imunológicas, laboratoriais e radiológicas dos pacientes com COVID-19 comparando-os com pacientes internados com outras doenças respiratórias. O estudo busca ainda identificar o impacto da pandemia do COVID-19 nos trabalhadores da FIOCRUZ.

OBJETIVO (S) SECUNDÁRIO (S)

Descrever as características demográficas e clínicas de crianças e adolescentes com COVID-19. Avaliação de fatores de risco demográficos, laboratoriais e clínicos de evolução para desfechos graves como óbito e evolução para síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS). Comparar as complicações clínicas (choque séptico, ARDS e disfunção múltipla de órgãos) e alterações laboratoriais (acidose metabólica, PCR elevado, VHS elevado, Dímero-D elevado, leucopenia, linfopenia, alteração de enzimas hepáticas e musculares, vitamina D, cortisol, dosagem de imunoglobulinas) e radiológicas (radiografia de tórax e TC de tórax) entre crianças e adolescentes internados com quadro respiratório com diagnóstico de COVID-19 e as que foram negativas para esse diagnóstico. Comparar o perfil de citocinas séricas dos pacientes internados com diagnóstico de COVID-19 que necessitaram de suporte intensivo diariamente até a melhora clínica e aqueles com doenças respiratórias que foram negativos para COVID-19. Comparar o perfil celular CD4+, CD8+, CD56+ em crianças e/ou adolescentes internados com diagnóstico de COVID-19 e aqueles com doenças respiratórias que foram negativos para COVID-19. Comparar a presença de variantes em genes do ACE2 e do TMPRSS2 em crianças e adolescentes internados com quadro respiratório com diagnóstico de COVID-19 e as que foram negativas para esse diagnóstico. Avaliar se há correlação entre variantes em genes do ACE2 e do TMPRSS2 com evoluções graves (ARDS, choque séptico e óbito) entre aqueles pacientes com diagnóstico de COVID-19. Investigação de novos genes que venham a ser associados à patogênese da COVID-19. Armazenar amostras de soro, plasma e sangue total em biorrepositório para posterior análise de potenciais biomarcadores imunológicos. Avaliar se há correlação entre variantes em genes do ACE2 e do TMPRSS2 assim

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 4.255.801

como estudos imunológicos utilizando sangue de trabalhadores que apresentaram ou não a COVID-19. Avaliar o impacto da pandemia do COVID-19 nos trabalhadores da FIOCRUZ. Avaliar a ocorrência de diminuição de parâmetros da função pulmonar nos trabalhadores da FIOCRUZ pós infecção por SARS-CoV-2 – investigação de seqüela.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**RISCOS**

Um dos riscos do estudo é o desconforto com a coleta do material biológico (sangue e swab oral). Para diminuir esse risco a coleta de sangue será realizada junto com os exames de rotina do setor hospitalar para as crianças e será coletado apenas 2 swabs de orofaringe. O volume de coleta é pequeno não trazendo repercussão clínica para a criança e para o trabalhador da FIOCRUZ. Sempre que possível a coleta do trabalhador será feita quando este for fazer a coleta de sangue para realização de sorologia que é disponibilizada pela Instituição. Outro potencial risco é a quebra de confidencialidade uma vez que serão coletados do prontuário dados referentes a dados demográficos, clínicos e de exames complementares. Para evitar que isto ocorra, os pacientes serão identificados na ficha clínica por código alfa-numérico preservando a confidencialidade deles e os dados serão analisados de forma agrupada impedindo a identificação do sujeito. Esta codificação será registrada em um livro ata guardado em local seguro e restrito aos pesquisadores do projeto. Um risco para os profissionais de saúde pode ser o cansaço e desconforto emocional ao preencher o questionário. Para isso a equipe de pesquisa estará pronta para oferecer acolhimento e haverá apoio do setor de Psicologia para aqueles que necessitarem. Para os trabalhadores da FIOCRUZ que fizerem prova de função pulmonar o risco com este procedimento envolve discreto desconforto respiratório ao fazer o esforço de soprar. Para minimizar este risco o exame será realizado por profissional experiente e o paciente será monitorizado com oximetria e caso haja desconforto respiratório e/ou queda da sat O2, o exame é interrompido.

