

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Julio César da Silva Batista

**Avaliação da reatividade de anticorpos IgG para as proteínas S e N anti -
SARS-CoV-2 em pacientes atendidos no HU-UFJF/EBSERH em Juiz de Fora**

Juiz de Fora
2023

Julio César da Silva Batista

**Avaliação da reatividade de anticorpos IgG para as proteínas S e N anti -
SARS-CoV-2 em pacientes atendidos no HU-UFJF/EBSERH em Juiz de Fora**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias

Orientadora: Dra. Priscila de Faria Pinto

Coorientador: Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior

Juiz de Fora

2023

JÚLIO CÉSAR DA SILVA BATISTA

**AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE DE ANTICORPOS IGG PARA AS PROTEÍNAS S E N ANTI -
SARS-COV-2 EM PACIENTES ATENDIDOS NO HU -UFJF/EBSERH EM JUIZ DE FORA**

Dissertação
apresentada Programa
de Pós-graduação em
Ciências Biológicas
da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Mestre em
Ciências Biológicas.
Área de
concentração:
Imunologia &
Doenças
Infectoparasitárias.

Aprovada em 10 de novembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Priscila de Faria Pinto - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof. Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof^ª. Dr^ª. Fabiana Ourique da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof^ª. Dr^ª. Isabel Cristina Gonçalves Leite
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof. Dr. Erick Esteves de Oliveira

Universidade de São Paulo - USP

Juiz de Fora, 25/10/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Priscila de Faria Pinto, Professor(a)**, em 10/11/2023, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isabel Cristina Goncalves Leite, Professor(a)**, em 10/11/2023, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Ourique da Silva, Professor(a)**, em 10/11/2023, às 11:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Olavo dos Santos Pereira Junior, Chefe de Departamento**, em 10/11/2023, às 11:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Erick Esteves de Oliveira, Usuário Externo**, em 10/11/2023, às 12:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1544661** e o código CRC **4D7F8B70**.

Batista, Julio César da Silva.

Avaliação da reatividade de anticorpos IgG para as proteínas S e N anti - SARS-CoV-2 em pacientes atendidos no HU-UFJF/EBSERH em Juiz de Fora / Julio César da Silva Batista. -- 2023.

101 p. : il.

Orientadora: Priscila de Faria Pinto

Coorientador: Olavo dos Santos Pereira Junior

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2023.

1. Covid-19. 2. Epidemiologia da Covid. 3. Sars-CoV-2. 4. Aidez. 5. Saúde Coletiva. I. Pinto, Priscila de Faria, orient. II. Pereira Junior, Olavo dos Santos , coorient. III. Título.

Para minha mãe Maria, aos irmãos Marcus e Vanessa, e ao meu namorado Samuel que são os meus alicerces.

AGRADECIMENTOS

Muitos começam seus agradecimentos colocando em primeiro lugar aquilo que evoca a sua persistência em continuar caminhando. Aqui, gostaria de começar agradecendo a todas as pessoas que direta ou indiretamente me auxiliaram a realizar este sonho tão árduo e, ao mesmo tempo, maravilhoso.

À minha orientadora Dra. Priscila de Faria Pinto que disse SIM com o coração. Cientista que me acolheu e muito me ensinou! A você Priscila, saiba que a tenho como uma grande amiga, além de orientadora! Por todos os ensinamentos, parcerias, investimentos, viagens, momentos proporcionados e vivenciados juntamente com você, espero nunca esquecer. Você brilha e contagia todos a sua volta. Muito obrigado por partilhar um pedacinho de sua grandeza comigo.

Ao meu coorientador Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior, um ser humano jovem, alto astral, que muito me ensinou a cerca de Biologia Molecular e me colocou em contato com um grande grupo de analistas, num dos períodos críticos da pandemia. Você, Olavo, é um grande amigo, parceiro, de coração simples e leve! Certamente, não me esquecerei do tempo que passei junto a você e com toda a equipe do LAB. COVID-19/UFJF.

À professora Dra. Flávia Márcia de Castro e Silva e ao Dr. Erick Esteves de Oliveira que antes mesmo de me conhecerem investiram esforços para que eu pudesse ingressar na PPGCBio/UFJF.

À Carmen, uma grande querida e já amiga que me auxiliou na coleta de amostras nos Hospitais Universitários, na inativação de amostras no LAB.COVID, assim como a Lívia, Jéssica e Jucélia.

Ao professor Dr. Marcio Roberto Silva, que muito me auxiliou no entendimento de meus dados estatísticos. E por inúmeras vezes, disponibilizar tempo e paciência para a conclusão desta etapa.

Agradeço em especial a minha mãe Maria Imaculada, uma pessoa linda, jovem, merecedora de toda a felicidade que possa existir. Mulher que me ensinou a amar e a ser doce; a sonhar e a conquistar; a ver a vida de modo leve e justo. À senhora mãe, muito obrigado! Ao meu pai Valter Batista (*in memorian*) que sempre foi sinônimo de persistência, rigidez, luta e amizade. O senhor foi e será sempre lembrado por mim!

Aos meus irmãos Marcus e Vanessa, pessoas tão importantes que estiveram presentes, mesmo que de longe, na realização deste trabalho. Saibam meus irmãos

que vocês são os meus amigos de longa data e, sempre estarão em meus pensamentos, suas lindezas!!!

Ao meu companheiro, amigo, parceiro e namorado Samuel que sempre acreditou, e creditou, em meus sonhos. Aquele que sempre trouxe alegria em minha vida. Saiba meu amor, que você é o meu parceiro de todas as horas e lugares.

Aos meus tios e tias, aos meus sobrinhos, cunhados e primos que se fazem presentes e são presentes em minha vida, que entenderam os longos períodos de ausência, deixo um grande agradecimento.

A todos os professores, servidores do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, por toda troca realizada, conhecimento construído durante o curso de Mestrado.

Aos amigos obtidos no mestrado Matheus, Camila Couto, Camila Rocha, Leidinha. Obrigado pela convivência, pela parceria! Vocês são muito importantes para mim!

As minhas amigas do laboratório de Estudo de Proteínas: Beatriz, Luana, Luíza, Raíssa, Thais e aos recém-chegados Antônio, Jadhe e Marcos, que me auxiliaram em muitas etapas dessa grande pesquisa. Que, para além do trabalho de pesquisa foram morada, aconchego, troca e carinho... Muitíssimo obrigado! Vocês estarão comigo em toda a jornada de minha vida.

Por fim, agradeço a todos parceiros e órgãos de fomento: à CAPES, ao CNPQ, à FIOCRUZ Bio-Manguinhos, à Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais e aos HU's EBSEH/UFJF.

A realização dessa pesquisa não poderia existir sem o auxílio de cada pessoa e cada órgão de fomento aqui citados.

RESUMO

Avaliação da reatividade de anticorpos IgG para as proteínas S e N anti - SARS-CoV-2 em pacientes atendidos no HU-UFJF/EBSERH em Juiz de Fora

A Covid-19 é uma doença que causou uma preocupação mundial em decorrência dos altos índices de casos e óbitos ocorridos. Ela é provocada pelo vírus SARS-CoV-2, um betacoronavírus que possui em sua estrutura viral proteínas capazes de despertar a resposta imune dos indivíduos através da infecção ou da vacinação. A fim de verificar a reatividade de anticorpos IgG contra proteínas do SARS-CoV-2, um estudo de corte transversal em pacientes atendidos nas unidades do HU-UFJF/EBSERH foi realizado. Assim, soros de pacientes coletados em 2022 e 2023 foram submetidos a avaliação por ELISA para verificação da presença de anticorpos IgG contra proteínas spike e nucleocapsídeo do SARS-CoV-2. Ensaio de avididade de ligação destes anticorpos foram conduzidos com as amostras de 2023. Os resultados das análises sorológicas mostraram que mais de 90% dos pacientes produziram anticorpos IgG contra proteínas do vírus tanto em 2022 quanto em 2023. Pacientes da unidade ambulatorial possuidores de comorbidades apresentam maiores níveis de reatividade contra proteínas do vírus em comparação aos da unidade de internação. O percentual de queda da reatividade para avididade frente ao tratamento com o agente caotrópico ureia foi baixo, indicando que os anticorpos IgG totais produzidos são de alta avididade. 94,36% da população analisada em 2023 estavam imunizados com ao menos uma dose da vacinação contra a Covid-19. Tanto as amostras de 2022 quanto as amostras de 2023 apresentaram uma reatividade IgG elevada contra as proteínas do SARS-CoV-2 analisadas, com manutenção de elevada avididade. A associação destes dados podem ser bons indicadores para a verificação do desenvolvimento de imunidade protetora na população analisada.

Palavras-chave: Covid-19. Sars-CoV-2. Epidemiologia da Covid. Avididade IgG. Saúde Coletiva.

ABSTRACT

Evaluation of IgG antibody reactivity to S and N anti - SARS-CoV-2 proteins in patients treated at HU-UFJF/EBSERH in Juiz de Fora

Covid-19 is a disease that has caused worldwide concern due to the high rates of cases and deaths that have occurred. It is caused by the SARS-CoV-2 virus, a betacoronavirus that has proteins in its viral structure capable of awakening the immune response of individuals through infection or vaccination. In order to verify the reactivity of IgG antibodies against SARS-CoV-2 proteins, a cross-sectional study on patients treated at HU-UFJF/EBSERH units was carried out. Thus, sera from patients collected in 2022 and 2023 were subjected to ELISA evaluation to verify the presence of IgG antibodies against the spike and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2. Binding avidity assays for these antibodies were conducted with samples from 2023. The results of the serological analyzes showed that more than 90% of patients produced IgG antibodies against virus proteins in both 2022 and 2023. Patients in the outpatient unit with comorbidities present higher levels of reactivity against virus proteins compared to those in the hospitalization unit. The percentage of drop in avidity reactivity following treatment with the chaotropic agent urea was low, indicating that the total IgG antibodies produced are of high avidity. 94.36% of the population analyzed in 2023 were immunized with at least one dose of vaccination against Covid-19. Both the 2022 and 2023 samples showed high IgG reactivity against the SARS-CoV-2 proteins analyzed, with high avidity maintained. The association of these data can be good indicators for verifying the development of protective immunity in the population analyzed.

Keywords: Covid-19. Sars-CoV-2. Covid epidemiology. IgG avidity. Collective Health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Cladograma da ordem Nidovirales	19
Figura 2	– Evolução taxonômica da família Coronaviridae.....	20
Figura 3	– Estrutura do SARS-CoV-2	22
Figura 4	– O ciclo de vida do SARS-CoV-2	23
Figura 5	– Entrada do SARS-CoV-2 e infecção do trato respiratório.....	25
7Figura 6	– Resposta imune viral na COVID-19.....	28
Figura 7	– Painel da Covid-19 segundo a OMS.....	33
Figura 8	– Mortalidade por COVID-19 ao longo da pandemia.....	34
Figura 9	– Dados demográficos da cidade de Juiz de Fora em Minas Gerais	35
Figura 10	– Painel da Covid na cidade de Juiz de Fora – MG.....	36
Figura 11	– Kit ELISA IgG indireto EIE COVID-19.....	44
Figura 12	– Esquema detalhado do ELISA IgG indireto anti SARS-CoV-2.....	45
Figura 13	– Período de coleta e análises de amostras em Juiz de Fora.....	50
Figura 14	– Média das D.O. dos controles para os experimentos realizados.....	51
Figura 15	– ELISA global pacientes (n=207).....	52
Figura 16	– Reatividade de IgG para amostras com testagem rápida no momento de atendimento no HU.....	59
Figura 17	– Reatividade IgG no soro de pacientes submetidos ao diagnóstico para COVID-19 através da RT-PCR.....	60
Figura 18	– Ensaio preliminar de avidéz IgG em amostras de 2022.....	61
Figura 19	– Reatividade de anticorpos IgG contra proteínas S/N anti SARS-CoV-2 para o ano 2023.....	64
Figura 20	– Padronização e testagem das amostras de soros de pacientes da unidade ambulatorial do HU/EBSERH/UFJF de acordo com a concentração do agente caotrópico e tempo de incubação para detecção de avidéz de IgG S/N anti-SARS-CoV-2.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Verificação das reatividades por testagem.....	46
Tabela 2	– Características demográficas e clínicas referente a 2022.....	53
Tabela 3	– Tipos de Comorbidades - amostra de pacientes ano 2022.....	54
Tabela 4	– Dados Demográficos e clínicos das amostras em 2023	66
Tabela 4.1	– Comorbidades observados para o grupo amostral de 2023.....	67
Tabela 5	– Redução da avidéz de anticorpos IgG contra SARS-CoV-2.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE-2	– Enzima conversora da angiotensina 2
CTL	– Linfócito T citotóxico
D.O.	– Densidade ótica
DC	– Célula dendrítica
DPOC	– Doença pulmonar obstrutiva crônica
EBSERH	– Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
ELISA	– Ensaio imunoadsorvente ligado a enzima
ELISA	– Ensaio imunoadsorvente ligado a enzima
IFN	– Interferon
IL	– Interleucina
MERS-CoV	– Síndrome Respiratória do Oriente Médio – Coronavírus
NET	– Armadilhas extracelulares de neutrófilos
NK	– Célula natural killer
OMS	– Organização Mundial de Saúde
PPR	– Receptor de Reconhecimento de Padrões
RBD	– Domínio de ligação ao receptor (RBD)
RNA	– Ácido Ribonucleico
RT-PCR	– Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa
SARS-CoV-1	– Síndrome respiratória aguda grave de coronavírus
SARS-CoV-2	– Síndrome respiratória aguda grave de coronavírus 2
Tfh	– Células T foliculares
TH	– Células T helper

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
1.1.1	Família Coronaviridae.....	19
1.1.2	Biologia e replicação dos coronavírus com enfoque no SARS-CoV-2.....	21
1.1.3	Aspectos imunológicos da COVID-19.....	26
1.1.3.1	Visão geral da resposta imune inata e adaptativa contra SARS-CoV-2...29	
1.1.3.2	Formação de anticorpos e memória imunológica.....	30
1.1.3.3	Hiper inflamação em SARS-CoV2 e Comorbidades.....	32
1.1.5	Aspectos epidemiológicos da Covid-19.....	34
1.1.6	Aspectos epidemiológicos da Covid-19 na cidade de Juiz de Fora.....	36
1.1.7	Diagnóstico e detecção da Covid-19.....	37
1.1.8	Ensaio de Avidéz de IgG SARS-CoV-2.....	39
1.1.9	Justificativa.....	40
2	OBJETIVO.....	41
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1	Aprovação ética.....	43
3.2	População de estudo e estratégia experimental.....	43
3.3	Coleta de amostras e separação do soro.....	43
3.4	Detecção da Reatividade IgG por ELISA indireto.....	43
3.5	ELISA para verificação da avidéz IgG anti-SARS-CoV-2.....	46
3.6	Análises estatísticas.....	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49

	CAPÍTULO I – Reatividade de anticorpos IgG contra a COVID-19 estão relacionados a origem (ambulatorial ou internação) do paciente.....	50
	Capítulo II - Prevalência de anticorpos de alta avidéz reflete atividade protetora contra SARS-CoV-2 em ambulatório do HU-UFJF.....	63
5	CONCLUSÕES.....	72
6	REFERÊNCIAS.....	73
	ANEXOS.....	94
	ANEXO I - Aprovação pelo CEP HU-UFJF/EBSERH.....	94
	ANEXO II - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	96
	ANEXO III – Questionário de Autoavaliação – Covid-19.....	98

1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan (China), 29 pessoas foram internadas com uma pneumonia que possuía características diferentes das infecções do trato respiratório conhecidas naquele momento (H. Zhu, Wei, and Niu 2020). O causador dessa pneumonia foi identificado e classificado como um vírus pertencente à família dos coronavírus. No final de janeiro de 2020 a OMS (Organização Mundial de Saúde) decretava o surto de coronavírus da China, de preocupação internacional (D. Wang et al. 2020). Naquele momento, a pneumonia já estava presente em 18 países fora da China e havia alcançado a marca de 98 casos (WHO 2019). Em março de 2020 a OMS declarou a pandemia do coronavírus-2 (SARS-CoV-2) devido a ampla distribuição geográfica desse novo vírus (OPAS, n.d.).

A pandemia provocou a união mundial dos cientistas na tentativa de atender às múltiplas necessidades ocasionadas por esta doença. O entendimento da fisiopatologia do vírus, o atendimento especializado ao paciente, desenvolvimento de plataformas vacinais, detecção e prevenção de infecções futuras, foram e vêm sendo estudados ao longo do tempo (Weissleder et al. 2020).

Toda essa movimentação científica se intensificou em decorrência da virulência deste microrganismo. O SARS-CoV-2 já possuía uma alta taxa de replicação e rápida modificação em sua estrutura viral (mutações) ocasionado o aumento do número de óbitos, a princípio entre indivíduos não vacinados associados ou não a comorbidades (Nieto-Torres et al. 2014; R. Peng et al. 2021; D. Wang et al. 2020).

Próximo de alcançar o quarto ano da Covid-19, muitos foram os esforços científicos para combater o vírus e suas variantes, ampliação do desenvolvimento de vacinas, tratamento e de métodos de diagnósticos (Rosenberg et al. 2022; Cascella et al. 2022; R. Li et al. 2020).

Até a presente data de 22 de outubro de 2023 o Brasil possuía mais de 37,7 milhões de casos acumulados da doença e ultrapassado a marca de 704 mil óbitos (Brasil 2022), ocupando a sexta posição de casos de COVID-19 e o segundo lugar mundial quando se trata de óbitos em decorrência da doença e suas complicações (mais de 704 mil óbitos até a presente data).

Desde abril de 2022 a COVID-19 apresenta picos de retração de casos graves da infecção, em parte devido a ampla cobertura vacinal mundial, que inicialmente priorizou indivíduos que possuíam algum tipo de comorbidade (WHO 2023), isto

porque a presença de comorbidades, por si só, poderia ser um preditivo de queda da proteção ou predispor o indivíduo a infecções graves (Lim Vos et al. 2020; Alam, Kabir, and Reza 2021).

Em Juiz de Fora, quase um terço da população estava suspeita com COVID-19, superando a taxa nacional de infecção pela doença. Ao mesmo tempo, sendo uma cidade de médio porte, conseguiu alcançar mais de 93% do percentual de vacinação em 1ª dose e 87% para a 2ª dose (SESJF 2023).

Atualmente, há muitos trabalhos que buscam analisar a resposta de anticorpos contra a doença em diferentes estratos populacionais. Algumas correlações como vacinação e proteção, presença de comorbidades entre infectados e vacinados junto a análise das reatividades de anticorpos vêm sendo realizadas em decorrência da gravidade que foi o período pandêmico, e das consequências ocasionadas a nível clínico, social e econômico para o mundo (Motta Filho et al. 2021; Bagno et al. 2022; Tang et al. 2020). O emprego da 1ª dose em 2021, reduziu de 25 a 50% dos casos graves e mortes decorrentes da COVID-19. E as doses de reforço heterólogas aumentaram os níveis de proteção contra a doença, culminando em proteção inclusive para a nova variante Ômicron (Santos et al. 2023).

Outro formato de análise muito explorado está relacionado a participantes hospitalares, tanto ambulatoriais quanto internados, por serem grupos de risco em potencial para contágio, desenvolvimento e agravamento da doença (Uip et al. 2022). Nessa perspectiva, a verificação da presença de anticorpos IgG contra proteínas do SARS-CoV-2 em grupo de pacientes atendidos em ambiente hospitalar podem trazer esclarecimentos acerca da imunização dessa população.

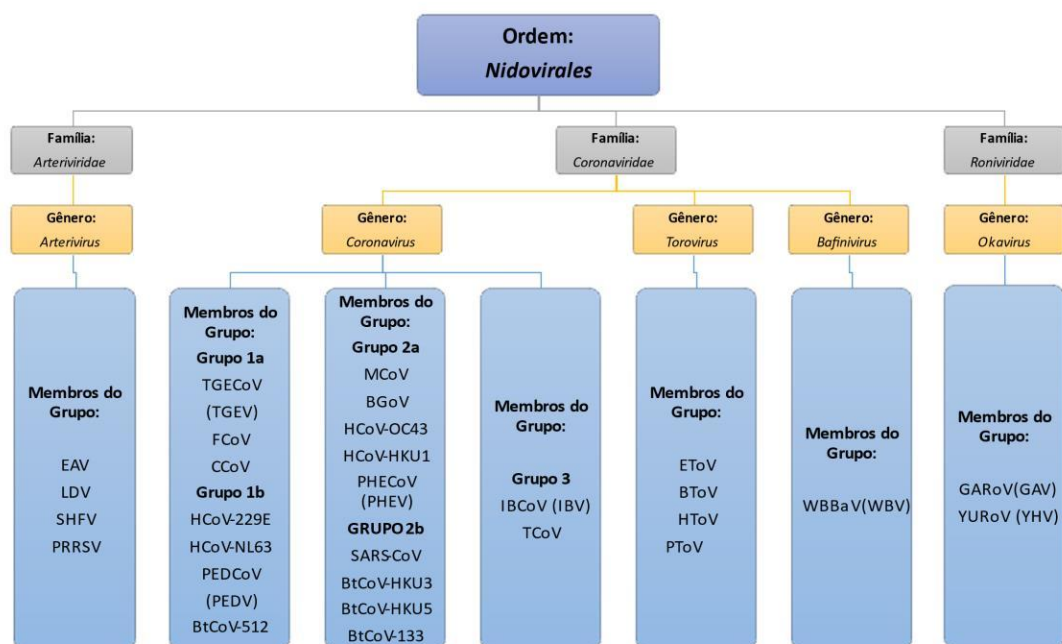
1.1 Referencial teórico

1.1.1 Família Coronaviridae

Os coronavírus são vírus já conhecidos pela comunidade científica. Entre os anos de 2002 e 2003, um surto de pneumonia grave, provado pelo SARS-CoV-1, foi relatado na província de Guangdong (China), sendo relatado sua presença, concomitantemente, no Vietnã, Hong Kong, Canadá e outros países (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2003) e, em 2012 o MERS-CoV – *Síndrome Respiratória do Oriente Médio – Coronavírus*, outro vírus da linhagem zoonótica β -CoV responsável por uma doença respiratória aguda, que em sua maioria, era acompanhada da síndrome do desconforto respiratório e insuficiência respiratória aguda foi relatada na Jordânia e Arábia Saudita (Zaki et al. 2012).

Os vírus da família *Coronaviridae* possuem um RNA fita simples com polaridade positiva. Sendo agrupados na ordem *Nidovirales* também compõem as famílias *Arteriviridae*, e *Ronoviridae* (figura 1). A família *Coronaviridae* é considerada o maior grupo de vírus dessa ordem com genoma conservado tendo a capacidade de infectar uma ampla quantidade de animais desde aves a mamíferos (Codo et al. 2020; Dolja and Koonin 2018).

Figura 1: Cladograma da ordem Nidovirales

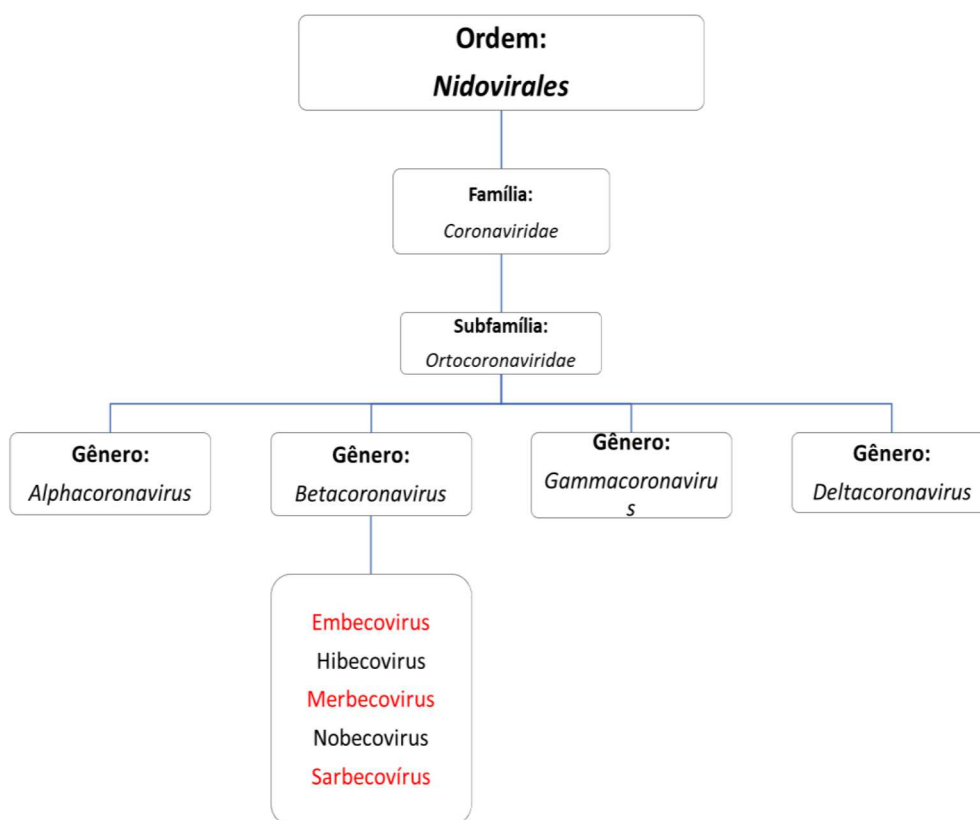


São apresentados os integrantes das famílias Arteriviridae, Coronaviridae, Ronoviridae.

Fonte: Enjuanes et al. (2008) (adaptado).

O nome coronavírus está associado a projeções semelhantes a picos de glicoproteínas presentes na superfície das membranas destes vírus, uma espécie de coroa quando observado ao microscópio eletrônico (Lan et al. 2020). O SARS-CoV-2 é um betacoronavírus (figura 2) pertencente a subfamília *Orthocoronaviridae*, e se subdividem em cinco gêneros: *Alfa*, *Beta*, *Gama*, *Delta* e *Omicron coronavírus* (Zmasek et al. 2022).

Figura 2 – Evolução taxonômica da família Coronaviridae



Foi destacado os subgêneros Merbecovirus e Sarbecovirus (*em vermelho*) – grupos que abrigam o MERS-CoV, o SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2, causadores de doenças de preocupação nacional e internacional, sendo o último causador da pandemia de COVID-19.

Fonte: Zmasek et al. 2022 (adaptado).