BENEFÍCIOS

O benefício direto para as crianças e adolescentes é a capacidade de obter mais informações sobre a COVID-19 que permitirá o monitoramento da evolução clínica e o tratamento adequados. O principal benefício do estudo é indireto em que os dados coletados ajudarão a melhorar e orientar a qualidade do manejo do COVID-19. A realização da pesquisa possibilitará uma avaliação mais focada na infecção pelo novo coronavírus nos trabalhadores da FIOCRUZ. A informação obtida através deste estudo poderá trazer informações que ajudem os gestores a aperfeiçoar o cuidado

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

com o trabalhador da FIOCRUZ. Essas informações também poderão ser importantes para outras unidades do SUS assim como privadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Emenda 02

Trata-se de um emenda em que o objetivo é apresentar ao Sistema Cep/Conep a atualização do Projeto Detalhado (versão 03 de 26/08/2020) e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (versão 03 de 26/08/2020).

Justificativa da emenda: Tendo em vista o artigo recente que mostrou a reinfeção pelo SARS-CoV-2 em um paciente(5), torna-se importante avaliar o sequenciamento genético do vírus para avaliar a possibilidade de polimorfismos associados a casos graves e observar a identidade viral para casos de suspeita de re-infeção.

Quanto ao Projeto Detalhado intitulado “alteracoes4AVERSAOProjetoCOVID19kids.docx”, postado na Plataforma Brasil em 26/08/2020 foi atualizado a fim de incorporar as informações conforme segue abaixo:

1. Adicionado a palavra “adulto” no título “Características clínicas, genéticas e imunológicas de crianças, adolescentes e adultos com diagnóstico de Covid-19”.
2. Adicionado 02 (dois) novos membros da equipe de pesquisadores “Flavia Anísio Amendola de Carvalho e Juliana Martins Rodrigues.
3. Adicionado objetivos específico “Avaliar o perfil clínico, genético e imunológico das crianças e adolescentes internados com diagnóstico de síndrome inflamatória multissistêmica (MIS-c) associada a COVID-19”.
4. Adicionado objetivo específico “Avaliar a performance de diferentes testes rápidos (Imunocromatografia de Fluxo lateral) para COVID 19 nos trabalhadores da FIOCRUZ”.
5. Adicionado objetivo específico “Realizar sequenciamento genético viral utilizando estratégias de

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

sequenciamento de nova geração (NGS) para identificar polimorfismos associados a casos graves e observar a identidade viral para casos de suspeita de re-infecção”.

6. Adicionado o sub-item “Sequenciamento genético do SARS-CoV-2: O material coletado para fins de diagnóstico de COVID-19 será enviado para laboratório especializado para sequenciamento genético de nova geração (NGS) para identificar polimorfismos associados a casos graves e observar a identidade viral para casos de suspeita de re-infecção”.

Quanto aos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido intitulados “alteracoesTCLEprofissional3aversao.doc” e “alteracoes2aversaoTCLEResponsavellegal.doc” postado na Plataforma Brasil em 26/08/2020 foi atualizado a fim de incorporar as informações conforme segue abaixo:

1. Adicionado que “Quando houver a coleta de sangue não haverá coleta de swab oral e o material genético será extraído do sangue”. (pág. 1 de 4);

Quanto aos Termos de Assentimento “alteracoes2aversaoTALeate12anos.doc” e “alteracoes2aversaoTALe12a18anos.doc” postado na Plataforma Brasil em 26/08/2020 foi atualizado a fim de incorporar as informações conforme segue abaixo:

1. Adicionado que “Se você estiver com o vírus da covid vamos estudar esse vírus também”. (pág. 1 de 2).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações”.