O genoma do SARS-CoV-2 é composto por aproximadamente 30.000 nucleotídeos. Sua configuração 5' com a cauda poli-A 3' (sentido 5' – 3') permite que o RNA destes vírus exerça a função de RNA mensageiro (mRNA) para a tradução de poliproteínas (D. Wang et al. 2020; N. Zhu et al. 2020). A maior parte do genoma do coronavírus é formada por proteínas não estruturais, responsáveis pela produção de

duas poliproteínas sobrepostas: as poliproteínas pp1a e pp1ab. Após degradação enzimática elas geram um resíduo de 15 proteínas não estruturais necessárias para a replicação e transcrição viral (Fehr and Perlman 2015; Mittal et al. 2020).

Apenas 10kb de nucleotídeos são responsáveis pela produção de proteínas estruturais e acessórias. A organização genômica do coronavírus é disposta em 5' - líder-UTR-replicase-S(spike)-E(envelope)-M(membrana)- N(nucleocapsídeo) - 3'UTR poli-A, possuindo genes acessórios entre estes genes estruturais na extremidade 3' (Fehr and Perlman 2015; W. Wang et al. 2020; N. Zhu et al. 2020). Ademais, nove proteínas acessórias são responsáveis por neutralizar a imunidade do hospedeiro durante a infecção (Fehr and Perlman 2015).

As proteínas estruturais são responsáveis pela entrada do vírus no hospedeiro, fusão de membranas, montagem do vírion, morfogênese e liberação de partículas virais, enquanto as proteínas não estruturais estão relacionadas à replicação viral e transcrição (Hofmann and Pöhlmann 2004). Podem ser chamadas de proteínas estruturais, as proteínas da espícula (S), da membrana (M), do envelope (E) e do nucleocapsídeo (N), respectivamente (Siu et al. 2008).

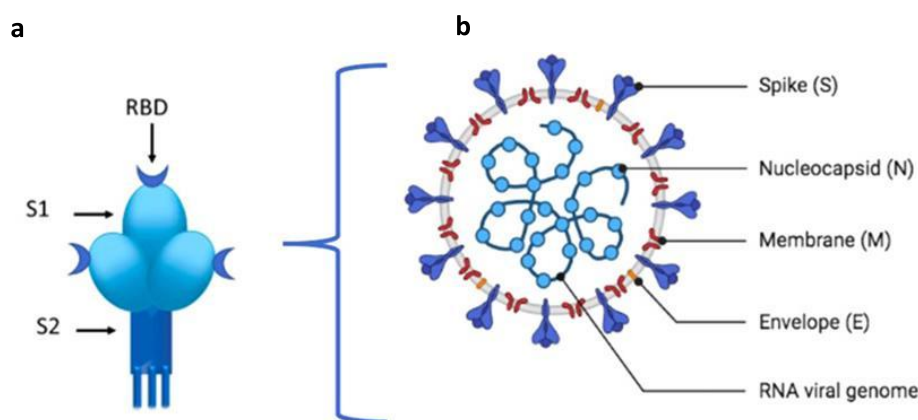
1.1.2 Biologia e replicação dos coronavírus com enfoque no SARS-CoV-2

Os coronavírus (figura 3) infectam as células do hospedeiro através da proteína S quando há fusão de vírions a receptores celulares de superfície presentes nas células alvo. Ou a sua entrada ocorre por meio de uma via endocítica a depender da cepa viral e da célula parasitada (Hofmann and Pöhlmann 2004; W. Wang et al. 2020; Zeng et al. 2020).

Após alcançar o citoplasma ocorre a remoção do capsídeo viral e liberação do RNA genômico no citoplasma, ficando disponível para a tradução. As regiões organizadoras estão dispostas em regiões 5' codificadoras de proteínas não-estruturais e, em regiões codificadoras de proteínas estruturais 3', na proporção 2 para 1, respectivamente (Q. Wang et al. 2020).

O mRNAs subgenômicos codificam as principais proteínas estruturais do vírus, incluindo a proteína spike (S) (figura 3a), proteína do envelope (E) proteína de membrana (M), proteína do nucleocapsídeo (N) (figura 3b), além das proteínas acessórias.

Figura 3 – Estrutura do SARS-CoV-2.



a) Estrutura da proteína *spike* S com suas respectivas subunidades S1, S2 e domínio de ligação ao RBD. b) Componentes estruturais presentes em um vírion do SARS-CoV-2.

Fonte: Artik et al. (2022); Mayi et al. (2021).

A proteína S é uma glicoproteína de fusão viral de classe I e possui mais de 1200 (mil e duzentos) resíduos de aminoácidos. Ela é composta por duas subunidades proteicas principais associadas não-covalentemente: proteínas S1 e S2. A ação de furinas permite que estas subunidades sejam clivadas para que ocorra a ligação junto aos receptores do hospedeiro. A subunidade S1 é responsável pela ligação entre o ligante viral e o receptor celular, enquanto a subunidade S2 está relacionada com a fusão de membranas após a ativação protéica (Lan et al. 2020; Walls et al. 2020).

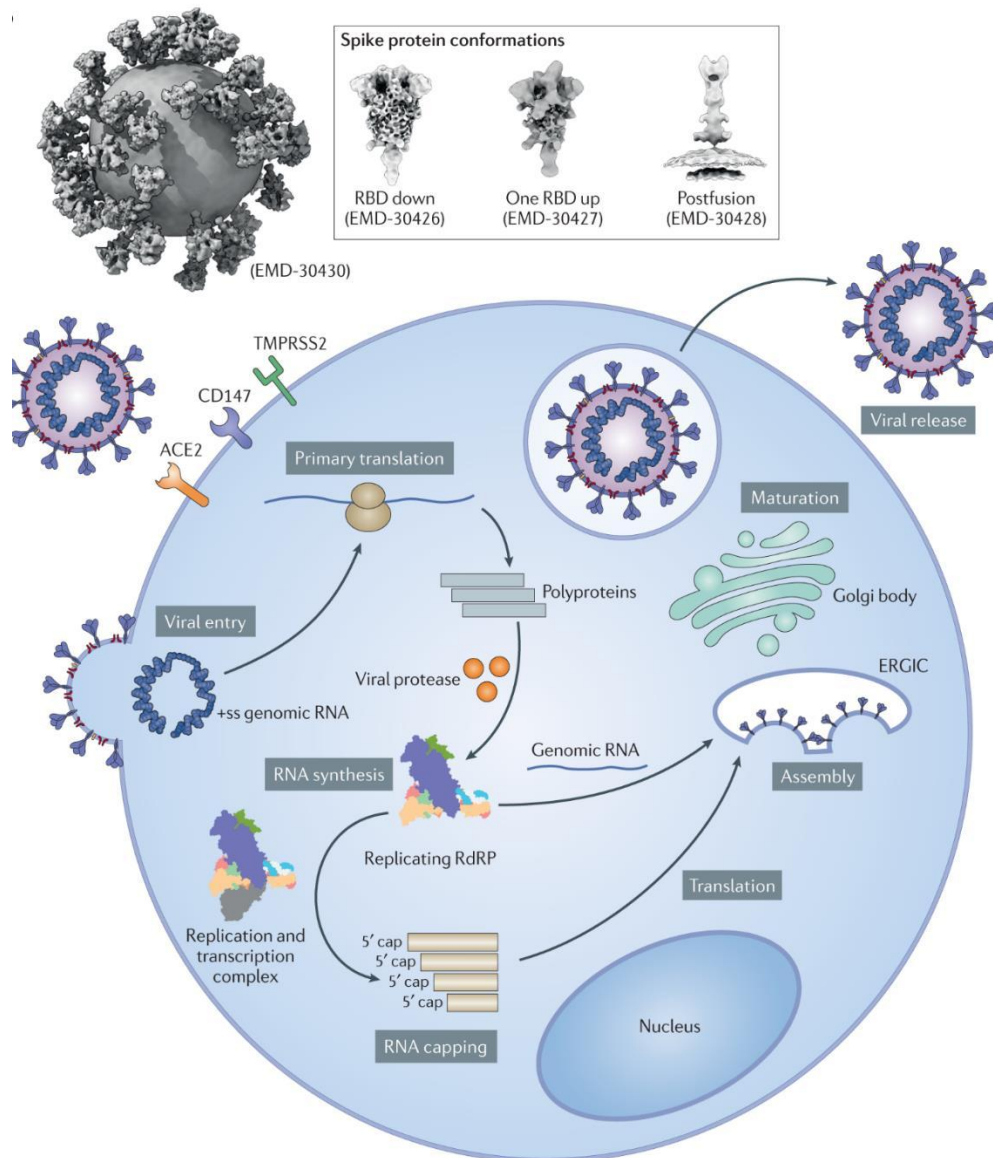
É no domínio S1 que se observa a presença do RBD (um subdomínio de ligação ao receptor ACE-2). O RBD possui dois subdomínios, um motivo de ligação ao receptor e uma estrutura central (Fehr and Perlman 2015). A proteína S é montada como um homodímero e múltiplas cópias são depositadas na membrana celular do vírion, dando-lhe a aparência de uma coroa (Shang et al. 2020).

A interação entre o receptor por glicoproteínas de entrada viral induz modificações na conformação tridimensional de ambas as subunidades que unem as membranas (viral e celular) originando um poro de fusão permitindo, dessa maneira, que o genoma viral seja liberado no citoplasma do hospedeiro (Matsuyama et al. 2010; Shulla et al. 2011).

Durante o processo de entrada no hospedeiro (figura 4), a proteína S sofre ação de proteases que a decompõe em suas subunidades. A subunidade S₁ pode ser

dividida no domínio amino terminal (NTD) e domínio carboxi-terminal (CTD). O domínio C-terminal é responsável por se ligar a enzima conversora da angiotensina-2 (ACE-2) – denominando-se domínio de ligação ao receptor (RBD) (Hoffmann, Kleine-Weber, and Pöhlmann 2020; Q. Wang et al. 2020).

FIGURA 4 – O ciclo de vida do SARS-CoV-2



O SARS-CoV-2 infecta células hospedeiras através de uma via de endocitose mediada por enzimas conversoras da angiotensina-2 (ACE2). Incluindo entrada, replicação e transcrição, montagem e liberação viral.

Fonte: Paíro-Castineira et al, 2021 (adaptado).

A subunidade S₂ é a porção fusogênica do pico. Ela é formada pela região de hélice a montante (UH), peptídeo de fusão (FP), nas repetições do heptal 1 e 2 (HR1 e HR2) no domínio central (CD), no domínio transmembranar (TM), e na cauda citoplasmática (CP). A subunidade S₂ não apresenta o domínio de ligação aparente na região N-terminal sendo protegidas pelo domínio UH, necessitando uma segunda decodificação para expor o FP (Clausen et al. 2020; Kim et al. 2020; Watanabe et al. 2020). Essa proteólise para a decodificação de S₂ é um fator crucial para a remoção do UH, permitindo alterações irreversíveis na estrutura conformacional da máquina de fusão S₂ e, desse modo, iniciar a fusão de membrana (Kim et al. 2020; Mayi et al. 2021).

Na infecção pelo vírus SARS-CoV-2, o receptor da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE-2) é o principal responsável pela ligação à subunidade S₁. A ACE-2 é uma cboxipeptidase ligada ao endotélio que pode ser clivada por diferentes metaloproteases. Ela está altamente expressa em vários órgãos, como: coração, pulmões, rins, endotélio vascular e órgãos digestivos. Baixos níveis no soro de ACE-2 estão associados a alta expressão de angiotensina II, observado em indivíduos COVID-19 sintomáticos (Bojkova et al. 2020).

O domínio de ligação RBD da proteína S pode assumir diversas conformações. Ele se apresenta no estado de pré-fusão em conformação fechada ou se apresenta em conformação aberta (exposta para a ligação ao ACE-2) (Shang et al. 2020; Cascella et al. 2022). Como as interações entre os receptores e a porção trimérica ocorrem de modo não sincronizado, ACE-2 e um RBD podem ativar a mudança conformacional de um RBD fechado para um estado aberto, permitindo a entrada viral (Bangaru et al. 2020; Benton et al. 2020; Cai et al. 2020).

Embora o SARS-CoV-2 utilize o ACE-2 como principal receptor de entrada na célula, existem outras moléculas envolvidas na entrada do vírus, como AXL (receptor de tirosina quinase em tecidos pulmonares e brônquicos) e KREMEN1 (proteína contendo Kringle – marcador da proteína 1 do nariz e do olho) (Lukassen et al. 2020), dentre outras (Puelles et al. 2020; T. Zhou et al. 2020).

Além da proteína S e receptores associados, existem outras proteínas estruturais importantes para a multiplicação viral como a glicoproteína M, uma proteína transmembrana com uma porção amino-terminal exterior ao vírus e uma porção carboxi-terminal no interior do vírion. Essa proteína possui 222 aminoácidos com três domínios de membrana N-terminal, tendo a capacidade de se ligar a todas

as outras proteínas e de estabilizar as proteínas N. A glicoproteína M modula a localização e o processamento pós - traducional da proteína S para montagem do vírions (Neuman et al. 2011; Siu et al. 2008). Ademais, a proteína M pode interferir na sinalização mediada pelo sistema imune inato para descoberta de patógenos intracelulares (Lim Vos et al. 2020; Sui et al. 2021).

A proteína E é uma proteína transmembrana. Ela possui variações entre as classes dos coronavírus. Entretanto, conserva uma estrutura básica comum. A presença dessa proteína viral parece facilitar a entrada e liberação dos vírions nas células, aumentando sua patogenicidade (DeDiego et al. 2007; Maeda et al. 2001). Essa proteína se apresenta como uma estrutura pentamérica em forma de poro iônico, auxiliando na maturação e produção viral, sendo utilizado como marcador de virulência (Torres et al. 2006; Ye and Hogue 2007): a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) ocasionada por danos ao epitélio pulmonar de pessoas infectadas no SARS-CoV-2, foi associada a presença da proteína E. Ela ativa citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF e IL-6 ocasionando uma resposta inflamatória aguda no parênquima pulmonar (Nieto-Torres et al. 2014). A proteína E do SARS-CoV-2 se liga a proteína de junção estreita PALS1, retardando a formação de junções estreitas e alterando a morfologia e polaridade das células epiteliais, sendo determinante para a ruptura do epitélio pulmonar em pessoas infectadas com o vírus (Teoh et al. 2010).

A proteína N é a única proteína do nucleocapsídeo composta por dois domínios separados - um carboxi-terminal e um domínio amino terminal capaz de se ligar de modo distinto ao RNA viral, servindo como potente antígeno para a imunidade do hospedeiro (D. Peng et al. 1995). A função da proteína N se relaciona diretamente com a entrada na célula alvo, ligação ao genoma do RNA viral e formar o núcleo da ribonucleoproteína (Zeng et al. 2020). A ela também é atribuído a função da ativação do inflamassoma NLRP3, responsável para indução de hiperinflação pulmonar, pela inflamação de macrófagos e células dendríticas, resultando na expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias geradora de lesão tecidual pulmonar (Pan et al. 2021).

Ao longo destes quatro anos de pandemia, o SARS-CoV-2 acumulou em seu genoma modificações consideráveis. Muitas dessas novas cepas mutantes são classificadas como variantes de preocupação internacional (VOCs) (Wurtzer et al. 2022). De acordo com a OMS (2023), as alterações encontradas nessas variantes modulam as propriedades do vírion quanto ao aumento de sua transmissibilidade,

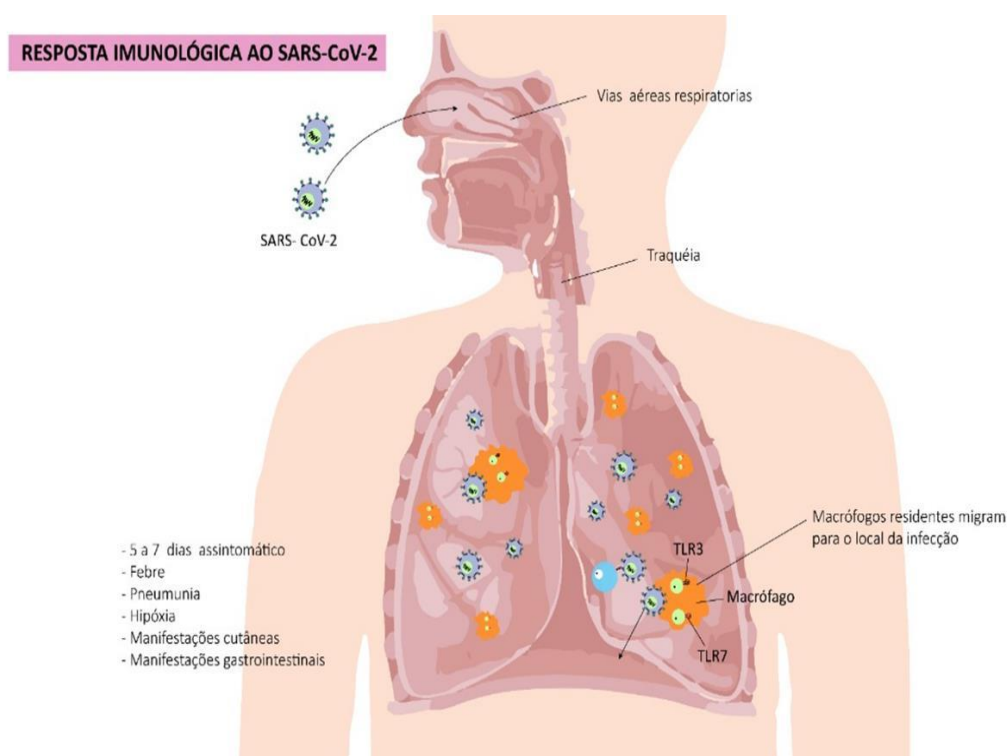
virulência e diminuição da eficácia nos diagnósticos, vacinas e terapias disponíveis. Desde fevereiro de 2023 a variante de maior preocupação internacional é a XBB.1.5, um recombinante de duas linhagens descendentes de BA.2 da Ômicron. Entretanto as linhagens BA.1, BA.3, BA.4, BA.5, seus descendentes e recombinantes se encontram em circulação (WHO 2023). Existem, ainda, outras VOCs anteriormente classificadas que circulam em todo o mundo, como as linhagens Alfa - B.1.1.7, Beta – B.1.351, Gama – P.1, Delta – B.1.617.2 e seus respectivos descendentes (Rambaut et al. 2020)

1.1.3 Aspectos imunológicos da COVID-19

As etapas iniciais relacionadas ao contágio e infecção pelo vírus ocorrem quando pessoas saudáveis têm contato com gotículas aerossóis emitidas por pessoas infectadas com o SARS-CoV-2 (figura 5) (Coutard et al. 2020). Apesar de algumas pessoas não apresentarem sintomas pós contágio, em sua maioria entre 4 – 7 dias após exposição a presença de tosse, febre, diarreia, dispnéia são indicativos da doença (Hoffmann, Kleine-Weber, and Pöhlmann 2020).

Dentre os sintomas associados à infecção, a ocorrência de dispneia (falta de ar) é uma das manifestações mais graves relatadas (Le Coupanec et al. 2015; H. Zhou et al. 2020). Essa baixa saturação de oxigênio, conhecida como hipoxemia, evolui para a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) marcado por lesões no tecido pulmonar decorrentes da inflamação, extravasamento vascular pulmonar e perda do tecido aerado (Millet and Whittaker 2014; Suzuki et al. 2020).

Figura 5 - Entrada do SARS-CoV-2 e infecção do trato respiratório



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

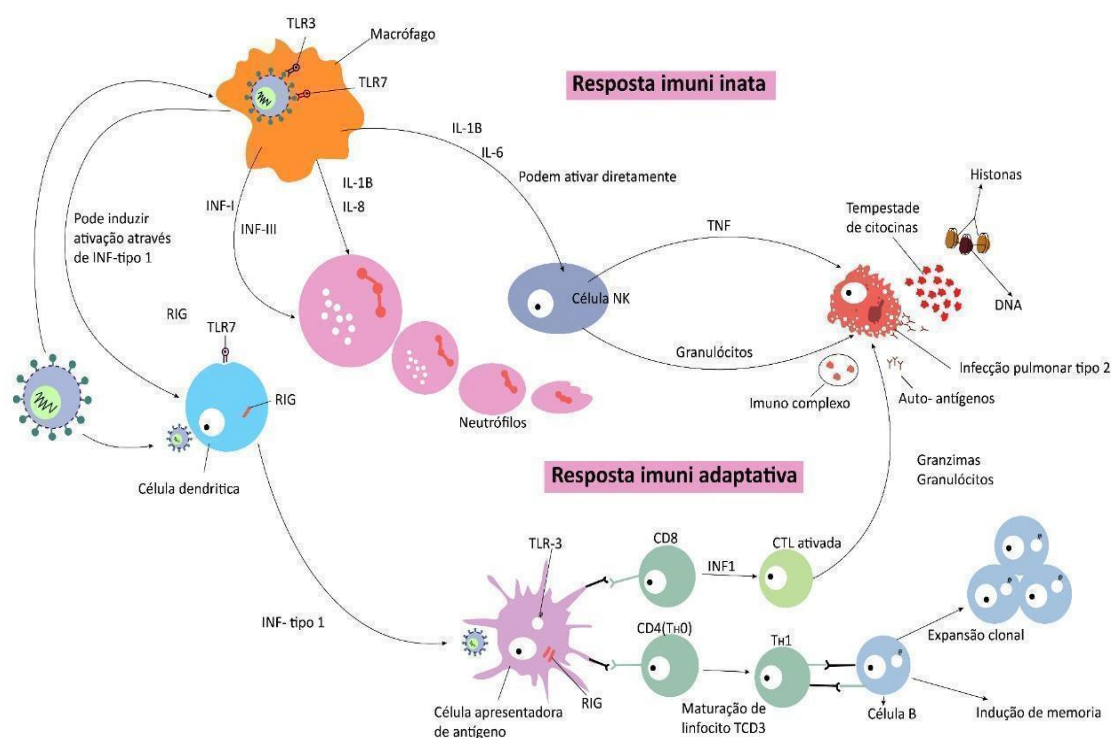
O vírus ao atacar as células alveolares provoca o rompimento do epitélio alveolar levando a lesões exsudativas e a produção de fibroses que os impedem de acumular fluidos inflamatórios, entretanto limita a trocas de oxigênio. Desse modo, auxiliando na formação de trombos de fibrina, nos casos mais graves, estando diretamente associados aos quadros de óbito (Iba et al. 2020; Tang et al. 2020).

Na Covid-19 monócitos e macrófagos estão altamente expressos (figura 6). Em pacientes COVID-19 leve, os níveis de HLA-DR (um receptor de superfície celular análogo ao MHC-II que se liga às células T) se encontram aumentados em monócitos inflamados, assim como IL-1 β , IL-6, células dendríticas, quimiocinas como CCL7, CCL8, CC13, células NK. Em pacientes graves há uma baixa expressão de HLA-DR, baixos níveis de células T, DCs plasmocitóides e mielóides, mostrando uma alteração na função dos monócitos (Herold et al. 2020; Schulte-Schrepping et al. 2020; Venet et al. 2021; Zuo et al. 2021). Além disso, quando uma pessoa desenvolve a Covid-19 grave há possibilidade de lesões em órgãos extrapulmonares como lesões cardíacas, hepáticas e renais, podendo apresentar coagulopatia e choque (Pinto et al. 2020; Yang et al. 2020).

Normalmente, como primeira etapa as células imunes inatas detectam a infecção viral por meio de padrões moleculares derivados dos vírus (PAMPs), como o RNA viral, proteínas de membrana, dentre outros (Rashid et al. 2022). Os PAMPs se ligam e ativam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) resultando na ativação de células imunes reconhecidas pelos receptores do tipo Toll-like (TLR) 3 e 7 e/ou por sensores de RNA citoplasmático, chamados de gene I indutível por ácido retinóico (RIG-I) e proteína 5 associada à diferenciação de melanoma (MDA5) (Yin et al. 2021).

A ativação de TLR 3 e 7 resultam na translocação dos fatores de transcrição NFkB e do fator regulador do interferon 3 (IRF3), enquanto a ativação de RIG-1/MDA5 promove a ativação de IRF3 ocasionando a expressão aumentada de IFN e outras citocinas pró-inflamatórias inatas (IL-1, IL-6, TNF- α) ocasionando a fosforilação dos fatores de transcrição da família STAT 1 e 2, enquanto a ativação do receptor de IL-1, IL-6 e TNF alimentaria a expressão de citocinas pró-inflamatórias através de fator de transcrição NFkB (Sui et al. 2021; Yin et al. 2021).

FIGURA 6 – Resposta imune viral na Covid-19



Ações do sistema imune inato e adaptativo em resposta à doença Covid-19. Os principais receptores são mostrados no esquema.

Fonte: Adaptado de Chau et al. (2021)

1.1.3.1 Visão geral da resposta imune inata e adaptativa contra SARS-CoV-2

Os macrófagos residentes são os primeiros respondedores antivirais da imunidade inata, sendo ativados por PRRs (receptores de reconhecimento de padrões). As células dendríticas plasmocitóides (pDCs) em seguida migram dos tecidos linfóides proximais para o local da infecção, ativando as células envolvidas na imunidade inata e adaptativa (Frieman, Heise, and Baric 2008). O reconhecimento viral inato desencadeia uma cascata de sinalização induzindo citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, fator de necrose tumoral α (TNF- α) mediadas pelo fator nuclear κ B (NF- κ B) nesta fase. Além dessas citocinas, o reconhecimento de patógenos via PRRs ativam cascatas intracelulares dentro das pDCs que produzem citocinas chamadas de interferon do tipo I (IFN-I) e do tipo III (IFN-III (figura 6) (Frieman, Heise, and Baric 2008).

O IFN-I liga-se ao receptor do IFN tipo I resultando em centenas de genes ativados que interferem em cada replicação viral (Perlman and Netland 2009; Park and Iwasaki 2020). IL-1 β contribui para a atividade de neutrófilos, enquanto a IL-6 induz a diferenciação de células T, ativação de fibroblastos, angiogênese, produção de colágeno, ativação e maturação de células B. As células NK reconhecem o tecido hospedeiro lesado e induzem a necrose de células infectadas, sua chegada atenua a replicação viral, enquanto aguarda a formação dos CTL's que fornecem um ataque mais direcionado e eficaz contra o vírus (Katsura et al. 2020; Konno et al. 2020).

As células TCD 8+ são essenciais para eliminação de várias infecções virais, atacando e eliminando as células infectadas. A presença de células TCD8+ específicas contra o vírus tem sido associada a melhores resultados de COVID-19. Assim como nas células TCD 4+, as respostas TCD 8+ contra o vírus são elicitadas rapidamente durante o processo de COVID-19 aguda. Epítomos HLA de classe I são capazes de identificar uma gama de respostas das células TCD 8+ contra o SARS (R. Peng et al. 2021; Rydyznski et al. 2020).

Células TCD8+ *naive* são atraídas a partir da secreção de IL-6 e são ativadas para se tornarem CTLs via apresentação cruzada por MHC-I (figura 6). Os CTLs liberam TNF, enzimas citolíticas e proteínas para induzir a apoptose em células infectadas. Os CTLs liberam TNF, enzimas citolíticas e proteínas para induzir a apoptose em células infectadas. Os CTLs também liberam interferon γ (IFN-II) para aumentar a resposta antiviral. Simultaneamente, células TCD4+ *naive* tornam-se

ativadas por meio de interação do MHC-II com os antígenos apresentados pelas células dendríticas. Essas células T CD4⁺ auxiliares interagem com células T CD8⁺ *naïve* ativando-as (Tan et al. 2021).

Para manter a homeostase imunológica, as células TCD4⁺ auxiliares (TH) podem aumentar ou diminuir a inflamação. JAKs (*Janus ativando quinases*) e a família STAT (ativadores transcrpcionais) desempenham um papel na sinalização de citocinas e determinam a diferenciação de células T em células TH1, produzindo IFN – II (Yamaoka et al. 2004). Outras células T CD4⁺, como células T reg (IL-10), células TH 17 (IL-17) e células TH 2 (IL-4), neutralizam as células TH 1. IL-17 aumenta a produção de substâncias antimicrobianas, induz inflamação de neutrófilos e inibe a diferenciação de TH 1 (Moss 2022; Stephens and McElrath 2020).

1.1.3.2 Formação de anticorpos e memória imunológica

A imunidade adaptativa fornece proteção específica contra o vírus, reparando a infecção, proporcionando memória longa e reparo tecidual. As células B amadurecem em células plasmáticas de longa vida dentro do tecido linfóide. Diferentes classes de anticorpos, como IgM, IgA, IgG e IgE, estão associadas às respostas imunes de infecções virais. Após exposição viral, IgD e IgM são os primeiros anticorpos a serem produzidos (Long et al. 2020). Os anticorpos IgG surgem mais tardiamente, devido ao período necessário para maturação de afinidade adquirida de alta avidéz e capacidade de bloqueio mais potente do vírus. Elas são ativadas com a ajuda de células dendríticas foliculares, macrófagos e células TCD4⁺ especializadas – células T foliculares auxiliares (TFH) (Oja et al. 2020).

Na COVID-19 a resposta viral possui uma associação entre a extensão da imunidade de células T e a resposta humoral em indivíduos convalescentes. Pacientes COVID-19 grave apresentaram níveis diminuídos de hipermutação somática em genes da porção variável da cadeia pesada das células TCD4⁺ nas semanas iniciais após a infecção, indicando maturação retardada da imunoglobulina, podendo contribuir para a disseminação viral e maior resistência do SARS-CoV-2 no paciente (Bhaskar et al. 2020; Woodruff et al. 2020).

As células TCD4⁺ têm a capacidade de direcionar a produção de células B de memória, auxiliar às células TCD8⁺ a recrutar células inatas, atuar como agente antiviral direto e reparar os danos teciduais. Geralmente, as TCD4⁺ se diferenciam

em um padrão Th1 e T auxiliares foliculares (Tfh), em resposta a presença de IFN- γ e citocinas relacionadas. As células Tfh auxiliam as células B e são essenciais ao desenvolvimento da maioria das respostas de anticorpos neutralizantes, células B de memória e imunidade humoral (Crotty 2019).

A maioria das pessoas infectadas ou vacinadas apresentam anticorpos contra o vírus num prazo de 5 a 15 dias (Long et al. 2020; Suthar et al. 2020). Os antígenos do nucleocapsídeo e da proteína spike são os primeiros a serem analisados e altamente correlacionados com os títulos de anticorpos IgG (Piccoli et al. 2020). A proteína Spike é o alvo dos anticorpos neutralizantes e o RBD do Spike é o alvo de mais de 90% dos anticorpos associados a COVID-19 (Pairo-Castineira et al. 2021; Piccoli et al. 2020; Suthar et al. 2020). IgG, IgA e IgM desenvolvem-se simultaneamente em pessoas contaminadas (Isho et al. 2020).

Os anticorpos neutralizantes se desenvolvem no mesmo período da soroconversão (Anderson et al. 2021; Ng et al. 2020). Dessa maneira, os epítomos neutralizantes no domínio RBD correspondem à ligação com o receptor ACE2 e, parecem ser altamente imunogênicos e amplamente reconhecidos pelos anticorpos produzidos (Dan et al. 2021; Robbiani et al. 2020).

1.1.3.3 Hiper inflamação em SARS-CoV2 e comorbidades

A presença de marcadores moleculares como IL-6, aumento dos dímeros D, proteína C reativa, LDH indicam presença de doenças graves e risco de mortalidade. Os níveis de IL-1 β mais atrasados se correlacionam com o aumento da morbidade e mortalidade. Estes marcadores passaram a representar a tempestade de citocinas na COVID-19, um fenômeno que causa inflamação sistêmica (Meftahi et al. 2020; Nieto-Torres et al. 2014; Wong et al. 2004).

Em SARS-CoV-2 o pico de IFN-I está atrasado e isso é associado a citocinas e quimiocinas pulmonares elevadas, extravasamento vascular, resposta prejudicada de células T, ocasionando o atraso no recrutamento de neutrófilos (Pairo-Castineira et al. 2021). Os neutrófilos liberam leucotrienos, ROS (espécies reativas de oxigênio) e NETs (armadilhas extracelulares de neutrófilos). NETs são estruturas semelhantes a uma rede compostas de DNA, proteínas associadas e enzimas, e vem sendo implicadas na iniciação, propagação da inflamação e trombose na COVID-19 (Wrapp et al. 2020).

Níveis mais baixos de interferon levam a ativação mais lenta de macrófagos e redução de neutrófilos iniciais de recrutamento. Essa resposta inicial diminuída, resulta em cargas virais mais altas, levando a estimulação imunológica. Há uma menor produção de células NK periféricas e, provavelmente, há uma menor expressão de granzima e perforina. Esses atrasos, implicam em uma maior demora na ativação de células T (Tufan, Avanoglu-Guler, and Matucci-Cerinic 2020).

Conforme a doença avança em pacientes gravemente enfermos, a lesão respiratória segue seu curso natural passando por três fases: exsudativa, proliferativa e fibrótica. Na fase exsudativa fatores do complemento induzem neutrófilos a formar mediadores que ativam a cascata de coagulação e recrutam plaquetas. C5a e outras moléculas produzidas durante a ativação do complemento – principais contribuintes para a hipercoagulabilidade. Interações desordenadas entre monócitos e macrófagos, células endoteliais ativadas que expressam fator de tecido e deficientes a fibrinólise também contribuem para a coagulopatia (Adrover et al. 2020; Sefik et al. 2022).

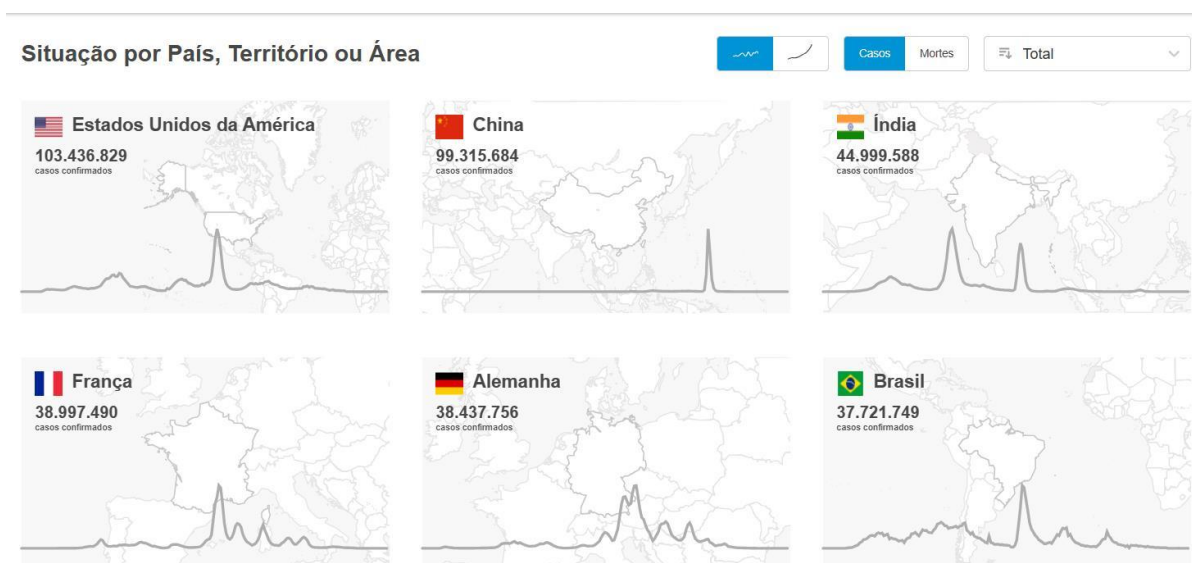
Os eventos trombóticos ocorrem com maior frequência em pacientes gravemente enfermos com COVID-19. A trombose resulta em danos a múltiplos órgãos e contribui para a mortalidade. Pacientes com este perfil apresentam uma conjunção de fatores de risco, como: idade, obesidade, sepse, falências respiratória e cardíaca, além de fatores da UTI, como sedação, imobilização, vasopressores, cateteres venosos centrais (Chau et al. 2021).

1.1.5 Aspectos epidemiológicos da Covid-19

A Covid – 19 se instalou no mundo a partir da notificação de unidades de saúde na cidade de Wuhan, na China (Corman et al. 2020; Hui et al. 2020). No final de dezembro a OMS foi informada desse quadro infeccioso que ocorria em Wuhan. Ao longo destes quatro anos de pandemia da Covid-19 mais de 771 milhões de casos confirmados, incluindo 7 milhões mortes aproximadamente, foram confirmadas até a presente data de 22 de outubro de 2023 (WHO 2023).

Análises da distribuição da covid-19 ao longo dos continentes mostraram que o maior quantitativo de pessoas acometidas era provenientes dos continentes Europeu, Pacífico Ocidental e Americanos (WHO 2023). E os seis maiores países com incidência da doença foram: Estados Unidos da América, China, Índia, França, Alemanha e Brasil (figura 7).

Figura 7 – Painel da Covid-19 segundo a OMS

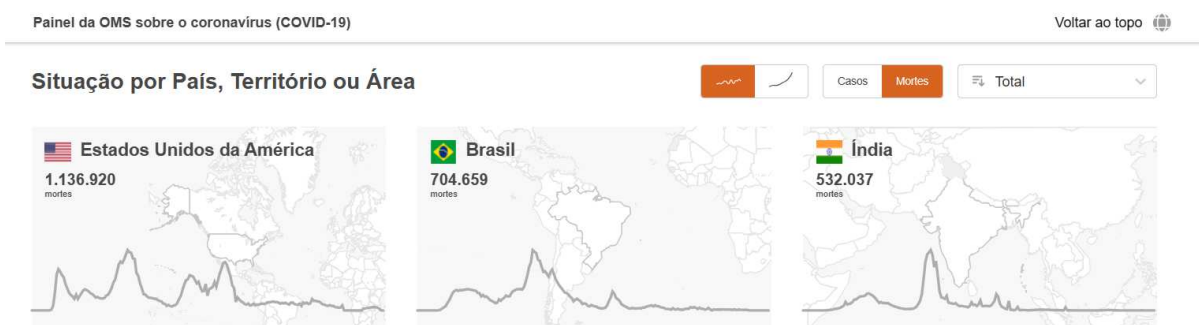


Nota-se que o Brasil ocupa o 6º lugar com maior incidência de casos.

Fonte: WHO (2023).

Avaliando isoladamente a média de mortes acumuladas ao longo destes anos, o Brasil ocupa a segunda posição apresentando a maior taxa de mortalidade em decorrência da doença e suas complicações, mesmo após a implementação da vacinação.

Figura 8 – Mortalidade por Covid-19 ao longo da pandemia



Fonte: WHO (2023).

O Brasil possui pouco mais de 203 milhões de habitantes (precisamente 203.062.512 de pessoas) (IBGE 2022). O primeiro caso de Covid-19 foi registrado em fevereiro de 2020. A distribuição da doença se deu de forma semelhante ao que era observado em outros países (ANVISA 2020), entretanto, o maior índice de casos da doença foi registrado a partir de março daquele ano (BRASIL 2020). Naquele período, as notificações de novos casos de Covid-19 giravam em torno de 1,400 a 2000 casos (média móvel) chegando a picos de mais de 4000 casos por dia (Secretaria de Vigilância em Saúde 2020).

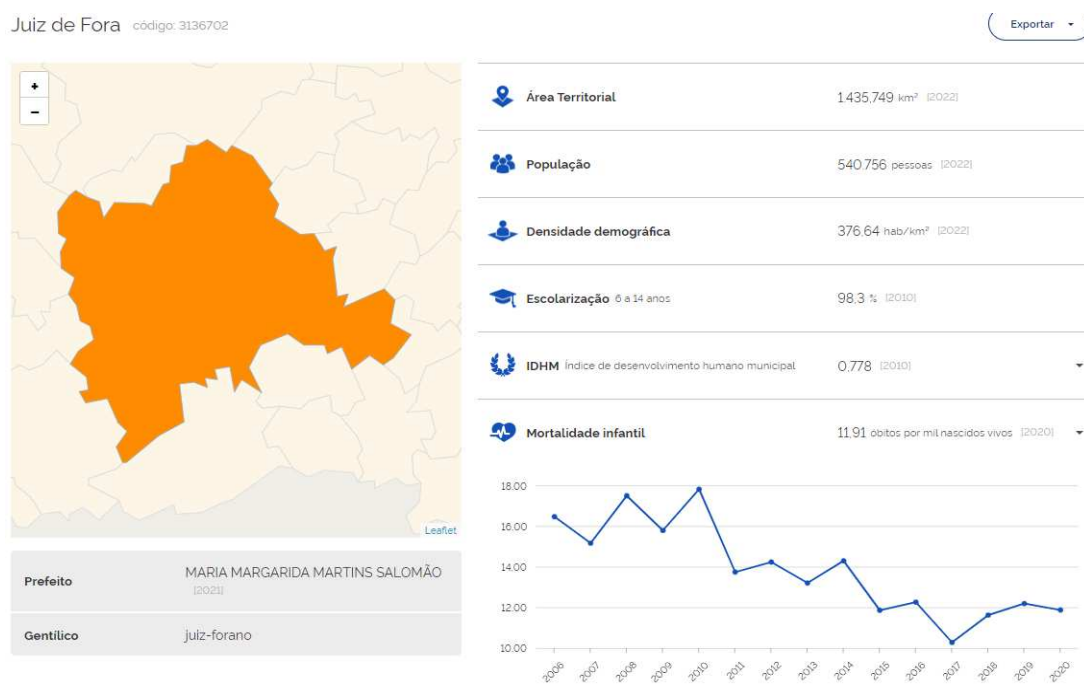
Regionalmente, ao serem analisados os dados do estado de Minas Gerais – Brasil, quase 4,2 milhões de casos foram confirmados de COVID-19 e aproximadamente 66 mil óbitos foram registrados até a data de 14 de outubro de 2023 (SESMG 2023).

1.1.6 Aspectos epidemiológicos da Covid-19 na cidade de Juiz de Fora

Juiz de Fora é um município brasileiro localizado no interior da Zona da Mata de Minas Gerais e está situada a aproximadamente 283 km da capital do estado. O município surgiu de uma estrada batizada “Caminho Novo”, no ano de 1850, construída pela Coroa Portuguesa para facilitar o escoamento de ouro até o porto de Rio de Janeiro. Em 1853 é elevada à categoria de cidade e em 1865, recebe o nome de Cidade do Juiz de Fora (Oliveira 2004).

A cidade de Juiz de Fora, possui uma área territorial de 1.435.749km²(IBGE 2022), com população de 540.763 pessoas, e IDHM de 0,778 (figura 9) (IBGE 2022).

Figura 9 – Dados demográficos da cidade de Juiz de Fora em Minas Gerais



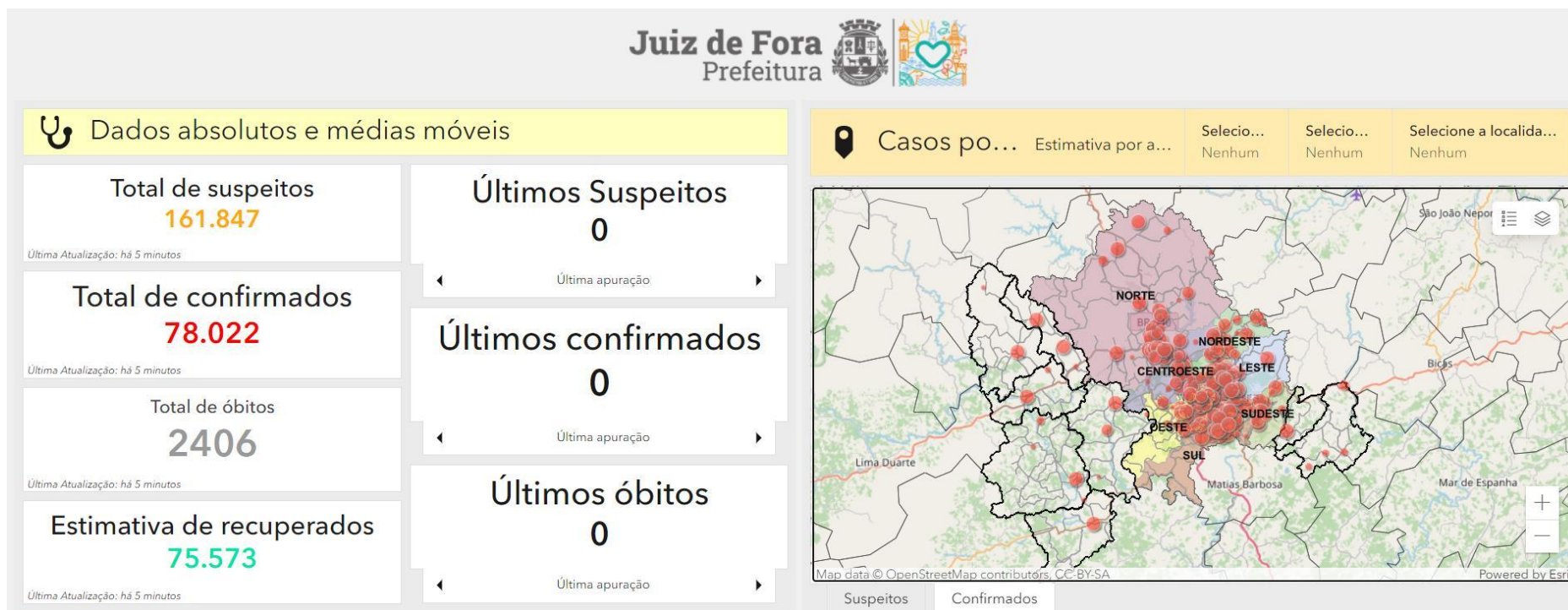
Fonte: IBGE (2022)

A cidade de Juiz de Fora – MG apresentou ao longo dos anos uma taxa de mortalidade por Covid-19 superior à média do Brasil. Entretanto apresenta uma média de incidência da doença inferior à brasileira.

Os menores índices de incidência da doença no município estão relacionados à ampla cobertura vacinal alcançada para as primeiras e segunda doses da vacinação. No município mais de 93% de toda a população foi imunizada contra a Covid em 1ª dose e, quase 87% da população recebeu a 2ª dose do imunizante (SESJF 2022).

Em Juiz de Fora – MG, a taxa de positividade da COVID-19 é 30,8%. Um quantitativo de 161.847 pessoas estava com suspeita de infecção por SARS-CoV-2, sendo que 78.022 foram confirmadas e 2.406 pessoas vieram a óbito devido a COVID-19 (figura 10) e de suas complicações. Além disso, os locais em que se encontra a maior taxa de contaminação são os bairros Centro, São Matheus e São Pedro (SESJF 2023).

Figura 10 – Painel da Covid na cidade de Juiz de Fora – MG



Distribuição da COVID-19 ao longo dos bairros presentes na cidade. Os pontos alaranjados apresentam as áreas de maior incidência da doença.

Fonte: SESJF (2023).

1.1.7 Diagnóstico e detecção da Covid-19

Os testes de diagnósticos são empregados em diversas patologias como norteadores para o controle, entendimento e diminuição da propagação de doenças. Na Covid-19 grandes foram os esforços para o desenvolvimento de técnicas e metodologias capazes de auxiliar na detecção do novo coronavírus humano (Lai and Lam 2021). Após o desenvolvimento dos testes diagnósticos e da produção de vacinas com diferentes plataformas virais, casos assintomáticos ou leves passaram a desempenhar um quantitativo significativo na transmissão e propagação do vírus entre os indivíduos expostos (Thanh Le et al. 2020). Assim, basear-se apenas na sintomatologia para classificação da doença não é a conduta a ser seguida, de acordo com a comunidade científica (R. Li et al. 2020).

O padrão-ouro para detecção do SARS-CoV-2 é o emprego da reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR), porém ela possui limitações, não distinguindo as cepas altamente contaminantes, daquelas que foram inibidas pelo sistema imune do hospedeiro, não avaliando os níveis de anticorpos produzidos pelo hospedeiro, podendo detectar o vírus apenas na fase aguda da infecção (Yong et al. 2020). A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica metodológica utilizada para ampliar rapidamente um gene específico ou uma região gênica (Mackay 2002).

Outra metodologia utilizada para detecção de SARS-CoV-2 é o ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (ELISA). Este teste sorológico é importante, em especial, para pesquisas em epidemiologia e, na determinação do nível de imunidade da população afetada, incluindo indivíduos detectados e assintomáticos. O percentual de diagnósticos falso-negativos dos testes realizados por PCR também impulsiona a utilização de métodos complementares para diagnóstico da doença (Assadiasl et al. 2020). Assim, o ELISA é útil para detectar a ligação do antígeno ao anticorpo, podendo ser empregado na detecção da presença de antígenos ou anticorpos em uma amostra de soro, plasma, urina, esperma, sobrenadantes de cultura, dentre outros (Clark, Lister, and Bar-Joseph 1986).

Nas técnicas utilizadas para detecção da Covid-19, os antígenos mais empregados para detecção da infecção são as proteínas S e N e, quase todas as técnicas se concentram na detecção de anticorpos IgM e IgG produzidos contra essas proteínas (Lan et al. 2020; H. Zhou et al. 2020).

1.1.8 Ensaio de Avidéz de IgG SARS-CoV-2

O ensaio de avidéz IgG foi um método desenvolvido por Hedman et al. (1993), e tem por objetivo investigar a afinidade de ligação anticorpo-antígeno e sua estabilidade em condições de desnaturação (Klaus Hedman and Seppälä 1988). A análise de anticorpos IgG é uma ferramenta muito útil para diferenciar as respostas imunes geradas contra um patógeno (de Souza et al. 2004). Utilizada para confirmação ou ausência de várias doenças, como rubéola (Klaus Hedman and Seppälä 1988), herpesvírus humanos, vírus, sarampo, hepatites (Schubert, Zens, and Weissbrich 1998), dengue entre outros (Roque-Afonso et al. 2004; Ward et al. 1994), essa técnica, tem a capacidade de diferenciar respostas imunes primárias (com baixa avidéz e posterior maturação da afinidade) e respostas tardias, (estimulada por células B de memória) que produzem anticorpos IgG de alta avidéz (Paunio et al. 2003).

Desse modo, estudos recentes vêm mostrando que a imunoglobulina G, montada contra a proteína S do vírus, possui uma resposta neutralizante (Watanabe et al. 2020). A maturação da avidéz é baseada na proliferação de células B produtoras de IgG de maior afinidade quando comparadas com suas células vizinhas. Como essa afinidade é difícil de ser mensurada, a determinação da força de ligação é utilizada como marcador preditivo, devido a eficiência da reação da ligação depender do mesmo ajuste gênico (de ligação) entre IgG e seu epítipo (Summers et al. 2017).

O rearranjo gênico entre a porção variável de IgG e seu respectivo epítipo-alvo, ocasiona um aumento da afinidade e uma reação mais rápida da ligação entre anticorpo-antígeno (Hazell 2007).

A avidéz pode ser medida por diferentes métodos, sendo o mais comum a modificação do ensaio do ELISA (K. Hedman et al. 1989), através da eluição dos anticorpos de baixa avidéz com agentes caotrópicos como a ureia, tiocianato de amônio, guanidina (Oostindie et al. 2022). Imunologicamente, clones de células B são os responsáveis pela produção de anticorpos de alta avidéz e seleção negativa de anticorpos de baixa afinidade (Tarlinton and Smith 2000; Zeng et al. 2020).

Vermont and Dobbelsteen (2002) demonstraram a correlação direta entre o índice de avidéz e a produção de anticorpos neutralizantes. Na avidéz de IgG para COVID-19, mais precisamente, a afinidade de algumas imunoglobulinas para certos epítomos do domínio RBD e S1, desempenham a função de neutralização viral (Piccoli et al. 2020). Alguns anticorpos podem se ligar ao RBD bloqueando sua interação com o receptor ACE2 de células humanas e assim, exercer a neutralização viral (Manuylov et al. 2022; Moriyama et al. 2021).

Para além disso, Brady, Unger e Panicker (2017) e Oostindie et al. (2022) mencionam que as respostas humorais podem ser analisadas não apenas pela quantidade de anticorpos, sua neutralização e persistência, podendo ser avaliada pela avidéz dos anticorpos.

Assim, emprego dessa técnica para determinação da afinidade de anticorpos IgG anti proteínas spike (S) e nucleocapsídeo (N) foi empregado baseando-se no conhecimento da maturação da avidéz como um processo unidirecional de ocorrência regular (Bauer 2021; Coutard et al. 2020; Paunio et al. 2003) e na suposição de que uma resposta imune humoral aconteceria ao longo da imunização/infecção pelo vírus.