Recomendações:

Vide campo “Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações”.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos nesta emenda.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

Situação: Emenda aprovada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1618962_E2.pdf	26/08/2020 11:01:18		Aceito
Outros	justificativaemenda26082020.docx	26/08/2020 11:00:05	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	alteracoesTCLEprofissional3aversao.doc	26/08/2020 10:58:32	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEprofissional3aversao.doc	26/08/2020 10:58:11	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	alteracoes2aversaoTCLEResponsavellegal.doc	26/08/2020 10:57:52	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2aversaoTCLEResponsavellegal.doc	26/08/2020 10:57:37	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	alteracoes2aversaoTALEate12anos.doc	26/08/2020 10:57:19	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2aversaoTALEate12anos.doc	26/08/2020 10:57:05	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	alteracoes2aversaoTALE12a18anos.doc	26/08/2020 10:56:43	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2aversaoTALE12a18anos.doc	26/08/2020 10:56:28	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	1aversaoTCLEvirus.docx	26/08/2020 10:56:15	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.255.801

Justificativa de Ausência	1aversaoTCLEvirus.docx	26/08/2020 10:56:15	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	alteracoes4AVERSAOProjetoCOVID19kids.docx	26/08/2020 10:54:17	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	4AVERSAOProjetoCOVID19kidsfinal.docx	26/08/2020 10:52:05	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Outros	Emenda.docx	16/06/2020 21:18:22	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Outros	fichafinal.docx	16/06/2020 21:17:02	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Outros	CARTARESPOSTAACONEP.docx	04/05/2020 10:25:16	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoAssinadaBebeth.pdf	01/04/2020 18:02:14	Daniella Campelo Batalha Cox Moore	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 03 de Setembro de 2020

Assinado por:

Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

ANEXO B – Termo De Consentimento Livre E Esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA TRABALHADORES FIOCRUZ

Título da Pesquisa: Características clínicas, genéticas e imunológicas de crianças, adolescentes e adultos com diagnóstico de Covid-19 – Projeto COVID-19kids

Parte de profissionais

Pesquisador responsável: Daniella Campelo Batalha Cox Moore

Instituição responsável pela pesquisa: Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança, e do Adolescente Fernandes Figueira

Endereço: Av. Rui Barbosa, 716 - Flamengo - Rio de Janeiro – RJ

Estamos realizando uma pesquisa para descrever o comportamento da epidemia de Novo Coronavírus e os efeitos da infecção, em trabalhadores da FIOCRUZ, bem como as pessoas estão lidando com o estresse relacionado ao trabalho na pandemia e confinamento. Assim, você está sendo convidado porque está incluído no rol de trabalhadores desta instituição.

É importante que você entenda por que a pesquisa está sendo feita e o que implicará sua participação. Por favor questione se algo não estiver claro ou se você quiser mais informações ou se precisar de mais tempo para decidir sobre sua participação. Sua decisão é completamente voluntária e não afetará, de forma alguma, suas atividades na instituição, na sua relação de cuidados com o Núcleo de Saúde do Trabalhador da instituição e nem o acesso à realização de exames e testes que estão sendo oferecidos.

Sobre o que é este estudo?

O enfrentamento da COVID-19 é um desafio para profissionais de saúde porque ainda estamos conhecendo essa doença. Diferentemente da maioria da população, a quem foi recomendado o isolamento social, muitos dos trabalhadores da FIOCRUZ, por estarem ligados à área da assistência, pesquisa ou de apoio, precisaram continuar suas atividades, aumentando assim o risco de exposição ao vírus. O que sabemos da COVID-19 é que muitos casos são leves, alguns assintomáticos, mas algumas pessoas ficam muito doentes. Ainda não temos informações consistentes sobre a possibilidade de sequelas e nem porque alguns ficam muito graves e outros não. Esta pesquisa obterá informações importantes sobre a exposição e infecção pelo novo coronavírus nos trabalhadores da FIOCRUZ para que possamos encontrar formas melhores para cuidado e tratamento desta doença no futuro. Acreditamos que este estudo tem o potencial para fornecer importantes informações que ajudem aos gestores a proteger seus trabalhadores da melhor forma possível.

O que acontecerá se você participar do estudo?