1.1.9 Justificativa

A presença da doença Covid-19 está caminhando para o seu quarto ano (WHO 2023). Desde o seu surgimento, métodos moleculares e sorológicos foram desenvolvidos para a identificação de anticorpos das classes IgA, IgM, IgG e totais. Estes exames servem de base para realizar os inquéritos sorológicos para determinação, neste caso, da resposta imune contra o SARS-CoV-2 na população (Roque-Afonso et al. 2004; Pratesi et al. 2021; Bauer 2021).

Muitos estudos de soroprevalência vêm sendo realizados mundialmente com o objetivo de entender a produção de anticorpos nos pacientes sintomáticos e assintomáticos, bem como a maturação destes anticorpos após a vacinação da população contra o vírus SARS-CoV-2 e a presença de reatividade contra o vírus em diversos extratos populacionais (Seekircher et al. 2022; Chenchula et al. 2023). Ademais, o uso obtido a partir de dados sorológicos, podem auxiliar na verificação da soroprevalência populacional, auxiliando no entendimento da população de estudo.

A análise sorológica (através da verificação de reatividade de anticorpos IgG totais e respectiva avidéz para SARS-CoV-2) podem auxiliar na o número de pessoas IgG sororreativas contra proteínas do vírus e refletir a taxa de proteção contra a doença (Liu et al. 2020; Assadiasl et al. 2020; Bauer 2021). Além de servir para avaliar os indivíduos que montaram uma resposta imunológica expressiva contra o vírus, observando as variáveis distintas de sintomatologia e comorbidades.

Nessa perspectiva, buscamos entender se os níveis de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 estão relacionados à melhoria dos indicadores epidemiológicos em pacientes atendidos no HU-UFJF/EBSERH. Assim, avaliar a reatividade de anticorpos IgG anti SARS-CoV-2 para um grupo de pacientes atendidos no hospital universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora poderia auxiliar na interpretação da sorologia da Covid-19 no grupo amostral.

2 OBJETIVO

O presente estudo buscou verificar a presença de reatividade IgG contra proteínas S e N anti-SARS-CoV-2 em pacientes atendidos em ambiente hospitalar nos anos de 2022 e 2023.

Objetivos específicos:

- Verificação da resposta humoral IgG anti - SARS-CoV-2 proteínas S/N em amostras de 2022 nos grupos ambulatorial e internação.
- Avaliação da relação entre as reatividades de anticorpos IgG antígeno-específicos nos grupos ambulatorial e internação para o ano de 2022.
- Verificação das reatividades de anticorpos IgG antígeno-específicos no grupo ambulatorial em pacientes em 2023.
- Avaliação da avidéz de ligação IgG para amostras com testagem por RT-PCR para o ano de 2022 e nas amostras de 2023.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aprovação ética

Este estudo é parte integrante do projeto intitulado: Avaliação de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 na cidade de Juiz de Fora MG, firmado entre a Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais, os laboratórios de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia/UFJF e o Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas do Instituto de Ciências Biológicas/UFJF, além do Hospital Universitário – EBSEH/UFJF. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética HU/EBSEH/UFJF sob o número: 5.598.110 em 23 de agosto de 2022, conforme anexo 1.

3.2 População de estudo e estratégia experimental

De acordo com a última pesquisa demográfica realizada pelo Censo (2022), no ano de 2022 a cidade de Juiz de Fora possuía o quantitativo populacional de 540.756. Destes, 29,93 % (161.847 pessoas) estavam com suspeita da doença na cidade (SESJF 2023). Os critérios de inclusão foram pacientes em sua rotina de atendimento comum ambulatorial, com idade igual ou superior a 18 anos. Os critérios de exclusão foram pacientes com 18 anos ou mais com qualquer condição aguda, crônica ou cognitiva que limitasse a capacidade participação no do estudo.

Uma soroteca com 1300 amostras coletadas nos referidos meses foi armazenada no Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora. Foi realizado um estudo transversal para verificar as reatividades IgG anti proteínas S e N do SARS-CoV-2 em amostras de soro coletadas entre abril e junho de 2022 no Hospital Universitário UFJF/EBSEH cidade de Juiz de Fora – MG. As primeiras duzentas e vinte amostras foram utilizadas para realização do estudo.

Das 220 amostras incluídas e analisadas, 13 (treze) foram excluídas em decorrência da faixa etária ser inferior a 18 anos. As amostras foram separadas de acordo com a origem do paciente (ambulatorial ou internação). Após análise sorológica, foram consultados os prontuários médicos dos participantes utilizando o Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários (AGHU/EBSEH).

Através da consulta ao prontuário médico foram coletados os dados secundários e realizado uma triagem entre os pacientes do ano de 2022 que possuíam

algum tipo de teste diagnóstico, como: testagem rápida a partir de swab nasofaríngeo ou RT-PCR e coletados as informações sobre comorbidades existentes. As comorbidades foram agrupadas na forma de frequência de eventos ocorridos por paciente. Também foi avaliada a avidéz de IgG no grupo de pacientes que possuíam testagem por RT-PCR.

No ano de 2023, novos participantes foram recrutados para verificação da reatividade de anticorpos e respectiva avidéz de IgG contra proteínas do SARS-CoV-2. Para esta avaliação foi realizado um estudo seccional em forma de censo no ano de 2023, em que setenta e um (n=71) pacientes, em sua rotina de consulta no HU unidade ambulatorial foram entrevistados, consultados os seus respectivos cartões vacinais e coleta de soro para análises. O mesmo protocolo de análises experimentais realizado em 2022 foi repetido para os participantes em 2023. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento de Livre e Esclarecido (TCLE) conforme modelo ANEXO II.

3.3 Coleta de amostras e separação do soro

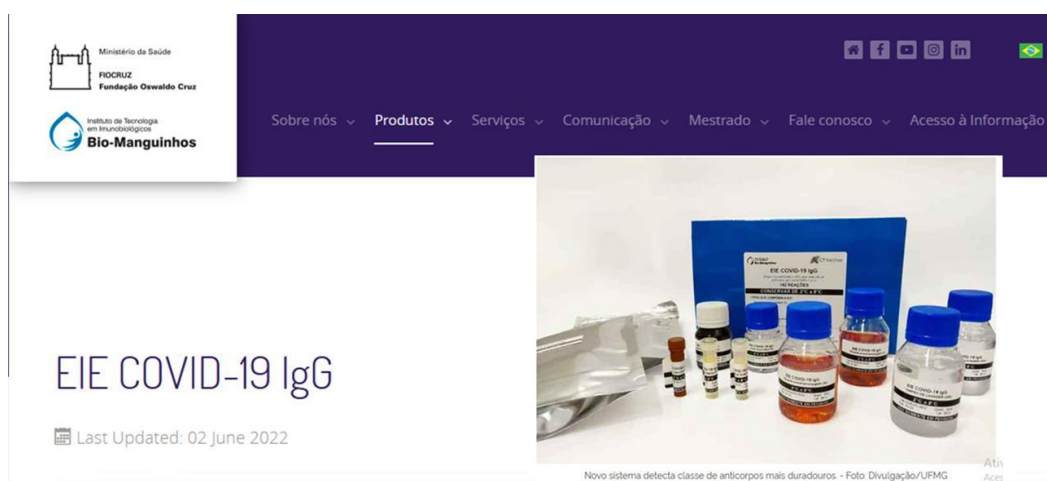
A coleta de sangue/soro foi realizada nas unidades do Hospital Universitário UFJF/EBSERH. Foram utilizados tubos de coleta de sangue a vácuo e gel separador totalmente inerte e não solúvel em sangue. Após a coleta e identificação dos tubos, as amostras foram armazenadas no Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas da UFJF. O soro foi removido com o auxílio de pipetas e estocadas em microtubos de 1,5ml livres de DNASE, RNASE e pirogênio, devidamente identificados. As alíquotas de soro foram acondicionadas em freezer a - 20° C para posteriores análises.

3.4 Detecção da Reatividade IgG por ELISA indireto

O ELISA (ensaio imunoabsorção enzimática) EIE COVID-19 IgG Bio-Manguinhos é um método indireto utilizado na detecção de anticorpos IgG contra antígenos SARS-CoV-2, produzidos por meio de infecção natural no soro ou plasma humanos. O kit (figura 11) é composto por 2 placas sensibilizadas com antígenos das proteínas S e N da variante de Wuhan, diluente de amostra/conjugado na concentração de 2x, tampão de lavagem 20x concentrado, solução reveladora, H₂SO₄

2M, controle positivo para SARS-CoV-2, controle negativo para SARS-CoV-2, conjugado, molduras com 12 “strips” conjugadas e manual de instruções para realização do experimento (Ministério da Saúde, FIOCRUZ 2023).

Figura 11 - Kit ELISA EIE IgG indireto COVID-19

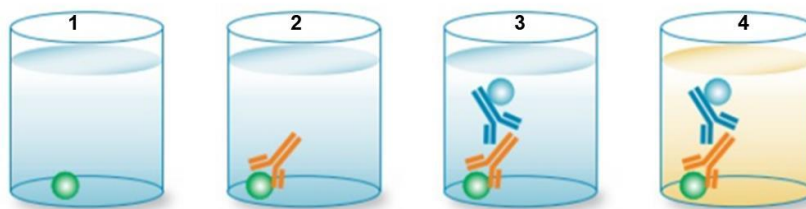


Fonte: (Ministério da Saúde, FIOCRUZ 2023)

Para a realização do teste os reagentes foram preparados seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente: o diluente de amostras/conjugado 2x, foi diluído em solução de 1:2 com água ultrapura (Milli-Q), homogeneizado e acondicionado em geladeira (2-8°C). O tampão de lavagem foi diluído na proporção de 1:20 homogeneizado e acondicionado em geladeira (2-8°C) e o Conjugado foi preparado utilizando kit Conjugado EIE-COVID-19/Bio-Manguinhos na proporção de 1:100. Os controles foram diluídos na proporção de 1:5. Após o preparo dos reagentes e diluições, foram realizadas as aplicações e incubação das amostras conforme recomendado pelo fabricante.

O antígeno foi previamente adsorvido nas cavidades das microplacas “strips” (fase sólida) pelo fabricante (figura 15). A seguir, adicionou-se os soros controle positivo, negativo e as amostras devidamente diluídas. Caso as amostras possuísem anticorpos IgG específicos, estes iriam se ligar ao antígeno da fase sólida.

Figura 12. Esquema detalhado do ELISA IgG indireto anti SARS-CoV-2



As strips do ELISA vêm sensibilizadas com antígenos das proteínas S e N para SARS-COV-2. 2 – As amostras são acondicionadas nos poços e um anticorpo primário é ligado ao antígeno específico. 3 – Após a incubação, é adicionado um segundo anticorpo ligado a enzima, para então, ser realizado a revelação (4).

Fonte: <https://www.hhub.com.br/noticias/metodo-elisa> (adaptado).

Em uma etapa posterior, adicionou-se o conjugado específico, anti-imunoglobulina G humana, que foi marcado com a enzima peroxidase, propiciando uma ligação entre conjugado-enzima, que pôde ser identificado por uma substância cromógena a tetrametilbenzidina (TMB), de coloração azul turquesa quando incorporada à solução. Para interromper a reação foi adicionado o ácido sulfúrico (H_2SO_4) e, na ocorrência de casos positivos (reagente) gerava uma coloração amarela.

Deste modo, os resultados tanto reagentes, quanto não reagentes puderam ser avaliados por meio de espectrofotômetro para microplacas no comprimento de onda estabelecido. Todas as amostras foram analisadas em duplicatas, e a densidade óptica (D.O.) de cada amostra foi calculada pela média da D.O. dos valores dos poços. A parada da reação foi realizada com 50 μL de solução de H_2SO_4 2M. O comprimento de onda utilizado para as leituras foi de 450 nm, conforme preconizado pelo fabricante, e amostras foram consideradas **reagentes** quando a média das densidades ópticas (D.O.) era superior ao cut-off (ponto de corte); **não reagentes** quando a média de D.O. era inferior ao cut-off e, **indeterminadas**, quando as médias das leituras de absorbância ficam entre o cut-off e a faixa cinza. A faixa cinza compreende os valores de D.O. incluídos nos intervalos de 10 a 20%, abaixo ou acima do cut-off.

Cálculo do cut-off (CO):

$$\text{CO} = \text{XCN} + \text{Fator (0,150)}$$

XCN = Média da densidade óptica dos orifícios de controle negativo

DO = Densidade ótica

CN = Controle negativo

CO = Cut-off (ou ponto de corte)

Cálculo da Faixa Cinza (FC)

$$\text{FC} = \text{CO} \times 1,3$$

Tabela 1 – Verificação das reatividades por testagem

Amostras não-reagentes (D.O. das amostras < Cut-Off)	Faixa cinza (D.O. entre Cut-off e Cut-Off x 1,3)	Amostras Reagentes (D.O. das amostras > Cut-Off x 1.3)
---	--	--

Fonte: Elaborado pelo autor

3.5 ELISA para verificação da avidéz IgG anti-SARS-CoV-2

Este ensaio foi realizado baseando-se nos trabalhos de Pratesi et al., (2021). Para verificação da avidéz do anticorpo IgG contra proteínas do vírus, foi realizada uma adaptação do kit EIE COVID-19 IgG Bio-Manguinhos. Uma etapa adicional foi inserida nas instruções do fabricante – após a ligação antígeno-anticorpo, este foi exposto a diferentes concentrações da solução de ureia, utilizando-a como agente caotrópico, para verificação da maturação da avidéz IgG.

Soros de pacientes atendidos no ambulatório do HU Dom Bosco (n=71) coletados em 2023, foram coletados e utilizados para o ensaio de avidéz. Os soros seguiram os mesmos passos para detecção das proteínas S e N da cepa do coronavírus de Wuhan e, logo após a última lavagem das amostras (soro dos pacientes) com solução foi realizado uma incubação adicional com soluções de Uréia 1M e 6M por 1 hora e, também, 6M por 15 minutos. A variação de concentração e tempo de incubação por uréia foram necessárias devido a não haver uma

padronização entre ensaios de avides de ligação IgG para o SARS-CoV-2, neste cenário, o ensaio de avides foi baseado no trabalho de Pratesi et al. (2021) Os poços controles eram mantidos imersos no diluente da amostra durante a incubação dos poços com uréia. Após a aplicação do conjugado e lavagem, foi procedida a revelação, e a absorbância em todos os poços determinada.

O índice de avides foi estimado tendo como base a absorbância (D.O. = 450 nm) medida no poço lavado com ureia e a obtida nos poços controles (100%), excluídos os valores basais da reação conjugado com o antígeno. Somente foram ensaiados soros positivos ao ELISA prévio para IgG anti-SARS-CoV-2. Como forma de avaliação da avides dos anticorpos, foram considerados de baixa avides os soros que apresentaram um percentual de queda das reatividades observadas menor que 50%, intermediária entre 51% - 74% e, de alta avides os soros que apresentavam percentual de queda da avides igual ou superior a 75%, quando comparados com amostras analisadas sem o tratamento com a uréia.

O índice de avides (I.A.) foi obtido dividindo as leituras de D.O. das amostras tratadas com ureia pelas leituras das amostras controles (não tratadas) x 100, conforme cálculo abaixo:

I.A =	Densidade Ótica Amostras Tratadas com Ureia	X 100
	Densidade Ótica Amostras Não Tratadas	

Os dados foram dispostos em forma de tabela e gráficos e suas análises apresentadas nos resultados e discussão.

3.6 Análises estatísticas

Dados obtidos a partir de prontuários médicos pela plataforma AGHU/ EBSERH foram coletados para análise comparativa do histórico dos pacientes. Informações sociodemográficas como idade, sexo e informações clínicas, como: testagem para Covid-19 e comorbidades foram coletadas e apresentadas na forma de tabelas.

Um banco de dados foi gerado através do software Microsoft Office Excel 2019 para digitação das informações obtidas dos prontuários médicos e ensaios sorológicos. Uma vez concluída a digitação, os dados foram revisados, a fim de eliminar possíveis erros ou duplicidade de dados para um mesmo paciente.

Os dados obtidos através do ensaio ELISA para reatividade de IgG anti SARS-CoV-2 foram avaliados através de D.O (densidade óptica) e não seguem distribuição normal, baseado nos testes de correlação de Pearson. Estatísticas descritivas foram utilizadas para resumir dados gerais sobre os pacientes do estudo. Análises de regressão logística univariadas foram realizadas para avaliar as variáveis os fatores associados aos maiores títulos de IgG anti-SARS-CoV-2.

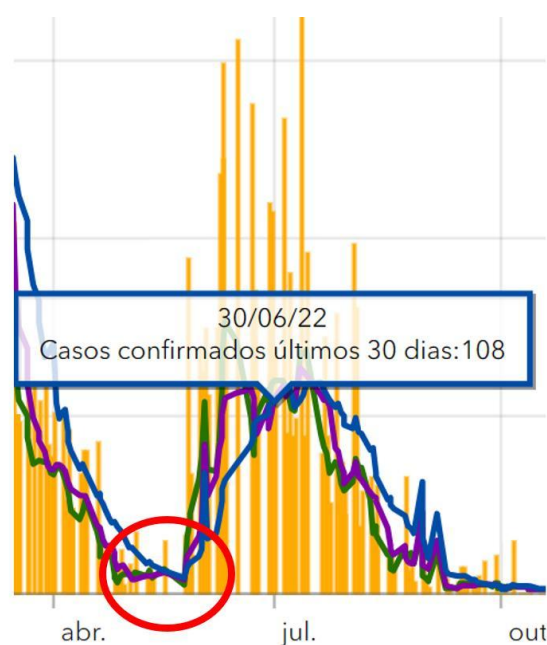
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO I - Reatividade de anticorpos IgG contra a COVID-19 estão relacionados a origem (ambulatorial ou internação) do paciente.

4.1 Período de coleta para análise da reatividade IgG contra proteínas do SARS-CoV-2

Por ser um estudo seccional, os dados obtidos refletiam o atendimento recebido pelos pacientes nas unidades hospitalares do HU. Naquele período, é importante ressaltar, uma diminuição acentuada de pessoas infectadas e de óbitos na cidade de Juiz de Fora – MG, (figura 13). A distribuição da COVID-19 ao longo dos meses de abril a junho de 2022, se encontrava em declínio.

Figura 13. Período de coleta e análises de amostras em Juiz de Fora



Fonte: (SESJF 2023)

4.2 Reatividade de amostras com o kit EIE Covid-19 IgG N/S anti-SARS CoV-2 Fiocruz/Bio-Manguinhos

Para dirimir dúvidas sobre a reatividade do kit EIE Covid-19 IgG N/S anti-SARS CoV-2 Bio-Manguinhos procedemos testagens internas com amostras de pacientes “anteriores ao período pandêmico” e não foram observados resultados positivos. Apesar do kit EIE COVID-19 IgG N/S da Fiocruz Bio-Manguinhos possuir validação, a testagem com soros anteriores à pandemia, permitiu auxiliar nos controles internos e na padronização dos ensaios a serem utilizados.

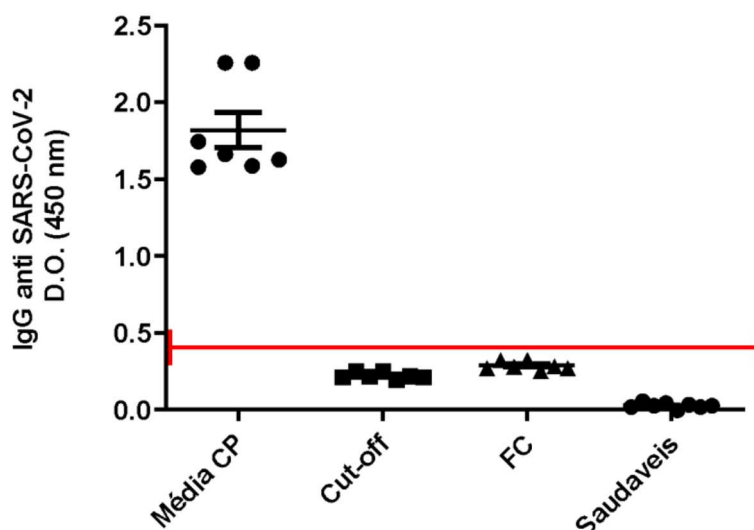
As amostras anteriores à pandemia geraram leituras insignificantes, muito abaixo do calculado para o limiar de reatividade (cut off) deste experimento (linha tracejada em vermelho (figura 14). Essa verificação interna nos mostrou que pacientes saudáveis anteriores a dezembro de 2019, ou seja, nunca expostos ao vírus (através de infecção ou vacinação) não eram responsivos às proteínas do vírus.

As leituras de absorbância na diluição 1/100 ficaram entre 1,5 e 2,2 para os controles positivos, os demais pacientes saudáveis anteriores a pandemia e os soros de pacientes controle negativo (cut-off) geraram leituras próximas a 0 (zero). A associação do cut-off e a faixa cinza representam o limiar das amostras não reagentes ao kit. As amostras não reagentes geraram leituras de D.O. a 450nm inferiores a 0,5.

Ao ser verificado a média dos cut-off's de todos os experimentos ao longo do tempo, observou-se que a oscilação foi pequena. Em contrapartida, os controles positivos sempre mostraram leituras de absorbância acima de 1,5 unidades de densidade óptica na diluição 1/100.

Dessa maneira, pode-se afirmar que os experimentos realizados foram bem executados e que os controles se mostraram fidedignos ao preconizado pelo fabricante.

Figura 14 – Média das D.O. dos controles para os experimentos realizados



A **média CP** (controle positivo) foi calculada a partir das médias de leituras de amostras de pacientes sabidamente positivos para COVID-19. O **cut-off** (linha de corte) representa as médias dos controles negativos mais o fator de correção de 0,15. A **faixa cinza (FC)** representa o ruído para cada reação, ou seja, leituras indeterminadas entre cut-off e fator de correção. A linha tracejada (em vermelho)

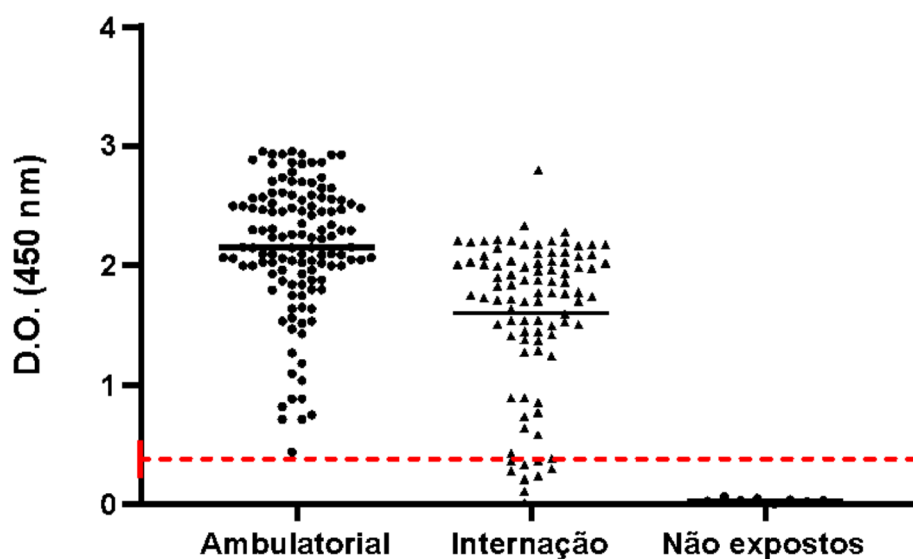
representa o ponto de corte entre amostras reativas para produção de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 (D.O. = 0,374).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em agosto de 2022 soros de pacientes (n=207) foram analisados pela técnica de ELISA indireto, a fim de verificar a presença de anticorpos IgG contra proteínas S e N do vírus SARS-CoV-2 (figura 15). As amostras foram divididas de acordo com a origem do paciente (unidade ambulatorial e unidade internação) e referiam-se a coletas dos meses de abril e junho daquele ano.

A determinação do ponto de corte foi descrita na metodologia e foram considerados sororreativos os indivíduos que apresentaram leituras de absorbância superiores ao cut off. Apenas 4,3% (9 pessoas) não apresentaram reatividade IgG superior ao cut off.

Figura 15 – ELISA global pacientes



Cada ponto representa um indivíduo (n=207). A barra em preto representa o valor médio da D.O. para o grupo, e a linha tracejada (em vermelho) delimita o ponto de corte entre amostras reativas para a presença de anticorpos IgG anti - SARS-CoV-2 (D.O. $\geq$ 0,374). O teste de Mann-Whitney foi utilizado para verificação das reatividades entre os grupos.

Fonte: Elaborado pelo autor

A caracterização das amostras do ano de 2022 (tabela 2) mostrou que 40,6% (n=84) eram provenientes da unidade de internação e apresentavam média de leitura

de absorvâncias inferiores aos da unidade ambulatorial (figura 15). Os títulos de IgG avaliados por leituras de absorvância a 450nm mostraram uma variação de reatividades em torno de 1,5 e 2,5 unidades de densidade ótica. 95,6% das amostras foram reativas para a presença de títulos IgG contra proteínas do coronavírus. Gouvea et al. (2022) e Seekircher et al. (2022) conduziram estudos de soroprevalência para a presença de anticorpos IgG contra proteínas spike no período de 2021 e 2022 e observaram valores elevados de títulos de anticorpos contra o SARS-CoV-2. Em nossas análises os valores de reatividade encontrados, em sua maior parte, apresentam leituras de absorvância para presença de anticorpos IgG contra proteínas do coronavírus, superiores aos controles positivos realizados para cada experimento.

Ao ser consultado o prontuário médico foi observado que os soros de pacientes da unidade ambulatorial, apresentavam uma média de títulos de IgG (tabela 2) que geram leituras de 2,1 unidades de D.O. frente aos pacientes da unidade de internação (D.O.= 1,6).

Tabela 2 – Características demográficas e clínicas referente a 2022

Variáveis	Total pacientes	Nº pacientes com títulos mais altos de IgG anti- SARS-CoV-2 (%)	Valor de p
Sexo			
Feminino	139	24 (17,27)	0,52
Masculino	68	15 (22,06)	
Faixa de idade			0,54
0-17	15	12 (80)	
18 – 59	122	102 (83,61)	
60 ou +	70	54 (77,14)	
Origem - Paciente			0,01
Ambulatorial	123	115 (98,50)	
Internação	84	68 (80,95)	
Presença de comorbidades			0,04

Não	85	75 (88,24)
Sim	122	93 (76,23)

Os dados são apresentados como frequência (porcentagem). Odds ratio (OR) bruto e ajustado e intervalos de confiança (IC) de 95%. O valor de p foi calculado usando correlação de Pearson entre as variáveis e a médias dos títulos mais altos de IgG S/N anti-SARS-CoV-2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O fator sexo feminino foi relacionado a presença de maior reatividade em estudos anteriores. As mulheres geralmente desenvolvem respostas imunes mais rápidas que os homens e isso está relacionado a diferenças hormonais, microbiota e fatores genéticos (Klein, Marriott, Fish 2015).

A partir das análises iniciais e do inquérito epidemiológico foi verificado que 58,45% do total de amostras provenientes das duas unidades apresentava alguma comorbidade (tabela 3). As comorbidades foram identificadas e distribuídas na forma de frequência.

Tabela 3 – Tipos de Comorbidades - amostra de pacientes ano 2022

Comorbidade	Frequência	%
ANEMIA	10	4,83
ASMA	2	0,97
CÂNCER	18	8,69
CARDIOPATIA	4	1,93
COVID-19 LONGA	1	0,48
DIABETES MELLITUS	1	0,48
DOENÇA DE CROHN	2	0,97
HIV	2	0,97

LUPUS	2	0,97
OUTROS	32	15,44
PNEUMONIA	3	1,45
RENAL	40	19,31
REUMATISMO	3	1,45
TUBERCULOSE	1	0,48
TOTAL	121	58,42

Os dados são apresentados como frequência de eventos e porcentagem.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Concomitante com os trabalhos de Ali et al. (2021; Codo et al. (2020) e Dicker et al. (2021) ao serem comparados a reatividade de IgG entre os grupos PRESENÇA/AUSÊNCIA DE COMORBIDADES nas amostras de 2022 foi verificado níveis de reatividades diminuídas entre os participantes que possuíam algum tipo de doença de base, dentre elas câncer, renal, asma, de acordo com a origem do paciente.

Pacientes da unidade de internação apresentaram reatividades inferiores em comparação aos pacientes ambulatoriais e 33,82% (n=70) destes possuíam algum tipo de comorbidade no momento da coleta. As menores reatividades observadas podem estar relacionadas a fatores associados, como idade, sexo, comorbidades e origem do paciente, assim como já verificado por Visalli et al. (2023) que observaram que a presença de algumas patologias crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares e autoimunes levam a uma produção menos expressiva de anticorpos reativos contra os antígenos do vírus SARS-CoV-2. De acordo Alam, Kabir, and Reza (2021) as comorbidades observadas poderiam ser um gatilho para predispor o indivíduo à hospitalização e até mesmo internação em unidade de terapia intensiva (UTI), principalmente em pacientes com redução da função pulmonar, ocasionada por doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), fibrose pulmonar, doença renal crônica, assim como doenças crônicas sem anomalia dos órgãos.

Além desses achados Ali et al. (2021), Codo et al. (2020) e Dicker et al. (2021), observaram que a presença de comorbidades específicas como diabetes mellitus,

obesidade, fibroses pulmonares, hipertensão arterial, asma, associadas as variáveis idade e sexo levam a um maior risco da taxa de morte por COVID-19. 41,30% dos pacientes que apresentavam comorbidades eram idosos. As comorbidades anemia (4,83%) câncer 8,69% e doenças renais 19,31%, foram as de maior prevalência entre as amostras analisadas provenientes das unidades hospitalares.

Outro fator associado que poderia estar influenciando a expressão das reatividades é a senescência celular, visto que o envelhecimento celular está relacionado a falha na produção de anticorpos, em parte devido a interações prejudicadas das células T e B pelo organismo (Pinti et al. 2016). Além disso, pacientes que possuem comorbidades podem apresentar alterações celulares bioquímicas e fisiológicas decorrentes do uso contínuo de medicamentos reguladores interferindo na montagem de uma resposta imunológica (Cevenini, Monti, and Franceschi 2013; Russell, Lone, and Baillie 2023). Do quantitativo de pacientes internados na unidade hospitalar, 66,7% apresentavam comorbidades e possuíam idade inferior a 60 anos, 55,5% eram do sexo masculino tendo a doença renal como comorbidade de maior frequência entre o grupo. Sabe-se que pacientes em diálise, transplante de órgãos e DRC fazem parte do grupo de comorbidades com maior risco e mortalidade por COVID-19 (Kamar et al. 2021).

Um estudo realizado com profissionais de saúde diagnosticados com hipertensão que foram vacinados ou tiveram COVID-19 mostrou que a efetividade da vacinação foi menor quando comparados com pacientes sem comorbidades (Rifai et al. 2022). Outro estudo avaliou a relação entre pacientes vacinados com duas doses contra a Covid-19 que eram obesos e possuíam diabetes e verificou que os títulos de anticorpos se encontram reduzidos (Gaborit et al. 2023). Gallego-Valcarce et al. (2022) também verificaram que a resposta humoral é imediata em pacientes hemolíticos que receberam duas doses da vacina de mRNA contra SARS-CoV-2, entretanto há uma diminuição progressiva dos anticorpos ao longo do tempo.

É importante ressaltar que 4,3% dos soros (n=9) não apresentaram reatividade contra o SARS-CoV-2 na diluição proposta pelo kit. Estes pacientes pertenciam à unidade de internação e possuíam diversas faixas etárias, e apresentavam, em sua maioria (55,55%) algum tipo de comorbidade, dentre elas anemia, câncer e doença renal crônica. Uma explicação para a ausência de reatividade seria a possibilidade, naquele momento, de os pacientes não terem sido expostos às proteínas do vírus através da vacinação ou infecção ou estarem imunizados recentemente, encontrando-

se no período conhecido como janela imunológica (Assadiasl et al. 2020; Quiroga et al. 2022; Zhang et al. 2021). Estudos vêm demonstrando que não são todas as infecções capazes de induzir uma resposta sorológica. Isto é devido a inúmeros fatores, como: deficiência seletiva de imunoglobulinas, dentre elas IgA, IgM e das subclasses IgG1-IgG4. Existem também outros fatores relacionados à resposta imunológica, tais como a produção desordenada de anticorpos em doenças crônicas (Bousfiha et al. 2022; Grimbacher 2014); ou resistência a vacinação por ideais político-sociais (Hasanzad, Namazi, and Larijani 2022; Martins Pinheiro 2023).

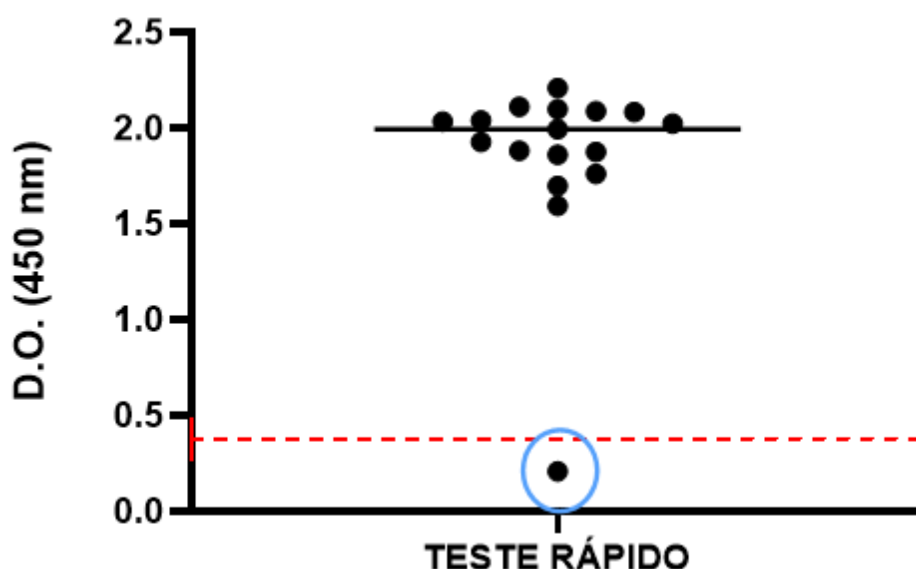
4.3 – Reatividade de IgG para pacientes com testagem rápida ou RT-PCR para detecção dos antígenos de SARS-CoV-2

O primeiro semestre de 2022 foi marcado por ondas de pico da variante do SARS-COV-2 Ômicron (B.1.1.529) entre janeiro e março de 2022 no Brasil (Taylor 2022; Burki 2022). Para serem submetidos aos seus respectivos tratamentos, os pacientes atendidos no Hospital Universitário eram testados para verificação de possível infecção ativa pelo vírus (S Filgueiras et al. 2022).

Dezessete pacientes provenientes da unidade Internação foram testados para verificar a possível presença de infecção ativa. As amostras não se mostraram reativas para infecção ativa pelo SARS-CoV-2. Ao ser realizado o ELISA as leituras de absorbância média para este grupo eram de 1,85 unidades de densidade ótica (figura 16).

Todos os pacientes possuíam algum tipo de comorbidade no momento da coleta: câncer 4,34% (9 pacientes), renal 2,41% (5 pacientes), anemia 0,96% (2 pacientes) e AVC 0,48% (1 pessoa). Apenas uma pessoa (destaque em círculo azul) não havia produzido uma resposta IgG robusta para as proteínas S e N do coronavírus. A amostra em questão era proveniente de uma paciente oncológica do sexo feminino, com 44 anos de idade. A idade média destes pacientes era 47,3 anos.

Figura 16 – Reatividade IgG em soro de pacientes da unidade internação submetidos a testagem rápida para SARS-CoV-2



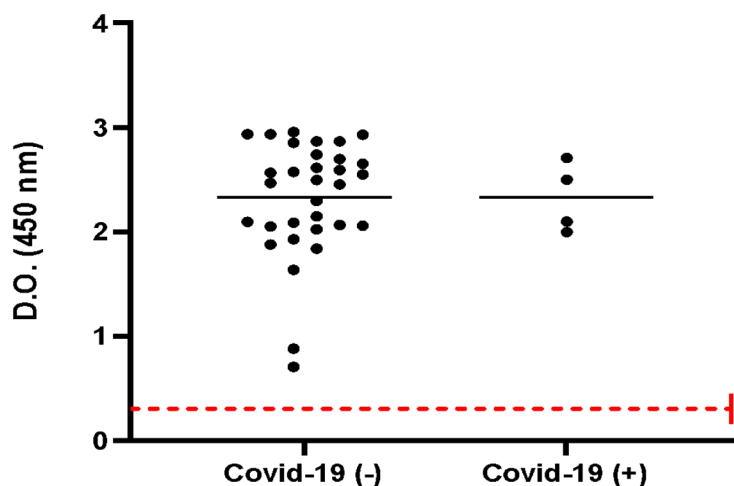
ELISA de grupo de pacientes ambulatoriais ($n = 17$) com sintomas gripais que também foram submetidos a teste de RT-PCR. A linha tracejada (em vermelho) representa o ponto de corte entre amostras positivas para a produção de anticorpos IgG anti - SARS-CoV-2 ($D.O. = 0,374$).

Fonte: Elaborado pelo autor

Um subconjunto de pacientes ($n=36$) proveniente da unidade ambulatorial, também foi submetido a análise da presença de antígenos virais utilizando-se a técnica de RT-PCR (figura 17). A testagem por RT-PCR realizada neste pequeno grupo foi necessária devido ao H.U. ser referência no tratamento de doenças renais, gastrointestinais, transplantes de medula óssea e outros, sendo obrigatório a testagem para COVID, como parte integrada no atendimento destes (HU-UFJF/EBSERH 2019).

Dos 36 pacientes, 26,3% possuíam algum tipo de comorbidade, como asma ($n = 1$), pneumonia ($n = 1$), câncer ($n = 2$) ou doença renal ($n = 3$), além de outras comorbidades não listadas ($n = 3$). Foi possível detectar que 9,5% dos pacientes ($n = 4$) estavam confirmados positivamente para COVID-19. Dois dos pacientes confirmados para COVID-19 possuíam comorbidades não especificadas.

Figura 17 – Reatividade IgG no soro de pacientes submetidos ao diagnóstico para COVID-19 através da RT-PCR



ELISA de grupo de pacientes ambulatoriais ($n = 36$) com sintomas gripais que foram submetidos a teste de RT-PCR. A linha tracejada (em vermelho) representa o ponto de corte entre amostras positivas para a produção de anticorpos IgG anti - SARS-CoV-2 ($D.O. = 0,329$).

Fonte: Elaborado pelo autor

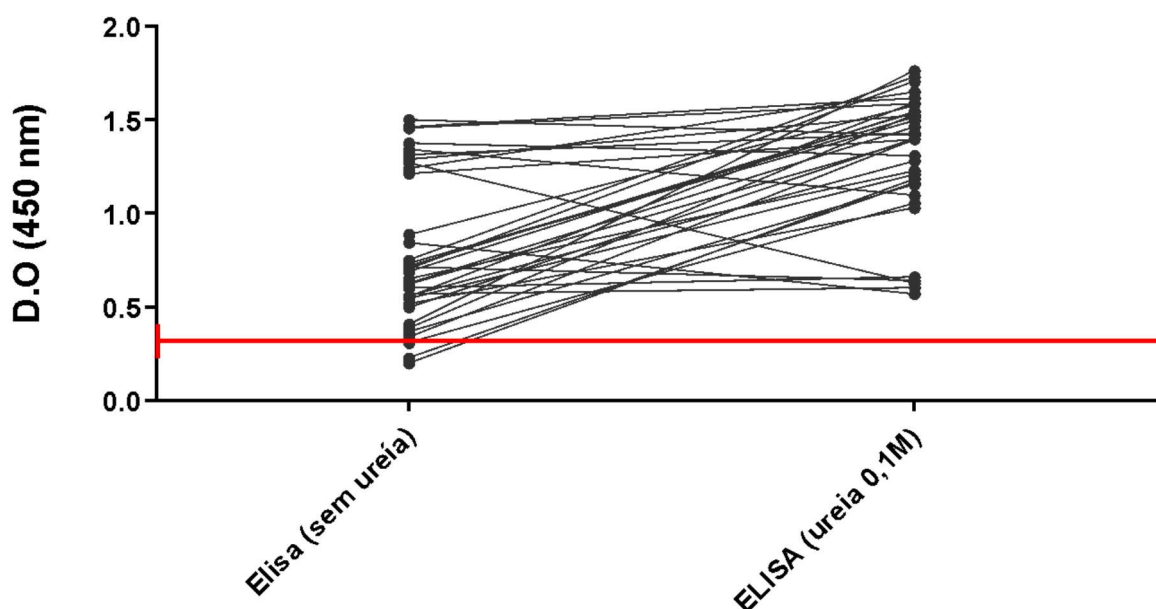
A reatividade por ELISA das amostras com testagem por RT-PCR mostrou que todas as amostras apresentavam reatividade contra proteínas do vírus (figura 18). A produção de IgG deste grupo possuía leituras de absorbância próximas a 2. Apenas, duas pessoas apresentaram leituras inferiores a 1,5, sendo uma paciente do sexo feminino, 27 anos, sem comorbidades ($D.O. = 0,71$) e outra paciente asmática, do sexo feminino, 50 anos, ($D.O. = 0,88$).

Os participantes Covid-19 positivos apresentaram reatividade IgG na mesma proporção que participantes Covid-19 negativo. Em se tratando de análises realizadas na cidade de Juiz de Fora e sabendo da ampla vacinação contra Covid-19 alcançada naquele período e, observando os resultados das reatividades observadas entre os sub-grupos testagem rápida ou RT-PCR as altas reatividades encontradas sugerem estarem associadas a vacinação da população estudada, assim como já demonstrado por Gouvea et al. (2022).

4.4 – Ensaio de avides IgG preliminar em amostras em 2022.

Uma testagem preliminar para avaliação da avides IgG por ELISA foi realizado nas amostras que apresentavam testagem por RT-PCR (n=36). Para esta testagem as amostras submetidas ao ELISA foram tratadas com ureia 0,1 M por 15 min, a fim de verificar o percentual de redução das interações anticorpo-antígeno. As amostras tratadas com ureia apresentavam leituras de absorbância superiores às amostras não tratadas (figura 18).

Figura 18 – Ensaio preliminar de avides IgG em amostras de 2022



Redução da avides por análise da absorbância após os tratamentos com solução de ureia. Nota-se que as interações do agente caotrópico nas amostras elevam as leituras de absorbância. A linha tracejada (em vermelho) representa o ponto de corte entre amostras reativas para a produção de anticorpos IgG anti - SARS-CoV-2 (D.O. =0,329).

As leituras de absorbância obtidas indicavam que as interações entre o anticorpo de ligação ao antígeno possuíam avides elevada. Entretanto, a testagem com um único tempo e uma concentração geraram dúvidas acerca dos nossos achados, isto porque a utilização desses parâmetros poderia apresentar dados incompletos sobre o esgotamento das interações entre anticorpo-antígeno entre os testados.

4.5 – Desfechos alcançados para amostras de 2022

Tendo em vista os altos títulos (densidade óptica) na diluição 1:100, avaliados nas amostras de 2022 mesmo em pacientes que estavam confirmadamente COVID-19 positivos e, de acordo com os estudos de Bagno et al. (2022) e Batchi-Bouyou et al. (2022), os valores das leituras de absorbância encontradas por ELISA IgG S/N anti-SARS-CoV-2 indicam a produção de anticorpos contra proteínas do vírus.

A presença de comorbidades foi o fator associado à menor reatividade IgG para os pacientes no ano de 2022. Ausência de comorbidades em pacientes atendidos foram associados ($p \leq 0,05$) a mais altos níveis de reatividade IgG anti-SARS-CoV-2 na análise univariadas.

Segundo K. Li et al. (2020), as altas leituras de D.O. foram positivamente correlacionadas à atividade neutralizante destes anticorpos e associadas à duração da depuração viral. Andrade Belitardo et al. (2022) reforçam que apesar da importância dos ensaios de neutralização em algumas situações, os inquéritos sorológicos populacionais, a partir dos níveis de anticorpos de ligação são mais escaláveis e práticos.

Como a população escolhida incluía pacientes em sua rotina de exames e, sendo as duas unidades hospitalares referências no tratamento de doenças crônicas (doenças renais, gastrointestinais e cardíaca), os 58,42% dos pacientes que possuíam algum tipo de comorbidade em 2022 poderia explicar em parte as altas leituras IgG anti proteínas S e N do SARS-CoV-2, visto que, pacientes com comorbidades tinham prioridade na vacinação e a cidade se encontrava com mais de 87% da população vacinada naquele período (CNN Brasil 2021; Quiroga et al. 2022; SESJF 2022). Outro fato a ser observado é o alto índice de avidéz encontrado nas amostras que possuíam testagem por RT-PCR, que poderia indicar a presença de anticorpos IgG mais específicos (capazes de competir com o vírus pelo sítio ativo de entrada na célula alvo).

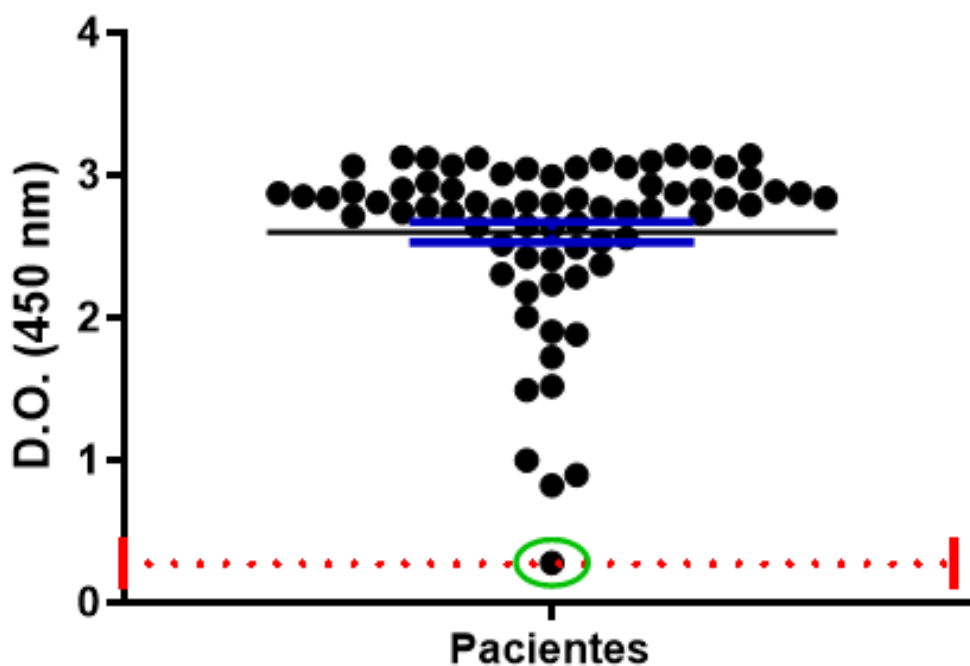
Por fim, as amostras analisadas apresentaram reatividade IgG contra proteínas do nucleocapsídeo e spike do novo coronavírus na maior parte das amostras analisadas. Entretanto, não foi possível avaliar se essa produção de anticorpos era proveniente da vacinação e/ou de infecções passadas.

CAPÍTULO II – Prevalência de anticorpos de alta avidéz reflete atividade protetora contra SARS-CoV-2 em ambulatório do HU-UFJF

4.5 Reatividade de anticorpos IgG em pacientes atendidos na unidade Dom Bosco em 2023

A fim de verificar a presença de anticorpos IgG protetores em pacientes atendidos para o ano de 2023, foi realizado um estudo seccional transversal em formato de senso no qual 71 (setenta e uma) amostras provenientes da HU - Dom Bosco foram coletadas ativamente, no mês de maio de 2023. Aos participantes dessa nova etapa da pesquisa foi-lhes oferecido um questionário de autoavaliação acerca da COVID – 19 e consultado o calendário vacinal destes pacientes (figura 19 e tabela 4). Todos os participantes consentiram em assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

Figura 19 – ELISA IgG contra proteínas S/N anti SARS-CoV-2 em pacientes ambulatoriais em maio de 2023



Reatividade do ELISA IgG para grupo ambulatorial (n=71) que foram entrevistados no mês de maio de 2023. Nota-se que apenas 1 paciente (círculo em verde) apresentou níveis no limiar de corte, para produção de anticorpos contra as proteínas S/N do vírus SARS-CoV-2. Os valores são expressos em unidades de D.O. A média (em preto) e desvio padrão (em azul) são mostrados no gráfico. A linha pontilhada em vermelho representa o ponto de corte para o grupo (D.O.= 0,290).

Elaborado pelo autor.

Das 71 amostras coletadas, 56,06% eram do sexo feminino. 84,59% possuíam comorbidades e, 35,20% dos pacientes já haviam sido diagnosticados com COVID-19, de acordo com as entrevistas. Em relação à taxa imunização contra a doença, 94,36% haviam recebido ao menos uma dose da vacinação contra o vírus. Destes, 74,63% receberam três ou quatro doses da vacinação, seguido de 15,49% que receberam duas doses dos imunizantes. No momento da coleta do soro, 10 pacientes apresentavam sintomas da COVID-19.

A presença de anticorpos IgG e IgM, anti SARS-CoV-2 sugere imunização tardia ou recente, respectivamente, do vírus (Gouvea et al. 2022). Em se tratando das leituras observadas, as amostras em sua maior parte (98,50%) apresentaram reatividade positiva contra as proteínas testadas.

Tabela 4 – Dados Demográficos e clínicos das amostras em 2023

Variáveis	Baixos Títulos IgG n= 4 (5,63%)	Altos Títulos IgG n= 67 (94,36%)
Sexo		
Feminino	1 (1,14)	39 (54,92)
Masculino	2 (2,81)	26 (36,61)
Ignorado	1 (1,41)	2 (2,82)
Faixa de idade		
de 18 - 59	2 (2,81)	20 (28,16)
60 ou +	0	39 (54,92)
Ignorado	2 (2,81)	8 (11,27)
Contato com pessoas com Covid?		
Não	2 (2,81)	64 (90,13)
Sim	0	0
Ignorado	2 (2,81)	3 (4,22)
Esta com Sintomas da COVID?		
Não	2 (2,81)	53 (74,64)
Sim	0	10 (14,08)
Ignorado	2 (2,81)	4 (5,63)
Já teve COVID-19?		
Não	2 (2,81)	38 (53,51)
Sim	0	25 (35,20)
Ignorado	2 (2,81)	4 (5,63)
Possui Vacinação?		
Não	0	1 (1,40)
Sim	3 (4,22)	64 (90,13)
Ignorado	1 (1,41)	2 (2,81)
Quantidade de doses		
1	1 (1,41)	0
2	0	11 (15,49)
3	0	4 (5,63)
4	2 (2,81)	47 (66,19)
Ignorado	1 (1,41)	5 (7,04)
Possui comorbidades?		
Não	1 (1,41)	7 (9,86)
Sim	2 (2,81)	58 (81,68)
Ignorado	1 (1,41)	2 (2,82)

Dados obtidos a partir da entrevista estruturada (Questionário de autoavaliação – COVID-19 - anexo III), da consulta aos cartões vacinais e a partir de consulta aos prontuários médicos online acessados através do Aplicativo de Gestão dos Hospitais Universitários (AGHU) - EBSEH (2023).

Fonte: Elaborado pelo autor

Das amostras analisadas para o ano de 2023, 84,5% possuíam um ou mais tipos de comorbidades, que são elencadas abaixo (tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Comorbidades observados para o grupo amostral de pacientes da unidade ambulatorial, entrevistados em maio de 2023

TIPOS DE COMORBIDADE	FREQUÊNCIA (%)
Ignorado	4,23
Anemia; Problemas nos rins	1,41
AVC, Alzheimer, Parkinson	1,41
Câncer	2,82
Câncer; Diabetes; Hipertensão; Problemas de coração; Problemas de pulmão	1,41
Colesterol/ Triglicérides altos; hipertensão, problemas nos rins	1,41
Diabete; Problemas intestinais	1,41
Diabete; Problemas no fígado	1,41
Diabetes; Doenças autoimunes; Hipertensão; Reumatismo	1,41
Diabetes; Hipertensão	4,23
Diabetes; Hipertensão; Problemas de coração; Reumatismo	2,82
Diabetes; Hipertensão; Problemas no coração; Problemas nos rins	1,41
Diabetes; Hipertensão; Problemas nos rins	4,23
Diabetes; Hipertensão; Reumatismo	1,41
Diabetes; Problemas de coração	1,41
Doença autoimune	1,41
Doenças autoimunes	1,41
Doenças autoimunes; Problema no fígado	1,41
Hipertensão	7,05
Hipertensão; Obesidade	2,82
Hipertensão; Problema nos rins	1,41
Hipertensão; Problemas intestinais.	1,41
Hipertensão; Problemas intestinais; Problemas nos rins	2,82
Hipertensão; Problemas no coração	1,41
Hipertensão; Problemas nos rins	2,82
Osteoporose	1,41
Problema de pulmão; Reumatismo; Doenças autoimunes	1,41
Problemas de coagulação; Problemas nos rins	1,41
Problemas de coração	2,82
Problemas intestinais	1,41
Problemas intestinais; Doenças autoimunes	1,41

Dados obtidos a partir da consulta aos prontuários médicos online acessados através do Aplicativo de Gestão dos Hospitais Universitários (AGHU) - EBSEH (2023).