Faremos algumas perguntas investigando se você apresentou ou não sintomas que possam ser relacionados com COVID-19 (antes e após a infecção), alguns dados demográficos e condições prévias de saúde. Faremos algumas perguntas para saber como você se sentiu emocionalmente diante dessa pandemia. Caso você concorde em participar, iremos precisar que você autorize a realização de alguns procedimentos. Você é livre para autorizar os procedimentos que você quiser fazer. Os procedimentos que queremos são: 1) coleta de swab oral (para obtenção de material genético); 2) Coleta de sangue; 3) Prova de função pulmonar; 4) Acesso aos resultados dos exames de PCR e de sorologia. A amostra de material genético será utilizado para avaliar se existem algumas variantes genéticas que podem dar maior ou menor chance de ter a doença ou de evoluir de uma forma ou de outra. Quando houver a coleta de sangue não haverá coleta de swab oral e o material genético será extraído do sangue. A amostra de sangue será utilizada para realização de sorologia, que nos indica



como o sistema de defesa se comporta diante da presença do novo coronavírus. A prova de função pulmonar será realizada apenas se você tiver resultado positivo para o novo coronavírus e visa avaliar se a infecção trouxe algum prejuízo para sua respiração. Pedimos também que você permita que possamos acessar os seus resultados de exames para avaliarmos a presença ou não do novo coronavírus e se este esteve relacionado com sintomas ou outros eventos.

O que acontecerá com as informações?

Toda a informação sobre você será tratada confidencialmente e estas ficaram seguras em um arquivo de acesso exclusivo do pesquisador. Não haverá compartilhamento dessas informações pessoais com o Núcleo de Saúde do trabalhador ou com o departamento de Rh, nem com a sua chefia. Toda informação será recodificada de modo que não possibilite a vinculação dos dados da pesquisa com a sua identidade

Há algum benefício em fazer parte deste estudo?

Sim, a realização da pesquisa possibilitará uma avaliação mais focada na infecção pelo novo coronavírus nos trabalhadores da FIOCRUZ. A informação obtida através deste estudo poderá trazer informações que ajudem os gestores a aperfeiçoar o cuidado com o trabalhador da FIOCRUZ. Essas informações também poderão ser importantes para outras unidades do SUS assim como privadas.

Quais são os riscos de fazer parte deste estudo?

Os riscos ou desconfortos em participar deste estudo relacionados à procedimentos são: dor e hematoma no caso da punção para coleta de sangue e desconforto para a coleta do swab oral. O desconforto para coleta do swab oral é muito pequeno, trata-se apenas da passagem de um cotonete grande (swab) por dentro da parte interna da boca. Isso será feito com o maior cuidado. O risco da coleta de sangue consiste na dor da punção e possível hematoma local. Para minimizar esse risco a punção venosa será realizada por profissional tecnicamente experiente para essa tarefa. Além disso, será realizada a coleta adicional para fins de pesquisa aproveitando o momento da coleta realizada para fins clínicos de sangue para sorologia para SARS-CoV-2 promovida pela Instituição. Participar deste estudo significa que informações serão coletadas para a pesquisa. Desta forma, outro risco possível é a quebra da confidencialidade, mas este será evitado, pois será mantido sigilo sobre sua identidade. Outro risco é o de você se sentir desconfortável emocionalmente ao responder aos questionários. Para isso, contamos com uma rede de psicólogos para lhe oferecer apoio terapêutico online, caso este seja o caso. Para aqueles que fizerem a prova de função pulmonar o risco com este procedimento envolve discreto desconforto respiratório ao fazer o esforço de soprar. Para minimizar este risco o exame será realizado por profissional experiente e você será monitorizado com oximetria e caso haja desconforto respiratório e/ou queda da sat O2, o exame é interrompido.

As minhas amostras de sangue e material genético coletado pelo swab oral será armazenado para pesquisas futuras?

Sim, porque esta é uma doença nova e ainda há muitas dúvidas sobre ela. Esse material pode ajudar pesquisas futuras. No entanto antes que qualquer nova pesquisa vá utilizar essas amostras ela vai submetida novamente para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

Posso solicitar retirada do estudo em qualquer momento?