Fonte: Elaborado pelo autor

4.6 – Desfechos alcançados para amostras de 2023

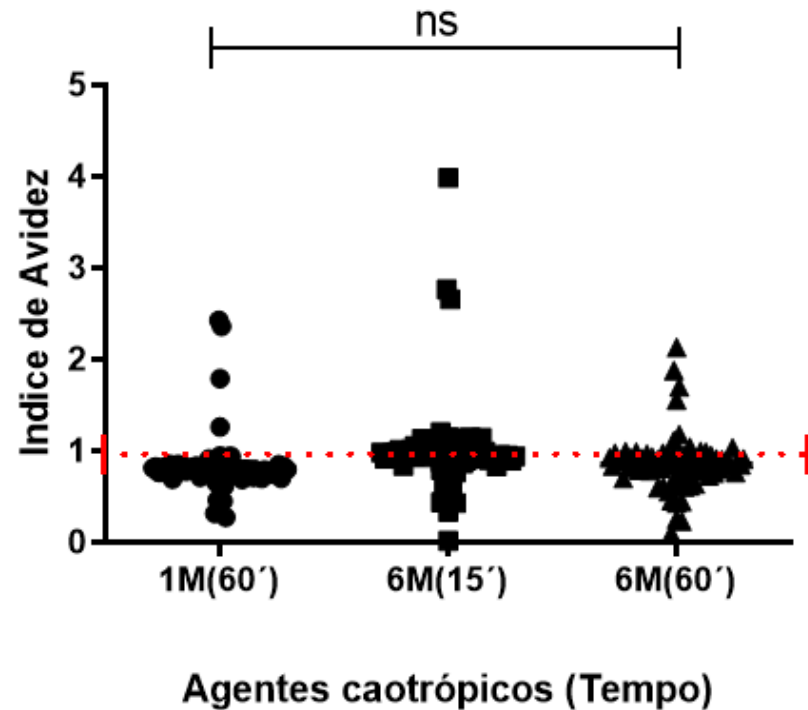
Todas as amostras analisadas em 2023 apresentaram reatividade de IgG contra proteínas S/N do SARS-CoV-2. Assim como verificado por Gouvea et al. (2022) as altas reatividades encontradas estão associadas à imunização dessa população, que em sua maioria, apresentavam duas ou mais doses da vacinação contra a Covid-19. Dos 35,20% que tiveram Covid-19 em algum momento ao longo destes anos estavam com o calendário vacinal completo (4 doses) até a realização dos testes para verificação da reatividade IgG. E apenas uma amostra apresentou níveis de reatividade próximos ao limiar de corte que diferencia amostras negativas de amostras positivas.

4.7 Análise da avidéz de anticorpos IgG em pacientes atendidos na unidade Dom Bosco em 2023

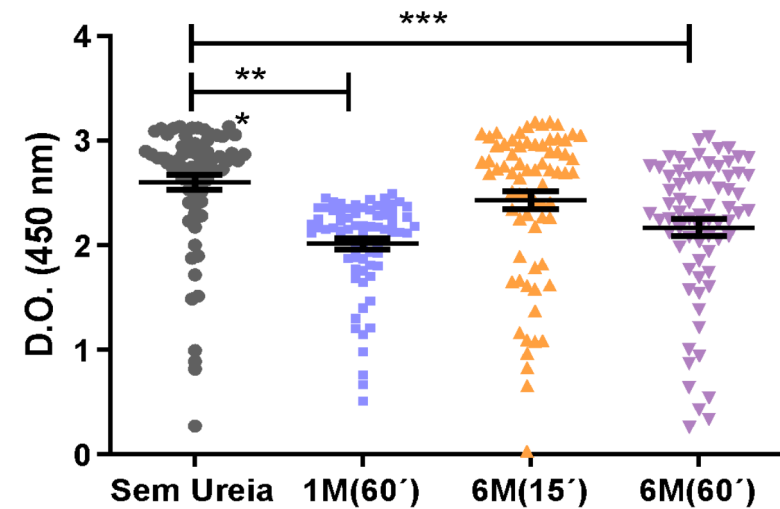
Após a análise da presença de anticorpos IgG anti-coronavírus por ELISA, as 71 amostras foram submetidas ao ensaio de avidéz de anticorpos. Diferentes concentrações molares de ureia, com variação de tempo entre 15 minutos ou 1 hora, foram empregadas a fim de verificar qual o melhor tratamento que permitisse reduzir a ligação de baixa afinidade entre anticorpo produzido contra proteínas S/N da cepa de SARS-CoV-2/Wuhan-China (figura 20). O percentual de queda da avidéz de anticorpos IgG anti S/N SARS-CoV-2 para diferentes concentrações em função do tempo é mostrado (tabela 5).

Figura 20 – Padronização e testagem das amostras de soros de pacientes da unidade ambulatorial do HU/EBSERH/UFJF de acordo com a concentração do agente caotrópico e tempo de incubação para detecção de avidéz de IgG S/N anti-SARS-CoV-2

A



B



A) Índice de avidéz das amostras (n=71) submetidas a diferentes concentrações do agente caotrópico ureia e com variação do tempo de incubação com o agente (de 15 ou 60 minutos), a fim de determinar qual a melhor concentração x tempo, necessários para determinar a avidéz de anticorpos contra proteínas do vírus. **B)** Queda da avidéz por análise da absorbância após os tratamentos com solução de ureia. Nota-se que nas concentrações 1M ou 6M há retirada de anticorpos de baixa avidéz para as proteínas spike (S) e nucleocapsídeo (N) do vírus.

O fator “tempo” de incubação com o caotrópico foi o responsável pela redução máxima de 23% da avidéz de anticorpos IgG para SARS-CoV-2 (figura 21 e tabela 5). No entanto, o percentual de redução da ligação destes anticorpos foi baixo.

Tabela 5 - Redução da avidéz de anticorpos IgG contra SARS-CoV-2 (%)

[] Ureia/Tempo	Sem alteração	Baixo	Médio	Alto	Total (%)
Ureia 1M/1h	<u>5,63</u>	<u>87,32</u>	5,63	1,41	100,00
Ureia 6M/15m.	<u>38,03</u>	<u>54,93</u>	5,63	1,41	100,00
Ureia 6M/1h	<u>11,27</u>	<u>80,28</u>	5,63	2,82	100,00

Percentual de redução da avidéz IgG contra proteínas do SARS-CoV-2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O papel dos anticorpos na Covid-19 não está totalmente desvendado. Há incertezas contra o papel protetor da imunidade humoral, entretanto há evidências crescentes de que uma resposta robusta de células T seria protetora. A presença de células T de baixa avidéz foi verificada em pacientes que sofriam de covid-19 grave (Ameratunga et al. 2022).

Em todas as concentrações utilizadas, mais de 90% das amostras mantiveram a ligação anticorpo-antígeno, indicando, conseqüentemente, que os anticorpos produzidos são de alta avidéz. Essa forte correlação foi observada por Gaspar and De Gaspari (2021) ao realizarem análises comparativas entre ensaio de neutralização de anticorpos e ensaios de avidéz ELISA, observando boa correspondência entre essas duas técnicas.

Possivelmente, a qualidade e robustez da respostas de anticorpos verificados nas amostras de 2023 refletem a imunidade protetora proveniente de células T ao SARS-CoV-2, como já verificado em estudos de toxoplasmose, linfoma de células B, hepatites, no qual a análise da avidéz era um indicativo da presença de anticorpos

IgG de baixa ou alta afinidade (Rodella et al. 2006; K. Hedman et al. 1989; Roque-Afonso et al. 2004).

A presença da alta reatividade demonstrado por ELISA e a alta avidéz de anticorpos refletem o amadurecimento e fortalecimento entre a interação anticorpo-antígeno contra proteínas do SARS-CoV-2, em decorrência da infecção ou da vacinação (Racine-Brzostek et al. 2021). Estudos corroboram que a avidéz de anticorpos se correlaciona diretamente com as respostas de neutralização para as proteínas analisadas (Hajilooi et al. 2023; Almanzar et al. 2013; Ward et al. 1994).

No presente estudo o índice de avidéz (IA) variou em decorrência das concentrações de ureia 1M ou 6M a 37°C incubadas por 1 hora. A variação do tempo de incubação foi o fator preditor para alterar a ligação das proteínas S e N do SARS-CoV-2 em no máximo 23%. A utilização da ureia como agente caotrópico foi capaz de eliminar as ligações fracas entre anticorpos de ligação IgG de baixa avidéz e proteínas do coronavírus.

A alta afinidade observada nos testes de avidéz mostrou uma forte correlação com os altos títulos de IgG e a proteção individual do grupo analisado, assim como observado por (Gaspar and De Gaspari 2021; Hertz et al. 2023).

Tendo em vista que 75,4% das amostras do grupo de 2023 possuíam quatro doses de vacinação e observando a combinação entre títulos de anticorpos dosados por ELISA e sua avidéz, foi possível verificar que os participantes estão protegidos contra a doença grave.

5 CONCLUSÕES

O primeiro conjunto de análises referente ao ano de 2022 mostrou que os participantes, em sua maior parte, apresentaram reatividade IgG para presença de anticorpos contra proteínas S/N do SARS-CoV-2 da cepa de Wuhan/China. A origem do paciente foi um fator responsável pelas diferenças de reatividades em 2022 ($p < 0,01$), bem como a presença de comorbidades ($p < 0,04$), mesmo entre pacientes que apresentavam a doença no momento da coleta. O fato dos pacientes da unidade internação apresentarem um valor médio de leitura de absorbância igual a 1,6 unidades de D.O. para o ano de 2022 requer maiores investigações

A presença de reatividade e índice de avidéz IgG em amostras de 2023 em todas as amostras foi verificada utilizando o ELISA indireto para proteínas S/N do SARS-CoV-2 da cepa de Wuhan/China. Possivelmente, a prevalência de imunização completa ou em ao menos duas doses correspondeu a 87,31% das amostras de 2023, poderia explicar as reatividades encontradas. Apesar das múltiplas comorbidades observadas nos pacientes em amostras de 2023 foi verificado leituras elevadas de D.O. para IgG contra Covid-19. Estes pacientes compõe o somatório de indivíduos que estão com o calendário vacinal para Covid-19 completos, assegurando que as reatividades são provenientes da vacinação. Isto posto, foi possível verificar que os participantes tanto em 2022 quanto em 2023 são reativos a proteínas do SARS-CoV-2 provenientes da cepa de Wuhan/China, em sua maior parte. E que os anticorpos produzidos são de alta avidéz, indicando maturação de afinidade desses anticorpos.

Novos estudos são necessários para a verificação da permanência dos anticorpos IgG contra proteínas do vírus. Análises da reatividade IgG contra novas cepas do SARS-CoV-2 são necessárias para verificação da produção de anticorpos específicos contra as variantes do novo coronavírus, em circulação no momento.

REFERÊNCIAS

- Assadiasl, Sara, Yousef Fatahi, Mahdi Zavvar, and Mohammad Hossein Nicknam. 2020. "COVID-19: Significance of Antibodies." *Human Antibodies* 28 (4): 287–97. <https://doi.org/10.3233/HAB-200429>.
- Adrover, Jose M., Alejandra Aroca-Crevillén, Georgiana Crainiciuc, Fernando Ostos, Yeny Rojas-Vega, Andrea Rubio-Ponce, Catia Cilloniz, et al. 2020. "Programmed 'Disarming' of the Neutrophil Proteome Reduces the Magnitude of Inflammation." *Nature Immunology* 21 (2): 135–44. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0571-2>.
- Alam, Mohammad Rahanur, Md. Ruhul Kabir, and Sompia Reza. 2021. "Comorbidities Might Be a Risk Factor for the Incidence of COVID-19: Evidence from a Web-Based Survey." *Preventive Medicine Reports* 21 (March): 101319. <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2021.101319>.
- Almanzar, G., B. Ottensmeier, J. Liese, and M. Prelog. 2013. "Assessment of IgG Avidity against Pertussis Toxin and Filamentous Hemagglutinin via an Adapted Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Using Ammonium Thiocyanate." *Journal of Immunological Methods* 387 (1–2): 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.09.008>.
- Ameratunga, Rohan, See-Tarn Woon, Edward Lea, Richard Steele, Klaus Lehnert, Euphemia Leung, and Anna E. S. Brooks. 2022. "The (Apparent) Antibody Paradox in COVID-19." *Expert Review of Clinical Immunology* 18 (4): 335–45. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2022.2044797>.
- Anderson, Elizabeth M., Eileen C. Goodwin, Anurag Verma, Claudia P. Arevalo, Marcus J. Bolton, Madison E. Weirick, Sigrid Gouma, et al. 2021. "Seasonal Human Coronavirus Antibodies Are Boosted upon SARS-CoV-2 Infection but Not Associated with Protection." *Cell* 184 (7): 1858–1864.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.010>.
- Andrade Belitardo, Emilia M.M., Nivison Nery, Juan P. Aguilar Ticona, Moyra Machado Portilho, Iago O. Mello, Guilherme S. Ribeiro, Mitermayer G. Reis, et al. 2022. "Reliable Estimation of SARS-CoV-2 Anti-Spike Protein IgG Titers from Single Dilution Optical Density Values in Serologic Surveys." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 104 (4): 115807. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2022.115807>.
- ANVISA, BRASIL MINISTÉRIO DA SAÚDE; 2020. "Brasil Confirma Primeiro Caso Do

- Novo Coronavírus.” 2020. <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2020/02/brasil-confirma-primeiro-caso-do-novo-coronavirus>.
- Artik, Yakup, Alp B. Coşğun, Nevra P. Cesur, Nedret Hızal, Yavuz Uyar, Haydar Sur, and Alp Ayan. 2022. “Comparison of COVID-19 Laboratory Diagnosis by Commercial Kits: Effectivity of RT-PCR to the RT-LAMP.” *Journal of Medical Virology* 94 (5): 1998–2007. <https://doi.org/10.1002/jmv.27559>.
- Assadiasl, Sara, Yousef Fatahi, Mahdi Zavvar, and Mohammad Hossein Nicknam. 2020. “COVID-19: Significance of Antibodies.” *Human Antibodies* 28 (4): 287–97. <https://doi.org/10.3233/HAB-200429>.
- Bagno, Flávia F., Sarah A.R. Sérgio, Maria Marta Figueiredo, Lara C. Godoi, Luis A.F. Andrade, Natália C. Salazar, Camila P. Soares, et al. 2022. “Development and Validation of an Enzyme-Linked Immunoassay Kit for Diagnosis and Surveillance of COVID-19.” *Journal of Clinical Virology Plus* 2 (3): 100101. <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2022.100101>.
- Bangaru, Sandhya, Gabriel Ozorowski, Hannah L. Turner, Aleksandar Antanasijevic, Deli Huang, Xiaoning Wang, Jonathan L. Torres, et al. 2020. “Structural Analysis of Full-Length SARS-CoV-2 Spike Protein from an Advanced Vaccine Candidate.” *Science* 370 (6520): 1089–94. <https://doi.org/10.1126/science.abe1502>.
- Batchi-Bouyou, Armel Landry, Jean Claude Djontu, Jeannhey Christevy Vouvoungui, Claujens Chastel Mfoutou Mapanguy, Line Lobaloba Ingoba, Jiré Séphora Mougany, Kamal Rauchelvy Boumpoutou, Steve Diafouka-kietela, Raoul Ampa, and Francine Ntouni. 2022. “Assessment of Neutralizing Antibody Responses after Natural SARS-CoV-2 Infection and Vaccination in Congolese Individuals.” *BMC Infectious Diseases* 22 (1): 610. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07593-y>.
- Bauer, Georg. 2021. “The Variability of the Serological Response to SARS-corona Virus-2: Potential Resolution of Ambiguity through Determination of Avidity (Functional Affinity).” *Journal of Medical Virology* 93 (1): 311–22. <https://doi.org/10.1002/jmv.26262>.
- Benton, Donald J., Antoni G. Wrobel, Pengqi Xu, Chloë Roustán, Stephen R. Martin, Peter B. Rosenthal, John J. Skehel, and Steven J. Gamblin. 2020. “Receptor Binding and Priming of the Spike Protein of SARS-CoV-2 for Membrane Fusion.” *Nature* 588 (7837): 327–30. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2772-0>.
- Bhaskar, Sonu, Akansha Sinha, Maciej Banach, Shikha Mittoo, Robert Weissert,

- Joseph S. Kass, Santhosh Rajagopal, Anupama R. Pai, and Shelby Kutty. 2020. "Cytokine Storm in COVID-19—Immunopathological Mechanisms, Clinical Considerations, and Therapeutic Approaches: The REPROGRAM Consortium Position Paper." *Frontiers in Immunology* 11 (July). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01648>.
- Bojkova, Denisa, Kevin Klann, Benjamin Koch, Marek Widera, David Krause, Sandra Ciesek, Jindrich Cinatl, and Christian Münch. 2020. "Proteomics of SARS-CoV-2-Infected Host Cells Reveals Therapy Targets." *Nature* 583 (7816): 469–72. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2332-7>.
- Bousfiha, Aziz, Abderrahmane Moundir, Stuart G. Tangye, Capucine Picard, Leïla Jeddane, Waleed Al-Herz, Charlotte C. Rundles, et al. 2022. "The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity." *Journal of Clinical Immunology* 42 (7): 1508–20. <https://doi.org/10.1007/s10875-022-01352-z>.
- Brady, Allison M., Elizabeth R. Unger, and Gitika Panicker. 2017. "Description of a Novel Multiplex Avidity Assay for Evaluating HPV Antibodies." *Journal of Immunological Methods* 447 (August): 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2017.04.004>.
- Brasil, Secretaria do Estado de Saúde. 2022. "COVID-19 NO BRASIL." 2022. https://infoms.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html.
- BRASIL, SENADO FEDERAL - SF. 2020. "DECRETO LEGISLATIVO Nº 6 DE 20 DE MARÇO DE 2020." <https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DLG&numero=6&ano=2020&ato=b1fAzZU5EMZpWT794#:~:text=LCP 173%2C DE 27%2F05,31 de dezembro de 2021>.
- Burki, Talha Khan. 2022. "Omicron Variant and Booster COVID-19 Vaccines." *The Lancet Respiratory Medicine* 10 (2): e17. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00559-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00559-2).
- Cai, Yongfei, Jun Zhang, Tianshu Xiao, Hanqin Peng, Sarah M. Sterling, Richard M. Walsh, Shaun Rawson, Sophia Rits-Volloch, and Bing Chen. 2020. "Distinct Conformational States of SARS-CoV-2 Spike Protein." *Science* 369 (6511): 1586–92. <https://doi.org/10.1126/science.abd4251>.
- Cascella, Marco, Michael Rajnik, Abdul Aleem, Scott C. Dulebohn, and Raffaella Di Napoli. 2022. *Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19)*.

- StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2003. "Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome--Worldwide, 2003." *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 52 (11): 226–28. <https://doi.org/10.1038/s41379-020-0580-6>.
- Cevenini, Elisa, Daniela Monti, and Claudio Franceschi. 2013. "Inflamm-Ageing." *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 16 (1): 14–20. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32835ada13>.
- Chau, Alice S., Andrew G. Weber, Naomi I. Maria, Sonali Narain, Audrey Liu, Negin Hajizadeh, Prashant Malhotra, Ona Bloom, Galina Marder, and Blanka Kaplan. 2021. "The Longitudinal Immune Response to Coronavirus Disease 2019: Chasing the Cytokine Storm." *Arthritis & Rheumatology* 73 (1): 23–35. <https://doi.org/10.1002/art.41526>.
- Clark, M. F., R. M. Lister, and M. Bar-Joseph. 1986. "ELISA Techniques." In , 742–66. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(86\)18114-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(86)18114-6).
- Clausen, Thomas Mandel, Daniel R. Sandoval, Charlotte B. Spliid, Jessica Pihl, Hailee R. Perrett, Chelsea D. Painter, Anoop Narayanan, et al. 2020. "SARS-CoV-2 Infection Depends on Cellular Heparan Sulfate and ACE2." *Cell* 183 (4): 1043-1057.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.033>.
- CNN Brasil. 2021. "Painel Da Vacina: Brasil Está Em 60º No Ranking Global e é 4º No Total de Doses." 2021. <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/painel-da-vacina-brasil-esta-em-60o-no-ranking-global-e-e-4o-no-total-de-doses/>.
- Codo, Ana Campos, Gustavo Gastão Davanzo, Lauar de Brito Monteiro, Gabriela Fabiano de Souza, Stéfanie Primon Muraro, João Victor Virgílio-da-Silva, Juliana Silveira Prodonoff, et al. 2020. "Elevated Glucose Levels Favor SARS-CoV-2 Infection and Monocyte Response through a HIF-1 α /Glycolysis-Dependent Axis." *Cell Metabolism* 32 (3): 437-446.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.07.007>.
- Corman, Victor M, Olfert Landt, Marco Kaiser, Richard Molenkamp, Adam Meijer, Daniel Kw Chu, Tobias Bleicker, et al. 2020. "Detection of 2019 Novel Coronavirus (2019-NCoV) by Real-Time RT-PCR." *Euro Surveillance : Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 25 (3). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>.
- Coupanec, Alain Le, Marc Desforges, Mathieu Meessen-Pinard, Mathieu Dubé, Robert Day, Nabil G. Seidah, and Pierre J. Talbot. 2015. "Cleavage of a Neuroinvasive Human Respiratory Virus Spike Glycoprotein by Proprotein Convertases

- Modulates Neurovirulence and Virus Spread within the Central Nervous System.” Edited by Matthias Johannes Schnell. *PLoS Pathogens* 11 (11): e1005261. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005261>.
- Coutard, B., C. Valle, X. de Lamballerie, B. Canard, N. G. Seidah, and E. Decroly. 2020. “The Spike Glycoprotein of the New Coronavirus 2019-NCoV Contains a Furin-like Cleavage Site Absent in CoV of the Same Clade.” *Antiviral Research* 176 (April): 104742. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104742>.
- Crotty, Shane. 2019. “T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases.” *Immunity* 50 (5): 1132–48. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.04.011>.
- Dan, Jennifer M., Jose Mateus, Yu Kato, Kathryn M. Hastie, Esther Dawen Yu, Caterina E. Faliti, Alba Grifoni, et al. 2021. “Immunological Memory to SARS-CoV-2 Assessed for up to 8 Months after Infection.” *Science* 371 (6529). <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>.
- DeDiego, Marta L., Enrique Álvarez, Fernando Almazán, María Teresa Rejas, Elaine Lamirande, Anjeanette Roberts, Wun-Ju Shieh, Sherif R. Zaki, Kanta Subbarao, and Luis Enjuanes. 2007. “A Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus That Lacks the E Gene Is Attenuated In Vitro and In Vivo.” *Journal of Virology* 81 (4): 1701–13. <https://doi.org/10.1128/jvi.01467-06>.
- Dolja, Valerian V., and Eugene V. Koonin. 2018. “Metagenomics Reshapes the Concepts of RNA Virus Evolution by Revealing Extensive Horizontal Virus Transfer.” *Virus Research* 244 (January): 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.10.020>.
- Enjuanes, L., A.E. Gorbalenya, R.J. de Groot, J.A. Cowley, J. Ziebuhr, and E.J. Snijder. 2008. “Nidovirales.” In *Encyclopedia of Virology*, 419–30. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00775-5>.
- Fehr, Anthony R., and Stanley Perlman. 2015. “Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis.” In *Intervirology*, 64:1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1.
- Frieman, Matthew, Mark Heise, and Ralph Baric. 2008. “SARS Coronavirus and Innate Immunity.” *Virus Research* 133 (1): 101–12. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.03.015>.
- Gaborit, Bénédicte, Sara Fernandes, Paul Loubet, Laetitia Ninove, Anne Dutour, Bertrand Cariou, Muriel Coupaye, et al. 2023. “Early Humoral Response to

- COVID-19 Vaccination in Patients Living with Obesity and Diabetes in France. The COVPOP OBEDIAB Study with Results from the ANRS0001S COV-POPART Cohort.” *Metabolism* 142 (May): 155412. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155412>.
- Gallego-Valcarce, Eduardo, Amir Shabaka, Mariana Leon-Poo, Enrique Gruss, Juan Manuel Acedo-Sanz, Alfredo Cordón, Clara Cases-Corona, and Gema Fernandez-Juarez. 2022. “Humoral Response Following Triple Dose of mRNA Vaccines Against SARS-CoV-2 in Hemodialysis Patients: Results After 1 Year of Follow-Up.” *Frontiers in Medicine* 9 (July). <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.927546>.
- Gaspar, Emanuelle Baldo, and Elizabeth De Gaspari. 2021. “Avidity Assay to Test Functionality of Anti-SARS-Cov-2 Antibodies.” *Vaccine* 39 (10): 1473–75. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.003>.
- Gouvea, Maria da Penha Gomes, Isac Ribeiro Moula, Thayná Martins Gouveia, Beatriz Paoli Thompson, Karen Evelin Monlevade Lança, Gabriela Curto Cristianes Lacerda, João Pedro Gonçalves Lenzi, et al. 2022. “REATIVIDADE VACINAL E DURAÇÃO DE RESPOSTA IMUNE DA CORONAVAC E ASTRAZENECA EM UMA COORTE DE TRABALHADORES.” *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 26 (January): 101713. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101713>.
- Grimbacher, B. 2014. “The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry 2014.” *Clinical & Experimental Immunology* 178 (Suppl 1): 18–20. <https://doi.org/10.1111/cei.12496>.
- Hajilooi, Mehrdad, Fariba Keramat, Akram Moazenian, Mohsen Rastegari-Pouyani, and Ghasem Solgi. 2023. “The Quantity and Quality of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies Show Contrariwise Association with COVID-19 Severity: Lessons Learned from IgG Avidity.” *Medical Microbiology and Immunology* 212 (3): 203–20. <https://doi.org/10.1007/s00430-023-00763-y>.
- Hasanzad, Mandana, Hamidreza Namazi, and Bagher Larijani. 2022. “COVID-19 Anti-Vaccine Attitude and Hesitancy.” *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 22 (1): 1–4. <https://doi.org/10.1007/s40200-022-01018-y>.
- Hazell, Stuart L. 2007. “Clinical Utility of Avidity Assays.” *Expert Opinion on Medical Diagnostics* 1 (4): 511–19. <https://doi.org/10.1517/17530059.1.4.511>.
- Hedman, K., M. Lappalainen, I. Seppä, and O. Makela. 1989. “Recent Primary

- Toxoplasma Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG.” *Journal of Infectious Diseases* 159 (4): 736–40. <https://doi.org/10.1093/infdis/159.4.736>.
- Hedman, Klaus, and Ilkka Seppälä. 1988. “Recent Rubella Virus Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG.” *Journal of Clinical Immunology* 8 (3): 214–21. <https://doi.org/10.1007/BF00917569>.
- Herold, Tobias, Vindi Jurinovic, Chiara Arnreich, Brian J. Lipworth, Johannes C. Hellmuth, Michael von Bergwelt-Baildon, Matthias Klein, and Tobias Weinberger. 2020. “Elevated Levels of IL-6 and CRP Predict the Need for Mechanical Ventilation in COVID-19.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 146 (1): 128-136.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.008>.
- Hertz, Tomer, Shlomia Levy, Daniel Ostrovsky, Hanna Oppenheimer, Shosh Zismanov, Alona Kuzmina, Lilach M. Friedman, et al. 2023. “Correlates of Protection for Booster Doses of the SARS-CoV-2 Vaccine BNT162b2.” *Nature Communications* 14 (1): 4575. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39816-4>.
- Hoffmann, Markus, Hannah Kleine-Weber, and Stefan Pöhlmann. 2020. “A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells.” *Molecular Cell* 78 (4): 779-784.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.04.022>.
- Hofmann, Heike, and Stefan Pöhlmann. 2004. “Cellular Entry of the SARS Coronavirus.” *Trends in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.08.008>.
- HU-UFJF/EBSERH, Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora. 2019. “Carta de Serviços Ao Cidadão.” https://www2.ufjf.br/ufjf/wp-content/uploads/sites/3/2019/10/carta-de-servios-ao-cidado_17-07-19.pdf.
- Hui, David S., Esam I Azhar, Tariq A. Madani, Francine Ntoumi, Richard Kock, Osman Dar, Giuseppe Ippolito, et al. 2020. “The Continuing 2019-NCoV Epidemic Threat of Novel Coronaviruses to Global Health — The Latest 2019 Novel Coronavirus Outbreak in Wuhan, China.” *International Journal of Infectious Diseases* 91 (February): 264–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.009>.
- Iba, Toshiaki, Jerrold H. Levy, Marcel Levi, and Jecko Thachil. 2020. “Coagulopathy in COVID-19.” *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. <https://doi.org/10.1111/jth.14975>.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa. 2022. “Censo Demográfico Brasileiro.” Brasil. https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/?utm_source=ibge&utm_medium=hom

e&utm_campaign=portal.