Sim, você pode retirar seu consentimento em qualquer momento, sem necessidade de dar uma razão e sem alteração na sua rotina de trabalho na instituição, nem prejuízo para realização dos exames e testes disponibilizados na instituição para os trabalhadores, nem prejuízo da sua relação com o serviço de assistência ao trabalho do NUST.

Eu receberei pagamento?

Sua participação no estudo é de caráter voluntário não implicará em custos adicionais. Você não terá



Participante

Declaro que li e entendi todo o conteúdo deste documento.

Nome do participante: _____

Assinatura: _____

Data: ___/___/___ Telefone : _____

Pesquisador que obteve o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Confirmo que expliquei a natureza e objetivos desta pesquisa e os potenciais riscos e benefícios ao participante. Declaro que cumprirei as exigências contidas na Resolução 466/12.

Nome _____

Assinatura _____

Data ___/___/___ Telefone : _____

Os pesquisadores estão à disposição para eventuais esclarecimentos e para outros procedimentos que se façam necessários. O Comitê de Ética e Pesquisa do IFF está à disposição para eventuais esclarecimentos éticos e para outras providências que se façam necessárias.

- Contato da pesquisa: Dra Daniella Moore e Dra Karla Camacho.
Tel: (21) 2554-1839. Email: projetoCOVID19pro@gmail.com
- Comitê de ética em Pesquisa do IFF. Email: cepiff@iff.fiocruz.br Tel: (21) 25541730.

ANEXO C - Questionário autoaplicável

Título da Pesquisa:

Características clínicas, genéticas e imunológicas de crianças e adolescentes

Parte de trabalhadores

Data da aplicação do questionário: ____/____/____.

DADOS DEMOGRÁFICOS

Data de Nascimento: __/__/__

Voce se declara: Branco Preto Pardo Indígena Amarelo não gostaria de informar

Voce se identifica no genero: Masculino Feminino Não gostaria de informar outro

Qual seu estado civil atual: solteiro casado/união estável separado/divorciado viúvo

Anos de Estudo: _____

Escolaridade: Sem escolaridade/analfabeto Alfabetizado Fundamental 1 (1ª -5ª série) Fundamental 2 (6ª – 9ª série) Ensino Médio Ensino Superior INCOMPLETO Ensino Superior COMPLETO Pós-Graduação Lacto Sensu Mestrado Doutorado Pós-doutorado

Gestante: SIM NÃO N/A - Se sim, especificar o **trimestre:** primeiro segundo terceiro

Está amamentando? SIM NÃO Não se aplica

DADOS DO TRABALHO

Vínculo: Servidor Terceirizado Prestador de serviço Residente Bolsista
 Outros: _____

Em que setor você trabalha?

- emergência/pronto atendimento
- UTI/Unidade intermediaria
- Enfermaria/quarto especializado em doenças infecciosas
- Enfermaria/quarto
- maternidade
- centro cirurgico
- centro obstétrico
- setor de ambulatorio
- home care
- banco de leite

- área de ensino/pesquisa/gestão
- recepção/pátio/estacionamento/area de telefonia/elevadores
- setor de laboratório e coleta/banco de sangue
- setor de imagem
- setor de cozinha e refeitório
- setor de lavanderia e esterilização
- setor de informática/almojarifado/manutenção/engenharia/Rh
- outro: _____

Qual sua carga horária semanal? _____h semanais Diarista Plantonista

Outro: _____

Qual seu turno de trabalho? Diurno Noturno

Você exerce atividade remunerada em outro lugar? Não Sim

Você pode ter contato com pessoas com COVID-19 em outro lugar de trabalho? Não

Sim

Assinale qual categoria de profissional você está vinculada:

- assistente social biólogo biomédico enfermeiro farmacêutico fisioterapeuta
- fonoaudiólogo médico nutricionista odontólogo psicólogo auxiliar de enfermagem
- técnico em enfermagem técnico em radiologia terapeuta ocupacional
- serviços gerais segurança informática recepcionistas/porteiros/ acessoristas
- administrativo engenharia e manutenção trabalhadores ligados a preparo e entrega de refeição
- trabalhadores de lavanderia Outros: _____