- Isho, Baweleta, Kento T. Abe, Michelle Zuo, Alainna J. Jamal, Bhavisha Rathod, Jenny H. Wang, Zhijie Li, et al. 2020. "Persistence of Serum and Saliva Antibody Responses to SARS-CoV-2 Spike Antigens in COVID-19 Patients." *Science Immunology* 5 (52). <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abe5511>.
- Kamar, Nassim, Florence Abravanel, Olivier Marion, Chloé Couat, Jacques Izopet, and Arnaud Del Bello. 2021. "Three Doses of an mRNA Covid-19 Vaccine in Solid-Organ Transplant Recipients." *New England Journal of Medicine* 385 (7): 661–62. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2108861>.
- Katsura, Hiroaki, Vishwaraj Sontake, Aleksandra Tata, Yoshihiko Kobayashi, Caitlin E. Edwards, Brook E. Heaton, Arvind Konkimalla, et al. 2020. "Human Lung Stem Cell-Based Alveolospheres Provide Insights into SARS-CoV-2-Mediated Interferon Responses and Pneumocyte Dysfunction." *Cell Stem Cell* 27 (6): 890–904.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.005>.
- Kim, So Young, Weihua Jin, Amika Sood, David W. Montgomery, Oliver C. Grant, Mark M. Fuster, Li Fu, et al. 2020. "Characterization of Heparin and Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Spike Glycoprotein Binding Interactions." *Antiviral Research* 181 (September): 104873. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104873>.
- Klein, S. L., I. Marriott, and E. N. Fish. 2015. "Sex-Based Differences in Immune Function and Responses to Vaccination." *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 109 (1): 9–15. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru167>.
- Konno, Yoriyuki, Izumi Kimura, Keiya Uriu, Masaya Fukushima, Takashi Irie, Yoshio Koyanagi, Daniel Sauter, Robert J. Gifford, So Nakagawa, and Kei Sato. 2020. "SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant." *Cell Reports* 32 (12): 108185. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108185>.
- Lai, Christopher K C, and Wilson Lam. 2021. "Laboratory Testing for the Diagnosis of COVID-19." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 538 (January): 226–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.069>.
- Lan, Jun, Jiwan Ge, Jinfang Yu, Sisi Shan, Huan Zhou, Shilong Fan, Qi Zhang, et al. 2020. "Structure of the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain Bound to the ACE2 Receptor." *Nature* 581 (7807): 215–20. <https://doi.org/10.1038/s41586->

020-2180-5.

- Li, Kening, Bin Huang, Min Wu, Aifang Zhong, Lu Li, Yun Cai, Zhihua Wang, et al. 2020. "Dynamic Changes in Anti-SARS-CoV-2 Antibodies during SARS-CoV-2 Infection and Recovery from COVID-19." *Nature Communications* 11 (1): 6044. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19943-y>.
- Li, Ruiyun, Sen Pei, Bin Chen, Yimeng Song, Tao Zhang, Wan Yang, and Jeffrey Shaman. 2020. "Substantial Undocumented Infection Facilitates the Rapid Dissemination of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2)." *Science* 368 (6490): 489–93. <https://doi.org/10.1126/science.abb3221>.
- Lim Vos, Theo, Stephen S, Cristiana Abbafati, Kaja M Abbas, Mohammad Abbasi, Mitra Abbasifard, Mohsen Abbasi-Kangevari, et al. 2020. "Global Burden of 369 Diseases and Injuries in 204 Countries and Territories, 1990–2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019." *The Lancet* 396 (10258): 1204–22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9).
- Long, Quan-Xin, Bai-Zhong Liu, Hai-Jun Deng, Gui-Cheng Wu, Kun Deng, Yao-Kai Chen, Pu Liao, et al. 2020. "Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients with COVID-19." *Nature Medicine* 26 (6): 845–48. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.
- Lukassen, Soeren, Robert Lorenz Chua, Timo Trefzer, Nicolas C Kahn, Marc A Schneider, Thomas Muley, Hauke Winter, et al. 2020. "SARS -CoV-2 Receptor ACE 2 and TMPRSS 2 Are Primarily Expressed in Bronchial Transient Secretory Cells." *The EMBO Journal* 39 (10). <https://doi.org/10.15252/embj.20105114>.
- Mackay, I. M. 2002. "Real-Time PCR in Virology." *Nucleic Acids Research* 30 (6): 1292–1305. <https://doi.org/10.1093/nar/30.6.1292>.
- Maeda, Junko, John F. Repass, Akihiko Maeda, and Shinji Makino. 2001. "Membrane Topology of Coronavirus E Protein." *Virology* 281 (2): 163–69. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0818>.
- Manuylov, Victor, Olga Burgasova, Olga Borisova, Svetlana Smetanina, Daria Vasina, Igor Grigoriev, Alexandra Kudryashova, et al. 2022. "Avidity of IgG to SARS-CoV-2 RBD as a Prognostic Factor for the Severity of COVID-19 Reinfection." *Viruses* 14 (3): 1–9. <https://doi.org/10.3390/v14030617>.
- Martins Pinheiro, Maxmiliano. 2023. "RESISTÊNCIA À VACINA: AS POLÊMICAS DO PASSADO E DO PRESENTE." *RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218* 4 (2): e422835. <https://doi.org/10.47820/recima21.v4i2.2835>.

- Matsuyama, Shutoku, Noriyo Nagata, Kazuya Shirato, Miyuki Kawase, Makoto Takeda, and Fumihiro Taguchi. 2010. "Efficient Activation of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein by the Transmembrane Protease TMPRSS2." *Journal of Virology* 84 (24): 12658–64. <https://doi.org/10.1128/jvi.01542-10>.
- Mayi, Bindu S., Jillian A. Leibowitz, Arden T. Woods, Katherine A. Ammon, Alphonse E. Liu, and Aarti Raja. 2021. "The Role of Neuropilin-1 in COVID-19." Edited by Rachel Fearn. *PLOS Pathogens* 17 (1): e1009153. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009153>.
- Meftahi, Gholam Hossein, Zohreh Jangravi, Hedayat Sahraei, and Zahra Bahari. 2020. "The Possible Pathophysiology Mechanism of Cytokine Storm in Elderly Adults with COVID-19 Infection: The Contribution of 'Inflame-Aging.'" *Inflammation Research* 69 (9): 825–39. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01372-8>.
- Millet, Jean Kaoru, and Gary R. Whittaker. 2014. "Host Cell Entry of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus after Two-Step, Furin-Mediated Activation of the Spike Protein." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (42): 15214–19. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407087111>.
- Ministério da Saúde, FIOCRUZ, Casa de Oswaldo Cruz. 2023. "EIE COVID-19 IgG Bio-Manguinhos - Manual." 2023. <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/produtos/reativos/ensaios-sorologicos/imunoenzimatico/eie-covid-19-igg#>.
- Mittal, Anshumali, Kavyashree Manjunath, Rajesh Kumar Ranjan, Sandeep Kaushik, Sujeet Kumar, and Vikash Verma. 2020. "COVID-19 Pandemic: Insights into Structure, Function, and HACE2 Receptor Recognition by SARS-CoV-2." Edited by Tom C. Hobman. *PLOS Pathogens* 16 (8): e1008762. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008762>.
- Moriyama, Saya, Yu Adachi, Takashi Sato, Keisuke Tonouchi, Lin Sun, Shuetsu Fukushi, Souichi Yamada, et al. 2021. "Temporal Maturation of Neutralizing Antibodies in COVID-19 Convalescent Individuals Improves Potency and Breadth to Circulating SARS-CoV-2 Variants." *Immunity* 54 (8): 1841-1852.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.06.015>.
- Moss, Paul. 2022. "The T Cell Immune Response against SARS-CoV-2." *Nature Immunology* 23 (2): 186–93. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01122-w>.
- Motta Filho, Geraldo da Rocha, Ana Carolina Leal, Marcus Vinicius Galvão do Amaral,

- Phelippe Augusto Valente Maia, Maria Eugênia Leite Duarte, and Germana Lyra Bähr. 2021. "Impacto Das Estratégias Adotadas Para Enfrentar a Pandemia de COVID-19 Em Um Instituto Brasileiro de Referência Em Cirurgia de Alta Complexidade Em Ortopedia e Traumatologia." *Revista Brasileira de Ortopedia* 56 (02): 161–67. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1728703>.
- Neuman, Benjamin W., Gabriella Kiss, Andreas H. Kunding, David Bhella, M. Fazil Baksh, Stephen Connelly, Ben Droese, et al. 2011. "A Structural Analysis of M Protein in Coronavirus Assembly and Morphology." *Journal of Structural Biology* 174 (1): 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>.
- Ng, Kevin W., Nikhil Faulkner, Georgina H. Cornish, Annachiara Rosa, Ruth Harvey, Saira Hussain, Rachel Ulferts, et al. 2020. "Preexisting and de Novo Humoral Immunity to SARS-CoV-2 in Humans." *Science* 370 (6522): 1339–43. <https://doi.org/10.1126/science.abe1107>.
- Nieto-Torres, Jose L., Marta L. DeDiego, Carmina Verdiá-Báguena, Jose M. Jimenez-Guardeño, Jose A. Regla-Nava, Raul Fernandez-Delgado, Carlos Castaño-Rodriguez, et al. 2014. "Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel Activity Promotes Virus Fitness and Pathogenesis." Edited by Mark R. Denison. *PLoS Pathogens* 10 (5): e1004077. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004077>.
- Oja, Anna E., Anno Saris, Cherien A. Ghandour, Natasja A.M. Kragten, Boris M. Hogema, Esther J. Nossent, Leo M.A. Heunks, et al. 2020. "Divergent SARS-CoV-2-specific T- and B-cell Responses in Severe but Not Mild COVID-19 Patients." *European Journal of Immunology* 50 (12): 1998–2012. <https://doi.org/10.1002/eji.202048908>.
- Oliveira, Mônica Ribeiro de. 2004. "Juiz de Fora: Vivendo a História." 2004. <https://pjf.mg.gov.br/cidade/historia.php>.
- Oostindie, Simone C., Greg A. Lazar, Janine Schuurman, and Paul W. H. I. Parren. 2022. "Avidity in Antibody Effector Functions and Biotherapeutic Drug Design." *Nature Reviews Drug Discovery* 21 (10): 715–35. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00501-8>.
- OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. n.d. "Histórico Da Pandemia de COVID-19." <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>.
- Pairó-Castineira, Erola, Sara Clohisey, Lucija Klaric, Andrew D. Bretherick, Konrad Rawlik, Dorota Pasko, Susan Walker, et al. 2021. "Genetic Mechanisms of Critical

- Illness in COVID-19." *Nature* 591 (7848): 92–98. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03065-y>.
- Pan, Pan, Miaomiao Shen, Zhenyang Yu, Weiwei Ge, Keli Chen, Mingfu Tian, Feng Xiao, et al. 2021. "Author Correction: SARS-CoV-2 N Protein Promotes NLRP3 Inflammasome Activation to Induce Hyperinflammation." *Nature Communications* 12 (1): 5306. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25629-w>.
- Paunio, Mikko, Klaus Hedman, Irja Davidkin, and Heikki Peltola. 2003. "IgG Avidity to Distinguish Secondary from Primary Measles Vaccination Failures: Prospects for a More Effective Global Measles Elimination Strategy." *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 4 (8): 1215–25. <https://doi.org/10.1517/14656566.4.8.1215>.
- Peng, D, C A Koetzner, T McMahon, Y Zhu, and P S Masters. 1995. "Construction of Murine Coronavirus Mutants Containing Interspecies Chimeric Nucleocapsid Proteins." *Journal of Virology* 69 (9): 5475–84. <https://doi.org/10.1128/jvi.69.9.5475-5484.1995>.
- Peng, Ruchao, Lian-Ao Wu, Qingling Wang, Jianxun Qi, and George Fu Gao. 2021. "Cell Entry by SARS-CoV-2." *Trends in Biochemical Sciences* 46 (10): 848–60. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.06.001>.
- Piccoli, Luca, Young-Jun Park, M. Alejandra Tortorici, Nadine Czudnochowski, Alexandra C. Walls, Martina Beltramello, Chiara Silacci-Fregni, et al. 2020. "Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology." *Cell* 183 (4): 1024-1042.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.037>.
- Pinti, Marcello, Victor Appay, Judith Campisi, Daniela Frasca, Tamas Fülöp, Delphine Sauce, Anis Larbi, Birgit Weinberger, and Andrea Cossarizza. 2016. "Aging of the Immune System: Focus on Inflammation and Vaccination." *European Journal of Immunology* 46 (10): 2286–2301. <https://doi.org/10.1002/eji.201546178>.
- Pinto, Dora, Young-Jun Park, Martina Beltramello, Alexandra C. Walls, M. Alejandra Tortorici, Siro Bianchi, Stefano Jaconi, et al. 2020. "Cross-Neutralization of SARS-CoV-2 by a Human Monoclonal SARS-CoV Antibody." *Nature* 583 (7815): 290–95. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2349-y>.
- Pratesi, Federico, Teresita Caruso, Davide Testa, Tiziano Tarpanelli, Alessandra Gentili, Davide Gioè, and Paola Migliorini. 2021. "BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 Vaccine Elicits High Avidity and Neutralizing Antibodies in Healthcare Workers." *Vaccines* 9 (6): 672. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060672>.

- Puelles, Victor G., Marc Lütgehetmann, Maja T. Lindenmeyer, Jan P. Sperhake, Milagros N. Wong, Lena Allweiss, Silvia Chilla, et al. 2020. "Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2." *New England Journal of Medicine* 383 (6): 590–92. <https://doi.org/10.1056/nejmc2011400>.
- Quiroga, Borja, María José Soler, Alberto Ortiz, Shaira Martínez Vaquera, Carlos Jesús Jarava Mantecón, Gustavo Useche, María Gabriela Sánchez Márquez, et al. 2022. "Safety and Immediate Humoral Response of COVID-19 Vaccines in Chronic Kidney Disease Patients: The SENCOVAC Study." *Nephrology Dialysis Transplantation* 37 (10): 1868–78. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfab313>.
- Racine-Brzostek, Sabrina E, Mohsen Karbaschi, Christian Gaebler, P J Klasse, Jim Yee, Marina Caskey, He S Yang, et al. 2021. "TOP-Plus Is a Versatile Biosensor Platform for Monitoring SARS-CoV-2 Antibody Durability." *Clinical Chemistry* 67 (9): 1249–58. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab069>.
- Rambaut, Andrew, Edward C. Holmes, Áine O'Toole, Verity Hill, John T. McCrone, Christopher Ruis, Louis du Plessis, and Oliver G. Pybus. 2020. "A Dynamic Nomenclature Proposal for SARS-CoV-2 Lineages to Assist Genomic Epidemiology." *Nature Microbiology* 5 (11): 1403–7. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>.
- Rifai, Achmad, Cesarius Singgih Wahono, Mirza Zaka Pratama, Kusworini Handono, Hani Susianti, Agustin Iskandar, Nurima Diyah, Dewi Santoningsih, Nur Samsu, and Atma Gunawan. 2022. "Association Between the Effectiveness and Immunogenicity of Inactivated SARS-CoV2 Vaccine (CoronaVac) with the Presence of Hypertension among Health Care Workers." *Clinical and Experimental Hypertension* 44 (3): 233–39. <https://doi.org/10.1080/10641963.2021.2022687>.
- Robbiani, Davide F., Christian Gaebler, Frauke Muecksch, Julio C. C. Lorenzi, Zijun Wang, Alice Cho, Marianna Agudelo, et al. 2020. "Convergent Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Convalescent Individuals." *Nature* 584 (7821): 437–42. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2456-9>.
- Rodella, Anna, Claudio Galli, Luigina Terlenghi, Francesca Perandin, Carlo Bonfanti, and Nino Manca. 2006. "Quantitative Analysis of HBsAg, IgM Anti-HBc and Anti-HBc Avidity in Acute and Chronic Hepatitis B." *Journal of Clinical Virology* 37 (3): 206–12. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2006.06.011>.
- Roque-Afonso, Anne-Marie, Liliane Grangeot-Keros, Bénédicte Roquebert, Delphine

- Desbois, Jean-Dominique Poveda, Vincent Mackiewicz, and Elisabeth Dussaix. 2004. "Diagnostic Relevance of Immunoglobulin G Avidity for Hepatitis A Virus." *Journal of Clinical Microbiology* 42 (11): 5121–24. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.5121-5124.2004>.
- Rosenberg, Eli S., Vajeera Dorabawila, Delia Easton, Ursula E. Bauer, Jessica Kumar, Rebecca Hoen, Dina Hoefer, et al. 2022. "Covid-19 Vaccine Effectiveness in New York State." *New England Journal of Medicine* 386 (2): 116–27. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2116063>.
- Rydzynski Moderbacher, Carolyn, Sydney I. Ramirez, Jennifer M. Dan, Alba Grifoni, Kathryn M. Hastie, Daniela Weiskopf, Simon Belanger, et al. 2020. "Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity." *Cell* 183 (4): 996-1012.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>.
- S Filgueiras, Priscilla, Camila A Corsini, Nathalie BF Almeida, Jessica V Assis, Maria Luysa C Pedrosa, Daniel AP de Miranda, Sarah VC Gomes, et al. 2022. "COVID-19 Rapid Antigen Test at Hospital Admission Associated to the Knowledge of Individual Risk Factors Allow Overcoming the Difficulty of Managing Suspected Patients in Hospitals." *Fortune Journal of Health Sciences* 05 (02). <https://doi.org/10.26502/fjhs.055>.
- Santos, Cleber Vinicius Brito dos, Naiara Cristina Morais Valiati, Tatiana Guimarães de Noronha, Victor Bertollo Gomes Porto, Antônio Guilherme Pacheco, Laís Picinini Freitas, Flávio Codeço Coelho, et al. 2023. "The Effectiveness of COVID-19 Vaccines against Severe Cases and Deaths in Brazil from 2021 to 2022: A Registry-Based Study." *The Lancet Regional Health - Americas* 20 (April): 100465. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100465>.
- Schubert, Jörg, Wolfgang Zens, and Benedikt Weissbrich. 1998. "Comparative Evaluation of the Use of Immunoblots and of IgG Avidity Assays as Confirmatory Tests for the Diagnosis of Acute EBV Infections." *Journal of Clinical Virology* 11 (3): 161–72. [https://doi.org/10.1016/S0928-0197\(98\)00061-0](https://doi.org/10.1016/S0928-0197(98)00061-0).
- Schulte-Schrepping, Jonas, Nico Reusch, Daniela Paclik, Kevin Baßler, Stephan Schlickeiser, Bowen Zhang, Benjamin Krämer, et al. 2020. "Severe COVID-19 Is Marked by a Dysregulated Myeloid Cell Compartment." *Cell* 182 (6): 1419-1440.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.001>.
- Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasil. Ministério da Saúde. 2020. "BOLETIM

- EPIDEMIOLOGICO - DOENÇA PELO CORONAVÍRUS COVID-19.” 2020. <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/boletins-epidemiologicos/boletim-epidemiologico-covid-19-no-41.pdf>.
- Seekircher, Lisa, Anita Siller, Manfred Astl, Lena Tschiderer, Gregor A Wachter, Bernhard Pfeifer, Andreas Huber, Manfred Gaber, Harald Schennach, and Peter Willeit. 2022. “Seroprevalence of Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibodies in Tyrol, Austria: Updated Analysis Involving 22,607 Blood Donors Covering the Period October 2021 to April 2022.” *Viruses* 14 (9): 1877. <https://doi.org/10.3390/v14091877>.
- Sefik, Esen, Rihao Qu, Caroline Junqueira, Eleanna Kaffe, Haris Mirza, Jun Zhao, J. Richard Brewer, et al. 2022. “Inflammasome Activation in Infected Macrophages Drives COVID-19 Pathology.” *Nature* 606 (7914): 585–93. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04802-1>.
- SESJF, Secretaria Municipal de Saúde. Brasil. Minas Gerais. 2022. “Boletim Epidemiológico - Vacinação Covid-19 Em JF.” 2022. <https://covid19.pjf.mg.gov.br/vacinacao.php>.
- . 2023. “Informe Epidemiológico Coronavírus - Juiz de Fora.” 2023. <https://experience.arcgis.com/experience/255d43f95ef1446e959a20e568f2a04e/>.
- SESMG, Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais. 2023. “Distribuição de Casos COVID No Estado de Minas Gérias.” 2023. <https://coronavirus.saude.mg.gov.br/>.
- Shang, Jian, Gang Ye, Ke Shi, Yushun Wan, Chuming Luo, Hideki Aihara, Qibin Geng, Ashley Auerbach, and Fang Li. 2020. “Structural Basis of Receptor Recognition by SARS-CoV-2.” *Nature* 581 (7807): 221–24. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2179-y>.
- Shulla, Ana, Taylor Heald-Sargent, Gitanjali Subramanya, Jincun Zhao, Stanley Perlman, and Tom Gallagher. 2011. “A Transmembrane Serine Protease Is Linked to the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Receptor and Activates Virus Entry.” *Journal of Virology* 85 (2): 873–82. <https://doi.org/10.1128/jvi.02062-10>.
- Siu, Y. L., K. T. Teoh, J. Lo, C. M. Chan, F. Kien, N. Escriou, S. W. Tsao, et al. 2008. “The M, E, and N Structural Proteins of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Are Required for Efficient Assembly, Trafficking, and Release of

- Virus-Like Particles.” *Journal of Virology* 82 (22): 11318–30. <https://doi.org/10.1128/jvi.01052-08>.
- Smith, Steven G., Ruchong Chen, Melanie Kjarsgaard, Chynna Huang, John-Paul Oliveria, Paul M. O’Byrne, Gail M. Gauvreau, et al. 2016. “Increased Numbers of Activated Group 2 Innate Lymphoid Cells in the Airways of Patients with Severe Asthma and Persistent Airway Eosinophilia.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 137 (1): 75-86.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.05.037>.
- Souza, Vanda Akico Ueda Fick de, Silvana Fernandes, Evaldo Stanislaw Araújo, Adriana Fumie Tateno, Olímpia M. N. P. F. Oliveira, Renato dos Reis Oliveira, and Cláudio Sérgio Pannuti. 2004. “Use of an Immunoglobulin G Avidity Test To Discriminate between Primary and Secondary Dengue Virus Infections.” *Journal of Clinical Microbiology* 42 (4): 1782–84. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1782-1784.2004>.
- Stephens, David S., and M. Juliana McElrath. 2020. “COVID-19 and the Path to Immunity.” *JAMA* 324 (13): 1279. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.16656>.
- Sui, Liyan, Yinghua Zhao, Wenfang Wang, Ping Wu, Zedong Wang, Yang Yu, Zhijun Hou, Guangyun Tan, and Quan Liu. 2021. “SARS-CoV-2 Membrane Protein Inhibits Type I Interferon Production Through Ubiquitin-Mediated Degradation of TBK1.” *Frontiers in Immunology* 12 (May). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.662989>.
- Summers, Emma L., Mathew H. Cumming, Tiffany Oulavallickal, Nicholas J. Roberts, and Vickery L. Arcus. 2017. “Structures and Kinetics for Plant Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolases Support a Domain Motion Catalytic Mechanism.” *Protein Science* 26 (8): 1627–38. <https://doi.org/10.1002/pro.3199>.
- Suthar, Mehul S., Matthew G. Zimmerman, Robert C. Kauffman, Grace Mantus, Susanne L. Linderman, William H. Hudson, Abigail Vanderheiden, et al. 2020. “Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients.” *Cell Reports Medicine* 1 (3): 100040. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100040>.
- Suzuki, Kunimichi, Jonathan Elegheert, Inseon Song, Hiroyuki Sasakura, Oleg Senkov, Keiko Matsuda, Wataru Kakegawa, et al. 2020. “A Synthetic Synaptic Organizer Protein Restores Glutamatergic Neuronal Circuits.” *Science* 369 (6507). <https://doi.org/10.1126/science.abb4853>.
- Tan, Anthony T., Martin Linster, Chee Wah Tan, Nina Le Bert, Wan Ni Chia, Kamini Kunasegaran, Yan Zhuang, et al. 2021. “Early Induction of Functional SARS-CoV-

- 2-Specific T Cells Associates with Rapid Viral Clearance and Mild Disease in COVID-19 Patients.” *Cell Reports* 34 (6): 108728. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108728>.
- Tang, Ning, Dengju Li, Xiong Wang, and Ziyong Sun. 2020. “Abnormal Coagulation Parameters Are Associated with Poor Prognosis in Patients with Novel Coronavirus Pneumonia.” *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 18 (4): 844–47. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>.
- Tarlinton, David M, and Kenneth G.C Smith. 2000. “Dissecting Affinity Maturation: A Model Explaining Selection of Antibody-Forming Cells and Memory B Cells in the Germinal Centre.” *Immunology Today* 21 (9): 436–41. [https://doi.org/10.1016/S0167-5699\(00\)01687-X](https://doi.org/10.1016/S0167-5699(00)01687-X).
- Taylor, Luke. 2022. “Covid-19: Brazil Sees Omicron Cases Soar but Data Blackout Obscures True Impact.” *BMJ*, January, o133. <https://doi.org/10.1136/bmj.o133>.
- Thanh Le, Tung, Zacharias Andreadakis, Arun Kumar, Raúl Gómez Román, Stig Tollefsen, Melanie Saville, and Stephen Mayhew. 2020. “The COVID-19 Vaccine Development Landscape.” *Nature Reviews Drug Discovery* 19 (5): 305–6. <https://doi.org/10.1038/d41573-020-00073-5>.
- Torres, Jaume, Krupakar Parthasarathy, Xin Lin, Rathi Saravanan, Andreas Kukol, and Ding Xiang Liu. 2006. “Model of a Putative Pore: The Pentameric α -Helical Bundle of SARS Coronavirus E Protein in Lipid Bilayers.” *Biophysical Journal* 91 (3): 938–47. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.080119>.
- Tufan, A., A. Avanoglu-Guler, and M. Matucci-Cerinic. 2020. “COVID-19, Immune System Response, Hyperinflammation and Repurposing Antirheumatic Drugs.” *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES* 50 (SI-1): 620–32. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-168>.
- Uip, David E., Ana Lucia Lei Munhoz Lima, Tania Mara Varejão Strabelli, Rogerio Zeigler, Ralcyon F.A. Teixeira, Anna Christina Dámbrosio, Keila Mara de Freitas, et al. 2022. “ATENDIMENTO AMBULATORIAL E HOSPITALAR DE 1799 PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM COVID-19 ORIUNDOS DE CLINICA PRIVADA.” *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 26 (January): 101785. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101785>.
- Venet, Fabienne, Julie Demaret, Morgane Gossez, and Guillaume Monneret. 2021. “Myeloid Cells in Sepsis-Acquired Immunodeficiency.” *Annals of the New York Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1111/nyas.14333>.

- Vermont, Clementien, and Germie Dobbelsteen. 2002. "Neisseria Meningitidis Serogroup B: Laboratory Correlates of Protection." *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 34 (2): 89–96. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2002.tb00608.x>.
- Visalli, Giuseppa, Antonio Laganà, Daniela Lo Giudice, Sebastiano Calimeri, Daniela Caccamo, Alessandra Trainito, Angela Di Pietro, and Alessio Facciola. 2023. "Towards a Future of Personalized Vaccinology: Study on Individual Variables Influencing the Antibody Response to the COVID-19 Vaccine." *Vaccines* 11 (2): 217. <https://doi.org/10.3390/vaccines11020217>.
- Walls, Alexandra C., Young Jun Park, M. Alejandra Tortorici, Abigail Wall, Andrew T. McGuire, and David Veesler. 2020. "Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein." *Cell* 181 (2): 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>.
- Wang, Dawei, Bo Hu, Chang Hu, Fangfang Zhu, Xing Liu, Jing Zhang, Binbin Wang, et al. 2020. "Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China." *JAMA* 323 (11): 1061. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>.
- Wang, Qihui, Yanfang Zhang, Lili Wu, Sheng Niu, Chunli Song, Zengyuan Zhang, Guangwen Lu, et al. 2020. "Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2." *Cell* 181 (4): 894-904.e9. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3).
- Wang, Wenling, Yanli Xu, Ruqin Gao, Roujian Lu, Kai Han, Guizhen Wu, and Wenjie Tan. 2020. "Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens." *JAMA - Journal of the American Medical Association*. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>.
- Ward, K. N., W. Dhaliwal, K. L. Ashworth, E. J. Clutterbuck, and C. G. Teo. 1994. "Measurement of Antibody Avidity for Hepatitis C Virus Distinguishes Primary Antibody Responses from Passively Acquired Antibody." *Journal of Medical Virology* 43 (4): 367–72. <https://doi.org/10.1002/jmv.1890430409>.
- Watanabe, Yasunori, Joel D. Allen, Daniel Wrapp, Jason S. McLellan, and Max Crispin. 2020. "Site-Specific Glycan Analysis of the SARS-CoV-2 Spike." *Science* 369 (6501): 330–33. <https://doi.org/10.1126/science.abb9983>.
- Weissleder, Ralph, Hakho Lee, Jina Ko, and Mikael J. Pittet. 2020. "COVID-19 Diagnostics in Context." *Science Translational Medicine*. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abc1931>.

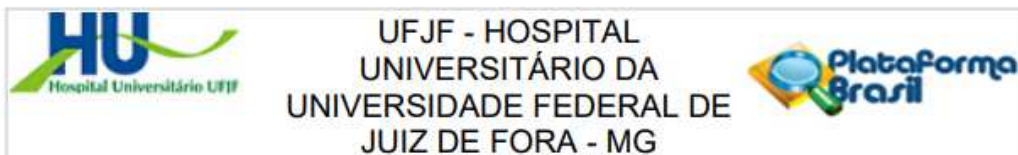
- WHO. 2022. "Tracking SARS-CoV-2 Variants." 2022. <https://covid19.who.int/>.
- WHO, World Health Organization. 2019. "WHO Director-General's Statement on IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus (2019-NCoV)." 2019. 2019. [https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihc-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihc-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov)).
- . 2023. "Health Emergency Dashboard." WHO (COVID-19) Homepage. 2023. <https://covid19.who.int/region/amro/country/br>.
- Wong, C K, C W K Lam, A K L Wu, W K Ip, N L S Lee, I H S Chan, L C W Lit, et al. 2004. "Plasma Inflammatory Cytokines and Chemokines in Severe Acute Respiratory Syndrome." *Clinical and Experimental Immunology* 136 (1): 95–103. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02415.x>.
- Woodruff, Matthew C., Richard P. Ramonell, Doan C. Nguyen, Kevin S. Cashman, Ankur Singh Saini, Natalie S. Haddad, Ariel M. Ley, et al. 2020. "Extrafollicular B Cell Responses Correlate with Neutralizing Antibodies and Morbidity in COVID-19." *Nature Immunology* 21 (12): 1506–16. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00814-z>.
- Wrapp, Daniel, Nianshuang Wang, Kizzmekia S. Corbett, Jory A. Goldsmith, Ching-Lin Hsieh, Olubukola Abiona, Barney S. Graham, and Jason S. McLellan. 2020. "Cryo-EM Structure of the 2019-NCoV Spike in the Prefusion Conformation." *Science* 367 (6483): 1260–63. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>.
- Wurtzer, Sebastien, Morgane Levert, Eloïse Dhenain, Heberte Accrombessi, Sandra Manco, Nathalie Fagour, Marion Goulet, et al. 2022. "From Alpha to Omicron BA.2: New Digital RT-PCR Approach and Challenges for SARS-CoV-2 VOC Monitoring and Normalization of Variant Dynamics in Wastewater." *Science of The Total Environment* 848 (November): 157740. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157740>.
- Yamaoka, Kunihiro, Pipsa Saharinen, Marko Pesu, Vance ET Holt, Olli Silvennoinen, and John J O'Shea. 2004. "The Janus Kinases (Jaks)." *Genome Biology* 5 (12): 253. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-12-253>.
- Yang, Li, Shasha Liu, Jinyan Liu, Zhixin Zhang, Xiaochun Wan, Bo Huang, Youhai Chen, and Yi Zhang. 2020. "COVID-19: Immunopathogenesis and Immunotherapeutics." *Signal Transduction and Targeted Therapy*. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00243-2>.
- Ye, Ye, and Brenda G. Hogue. 2007. "Role of the Coronavirus E Viroprotein Protein

- Transmembrane Domain in Virus Assembly.” *Journal of Virology* 81 (7): 3597–3607. <https://doi.org/10.1128/JVI.01472-06>.
- Yin, Xin, Laura Riva, Yuan Pu, Laura Martin-Sancho, Jun Kanamune, Yuki Yamamoto, Kouji Sakai, et al. 2021. “MDA5 Governs the Innate Immune Response to SARS-CoV-2 in Lung Epithelial Cells.” *Cell Reports* 34 (2): 108628. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108628>.
- Yong, Sarah Ee Fang, Danielle Elizabeth Anderson, Wycliffe E Wei, Junxiong Pang, Wan Ni Chia, Chee Wah Tan, Yee Leong Teoh, et al. 2020. “Connecting Clusters of COVID-19: An Epidemiological and Serological Investigation.” *The Lancet Infectious Diseases* 20 (7): 809–15. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30273-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30273-5).
- Zaki, Ali M., Sander van Boheemen, Theo M. Bestebroer, Albert D.M.E. Osterhaus, and Ron A.M. Fouchier. 2012. “Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia.” *New England Journal of Medicine* 367 (19): 1814–20. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1211721>.
- Zeng, Weihong, Guangfeng Liu, Huan Ma, Dan Zhao, Yunru Yang, Muziying Liu, Ahmed Mohammed, et al. 2020. “Biochemical Characterization of SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 527 (3): 618–23. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.136>.
- Zhang, Yanjun, Gang Zeng, Hongxing Pan, Changgui Li, Yaling Hu, Kai Chu, Weixiao Han, et al. 2021. “Safety, Tolerability, and Immunogenicity of an Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine in Healthy Adults Aged 18–59 Years: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 1/2 Clinical Trial.” *The Lancet Infectious Diseases* 21 (2): 181–92. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30843-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30843-4).
- Zhou, Hong, Xing Chen, Tao Hu, Juan Li, Hao Song, Yanran Liu, Peihan Wang, et al. 2020. “A Novel Bat Coronavirus Closely Related to SARS-CoV-2 Contains Natural Insertions at the S1/S2 Cleavage Site of the Spike Protein.” *Current Biology* 30 (11): 2196–2203.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.023>.
- Zhou, Tongqing, Yaroslav Tsybovsky, Jason Gorman, Micah Rapp, Gabriele Cerutti, Gwo Yu Chuang, Phinikoula S. Katsamba, et al. 2020. “Cryo-EM Structures of SARS-CoV-2 Spike without and with ACE2 Reveal a PH-Dependent Switch to Mediate Endosomal Positioning of Receptor-Binding Domains.” *Cell Host and Microbe* 28 (6): 867–879.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.11.004>.
- Zhu, Hengbo, Li Wei, and Ping Niu. 2020. “The Novel Coronavirus Outbreak in Wuhan,

- China.” *Global Health Research and Policy* 5 (1): 6. <https://doi.org/10.1186/s41256-020-00135-6>.
- Zhu, Na, Dingyu Zhang, Wenling Wang, Xingwang Li, Bo Yang, Jingdong Song, Xiang Zhao, et al. 2020. “A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019.” *New England Journal of Medicine* 382 (8): 727–33. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>.
- Zmasek, Christian M., Elliot J. Lefkowitz, Anna Niewiadomska, and Richard H. Scheuermann. 2022. “Genomic Evolution of the Coronaviridae Family.” *Virology* 570 (May): 123–33. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2022.03.005>.
- Zuo, Yu, Mark Warnock, Alyssa Harbaugh, Srilakshmi Yalavarthi, Kelsey Gockman, Melanie Zuo, Jacqueline A. Madison, Jason S. Knight, Yogendra Kanthi, and Daniel A. Lawrence. 2021. “Plasma Tissue Plasminogen Activator and Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Hospitalized COVID-19 Patients.” *Scientific Reports* 11 (1): 1580. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80010-z>.

ANEXOS

ANEXO I - APROVAÇÃO PELO CEP HU/EBSERH-UFJF



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de anticorpos IgG anti-SARS-CoV 2 na cidade de Juiz de Fora/MG

Pesquisador: Priscila de Faria Pinto

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 59269622.8.0000.5133

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA UFJF

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Juiz de Fora - ICB

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.598.110

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_DO_PROJETO_1914185.pdf 12/07/2022 22:28:10)

Desenho:

"Este projeto pretende, através da análise de amostras de sangue (soro/plasma) de pacientes do HU/UFJF, avaliar a reatividade de anticorpos IgG anti SARS COV 2. Para dar maior confiabilidade das informações, os voluntários serão testados para COVID-19 através da análise de material

coletado por SWAB-nasal e ensaios de PCR. Todas as amostras serão coletadas de pacientes do ambulatório do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora – MG. As amostras serão transportadas e analisadas nos laboratórios de Diagnóstico de COVID-19 (Laboratório de BIOMOL) da Faculdade de Farmácia e no Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas do ICB da UFJF. Adicionalmente a identificação de cada amostra, serão coletadas informações essenciais dos prontuários clínicos dos voluntários e através de uma entrevista que será realizada antes da coleta para obtenção de outras informações pertinentes (Diagnóstico anterior de COVID 19, Esquema vacinal para COVID). Para uma avaliação exploratória da cidade, pretendemos utilizar uma amostragem inicial calculada a partir da população de Juiz de Fora (~600 mil habitantes), com uma taxa de positividade em torno de 15% para COVID, coletando e analisando inicialmente, 196 amostras em triplicata, sendo necessário o fornecimento inicial de 20 placas para esta análise

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

UF: MG

Telefone: (32)4009-5167

Município: JUIZ DE FORA

CEP: 36.036-110

E-mail: cep.hu@ufjf.br



**UFJF - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
JUIZ DE FORA - MG**



Continuação do Parecer: 5.598.110

Outros	pdf	19:37:50	SILVA BATISTA	Aceito
Outros	DEC_INFRAESTRUTURA_HU_EBSEH.pdf	11/07/2022 19:32:49	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Orçamento	_PLANILHA_ORCAMENTARIA_.pdf	11/07/2022 19:31:18	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Outros	DECLARACAO_VIABILIDADE.pdf	03/06/2022 08:49:45	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Curriculo_Profissionais_1a_folha_.pdf	03/06/2022 08:45:08	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Outros	Comprovante_Cadastro_Pesquisador_.pdf	03/06/2022 08:25:52	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_EXECUCAO_.pdf	20/05/2022 17:08:49	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_CEP_HU.pdf	24/04/2022 20:05:19	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	PROTOCOLO_CEP_HU_.pdf	16/03/2022 14:33:56	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Outros	Termo_de_Confidencialidade_.pdf	16/03/2022 14:29:59	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DEC_INFRAESTRUTURA_BQI_.pdf	16/03/2022 14:28:19	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento_CEP_HU_.pdf	16/03/2022 14:27:51	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito
Outros	DECLARACAO_COMPROMETIMENTO PRISCILA.pdf	16/03/2022 14:27:17	JULIO CESAR DA SILVA BATISTA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 23 de Agosto de 2022

**Assinado por:
Leandro Marques de Resende
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n
Bairro: Santa Catarina
UF: MG **Município:** JUIZ DE FORA
Telefone: (32)4009-5167

CEP: 36.036-110

E-mail: cep.hu@ufjf.br

ANEXO II - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

	HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA Gestão de Ensino e Pesquisa - Setor de Pesquisa e Inovação Tecnológica	
---	--	---

Pesquisadora responsável: Priscila de Faria Pinto
Endereço: Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas
 Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Juiz de Fora – MG
 Rua José Lourenço Kelmer, s/n – São Pedro.
 CEP: 36036-900 Juiz de Fora-MG.
Telefone: (32) 2102-3217
E-mail: priscila.faria@ufjf.edu.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa intitulada **PESQUISA DE ANTICORPOS IgG ANTI-SARS-CoV-2 EM PACIENTES ADULTOS DA CIDADE DE JUIZ DE FORA/MG.** O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é verificar se os testes de diagnósticos em amostras de sangue são capazes de detectar o novo coronavírus, ou a presença de anticorpos contra este vírus em pessoas adultas atendidas no ambulatório do Hospital Universitário - EBSEH/UFJF.

PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

Para a realização do teste de COVID é necessário a coleta de amostras de sangue do paciente ou coleta da secreção nasal (Swab nasofaríngeo para aqueles que estão sintomáticos), para exames laboratoriais. Estes procedimentos são necessários para um diagnóstico correto e para providenciar o tratamento adequado às pessoas infectadas.

Caso você nos autorize, uma pequena amostra de sangue, retirada de sua rotina de coleta normal e amostras da coleta de secreção nasal (para aqueles pacientes sintomáticos) serão utilizadas na pesquisa. Este procedimento não comprometerá o seu diagnóstico, uma vez que, estes materiais serão encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da UFJF. Os materiais não utilizados ou aqueles que sobram dos exames, serão descartados conforme determinam as normas de descartes para material que possa estar contaminado. **As amostras de sangue serão distribuídas aleatoriamente em grupos controle, positivos e negativos para COVID e grupos testes.** Será utilizada uma técnica para verificar a presença de anticorpos nas amostras a fim de saber se o seu sistema imunológico já produziu ou está produzindo anticorpos contra a doença, a partir da vacinação ou a partir de uma infecção recente ou anterior. Para os indivíduos que apresentam sintomas gripais, iremos utilizar uma técnica que determina o material genético do vírus nas amostras de secreção nasal para o preciso diagnóstico da COVID-19.

Vamos aplicar um questionário para obter informações pertinentes a pesquisa, e solicitamos a sua autorização para consultar os dados de seu prontuário médico neste hospital a fim de completarmos os dados.

RISCOS - Os riscos diretos para o paciente serão mínimos, visto que, toda a coleta será realizada por profissional capacitado. O sangue utilizado nessa pesquisa será somente aquele considerado excedente (que sobrou) no momento de sua rotina comum para exames laboratoriais.

BENEFÍCIOS - O benefício principal da sua participação é contribuir para a compreensão da produção de anticorpos que a população está desenvolvendo contra a COVID-19. Os dados obtidos ajudarão a entender a quantidade de indivíduos sintomáticos e assintomáticos que estão com COVID-19 e aqueles que foram vacinados e, determinar a eficácia dos testes de diagnósticos utilizados no setor público da cidade.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Senhor(a) tem assegurado o direito a indenização. O Sr. (a) será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome e/ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Senhor (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Os dados e instrumentos utilizados na

Rubrica do participante

Rubrica do investigador responsável

O CEP avalia protocolos de pesquisa que envolve seres humanos, realizando um trabalho cooperativo que visa, especialmente, à proteção dos participantes de pesquisa do

Brasil. **Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:**

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFJF

Campus Universitário da UFJF

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

CEP: 36036-900

Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propp@ufjf.edu.br

	HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA Gestão de Ensino e Pesquisa - Setor de Pesquisa e Inovação Tecnológica	
---	--	---

pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em 2 (duas) vias originais, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas no Departamento de Bioquímica – ICB, da Universidade Federal de Juiz de Fora e a outra será fornecida ao Senhor (a).

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo "NOME DO ESTUDO", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de _____.

_____ Nome e assinatura do (a) participante (a)	_____ Data
_____ Nome e assinatura do (a) pesquisador (a)	_____ Data
_____ Nome e assinatura do (a) testemunha	_____ Data

Em caso de dúvidas sobre a coleta, andamento da pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Dr. Priscila de Faria Pinto, no seguinte endereço:

Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas
Departamento de Bioquímica –
Universidade Federal de Juiz de Fora – MG
Rua José Lourenço Kelmer, s/n – São Pedro, Juiz de Fora-MG.
CEP: 36036-900
Telefone: (32) 2102-3217
E-mail: priscila.faria@ufjf.br

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa HU-UFJF:
Rua Catulo Breviglieri, s/nº - Bairro Santa Catarina
CEP.: 36036-110 - Juiz de Fora – MG
Telefone: 4009-5167
E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br

_____ Rubrica do participante	_____ Rubrica do investigador responsável
----------------------------------	--

O CEP avalia protocolos de pesquisa que envolve seres humanos, realizando um trabalho cooperativo que visa, especialmente, à proteção dos participantes de pesquisa do Brasil. **Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:**
 CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFJF
 Campus Universitário da UFJF
 Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
 CEP: 36036-900
 Fone: (32) 2102-3788 / E-mail: cep.propp@ufjf.edu.br

ANEXO III – QUESTIONÁRIO DE AUTOAVALIAÇÃO – COVID-19

Prontuário nº: _____

Data da Coleta: ____/____/____

Questionário de autoavaliação a cerca de sinais e sintomas em adultos infectados com o novo coronavírus, na cidade de Juiz de Fora - MG.

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa populacional sobre a imunidade de pessoas infectadas pelo novo coronavírus e a eficácia dos testes diagnósticos, fornecidos pelos Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais que está sendo realizada em consórcio firmado entre o Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Farmácia e no Laboratório de Estudo de Estrutura e Função de Proteínas do ICB – UFJF em parceria com a Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, para o estudo e enfrentamento da pandemia de COVID-19. O objetivo dessa pesquisa é avaliar a eficácia dos testes de diagnósticos utilizados na detecção do novo coronavírus (SARS-CoV-2) em pessoas sintomáticas e assintomáticas. Essa pesquisa poderá ajudar a entender a doença e a criar novas formas de detecção e tratamentos no futuro. Os avanços na área da saúde ocorrem através de pesquisas como essa e, por isso, sua participação é importante.

A participação na pesquisa é voluntária e não envolve nenhum benefício direto aos participantes.

A sua participação na pesquisa é dividida em 2 (duas) partes. No primeiro momento, você deverá responder a este questionário, o qual iniciamos agora e suas respostas **SERÃO MANTIDAS EM ABSOLUTO SIGILO**. As perguntas serão sobre hábitos de vida, doenças existentes e uso de medicamentos. Caso esteja de acordo com nossos critérios, você estará apto a participar da pesquisa e prosseguir para segunda parte, se for de seu interesse.

☐ Aceito participar

☐ Não aceito participar

1. Qual a sua faixa etária?

☐ 18 a 22

☐ 23 a 27

☐ 28 a 32

☐ 33 a 37

☐ 38 a 42

☐ 43 a 47

☐ 48 a 52

☐ 53 a 57

☐ 58 a 62

☐ 63 a 67

☐ 68 a 72

☐ 73 a 77

☐ 78 a 83

☐ 84 ou mais

2. Qual o seu sexo?

☐ Feminino

☐ Masculino

3. Qual seu nível de escolaridade?

- ☐ Analfabeto ☐ Fund. incompleto ☐ Fund. completo
☐ Médio incompleto ☐ Médio completo ☐ Superior incompleto
☐ Superior completo ☐ Pós Graduação

4. Como você se considera? (classificação obtida a partir de dados coletados do IBGE)

- ☐ Amarelo ☐ Branco ☐ Indígena
☐ Pardo ☐ Preto

5. Você já foi diagnosticado com COVID - 19 anteriormente?

- ☐ Sim ☐ Não

6. Você está com sintomas da COVID-19?

- ☐ Sim ☐ Não

7. Se sim, quais sintomas você está sentindo?

- | | | |
|---|--|---|
| ☐ Febre | ☐ Perda da fala, mobilidade ou confusão | ☐ Irritações na pele ou descoloração dos |
| ☐ Tosse | ☐ Dores no peito | dedos dos pés ou das |
| ☐ Cansaço | ☐ Dores de garganta | mãos |
| ☐ Perda de paladar ou olfato | ☐ Dor de cabeça | ☐ Olhos vermelhos ou irritados |
| ☐ Dificuldade para respirar ou falta de ar | ☐ Dores e desconfortos | ☐ Outros: _____ |
| | ☐ Diarréia | |

8. Quando você começou a sentir os sintomas citados na pergunta anterior?

Caso não sentiu nenhum sintoma, não responda esta pergunta.

Data: ____/____/____

9. Teve contato com alguém com COVID-19 diagnosticado, nestes últimos dias ?

- ☐ Sim ☐ Não

10. Em qual bairro de Juiz de Fora você reside?

11. Se você não reside em Juiz de Fora, em qual cidade que você mora?

12. Tomou vacina contra a COVID-19 ?

☐ Sim ☐ Não

13. Se, sim quantas doses?

☐ 1 dose ☐ Dose única
☐ 1ª e 2ª doses ☐ 1º Reforço ☐ 1ª e 2ª Reforços

❖ Qual a marca da 1ª e 2ª doses?

☐ Coronavac ☐ Janssen
☐ Pfizer ☐ Astrazeneca

❖ Qual a marca do 1º reforço?

☐ Coronavac ☐ Janssen
☐ Pfizer ☐ Astrazeneca

❖ Qual a marca do 2º reforço?

☐ Coronavac ☐ Janssen
☐ Pfizer ☐ Astrazeneca

14. Você possui algum tipo de comorbidade?

- | | | |
|--|---|--|
| ☐ Anemia | ☐ Obesidade/ Sobrepeso | ☐ Problemas no pulmão/ respiratórios (asma, bronquite, rinite, sinusite, etc.). |
| ☐ Câncer | ☐ Problemas de coagulação | ☐ Problemas nos rins (pedra no rim, infecções, etc.). |
| ☐ Colesterol/ Triglicérides altos | ☐ Problemas intestinais [| ☐ Reumatismo |
| ☐ Diabetes | ☐ Problemas no coração | ☐ Nenhuma doença |
| ☐ Doenças autoimunes (lúpus, artrite, psoríase, etc.) | ☐ Problemas no fígado (gordura, cirrose, hepatite, problemas na vesícula, etc.). | ☐ Outro (especifique): |
| ☐ Hipertensão | | |
| ☐ HIV | | |
-
-

Agradecemos a sua contribuição nesta pesquisa.