Tempo de atuação na profissão? _____

No seu trabalho, você tem contato em áreas que atendem paciente? Não Sim

No seu trabalho, você tem contato em áreas dedicadas ao paciente com COVID-19 suspeito ou confirmado?

sim não

Você realiza atividades em regime de home-office no período de pandemia?

sim não

Como está sendo a sua atividade de trabalho durante a pandemia:

- Trabalho presencial
- Trabalho remoto (home office)
- Parte presencial/parte remota
- Não está trabalhando em casa (home office) apenas cumprindo isolamento social
- Afastada do trabalho por fazer parte do grupo de risco.
- licença médica não relacionada ao risco ou infecção por COVID-19
- Afastada por suspeita de COVID-19

O que faz você sair do isolamento social:

- não estou fazendo isolamento social
 trabalhar
 compras essenciais (supermercado e farmácia)
 atividade física
 outros

Qual a sua renda familiar?

- ≤1 salário-mínimo Acima de 1 a 3 salários-mínimos 4-5
salários-mínimos
 Maior que 5 até 10 salários-mínimos Acima de 10 salários-mínimos

Foi vacinado para influenza em 2020? SIM NÃO

Você tem plano de saúde? SIM NÃO

DADOS RELACIONADOS A PANDEMIA COVID 19

Você participou treinamento sobre a Covid 19: SIM Não

Você foi orientado(a) quanto ao afastamento de suas atividades na presença de sinais/sintomas Covid 19: SIM NÃO não se aplica

Você foi orientado(a) quanto ao afastamento de suas atividades se alguém da sua casa tiver o diagnóstico ou suspeita de Covid 19: SIM NÃO não se aplica

Quais os EPIs estão disponíveis para você no seu setor para atuação das atividades relacionadas a COVID-19? Máscara cirúrgica Máscara N95 Luva Touca
Óculos de proteção Face Shield capote impermeável descartável capote
impermeável reutilizável capote permeável descartável capote permeável
reutilizável nenhum não se aplica

Você

Você se sente seguro com as medidas de biossegurança adotadas no seu local de trabalho? Não Sim

O que motiva a sua insegurança?

- Falta de Equipamento de Proteção Individual
 Baixa qualidade do Equipamento de Proteção Individual disponível
 Inexperiência para o uso de Equipamento de Proteção Individual de forma adequada
 Outros. Descreva: _

Com relação ao seu sono durante esse período de pandemia:

- Não tenho problemas de sono
 Insônia, sono interrompido, pesadelos mais do que o habitual
 Estou dormindo mais do que o habitual

Com relação ao uso de medicações calmantes durante esse período da pandemia:

- Não faço uso

- Uso igual a antes da pandemia
- Tenho consumido mais calmantes
- Tenho consumido menos calmantes
- Passei a usar após a pandemia

Com relação ao uso de bebidas alcoólicas durante esse período da pandemia

- Não faço uso
- Uso igual a antes da pandemia
- Tenho consumido mais bebida alcóolica do que antes da pandemia
- Tenho consumido menos bebida alcóolica do que antes da pandemia
- Passei a usar após a pandemia

Com relação aos seu apetite durante a pandemia:

- não houve mudança no apetite
- Estou comendo mais do que o habitual
- Estou comendo menos do que o habitual

Com quem você está morando atualmente?

- Sozinho
- Com parceiro (s)
- Com filhos
- Com outros familiares
- Com outras pessoas e/ou amigos

Quantas pessoas estão morando na sua casa contando com você: _____

Na sua casa tem a presença de (excluindo você):

- Idosos (idade \geq 60 anos)
- Criança até 5 anos de idade
- Criança acima de 6 anos e menor que 10 anos
- Adolescente: idade $>$ 10 anos até 18 anos
- Gestante
- Pessoa com doença crônica ou em uso de imunossupressor

Na sua casa tem a presença de animais?

- () Não
- () Gato
- () Cachorro
- () Pássaros e outras aves
- () Roedores ou furões
- () Outros: _____

As afirmativas abaixo abordam aspectos referentes à atual pandemia de coronavírus e como você tem se sentido em relação ao seu trabalho, aos familiares e a sua vida pessoal. Por favor, leia com atenção e responda de acordo com as alternativas abaixo:

	Concordo totalmente	Concordo	Não concordo nem discordo	Discordo	Discordo totalmente
Questões					
Tenho medo de adoecer da COVID-19 devido à pouca disponibilidade de EPI.					
Temo ser exposto à COVID-19 no trabalho e levar a infecção para minha família.					
Temo que a instituição onde trabalho não me ofereça apoio médico e psicológico caso necessite.					
Temo ficar sozinho ou me sentir excluído do convívio social por apresentar sintomas da COVID-19.					
Sinto-me solitário por não poder manter convívio social como antes.					
Sinto medo de ser discriminado ou sofrer violência por ser ligado à área da saúde					
Sinto-me sobrecarregado no trabalho e fatigado em função da alta demanda e dos poucos recursos disponíveis.					
Recebo informações atualizadas sobre a COVID-19 e sobre os protocolos institucionais de forma ágil e constante.					
Sinto-me seguro em relação ao treinamento do uso adequado de EPI.					
Tenho conseguido manter o contato socioafetivo com pessoas próximas, ainda que de forma virtual.					
Tenho conseguido fazer atividades e exercícios que auxiliam na redução de nível de estresse (meditação, leitura de livros, exercícios respiratórios e físicos).					
Recebo suporte psicológico institucional ou individual.					

As questões a seguir perguntam a respeito dos seus sentimentos e pensamentos durante os últimos 30 dias (último mês). Em cada questão indique a frequência com que você se sentiu ou pensou a respeito da situação.

Questões	Nunca	Quase nunca	Às Vezes	Pouco Frequente	Muito Frequente
Com que frequência você ficou aborrecido por causa de algo que aconteceu inesperadamente?					
Com que frequência você sentiu que foi incapaz de controlar coisas importantes na sua vida?					
Com que frequência você esteve nervoso ou estressado?					
Com que frequência você esteve confiante em sua capacidade de lidar com seus problemas pessoais?					
Com que frequência você sentiu que as coisas aconteceram da maneira que você esperava?					
Com que frequência você achou que não conseguiria lidar com todas as coisas que tinha por fazer?					
Com que frequência você foi capaz de controlar irritações na sua vida?					
Com que frequência você sentiu que todos os aspectos de sua vida estavam sob controle?					
Com que frequência você esteve bravo por causa de coisas que estiveram fora de seu controle?					
Com que frequência você sentiu que os problemas acumularam tanto que você não conseguiria resolvê-los?					

INÍCIO DOS SINTOMAS Atribuídos a COVID-19

(sintomas apresentados desde o início da pandemia que fez você desconfiar de COVID-19)

Quantos dias você teve sintoma: _____

Você procurou serviço emergência por suspeita de COVID? Sim Não

Data de internação em quarto/enf: ____/____/____

Data de alta: ____/____/____

Data de internação em cti: ____/____/____ **Data de alta:** ____/____/____

Viagem nos 14 dias anteriores ao primeiro sintoma? Sim Não

Desconhecido

Se sim, qual cidade? _____ **Contato com pessoa com COVID-19?**

Não Pessoa com suspeita Pessoa com diagnóstico confirmado por exame

não sei responder

Tem ou já teve algum caso suspeito dentre as pessoas que você convive?

Não

Sim

não sei responder

Tem ou já teve algum caso confirmado dentre as pessoas que você convive?

Não

Sim,

não sei responder

Alguém próximo a você faleceu de COVID-19?

Não

Sim, familiar

Sim, colega de trabalho

Sim, amigo

Sinais e sintomas Atribuídos a COVID-19	sintomas	Tempo de sintoma (dias)
História de febre	<input type="checkbox"/> SIM	
Tosse	<input type="checkbox"/> SIM	
Produção de escarro	<input type="checkbox"/> SIM	
Escarro com sangue / hemoptise	<input type="checkbox"/> SIM	
Espirro ou coriza	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor de garganta	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor de ouvido	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor atrás dos olhos	<input type="checkbox"/> SIM	
Sibilos ou chiado no peito	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor no peito	<input type="checkbox"/> SIM	
Dores musculares (mialgia)	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor nas articulações (artralgia)	<input type="checkbox"/> SIM	
Fadiga / Mal-estar	<input type="checkbox"/> SIM	
Falta de ar (dispnéia)	<input type="checkbox"/> SIM	
Anosmia (diminuição ou perda absoluta do olfato)	<input type="checkbox"/> SIM	
Paladar alterado	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor de cabeça	<input type="checkbox"/> SIM	
Consciência alterada / confusão	<input type="checkbox"/> SIM	
Dificuldade para engolir, deglutir	<input type="checkbox"/> SIM	
Convulsões	<input type="checkbox"/> SIM	
Dor abdominal	<input type="checkbox"/> SIM	
Vômitos / Náusea	<input type="checkbox"/> SIM	
Diarreia	<input type="checkbox"/> SIM	
Conjuntivite	<input type="checkbox"/> SIM	
Irritação ou manchas na pele (dermatite)	<input type="checkbox"/> SIM	
Úlceras na pele (feridas na pele)	<input type="checkbox"/> SIM	
Linfadenopatia ou íngua	<input type="checkbox"/> SIM	
Sangramento (hemorragia)	<input type="checkbox"/> SIM	
Se sangramento: especifique local (ais):		
Outros:		

Você já teve algum resultado positivo para COVID-19? (Pode assinalar mais de uma opção)	
<input type="checkbox"/>	Sim, sorologia com amostra de sangue obtida por punção venosa
<input type="checkbox"/>	Sim, teste rápido com amostra de sangue obtida com a lanceta
<input type="checkbox"/>	Sim, exame RT- PCR (swab de nasofaringe) no IFF
<input type="checkbox"/>	Sim, exame RT- PCR (swab de nasofaringe) em outro local
<input type="checkbox"/>	Não

Comorbidades e condições de risco			
Doença cardíaca crônica (não hipertensão)	<input type="checkbox"/> Sim	Obesidade (<i>conforme definido pela equipe clínica</i>)	<input type="checkbox"/> Sim
Doença pulmonar crônica (não asma)	<input type="checkbox"/> Sim	Diabetes com complicações	<input type="checkbox"/> Sim
Asma (<i>diagnosticada pelo médico</i>)	<input type="checkbox"/> Sim	Diabetes sem complicações	<input type="checkbox"/> Sim
Doença renal crônica	<input type="checkbox"/> Sim	Distúrbios reumatológicos	<input type="checkbox"/> Sim
Doença hepática	<input type="checkbox"/> Sim	Ansiedade/Depressão	<input type="checkbox"/> Sim
Desnutrição	<input type="checkbox"/> Sim	Idoso ≥ 60 anos	<input type="checkbox"/> Sim
Síndromes Genéticas	<input type="checkbox"/> Sim	Fumante	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Ex-fumante
Hipertensão	<input type="checkbox"/> Sim	Gestante	<input type="checkbox"/> Sim
Doença neurológica crônica	<input type="checkbox"/> Sim	Uso de imunossupressor	<input type="checkbox"/> Sim
Neoplasia maligna	<input type="checkbox"/> Sim	Uso crônico de corticoide (exceto inalado)	<input type="checkbox"/> Sim
Doença hematológica crônica	<input type="checkbox"/> Sim	Outras condições não listadas	
AIDS / HIV	<input type="checkbox"/> Sim		

Você fez uso de algum dos medicamentos abaixo para tratamento da Covid-19:

não fiz tratamento para COVID

cloroquina ou hidroxicloroquina

azitromicina

prednisona ou prednisolona

Anitta ou nitazoxanida

ivermectina

outro:

Obrigada por responder